

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ
УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторних робіт
з дисципліни
«РОЗВЕДЕННЯ РИБ»**

Одеса – 2012

Розведення риб. Методичні вказівки, до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Розведення риб» / Шекк П.В., Крюкова М.І. – Одеса, ОДЕКУ, 2012. –47 с.

Методичні вказівки призначені для студентів другого курсу денної форми навчання за спеціальністю „Водні біоресурси та аквакультура”.

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	4
Лабораторна робота №1	
ТЕМА: Ембріональний та ранній постембріональний розвиток риб	6
<i>Завдання</i>	12
<i>Питання для самоперевірки</i>	12
Лабораторна робота №2	
ТЕМА: Визначення плодючості, ступеня зрілості статевих продуктів самок та самців риб, шкала зрілості	13
<i>Завдання</i>	23
<i>Питання для самоперевірки</i>	23
Лабораторна робота №3	
ТЕМА: Заготівля гіпофізів, приготування та розрахунок доз гіпофізарних препаратів та ін'єкцій	24
<i>Завдання</i>	27
<i>Питання для самоперевірки</i>	27
Лабораторна робота №4	
ТЕМА: Способи отримання зрілих статевих продуктів, методи запліднення ікри	28
<i>Завдання</i>	31
<i>Питання для самоперевірки</i>	31
Лабораторна робота №5	
ТЕМА: Методи запліднення ікри	32
<i>Завдання</i>	35
<i>Питання для самоперевірки</i>	35
Лабораторна робота №6	
ТЕМА: Інкубація ікри, нормативи інкубації ікри, інкубаційні апарати	36
<i>Завдання</i>	40
<i>Питання для самоперевірки</i>	40
Лабораторна робота №7	
ТЕМА: Вирощування передличинок та личинок риб	41
<i>Завдання</i>	45
<i>Питання для самоперевірки</i>	45
ЛІТЕРАТУРА	46

ПЕРЕДМОВА

Методичні вказівки до лабораторних занять з дисципліни „Розведення риб” включає розділи, які передбачені робочою програмою курсу.

Головною метою лабораторних занять є: набуття студентами теоретичних і практичних знань з біологічних основ технологій відтворення та вирощування культивованих об’єктів рибництва у тепловодних та холодноводних ставкових рибницьких господарствах.

Особлива увага приділяється вивченню біологічних характеристик та сучасних методів відтворення і вирощування основних об’єктів рибництва, технології розведення основних видів риб, технічним засобам і забезпеченню роботи розплідних комплексів, екологічним аспектам експлуатації рибних господарств різного типу і призначення.

Після виконання всіх лабораторних робіт з дисципліни „Розведення риб” студенти повинні **знати:** біологічні особливості об’єктів рибництва, основні технології відтворення риб - об’єктів ставового рибництва, улаштування та технічне забезпечення господарств, підрощування молоді до життєстійких стадій, вирощування рибопосадкового матеріалу та товарної риби у тепловодному та холодноводному рибництві за різних форм та циклів їх ведення.

Після виконання всіх лабораторних робіт студенти повинні **оволодіти:** технологічними циклами виробництва, відтворення, підрощування молоді до життєстійких стадій, вирощування основних об’єктів культивування до товарної маси, формування, ремонту та статевозрілих груп, проводити гіпофізарні ін’єкції, оволодіти знанням основних технічних характеристик технологічного обладнання відповідно до кожного об’єкта культивування.

Ця методична розробка є допоміжним матеріалом для виконання студентами лабораторних робіт і складається з 7 тем. Кожна робота містить конкретні теоретичні пояснення суттєвих положень даної теми та практичну частину, в якій детально описано порядок роботи і наведено завдання. Наприкінці кожної теми поставлені запитання для самоконтролю. На останній сторінці методичних вказівок є перелік основної та допоміжної літератури.

Контроль поточних знань виконується на базі кредитно – модульної системи організації навчання.

Теми лабораторних робіт входять до складу двох змістовних практичних модулів. Загальна максимальна сума балів за практичну частину визначається робочою програмою. Перед початком роботи студент вивчає теоретичну частину лабораторної роботи. На початку заняття викладач перевіряє засвоєння матеріалу по питанням самоперевірки після чого студенти виконують завдання, які вказані в

методичних вказівках. По результатах лабораторних робіт студенти заповнюють біологічний журнал.

Оцінювання лабораторної роботи включає правильно виконане завдання і усне опитування по питанням самоконтролю.

Техніка безпеки

Перед початком виконання лабораторних робіт з дисципліни «Розведення риб» студенти повинні пройти інструктаж з техніки безпеки, пожежної безпеки та поставити відмітку у журналі інструктажу з техніки безпеки.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

ТЕМА: ЕМБРІОНАЛЬНИЙ ТА РАННІЙ ПОСТЕМБРІОНАЛЬНИЙ РОЗВИТОК РИБ

Теоретична частина

Після запліднення оболонки ікринки прилягають до поверхні жовтка. Потім кортикальні альвеоли, розташовані в поверхневому шарі цитоплазми, лопаються, їх вміст виділяється під оболонку і вона відшаровується від жовтка. Починається обводнення (набухання) ікринки, в процесі якого між жовтком і оболонкою утворюється перивітеліновий простір, заповнений рідиною, яка забезпечує обмін зародка і захищає його від дії зовнішнього середовища.

Перивітеліновий простір утворюється і в незаплідненій ікринці після її потрапляння у воду. Оскільки перивітеліновий простір перешкоджає проникненню сперматозоїдів, то після його утворення ікринка втрачає здатність до запліднення.

Зовнішня оболонка ікринки багатьох риб виділяє клейку речовину, завдяки якій в природних умовах ікринки прилипають до субстрату. Після набухання міцність оболонок зростає.

Яйця костистих риб відносяться до телолецитального типу. В них жовток розподілений нерівномірно: ядро і плазма розташовуються на анімальному полюсі, а жовток концентрується в протилежній частині клітини на вегетативному полюсі. В результаті дроблення він охоплює не всю клітину, а тільки бластодиск (неповне, або дискоїдальне, дроблення, при якому борозни дроблення проходять тільки по бластодиска).

Зовнішньою ознакою розвитку ікринки є скупчення плазми на анімальному полюсі і утворення бластодиска. Розвиток йде за загальновідомою схемою:

- дроблення бластодиска (з утворенням спочатку морули крупних або дрібних клітин);
- поява бластули, усередині якої закладається первинна порожнина тіла – бластоцель;
- в результаті подальшого розмноження клітин, настає гастрюляція, в процесі якої клітини анімального полюсу насуваються на жовток (обростання жовтка), утворюється два зародкові листки (екто і ентодерма);
- порожнина гастрюли є первинною порожниною кишечника. Потім між двома ембріональними пластами утворюється третій (мезодерма); усередині мезодерми розвивається вторинна порожнина тіла, або цілома. Далі зародкові листки диференціюються на зачатки тканин і

органів: з ектодерми формуються покриви (епідерміс), нервова система; з ентодерми – кишечник і пов'язані з ним органи; з мезодерми –внутрішній скелет, мускулатура, з'єднанотканний шар шкіри, аорта і кардинальні вени, ендокардій серця і ін.

Ембріональний період розвитку риб не закінчується виходом зародка з оболонки. Він продовжується протягом деякого часу після вилуплення, поки передличинка, або вільний ембріон, зберігають ще ряд ембріональних особливостей будови органів дихання, кровообігу, травлення і інших систем, проходить заключні етапи ембріонального розвитку. Після того, як починають функціонувати зяброва, травна та інші системи, діяльність ембріональних органів припиняється і відповідно закінчується період ембріонального розвитку.

Личинковий період — починається з моменту переходу молоді на активне живлення зовнішньою їжею. Спочатку живлення змішане – залишками жовткового мішка і частково зовнішньою їжею, потім повністю екзогенне. Є тимчасові личинкові органи (непарна плавникова облямівка, зовнішні зябра і т. д.), відсутні багато органів дорослої риби.

При переході в **наступний період розвитку – мальковий**, молодь набуває форму дорослої риби; з'являється луска, характерні для дорослої риби органи і функції (наприклад, черевні плавники і зяброве дихання через рот), але деякі органи можуть бути ще відсутні, наприклад, канали бічної лінії. Личинкові органи зникають.

Для прикладу розглянемо розвиток коропа в нерестовому ставку (при температурі води 20–22°C (рис. 38).

Протягом перших діб проходять етапи, передуючі оформленню тіла зародка.

Утворення бластодиска (1-й етап). Починається відразу після запліднення. Приблизно через 30 хв. в ікринках між жовтком і зовнішньою оболонкою виникає перивітеліновий простір, що займає 3,4–15,4 % діаметра ікринки. На анімальному полюсі ікринки формується бластодиск у вигляді світлого горбика, що підноситься над жовтком.

Дроблення бластодиска (2-й етап). Бластодиск розділяється бороздами дроблення на бластомери. Спочатку спостерігається морула крупних клітин, але в міру того, як зростає число бластомерів, розміри їх зменшуються. Приблизно через 5 годин після запліднення спостерігається морула дрібних клітин.

Бластула (3-й етап). Бластомери ущільнюються і відсовуються до периферії. Утворюється бластула, усередині якої є порожнина – бластоцель; жовток утворює вп'ячування назустріч накриваючій його бластодермі.

Гаструла (4-й етап). При подальшому розмноженні клітин анімального полюсу відбувається обростання жовтка: бластомери як би

сповзають у бік вегетативного полюса, поступово накриваючи його; утворюється зародковий вузлик; формуються зародкові пласти, а з них зачатки органів.

До кінця першого дня після запліднення в ікринці з'являється зародок у вигляді прозорої зародкової смужки, що лежить на жовтку. Відбувається закладка головного і тулубного зачатків, причому головний кінець помітний чіткіше, хвостовий кінець стоншується поступово, ледве помітно обмежуючись. Виявляються ділянки ембріонального матеріалу, які дадуть початок хорді, міотомам, кишковій ентодермі, нервовій та іншим системам.

Протягом наступних діб проходять три етапи:

Органогенез (5-й етап). Зародок збільшується в розмірах: тіло товщає, хвостовий відділ закінчується перед головним, трохи не доходячи до нього. Формуються головний, тулубний, хвостовий відділи тіла і основні органи і системи органів: нервова, м'язова, кишечник та ін. Приблизно через 28 год. після запліднення в головному відділі добре видно мозок, причому помітно розділення його на передній і задній відділи, чітко помітні слухові пухирці, очі довгастої форми, ще не мають пігменту. В тулубному відділі відбувається сегментація хорди. Приблизно через 32 год. після запліднення добре помітна плавникова облямівка, що починається на спинній стороні тіла в задній його третині. Облямівка огинає хвостовий відділ і підходить до жовтка. Видно також плавникові складочки на жовтку.

Поява нервово-м'язової моторики (6-й етап). Зародок починає часом сіпатися, а потім періодично повертається в оболонці. Оскільки зародок в цей час дихає поверхнею тіла (спеціальних органів дихання немає), то перемішування перивітелінової рідини при таких поворотах сприяє поліпшенню газового обміну.

Зародок настільки збільшується, що хвостовий відділ починає завертатися по поверхні жовтка, утворюючи спіраль. В головному відділі видно нюхові ямки, очні келихи, кришталики, отоліти. В очах з'являється точковий меланін. Серцева трубка скорочується, але формених елементів крові ще немає. Добре видна кишкова трубка. Продовжується сегментація тіла (в хвостовому відділі). Жовтковий мішок стає грушовидним.

Початок функціонування ембріональної дихальної системи (7-й етап). Оскільки дефінітивні органи дихання ще не були сформовані, то дихальну функцію виконує мережа кровоносних судин: Кюв'єрові протоки (лежать на передній частині жовткового мішка), нижня хвостова вена (в хвостовому відділі тіла), мережа сегментальних судин в плавниковій облямівці (в анальній її частині). В струмі плазми крові з'являються формені елементи. Закінчується сегментація тіла. З'являються грудні плавнички. Посилюється пігментація очей. Приблизно через 52 год. після

запліднення з'являються пігментні клітини над кишковою трубкою, які незабаром покривають головку зародка, спинний і хвостовий відділи і жовтковий мішок. Пігментні клітини (меланофори) крупні, лежать близько одна до одної (групами). На голові видно зачатки зябрових кришок. На голові і жовтку з'являються залози вилуплення.

8-й, останній етап розвитку зародка в оболонці починається наприкінці другої – початку третьої доби після запліднення. Збільшуються всі частини тіла ембріона, крізь прозорі покриви просвічують органи. Головка зародка частково відособлюється від жовтка. В слухових пухирцях видні півкруглі канали. Добре видна ротова ямка (рот нерухомий, відкритий). Оформлюється зяброво-щелепний апарат. В передній частині голови видно клітини, залози приклеювання. Основання грудних плавників розташовані похило по відношенню до осі тіла. В плавниковій складці відособлюються спинна, хвостова і анальна ділянки. Посилюється пігментація тіла.

Приблизно через 78 год. після запліднення починається масове вилуплення. Зародки або передличинки (етап розвитку А або останній зародковий), що виклюнулися, мають близько 5,0–5,2 мм довжини. Звертає на себе увагу великий жовтковий мішок грушовидної форми і пряма (не зігнута) хорда. Голова трохи пригнута вниз. В передній її частині, ближче до очей, є поглиблення – нюхові ямки. Добре видні сегменти (їх налічується 38), різні за розміром, вони поступово зменшуються до заднього кінця тіла. По спині зародка, починаючи з 9-го сегмента, уздовж тіла тягнеться плавникова облямівка, що переходить на хвіст, далі на черевну сторону і закінчується на жовтковому мішку. В хвостовій частині плавникова облямівка розділяється заднім кінцем хорди на дві рівні половини. Плавникова облямівка вузька, недиференційована, без виїмок, розширяється тільки в хвостовій частині, прозора, трохи ущільнена з прилеглої до тіла сторони; в спинній і анальній частинах пронизана кровоносними судинами. Грудні плавнички рухомі. Очі сильно пігментовані. По тілу розкидані пігментні клітини; якнайбільше їх на голові і уздовж спинного і черевного країв тіла, лежать вони і на жовтковому мішку. На голові і спині є, також, жовтий пігмент.

На передньому краю голови зародки мають залозу приклеювання, що дозволяє їм прикріплюватися до підводних рослин. Крізь прозоре тіло просвічують внутрішні органи: серце в навколосерцевій сумці, пряма кишка, ще без просвіту, не цілком сформований зябровий апарат – тільки початкові зяброві дужки прикриті зябровою кришкою, що намічається, два отоліти в слуховій капсулі. Рот відкритий, має форму ямки.

Протягом 1-ї доби життя після вилуплення зародки рухаються періодично; час від часу, приклеївшись до рослин, вони висять нерухомо, спокійно; потім, відірвавшись від субстрата, роблять декілька

червоподібних рухів, після чого знову приклеюються до рослин. Таким чином чергується стан руху і спокою.

При оптимальній температурі перетворення зародків протікає швидко. Вже до кінця першого дня їх життя (довжина 6 мм) жовтковий мішок помітно зменшується. **На 2-гу добу життя** (довжина 5,9–6,7 мм) зародки мають порівняно невеликий жовтковий мішок. Розсмоктування жовткового мішка відбувається за всією площею його з'єднання із зародком, але швидше в передній, розширеній частині. В плавниковій облямівці, особливо в нижній частині хвостового відділу, ущільнені ділянки (скупчення мезенхимних клітин) стають більш значимими. Зародки більше не приклеюються до рослин, вони постійно плавають.

На 3-ю добу життя (етап розвитку В, або перший личинковий) при довжині тіла 6,2–7,8 мм у жовтковий мішок у личинок майже повністю розсмоктується. Хорда, як і раніше, пряма, не зігнута. У особин завдовжки близько 7 мм плавникова облямівка ще не диференційована, але в хвостовій частині в нижній половині намічаються мезенхимні тяжі. Пігментних клітин стає більшим. Зяброва кришка прикриває не всі зяброві дужки. Лінія основи грудних плавників стає вертикальною. Кров починає забарвлюватися, придбає дуже слабкий жовто-рожевий відтінок.

Кишечник і вигляді ледве зігнутою трубки, але вже з просвітом. Личинки заковтують повітря, наповнюють їм плавальний міхур (задня камера), який стає добре помітним. Наповнення плавального міхура повітрям полегшує пересування личинок. Частини ротового апарату можуть рухатися. Рот переміщується на кінець рила.

Молодь переходить до активного живлення. В цей час у личинок живлення змішане: як зовнішньою їжею, так і за рахунок не зовсім витраченого жовткового мішка. Внаслідок прозорості тіла добре видно вміст кишечника.

На 4-ту добу життя (етап розвитку *C1*; або другий личинковий період) довжина личинок досягає 5,5–9,0 мм. Найдрібніші з них мають ще залишки жовтка. Рот придбає здатність повністю закриватися. У личинок, що досягли довжини близько 8,3 мм, задній кінець хорди (уростіть) починає загинатися догори. Зачатки проміння в нижній половині хвостової частини плавникової облямівки збільшуються. Плавникова облямівка в передній частині (на спині) стає більш високою, тут з'являється згущення мезенхимних клітин. Таке ж згущування мезенхіми спостерігається в анальній частині облямівки, на місці майбутнього анального плавника. Перед хвостом плавникова облямівка стає трохи вужчою, тим самим намічаються межі хвоста.

Пігментних клітин стає дуже багато, вони крупні, розкидані по всьому тілу. Особливо крупні вони на спинній стороні голови. Зяброві кришки

збільшуються. Личинки вже заковтують циклопів, босмій та інших дрібних гіллястовусі і веслоногих рачків.

На 5-у добу життя (етап розвитку C_2 , або третій личинковий) при довжині 7,0–10,1 мм личинки відрізняється від попередніх в основному тим, що у них сильніше заломлений уростіль, хвіст став гетероцеркальним, в плавниковій облямівці різкіше виділяється хвостовий відділ, в якому промені вже сформувалися; в спинному та анальному відділах плавникової облямівки згущування мезенхіми стають щільнішими. На щелепах з'являються рогові зуби. В харчовій грудці окрім коловерток, гіллястовусих і веслоногих рачків зустрічаються планктонні личинки хірономід.

На 6-у добу життя (довжина 8,2–11,3мм) личинки вже дуже схожі на маленьку рибку. Голова їх витягується, зяброві кришки повністю закривають зяброві дужки, хвостовий відділ плавниковій облямівки чітко обмежений, мезенхимні згущення в спинній і анальній ділянках облямівки ущільнюються. Тіло личинок стає менш прозорим, сегменти видно погано.

На 8-у добу життя личинки досягають довжини 10–12,8 мм. Менші з них пройшли етап розвитку D_1 , або четве'ртий личинковий, у найкрупніших розвиток просунувся до етапу D_2 –п'ятого личинкового.

Сегменти в тілі майже не розпізнаються. Уростіль сильно загинається догори, утворюючи майже прямий кут з плавниковим променем. В плавальному міхурі обидві камери наповнені повітрям. На місці черевних плавників з'являються шкірясті вирости. Плавникова облямівка диференційована. Спинний плавник майже цілком сформований, в анальному, з'являються зачатки променів. Добре видні кістки черепа. У найкрупніших рибок сформовано хвостовий плавник (гомоцеркальний), з'являється хвостова виїмка, що роздвоює плавник на верхню і нижню лопаті. Грудні і черевні плавники ще не мають променів. Все тіло дуже сильно пігментоване. Рот стає висувним. Кишечник слабо зігнутий, намічається перша петля.

На 11-ту добу життя довжина личинок 11,1 – 16,0 мм, спинна і анальна ділянки плавникової облямівки набувають форму плавників. З хвостовим плавником вони з'єднуються зовсім вузькими перетяжками. Лопаті черевних плавників стають крупнішими, але променів в них ще немає. Пігментні клітини дуже крупні. В кишечнику утворюється перша петля.

На 13-у добу життя довжина личинок 12–13 мм, залишки плавникової облямівки між плавниками стають ледве помітними. Тіло майже непрозоре, лише слабо просвічує кишечник.

На 14-у добу життя (етап розвитку E , або шостий личинковий) при довжині тіла 15–20 мм ніяких слідів плавникової облямівки між плавниками немає. В черевних і грудних плавниках з'явилися промені. Тіло непрозоре, його майже суцільно покривають пігментні клітини. В кишечнику утворюються дві петлі. Луски ще немає.

На цій стадії личинок переводять на вирощування в ставки, де і відбувається подальший розвиток.

Протягом розвитку у зародка періоди посиленого зростання тканин змінюються періодами посиленого диференціювання їх і утворення зачатків нових органів. При цьому міняється характер обміну речовин, зокрема інтенсивність водного обміну, інтенсивність засвоєння біогенних елементів (фосфору, кальцію, вуглецю), амінокислотний склад тіла (зменшується число вільних амінокислот, збільшується кількість зв'язаних), інтенсивність споживання кисню. Найбільш інтенсивний обмін спостерігається під час формування органів і тканин. Чутливість зародків до дії зовнішніх факторів (трясіння, коливання температури, концентрації кисню) на різних стадіях розвитку різна. Якнайменше стійкі зародки під час посиленого формування тканин і органів, коли обмін найбільш інтенсивний. Це початок дроблення, гастрюляція, закриття бластопора, початок формування зародка та ін. Ця обставина враховується при роботах з ікрою, особливо при її перевезеннях.

Завдання

1. Зобразити схему розвитку ікри.
2. За допомогою наочного матеріалу дати характеристику етапам, передуючим формуванню тіла зародка риби.
3. Визначити особливості перших днів життя зародків після вилуплення.

Питання для самоперевірки

1. Що таке перивітеліновий простір?
2. До якого типу відносяться яйця костистих риб?
3. Що являє собою розвиток ікринки риби?
4. Дайте характеристику ембріональному періоду розвитку риб..
5. Дайте характеристику личинковому періоду.
6. Дайте характеристику мальковому періоду.
7. Перерахуйте етапи, які передують оформленню тіла зародка.
8. Охарактеризуйте утворення та дроблення бластодиска.
9. Як утворюється бластула, гаструла?
10. Що таке органогенез?
11. Дайте характеристику появі нервово-м'язової моторики.
12. Як відбувається початок функціонування ембріональної дихальної системи?
13. Дайте характеристику останньому етапу розвитку зародка.
14. Охарактеризуйте перші дні життя зародка після вилуплення.
15. На якій стадії розвитку личинок переводять на вирощування в ставки?
16. Які обставини необхідно враховувати при роботі з ікрою та при її перевезенні?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

ТЕМА: ВИЗНАЧЕННЯ ПЛОДЮЧОСТІ, СТУПЕНЯ ЗРІЛОСТІ СТАТЕВИХ ПРОДУКТІВ САМОК ТА САМЦІВ РИБ, ШКАЛА ЗРІЛОСТІ

Теоретична частина

Визначення плодючості

Плодючість риб обчислюють за кількістю ікринок в яєчнику. Звичайно чим більше ікринок в яєчнику, тим вона дрібніше.

Для визначення плодючості яєчник, що знаходиться в передтікучому стані, зважують, потім беруть 1 г ікри (а при великій ікрі і більше) і прораховують кількість ікринок. Далі зважують яєчник. Кількість ікри в 1 г множать на вагу яєчника і отримують абсолютну плодючість.

Крім абсолютної плодючості, розрізняють робочу плодючість. У природі не вся ікра запліднюється, хоча при штучному заплідненні показник заплідненості буде вище. При віджиманні ікри частина ікринок залишається в яєчниках і порожнини тіла самки. І ось те, що фактично отримано від самки, і носить назву робочої плодючості. Величина робочої плодючості лежить в основі розрахунку потреби в необхідній кількості самок.

На кількість розвиваються яєць впливає не тільки вік, величина риб, температура, кисень. Має значення харчування виробників, що надає істотний вплив на ступінь розвитку статевих залоз.

Однак переогодовування шкідливо і веде до безпліддя від ожиріння і до дегенерації ікри. Переродження може настати при неправильному змісті та в незадовільних умовах.

З метою вибіркової заплідненості при заплідненні ікри однієї самки краще використовувати сперму 2-4 самців. При цьому сперму заготовляють попередньо або безпосередньо перед заплідненням, відловлюють самців і відціджують з них сперму відразу на ікру. Для осіменіння 1 л ікри достатньо 5 мл сперми.

При попередній заготівлі сперми її відціджують за 30-60 хв до отримання від самок ікри. Для цього так само, як самок, виловлюють самців, сухий марлею ретельно обтирають їх черевце і, поглажуючи його зверху вниз, в сухі чисті пробірки (найбільш зручні довжиною 15 см і діаметром 3-4 см) або баночки окремо від кожного самця відціджують сперму. При відціджуванні стежать, щоб вона була чистою і разом з нею не потрапила кров, слиз, вміст кишечника, вода. Перші краплі сперми брати не слід. Коли пробірки або баночки заповнені спермою, їх

закривають корковими пробками або ватними тампонами і зберігають в термосі з роздрібнений льодом до моменту запліднення ікри. Для цих цілей рекомендується широкогорлі термос об'ємом від 0,5 л, причому 7 з його заповнюють льодом і Закривають тонким шаром вати або складеної в 4-5 разів марлею.

Велике значення має і якість сперми, для чого її попередньо оцінюють. Доброякісна сперма відрізняється білим кольором і густотою сметани, тоді як недоброякісна-рідка, з зеленуватим або блакитним відтінком.

При заплідненні ікри з термоса виймають необхідну кількість пробірок, частина молок використовують, а що залишилися в пробірках знову поміщають в термос. Нагрівання пробірок зі спермою неприпустимо. Зміст їх в термосі па льоду протягом 10-12 год. не знижує запліднюючої здатності сперміїв.

Активний рух сперміїв у воді триває 15-30 сек., а частина їх і довше. При цьому чим вище температура води, тим швидше спермін гинуть.

Сперму обережно розподіляють по ікрі пташиним пером, потім таз заповнюють невеликою кількістю води і ікру розмішують в ньому пером і легким погойдуванням. Вода при цьому набуває молочний відтінок. Через 2-3 хв. воду зливають і додають нову. Воду змінюють кілька разів і до тих пір, поки ікра не буде відмита від сперми, грудок слизу, крові, луски.

Запліднена ікра сильно набухає (діаметр її збільшується з 1,2 до 5 мм і вище), стає легшою, набуває плавучість і не пізніше ніж через 5-10 хв. після запліднення її переміщують для інкубації в апарати. При зміні води необхідна обережність і акуратність, так як неважко разом з водою злити і запліднену ікру. Для інкубації ікри рослиноїдних риб часто використовують апарати Вейса.

Визначення ступеня зрілості статевих продуктів самок та самців риб (цикли дозрівання).

Як основні показники ступеня зрілості статевих залоз у самок коропа використовуються розмір овоцитів старшої генерації і місце розташування ядра. Наприклад, діаметр таких овоцитів в яєчниках коропа коливається від 1,0 до 1,6 мм. Другою чіткою ознакою зрілості овоцитів є розташування ядра в безпосередній близькості до оболонки. Міграція ядра до анімального полюсу, де скупчується цитоплазма і розташовано мікропіле, свідчить про перехід овоцитів в стадію дозрівання (Рис. 2.1).

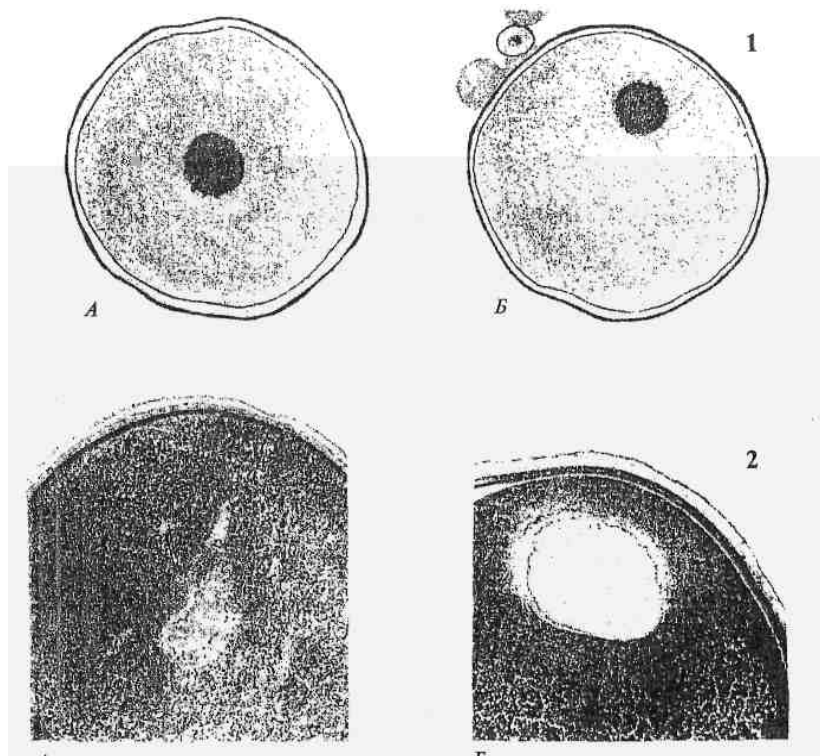


Рисунок 2.1 – Розташування ядра в овоцитах:

- 1.Овоцити коропа: А — ядро в центрі; Б — ядро зміщене до поверхні;
- 2.Овоцити осетра; А — ядро в центрі (трофоплазматичні зростання не завершенні); Б — ядро поблизу анімального полюса (трофоплазматичного зростання завершене)

Весною, при переводі плідників з зимувалів на літнє вирощування, проводиться бонітування плідників. Їх сортують по ступеня зрілості гонад (статевих залоз і їх продуктів). Зовнішніми ознаками ступеня зрілості яєчників самок коропа є величина і м'якість черевця, а також почервоніння генітального отвору. В першу чергу, як для гіпофізарних ін'єкцій, так і для природного нересту, відбирають самок з такими ознаками. Серед самців відбирають риб, у яких при натисканні на черевце з'являється крапля сперми. Оскільки від одного і того ж самця сперму можна отримувати кілька разів, їх заготовлюють в 3-4 рази менше, ніж самок. Проте при проведенні природного нересту в нерестових ставках зберігається пропорція «гнізд» (одна самка і два самці).

Вся відібрана риба повинна бути здоровою і не мати травм або пошкоджень лускового покриву. При відборі необхідно дбайливо поводитися з плідниками. Удари або короткочасна задуха, що можливі при пересадках під час знаходження риби в чанах або на носилках, несприятливо позначаються на результатах дозрівання плідників. Відібраних самок і самців поміщають окремо в невеликі, земляні ставки-садки, або басейни. При переднерестовому утриманні плідників їм

забезпечують оптимальні умови середовища (проточність води з високим вмістом кисню, оптимальна температура).

У самок коропа перед посадкою в басейни перевіряють стан зрілості яєчників. Особин, що мають м'яке, округле черевце відразу висаджують в басейни, оскільки вони готові до нересту. Ступінь зрілості ікри у таких самок висока, ядро в овоцитах зміщене до оболонки. У самок, що мають тверде або погано виражене черевце, беруть щупом пробу ікри. Щуп уявляє собою металевий стрижень діаметром 3,0—3,5 мм з поглибленням на передньому загостреному кінці. Щуп вводять в яєчник, проколюючи стінку тіла в області луски, лежачої над основанням черевних плавників. Для того, щоб не поранити внутрішні органи, щуп вводять під луски похило (під кутом 30-45°) на глибину 5-7мм. Процедура відбору проби не впливає на стан самок і якість ікри, що від них отримують.

Овоцити, вилучені за допомогою щупу, поміщають в пробірку з рідиною Серра (6 частин 96 ° спирту, 3 частини 40-процентного формаліну, 1 частина крижаної оцетової кислоти) або в фізіологічний розчин (6,5 г хч NaCl на 1 дм³ дистильованої води) з крижаною оцетовою кислотою (на 100 мл сольового розчину і 3 мл крижаної оцетової кислоти). Через 5 хв. ікринки стають прозорими, і їх можна роздивитися під бінокелем. В овоцитах добре видно розташування ядра. Якщо воно помітно зміщене у напрямі оболонки, то ступінь зрілості овоцитів високий; якщо ж ядро розміщується майже в центрі, то овоцити далекі від зрілості. Після визначення ступеня зрілості овоцитів, визначають їх діаметр. Для цього ікринки поміщають в чашку Петрі і під бінокелем за допомогою окуляра-мікрометра проводять вимірювання діаметру.

Залежно від ступеня зрілості статевих продуктів самок розділяють на три групи:

1. Самки з добре вираженим, м'яким черевцем. Для них не обов'язкова перевірка щупом, оскільки вони мають овоцити високого ступеня зрілості;
2. Самки, що мають досить тверде черевце, але в щуповій пробі, ядра в ікринках зміщене до оболонки. Ікра таких самок також має досить високий ступінь зрілості;
3. Самки з твердим черевцем і овоцитами, далекими від зрілості. В ікринках у таких самок ядра розташовані в центрі

Плідників, що мають статеві продукти однакової зрілості, об'єднують і висаджують в басейн з розрахунку 1 самка на 1 м² за умови постійної проточності. Окрім обліку стану яєчників, плідників сортують по вазі, підбираючи в басейн особини, що не дуже відрізняються за цією ознакою, щоб не виникало незручностей при розрахунку доз гонадотропного матеріалу, необхідного для ін'єкцій.

В процесі аналогічної роботи з самками осетра при заводському розведенні забезпечують сприятливі умови для дозрівання ікри. Для цього слід проводити ін'єкції тільки при оптимальних нерестових температурах (10 - 18°C), і витримувати самок в чистій, насиченій киснем проточній воді. При температурі нижче, або вище оптимальної спостерігаються порушення процесу овуляції, а серед яєць, що овулювали в таких умовах частина не запліднюється, або розвивається неправильно. Сприятливі для дозрівання осетрів

Вкрай відповідальним є також визначення моменту (терміну), відбору у самки овулюючої ікри. При передчасному розтині самки велика частина овоцитів ще міцно сполучена з ястиком і не зчищається. Овоцити, із зусиллям очищені від ястика і такі, що залишилися усередині фолікулів не запліднюються, при передержці самки, яйця, що залишилися в порожнині тіла, ушкоджуються, тобто після запліднення вони дають великий відсоток виродків або травмуються, і не придатні для запліднення (так звана «перебита» або «перезріла» ікра). Краще всього запліднюються і розвиваються яйця, овулювавши і не затримані в порожнині тіла, і яйця, що легко сповзають з яєчника. Щоб уникнути втрати ікри осетрових, коропа або рослиноїдних риб від перезрівання або недозрівання самок після гіпофізарної ін'єкції, доцільно користуватися спеціальними графіками, що дозволяє достатньо точно встановити час, коли при певній температурі води слід починати проглядання самок і починати відбір ікри.

Для вирішення питання про те, коли слід зціджувати ту або іншу самку керуються загальноприйнятими критеріями ступеня зрілості плідників: черво м'яке, ікра вибивається сильним струменем, при підйомі самки западає черевна стінка.

Використання спеціальних графіків дозволяє скоротити число проглядань самок, оскільки раніше термінів встановлених відповідною кривою, самок можна не дивитися, і достатньо точно визначити момент своєчасного узяття ікри. Крім того, графік розрахункових кривих дозволяють розрахувати оптимальні терміни для ін'єкції самок, з тим, щоб момент їх дозрівання доводився на сприятливих для роботи час доби (вдень, а не вночі).

У практиці рибництва часто виникають питання про можливість штучного запліднення ікри після декількох годин її знаходження в порожнині тіла снулої самки або такої, що була відціджена в суху ємність і деякий час знаходилась в ній. Це явище іхтіологи і рибоводи характеризують як постовулярне перезрівання, або «передержка» ікри, яке досить часто спостерігається при застосуванні гіпофізарних ін'єкцій. Тому на основі досліджень багатьох фахівців про тривалість збереження здібності до запліднення яєць в тілі самок або поза ним вказано термін

часу протягом якого ікру, що оволювала ще можна використовувати для запліднення.

Сучасний арсенал біотехнічних прийомів визначення ступеня зрілості і готовності до нересту плідників (самок) разом з візуальною оцінкою пункції овоцитів включає біофізичні методи інтероскопії (мікрорентген, ультразвук, голографічна інтерферометрія та ін.), а також експрес-методи фізіолого-біохімічної діагностики ступеня зрілості самок та їх статевих продуктів, для чого за допомогою приладів визначають інтенсивність енергообміну, зміст білка і його інформативних фракцій, зміст вільних амінокислот, ліпідів і гемоглобіну в крові та деякі інші показники.

При роботі з крупними активними рибами (осетрові, лососеві, рослиноїдні тощо) широко застосовується **анестезія плідників**. Це дозволяє значно знизити травматизацію і стресування і підвищується якість проведення робіт із штучного запліднення ікри. Як анестезуючий препарат досить широко використовують хінальдін, ясно-жовту рідину з характерним різким запахом і добре розчинну в органічних розчинниках (етиловому спирті, ефірі), а також препарат MS-222, пропаксат та інші.

Дози наркотика підбираються в залежності від температури води, маси і виду риби. Оптимальною вважають дозу, при якій риби засипають через 1–2 хв. і виходять із стану наркозу через 3–5 хв після приміщення їх в свіжу проточну воду. У рибництві наркотичні засоби застосовують також в процесі транспортування риби щоб уникнути зайвого травмування матеріалу, що перевозиться.

Для відціджування і зберігання оволюючої ікри використовують пластиковий посуд (тази, миски), з гладкою поверхнею, без шорсткостей і абсолютно сухий. Емальований посуд мало придатний оскільки осколки емалі травмувають ікру при відмиванні її від клейкості, що приводить до збільшення відходу в процесі ембріогенезу. У вологому посуді відбувається активація ікри, що легко виявити по її набухання. Це перешкоджає заплідненню і значно знижує кількість ікри, що розвивається. Вода і слиз в таз можуть потрапити також з риби. Тому, перш ніж приступити до відбору статевих продуктів, черевце плідника витирають сухим рушником, а голову і хвіст обгортають сухою тканиною. Тобто, приймають всі можливі заходи до запобігання потрапляння води або слизу в ємкості з ікрою.

Ікру від самок коропа, рослиноїдних риб, щуки, лосося, форелі, білорубиці, нельми, омуля та інших риб отримують методом відціджування. У зрілих самок основна маса ікри, що оволювала витікає струменем без здавлення черевця, і лише в кінці відціджування залишок ікри можна зцідити шляхом легкого масажування черевця. При відціджуванні ікри категорично забороняється з силою надавлювати на

черевце самки. Сильне здавлення черевної порожнини може спричинити розриви строми яєчника і травмувати внутрішні органи. Грубе із зусиллям відціджування може, також, привести до загибелі плідників.

З метою визначення величини робочої плодючості самки і якості отриманих статевих продуктів ікру відціджують в окремий посуд. При масовому використанні плідників, наприклад на риборозплідних заводах, в окрему ємкість (посуд) відціджують статеві продукти від декількох риб. При правильній технології відціджена ікра не втрачає здатності до запліднення впродовж 40-45 хв. Щоб уникнути її підсихання і обвітрення посуд із зібраною (відцідженою) ікрою щільно покривають вологою (добре віджатою) тканиною або, що краще, іншим сухим тазом.

Перед узяттям ікри від самки лосося, сига, нельми, білорибичі, коропа і ряду інших риб голову і хвостове стебло обгорнули сухим рушником або марлею. Якщо риба невелика, ікру може відціджувати один рибовод, який лівою рукою тримає хвостове стебло риби в такому положенні, щоб генітальний отвір знаходився над краєм чистого і сухого посуду (емальований таз з необбитою емаллю), а правою рукою притискує голову риби до тіла, утримуючи самку головою вверх під гострим кутом зажавши її під пахвою. Злегка згинає самку черевною стороною назовні, щоб від тиску стінок черевної порожнини ікра легше відділялася і потрапляла на край підставленого посуду, стікаючи на її дно по протертому насухо анальному плавнику. Враховуючи наявність ніжної оболонки у незаплідненої ікри, у жодному випадку не можна допускати падіння ікринок на дно тазу, інакше багато ікринок деформується. Потім рибовод, обережно здавивши великим і вказівним пальцями правої руки стінки черевця самки біля грудних плавників з обох боків, зганяє ікру, що залишилася, до генітального отвору. Процес відціджування продовжується до тих пір, поки не припиниться виділення вільно стікаючих ікринок.

Подібним способом у плідників крупних риб відціджують сперму. Самця тримають над посудом і рукою масажують його черевце для стимулювання витікання сперми. Сперму у дрібних самців беруть, зігнувши дугою їх тулуб черевцем вниз. У крупних риб сперму відціджують за допомогою гумового щупа, вставленого в генітальний отвір. Сперму припиняють відціджувати при появі перших згустків. Грунтуючись на біології тривалого дозрівання самців і їх порційному виділенні сперми, використаних риб відсаджують в садки з водою, щоб через добу—дві знов їх використовувати для штучного запліднення ікри.

Шкала зрілості гонад самок риб

Стадія зрілості	Зовнішній вигляд гонад	Макроскопічна будова
I ювенільна, статевонезріла (juvenis)	Статеві залози у вигляді прозорих тонких ниток. Неозброєним оком статі розпізнати неможливо	Статеві клітини – овогонії – знаходяться серед клітин гермінативного епітелію (овогоніальний період)

Стадія не повторюється (буває один раз в житті)

I	<p>Яєчники представлені стекловидними тяжами; м'які, рожево-жовтого відтінку. Крізь оболонку яєчника, неозброєним оком, або під лупою, видно дуже мілкі прозорі овоциті. Яєчник здається зернистим. По стінкам тягнуться крупні кровоносні судини. Яйценесучі пластинки при розтині стінок яєчника відокремлюються друг від друга, видно їх розташування</p>	<p>Багаточисельні овоцити періоду малого (протоплазматичного) росту, старша генерація яких знаходиться в фазі одношаровий фолікулу. Вони мають округлу або багатокутову форму, погано прилягають одне до одного. Мають статеві клітини попередньої фази розвитку</p>
---	--	--

У статевонезрілих риб ця стадія слідує за I; в яєчниках статевозрілих самок II стадія настає після того, як зникають ознаки нересту, що відбувся, тобто після VI стадії

II	<p>Яєчники округлої форми, жовто-оранжевого кольору, займають близько 1/3 – 1/2 довжини порожнини тіла. Вони наповнені дрібними, непрозорими, жовтими або білими ікринками, які добре видно неозброєним оком. При розрізі яєчника ікринки тримаються грудками; яйценесучі пластинки ще видно. По стінках яєчника проходять крупні кровоносні судини, що гілкуються</p>	<p>Овоцити лежать більш густо внаслідок збільшення їх розмірів. Вони знаходяться на початку періоду великого (трофоплазматичного) зростання: основна маса овоцитів проходить фази вакуолізації цитоплазми і початку утворення жовтка. Є молодші генерації. У самок, які вже нерестилися, можуть зустрітися ікринки, що не викинуті і резорбують.</p>
----	--	--

V	<p>Яєчники сильно збільшені в об'ємі. Займають більше половини – іноді до 2/3 порожнини тіла. Вони світло-оранжевого кольору, туго набиті непрозорими ікринками. Стінки яєчника прозорі. При розрізі, випадають окремі ікринки. Яйценесучі пластинки невиразні. Макроскопічно легко помітити перехід овоцитів старшої генерації в наступну фазу: в яєчнику, близькому до зрілості, серед жовтих каламутних овоцитів з'являються одиночні більш крупні і прозорі ікринки. Кількість таких ікринок поступово збільшується.</p>	<p>Овоцити старшої генерації знаходяться в кінці періоду трофоплазматичного зростання, тобто у фазі наповнення жовтком. Зустрічаються овоцити молодших генерацій. У статевозрілих риб іноді зустрічаються залишки дегенеруючих зрілих ікринок.</p>
	<p>Яєчники досягають максимальних розмірів, вони наповнені ікринками, які витікають при слабкому погладжуванні черевця (а після гіпофізарних ін'єкцій – і без будь-якого натискання). Ікринки, що оволювали прозорі, кулястої форми.</p>	<p>Овоцити старшої генерації досягли розмірів дефінітивів. Глибки жовтка зливаються (у більшості видів). Ядро невиразне. Овоцити виходять з фолікулів. Присутні овоцити молодших генерацій</p>
I	<p>Стадія вибою. Яєчник після нересту. Стінки яєчника спадаються, стають в'ялими, непрозорими, складчастими. Яєчники мають червонувато-синюватий колір. Спустошений яєчник сильно зменшується в об'ємі</p>	<p>Спорожнілі фолікули, дегенерируючі не викинуті зрілі ікринки, що залишилися, овоцити молодшої генерації</p>

Через деякий час запалення проходить, яєчник поступово стає світло-рожевого кольору і переходить в стадію II.

Шкала зрілості гонад самців

Стадія	Зовнішній вигляд гонад	Мікроскопічна будова
I ювенільна стадія (juvenis)	Статеві залози розвинені дуже слабо. Мають вид тоненьких ниточок. Неозброєним оком статі розпізнати неможливо	В тканині сем'яника розкидані статеві клітини – сперматогонії (сперматогоніальний період); формою і розмірам вони схожі з овогоніями ювенільних самок. Для розпізнавання статі потрібно звертати увагу на анатомічну будову гонад в цілому.

Стадія не повторюється

I	Сем'яники представлені тонкими білими або трохи рожевими тяжами. Кровоносні судини на їх поверхні не видні	Разом із сперматогоніями виявляються сперматоцити I порядку
II	Сем'яники на всьому протязі сплюснені, в кінцевому відділі звужені, щільні, пружні, білого або слабо-рожевого кольору від безлічі дрібних кровоносних судин. На поперечному розрізі сем'яник виглядає гострокутним, краї його не спливаються; молочка не виділяються	Мікроскопічна картина дуже строката. В сіменниках, наприклад, циприноидного типу разом з ампулами, заповненими сперматоцитами I і II порядку і сперматідами, зустрічаються ампули, що містять, сперматозоїди. Є і сперматогонії – на периферії.
V	Сем'яники великі, молочно-білого кольору, менш пружні. При натисканні на черевце виділяються невеликі краплі молочка. При розрізі сем'яників, їх краї спливаються від сперми, що виділяється.	Різко збільшується кількість ампул з сформованими сперматозоїдами. Інші ампули містять сперматіди, тобто продовжується асинхронність у розвитку клітин, що готуються до нересту.
	Нерестовий стан – сперма рясно виділяється при самому слабкому погладженні черевця або навіть без дотику.	Ампули сем'яників в периферійній і в центральній частинах заповнені сперматозоїдами, що лежать на периферії як би хвилями

	Сем'яники набувають найбільшого розміру, вони еластичні, молочно-білі або трохи кремового відтінку	
I	Вибій, стан після нересту. Сем'яники, звільнені від сперми, малі, м'які, рожеві з бурим відтінком, на розрізі різко незграбні	Потовщені стінки насінних каналців, які спалися. Просвіти каналців вузькі, в них зустрічаються окремі не викинуті сперматозоїди. В пристінних ділянках лежать сперматогонії

У риб, що нерестяться багаторазово, залози після нересту переходять в II стадію

Завдання

1. Розрахувати абсолютну плодючість риб.
2. Розрахувати робочу плодючість риб.
3. Визначити особливості ступеня зрілості статевих продуктів самок та самців риб.
4. Навчитись визначати ступінь зрілості за допомогою шкали зрілості риб.

Питання для самоперевірки

1. Що таке плодючість риб?
2. Дайте визначення абсолютній та робочій плодючості.
3. Для чого необхідна шкала зрілості гонад самців та самок риб?
4. На які групи поділяють самок залежно від ступеня зрілості статевих продуктів?
5. За якими ознаками проводять відбір риб, готових до нересту?
6. Як визначити стадію зрілості овоцитів?
7. Про що свідчить міграція ядра до анімального полюсу у овоцитів?
8. Перерахуйте загальноприйняті критерії ступеня зрілості плідників.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

ТЕМА: ЗАГОТІВЛЯ ГІПОФІЗІВ, ПРИГОТУВАННЯ ТА РОЗРАХУНОК ДОЗ ГІПОФІЗАРНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА ІН'ЄКЦІЙ

Теоретична частина

У практиці штучного рибозоведення застосовують три методи стимуляції дозрівання статевих продуктів у плідників риб: екологічний, фізіологічний і еколого-фізіологічний.

Екологічний метод був розроблений у 30-і роки А. Н. Державним. Він запровадив основи технології утримання плідників реофільних риб (осетрових, лососевих, коропових, окуневих) в садках з річковою проточною водою і виявив чинники, які сприяють дозріванню у них статевих продуктів. Це перш за все певна швидкість течії, кисневий режим, наявність нерестового субстрату (гальки). Було встановлено, що для статевого дозрівання необхідно підтримувати оптимальну, для нересту того або іншого виду риб, температуру.

Екологічний метод дозволяє витримувати плідників в штучних умовах до повного дозрівання. Отримувати від них зрілі статеві продукти високої рибоводної якості. Такий метод сьогодні широко застосовується при проведенні робіт із штучного відтворення лососевих, сигових та реофільних коропових риб.

Фізіологічний метод був розроблений на основі різносторонніх досліджень відтворювальної системи риб і її гормональної регуляції. В 40-х роках минулого століття, майже одночасно, в СРСР і в Бразилії був розроблений метод гормональної стимуляції дозрівання статевих клітин у риб і переводу їх в нерестовий стан. Він отримав назву *метод гіпофізарних ін'єкцій-MTVL*. В Радянському союзі він був розроблений науковою школою Л. Н. Гербільського і його учнів в 1937 р.

Для ін'єкцій використовують гіпофізи, які заготовлюють заздалегідь до початку нерестової компанії. З промислових уловів відбирають риб, що знаходяться в переднерестовому стані. Їх гіпофізи містять найбільшу кількість гонадотропінів. Риб забивають, вскривають черепну коробку і вилучають гіпофіз. (Рис. 3.1.).

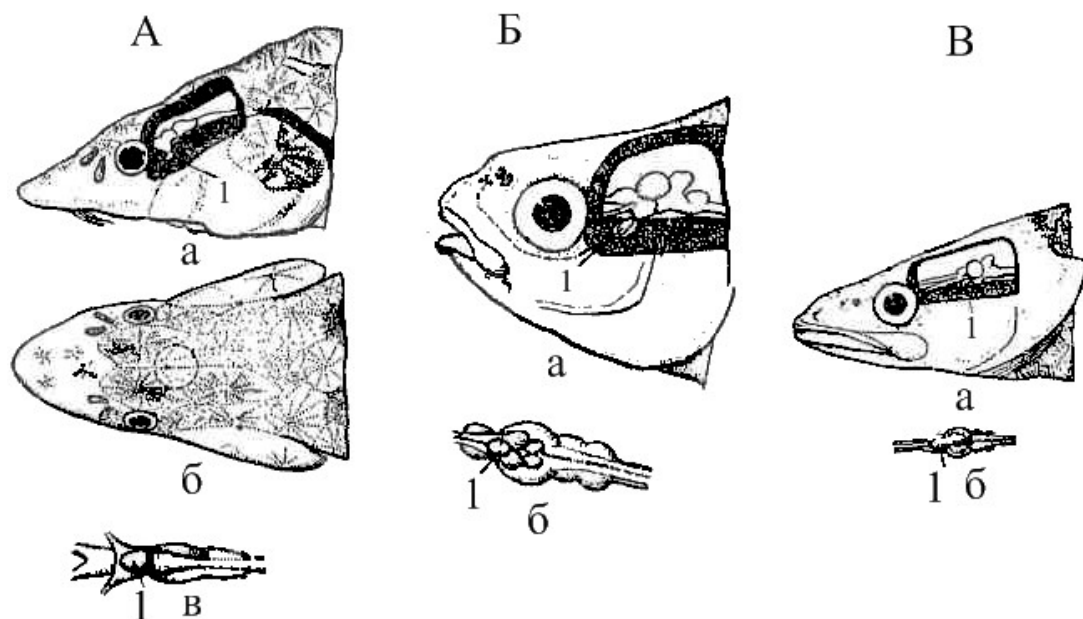


Рисунок 3.1 – Розташування мозку і гіпофізу у різних видів риби:

А — голова осетра: а — розташування мозку і гіпофіза (1) в черепі осетра;

б — вид голови осетра зверху (пунктиром позначено місце свердлення

отвору для витягання гіпофіза); в — мозок і гіпофіз осетра (вигляд знизу);

Б — голова ляща: а — розташування мозку і гіпофіза (1)

в черепі ляща (вигляд збоку); б — вигляд знизу;

В — голова судака: а — розташування мозку і гіпофіза (1)

в черепі судака (вигляд збоку); б — вигляд знизу

Гіпофізи зневоднюють і знежирюють хімічно чистим ацетоном, висушують і складають у флакони або пробірки, що добре закриваються. У такому стані гіпофізи зберігаються, не втрачаючи свою активність, протягом декількох років. Перед проведенням ін'єкцій гіпофізи розтирають в ступці до порошкоподібної маси, додають фізіологічний розчин. Для стимуляції статевого дозрівання роблять ін'єкцію певної дози суспензії гіпофізу в спинні м'язи або в порожнину тіла риби.

Встановлено, що гормони окуневих риби не стимулюють дозрівання статевих клітин коропових, препарати гіпофізу лососевих риби викликають дозрівання овоцитів у коропових (лише в дуже великих дозах). Із всіх вивчених гіпофізів риби тільки гіпофізи сазана (коропа) мають універсальною дією. Вони викликають дозрівання і овуляцію у різних видів риби, хоча при цьому дозу гіпофіза доводиться збільшувати. Доза гіпофізу залежить від його виду і активності. Гонадотропна активність визначається за допомогою тест-об'єктів, у якості яких використовують самок в'юна або самців жаб. Ін'єкція препарату гіпофіза самкам в'юна в зимові місяці, дає можливість отримати чітку позитивну і стабільну реакцію на дозрівання їх статевих залоз. Це дозволяє провести кількісні

вимірювання і визначити одиниці гонадотропної активності гіпофізу – **одиниці в'юна (ВО).**

Для визначення активності досліджуваного препарату гіпофіза в ОВ використовують декілька груп самок в'юна, масою 35-40 г, з гонадами ІV стадії зрілості. При температурі 16-18°C всім їм роблять одночасно гіпофізарну ін'єкцію різного дозування.

Мінімальна доза препарату гіпофізу (міліграм), яка викликає дозрівання і овуляцію овоцитів, однієї самки в'юна відповідає статевій одиниці.

Таким же чином перевіряють активність препарату гіпофіза на самцях жаб. Позитивною реакцією вважається поява рухомих сперматозоїдів в клоаці самця після ін'єкції суспензії гіпофіза в спинні лімфатичні мішки при температурі 18-22°C. При цьому гонадотропна активність гіпофізу виражається в **жаб'ячих одиницях (ЖО) – це така мінімальна кількість препарату гіпофізу (мг), яке викликає реакцію сперміації у одного самця жаби.** Біологічне тестування дозволяє оцінювати і порівнювати вміст гонадотропного гормону в різних партіях заготовлених ацетонованих гіпофізів. Зазвичай, 1 міліграм препарату ацетонованого гіпофізу сазана відповідає 1 ЖО, 1 міліграм ацетонованого гіпофізу осетра – 3,3 ЖО.

Заміна гіпофізів іншими препаратами. У зв'язку з скороченням в природних водоймищах запасів сазана і осетра, гіпофізи яких широко використовувалися в рибористві, виникла необхідність їх заміни іншими гормональними препаратами. Враховуючи відомий раніше ланцюг гормональних взаємодій, пошуки таких препаратів ведуться в трьох напрямках:

- Перше, пов'язано із заміною гонадотропіна гіпофізу риб іншими гонадотропними препаратами, що мають гіпофізарне або плацентарне походження.
- Друге, з використанням рилізінг-гормонів, які здатні активізувати власний гіпофіз риби.
- Третє, з використанням стероїдних гормонів, які безпосередньо впливають на овоцити, викликаючи їх дозрівання і овуляцію.

Як ефективний замітник гонадотропнів риб широко використовують хоріонічний гонадотропін. Цей гормон має плацентарне походження, він циркулює в крові вагітних ссавців і виводиться з організму нирками. Є дані про вплив на дозрівання і овуляцію у деяких видів риб біологічно активних речовин групи простагландинів, що виробляються різними органами і тканинами тварин, а також деяких медичних препаратів негормональної природи, таких, як кломифенцитрат.

У практиці розведення рослиноїдних і інших риб широко використовують препарат Нерести-1, що складається з синтетичного гонадотропін-рилизинг-гормону, з додаванням дофамина. Нерестін-1 —

універсальний препарат, що має стандартну активність. Випускають його у вигляді розчину. Дози введення: самкам в першу ін'єкцію 1 мл/рибу, в другу — 2 мл/рибу; самцям в одну ін'єкцію 1 мл/рибу.

Терміни дозрівання плідників після вирішуючої (другої) ін'єкції визначають за допомогою спеціальних графіків.

Еколого-фізіологічний метод, передбачає стимуляцію дозрівання статевих продуктів у плідників шляхом комбінованої дії на організм риби екологічних чинників зовнішнього середовища і гіпофізарних ін'єкцій, або інших гормональних препаратів. Застосування такого комбінованого методу дає можливість отримувати в певний день і навіть годину необхідну (очікувану) кількість ікри і сперми, що дозволяє планувати роботу кожного ланцюга біотехнічного процесу рибоводного підприємства.

Обладнання для виконання лабораторної роботи:

Дошка для розтину, гострий ніж, ножиці фізіологічні, скальпель, пінцет гладкий, посуд для гіпофізів, ацетон, спирт, формалін, одноразові шприци, ацетоновані гіпофізи, розчин соляної кислоти, дистильована вода, порцелянові ступки.

Завдання

1. Вивчити методи відбору гіпофізів для гіпофізарних ін'єкцій.
2. Відібрати і зафіксувати декілька гіпофізів, детально замалювати (сфотографувати) і описати весь процес роботи.
3. Провести гіпофізарну ін'єкцію, ретельно описати і замалювати (сфотографувати) усі етапи процесу.

Питання для самоперевірки

1. Які методи стимуляції дозрівання статевих продуктів у плідників риб Ви знаєте?
2. Охарактеризуйте екологічний метод.
3. Охарактеризуйте фізіологічний метод.
4. Що таке гіпофіз?
5. Що таке одиниці в'юна?
6. Що таке жаб'ячі одиниці?
7. Охарактеризуйте еколого-фізіологічний метод.
8. Як розрахувати дозу гіпофізарного розчину?
9. В яку частину тіла риби роблять гіпофізарні ін'єкції?
10. Якими препаратами замінюють гіпофізи?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

ТЕМА: СПОСОБИ ОТРИМАННЯ ЗРІЛИХ СТАТЕВИХ ПРОДУКТІВ, МЕТОДИ ЗАПЛІДНЕННЯ ІКРИ

Теоретична частина

Способи отримання зрілих статевих продуктів

Робота з самками. При отриманні зрілої ікри від самок крупних осетрових риб (білуги, осетра, севрюги, шипа), застосовують **спосіб розтину**. Зрілих самок вбивають ударом калатала по голові, обезкровлюють, роблячи ножом глибокі надрізи на потилиці, зябрах і хвостовій артерії, а після витікання крові рибу підвішують на блоці. Коли кров повністю стекла, рибу омивали водою, досуха витирають рушником і ножом розрізають черевце від генітального отвору вгору на 10-15 см. В заздалегідь підставлений посуд — чистий і сухий таз з самки вилучають всю ікру. Грудкувату (незрілу) ікру обережно пташиним пером відокремлювали від зрілої ікри, а рибу потім відправляють на технологічну переробку харчової продукції.

В даний час у зв'язку з труднощами заготівлі плідників осетрових з природних популяцій на більшості рибоводних підприємств використовують технологію прижиттєвого отримання ікри.

Перший варіант **прижиттєвого способу** отримання ікри осетрових риб розроблений І. А. Бурцевим. На черевній стороні у живої самки (іноді риб наркотизують) роблять розріз довжиною до 15 см., через яких з черевної порожнини вилучають всю зрілу ікру. Після цього рану знезаражують і зашивають. Після такої операції, зазвичай, самка залишається живою і через 1-2 роки від неї можна знов отримувати якісну ікру.

Другий варіант прижиттєвого отримання ікри від самок осетрових розроблений С. Б. Подушка. Після анестезії плідника скальпелем роблять невеликий надріз одного з яйцепроводів для зціджування зрілої ікри. Такий розтин швидко загоюється і плідники можуть використовуватися багаторазово. Обидва методи вимагають спеціальної кваліфікації при здійсненні рибоводно-хірургічних операцій з плідниками.

Досить часто в рибництві застосовують **комбінований метод відбору статевих продуктів**. При цьому способі основну частину зрілої ікри у риб беруть способом відціджування, а частину, що залишилася, — шляхом розтину черевної порожнини. Такий метод більшою мірою застосовується

в промисловому лососевництві, особливо при використанні для процесу розведення тихоокеанських лососів.

Біологічні основи роботи з самцями риб. Одночасно з процесом отримання ікри від самок ведуть роботу з самцями, відщипуючи сперму в пробірки, хімічні стакани, або бюкси, які також повинні бути абсолютно чистими і сухими, інакше відбудеться активація спермійів і передчасна втрата їх здатності, до запліднила. Сперма у риб виділяється назовні порціями. Об'єм одноразово продукованої порції служить одним з провідних якісних показників при оцінці продуктивної діяльності самців.

Значно розрізняється у різних риб і концентрація спермійів в одиниці об'єму, що залежить від ступеня розбавлення спермальною рідиною. У більшості риб концентрація спермійів в еякуляті вельми висока — від 5 до 30 млн./мм³, що більше, ніж у тварин з внутрішнім заплідненням. За зовнішньою ознакою сперма осетрових риб має консистенцію молока, а сперма костистих риб — лососевих, сигових, коропових—частіше схожа на сливки. Сперматозоїди нерухомі, поки знаходяться в спермальній рідині. У оваріальній рідині, витікаючій в посуд разом з ікрою, сперматозоїди малоактивні і не витрачають властиву їм енергію. В оваріальній рідині оболонки ікринок не набухають, тому мікропилі не закриваються.

Щоб уникнути випадкового попадання вологи до ікри і неминучої активації порцій спермійів, що поступають, відщипувати сперму слід в окремий посуд і лише потім змішувати її з ікрою.

Проте, опиняючись у воді після її заливання в таз з ікрою, заздалегідь перемішаною із спермою, сперматозоїди відразу ж активізуються і починають енергійно, але недовго плавати.

Тривалість періоду активного руху спермійів у воді є показником їх активності. У періоді активності виділяють дві стадії: енергійної поступальної ходи і поступово затухаючого коливального руху. У різних видів риб спермії при попаданні у воду зберігають активність протягом різного часу — від декількох десятків секунд до декількох годин.

Якість сперми риб оцінюють по комплексу показників: об'єму еякулята, кольору, консистенції, концентрації спермійів в одиниці об'єму і їх активності.

Об'єм еякулята вимірюють за допомогою мірного посуду з точністю до 0,1 см³. Колір і консистенцію оцінюють візуально безпосередньо під час відщипування сперми. При візуальній оцінці сперму виділяють три групи:

- перша група (густа сперма) — залежно від виду риб тече щільним струменем або падає густими краплями і має вид молока злегка жовтуватого кольору, що згущує;
- друга група (середня сперма) — має молочно-білий колір і тече як звичайне молоко;

– третя група (рідка сперма) — має вид розбавленого молока голубуватого відтінку.

Концентрація спермійів в одиниці об'єму еякулята визначається двома способами — окомірним підрахунком в рахунковій камері Горяєва і фотоелектрокалориметричним методом. Підрахунок спермійів в камері Горяєва здійснюють при невеликій кількості самців (не більше 50 екз.). При цьому методі визначення концентрації спермійів на дослідження однієї проби витрачається 10—15 хв. (рис.4.1).

Фотоелектрокалориметричний метод зручний при обробці великої кількості проб. На дослідження однієї проби витрачається близько 5 хв.

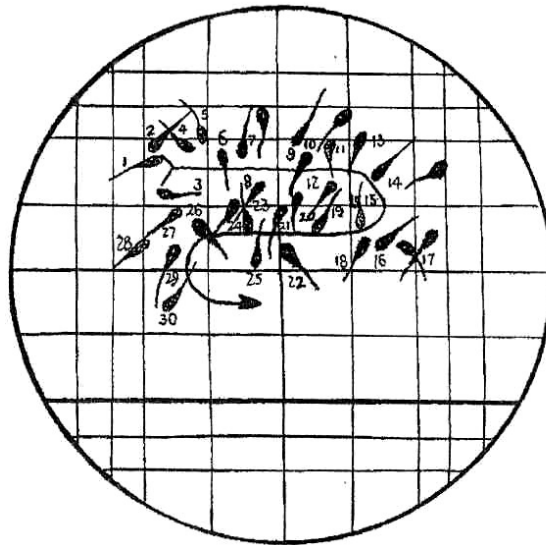


Рисунок 4.1 – Схема прорахунку спермійів у полі зору мікроскопа

Оцінку ступеня рухливості сперматозоїдів визначають за допомогою мікроскопа. Спостерігаючи в мікроскоп, сполучають препаративною голкою краплю сперми з водою. Потрапивши у воду, сперматозоїди стають рухомими і швидко розповсюджуються в краплі води. Чим менша активність сперми, тим повільніше відбувається проникнення її в краплю води і тим гірша її якість.

Ступінь рухливості сперми визначають за п'ятибальною шкалою. Сперма, в якій всі сперматозоїди рухомі і більшість з них рухається поступально, оцінюється 5 балами. У 4 бали оцінюється сперма, що має поступальну ходу, але у полі зору 10-15% спермійів мають лише коливальний рух. Сперма, що оцінюється в 3 бали, характеризується 50—60% спермійів з поступальною ходом і 30—40% з коливальними рухами. Сперма в 2 бали має одиничні спермії з поступальною ходом і 70-75% нерухомих. Бал 1 — всі спермії нерухомі.

Для штучного запліднення ікри використовують сперму, що оцінюється 5 і 4 балами, в окремих випадках — 3 балами. Решта варіантів для практики рибництва непридатна.

Завдання

1. Вивчити способи отримання зрілих статевих продуктів самців та самок риб.
2. Охарактеризувати способи визначення ступеня зрілих статевих продуктів самок риб.
3. За допомогою препарату провести візуальну оцінку сперми риби.
4. За характеристиками визначити до якої групи відноситься сперма риби.

Питання для самоперевірки

1. Які існують способи отримання зрілих статевих продуктів?
2. Охарактеризуйте спосіб розтину.
3. Охарактеризуйте технологію прижиттєвого отримання ікри.
4. Дайте характеристику комбінованому методу відбору статевих продуктів.
5. На які групи поділяють сперму при візуальній оцінці?
6. Якими способами визначається концентрація сперміїв в одиниці об'єму еякулята?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

ТЕМА: МЕТОДИ ЗАПЛІДНЕННЯ ІКРИ

Теоретична частина

Запліднення — це злиття сперміїв з яйцеклітиною (яйцем). Природне запліднення відбувається у водоймищі, в процесі нересту риб. Штучне запліднення, коли ікру, що отримали від зрілої самки, штучно запліднюють спермою, яку відцідили у зрілого самця. У водному середовищі сперматозоїд, що проник, в мікропіле ікри проходить всередину яйцеклітини, де відбувається кариогамія — злиття жіночої і чоловічої клітин, або запліднення. В результаті утворюється нова клітина — зігота, яка в результаті ділень перетворюється на багатоклітинний зародок (ембріон).

У костистих риб даний процес забезпечується завдяки наявності одного мікропіле. Сперматозоїд, що проник першим, заповнює весь мікропілярний канал і перешкоджає проникненню інших сперміїв (рис. 5.1). В процесі кариогамії (злиття речовини спермію з цитоплазмою яйцеклітини) починається виділення речовин кортикальних клітин, тому всі інші спермії, що потрапляють в мікропіле, аглютинують. У костистих риб діє механізм блокування поліспермії. Запліднення у них моноспермне.

Перед заплідненням і відмиванням ікру розподіляють по тазах, де і проводять ці процеси. Запліднення ікри лососів, форелі, сигів, коропа, амура, товстолобиків і щуки проводять «сухим» **російським способом**, розробленим В. П. Враським. Визнано оптимальним в один таз розміщувати до 0,6—0,8 кг ікри сигових риб і коропа, 1-1,5 кг ікри лососів і форелі, для запліднення якої необхідно від 3-4 до 5-6 мл сперми від декількох самців. Суміш сперми дозволяє підвищити відсоток запліднення ікри за рахунок явища «вибірковості» яйцеклітин.

Сперму обережно розподіляють (розміщують) по всій ікри пташиним (гусячим, качиним) пером протягом 4—5 хв, а потім по краю тазу підливають воду, одночасно швидко, але обережно перемішуючи ікру протягом 1—1,5 хв. Після чого воду із спермою зливають, а запліднену ікру багаторазово відмивають чистою, фільтрованою водою. Якщо ікра клейка (коропа, щуки, осетрові та ін.), її знеклеюють спеціальним розчином. Для лососевих і деяких сигових, з ікра яких має незначну клейкість, її знеклеєння зазвичай не застосовують.

Температура води в процесі штучного запліднення повинна бути оптимальною для кожного виду риб — для сигових 1°C і нижче. Причому для чира відмічений діапазон оптимальних температур в ембріональний

період від 0,2 до 0,8°, для коропа 18-22°, рослиноїдних риб 22—25°, канального сома 25—30°C і так далі

Сперму збирають в сухі чисті судини, бажано від кожного самця окремо, проте запліднюють ікру сумішшю сперми від 3-5 самців, після оперативної перевірки її якості.

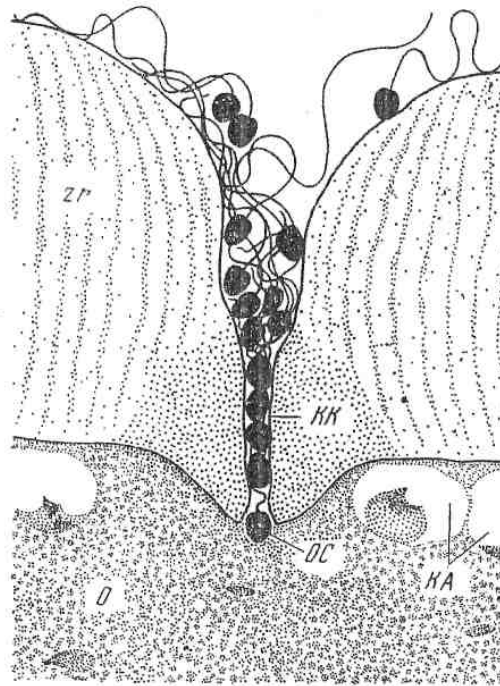


Рисунок 5.1 – Яйце озерної форелі із спермієм, що запліднив, в глибині мікропілярного каналу:

НО — кортикальні альвеоли; КК — кінцевий каналець мікропіле;
Про — ооплазма; ОС — спермій, що запліднив; zr — промениста оболонка

У осетроводстві суміш сперми з розрахунку 10 мл сперми на 1 кг ікри, перш ніж помістити в таз з ікром, розводять в 200 разів, тобто в 2 л води. Ікру ретельно перемішують з розведеною спермою протягом 4-5 хв, після чого воду із залишками сперми зливають і приступають до знеклеєння ікри.

Кращі результати дає запліднення відразу після отримання зрілої ікри. Застосування **напівсухого способу** запліднення ікри осетрових має перевагу в порівнянні з іншими способами. Основним недоліком **мокрого способу**, розробленого Якобі, полягає в тому, що яйця активуються під впливом води ще до запліднення, і вони втрачають здібність до запліднення. У осетрових риб ікра має декілька мікропілярних каналів, що при надлишку спермій в процесі штучного запліднення може привести до одночасного проникнення в яйцеклітину декількох чоловічих клітин (Рис. 5.2).

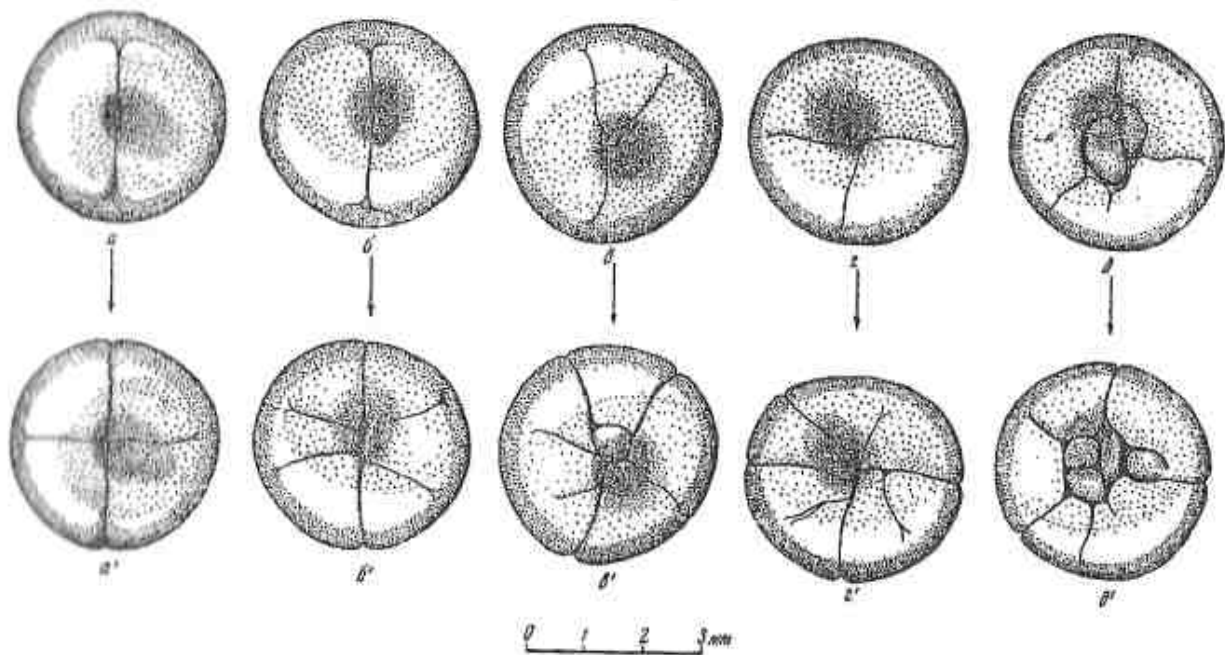


Рисунок 5.2 – Порушення дроблення, пов'язані з умовами запліднення.
 Яйця осетра на стадіях першого (а—d) і другого (а'—d') дроблення:
 а і а' — нормальні моноспермні, решта поліспермні.

Це веде до поліспермії, що у результаті закінчується загибеллю ембріона. Тому для осетрових риб у зв'язку з явищем поліспермії, застосовується «напівсухий» спосіб запліднення шляхом попереднього розбавлення відцідженої сперми водою.

Контроль за біологічною якістю результату штучного запліднення и ікри осетрових ведуть за допомогою оптики, в наступній послідовності проб: на стадіях кінця гастрюляції і початку нейруляції, в період закладки серця і перед початком вилуплення.

Кожну проби беруть після перемішування ікри в апараті в межах 50-100 ікринок. Після ретельного аналізу ембріонів проби визначають відсоток нормального розвитку і величину відходу. Відхід для першої проби означатиме кількість незапліднених яєць. У другій пробі за часом відокремлюють виявлені дегенеруючі яйця і загиблі ембріони, а також визначають наявність укорочених, недорозвинених зародків, що більше пов'язано не з умовами інкубації, а з біологічною якістю ікри. Остання за часом проба дозволяє визначити відсоток нормально розвинених передличинок і обчислити який відсотків складають фенодевіанти (виродки). Високий відсоток фенодевіантів і загибель ембріонів осетрових

і костистих риб часто спостерігаються при штучному відтворенні внаслідок невідповідних гідрологічних умов, несприятливої температури під час витримки самок в рибоводних ємкостях (ставках, басейнах, лотках, садках). Проте в природних умовах прояв ембріональної смертності — також явище звичайне, воно обумовлене не тільки дією несприятливих екологічних чинників, але генетичною природою риб, що забезпечує елімінацію нежиттєстійких (неповноцінних) особин вже на ранніх стадіях онтогенезу.

Завдання

1. Вивчити способи запліднення ікри.
2. Схематично зобразити процес запліднення яйця спермієм риб.
3. За допомогою наочного матеріалу описати причини та умови порушення дроблення яйця риб.

Питання для самоперевірки

1. Що називається заплідненням ікри?
2. Перерахуйте способи запліднення ікри.
3. Дайте характеристику «сухому» російському способу.
4. Охарактеризуйте напівсухий метод запліднення ікри.
5. Охарактеризуйте мокрий метод запліднення ікри.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

ТЕМА: ІНКУБАЦІЯ ІКРИ, НОРМАТИВИ ІНКУБАЦІЇ ІКРИ, ІНКУБАЦІЙНІ АПАРАТИ

Теоретична частина

Біологічний контроль в рибистві здійснюється постійно. Особливо він необхідний при аналізі процесу інкубації ікри, коли рибоводи спостерігають за динамікою розвитку ембріонів і забезпечують оптимальний процес інкубації.

Провідні екологічні чинниками які визначають результативність ембріонального розвитку, – абіотичні: вміст у воді кисню, вуглекислоти, аміаку, температура води та ін. можуть привести до порушень в ході ембріогенезу, та окремих його стадій (підвищеної загибелі ембріонів, зупинці розвитку та іншим порушенням).

Відмічено, що на інкубацію ікри осетрових, лососевих і деяких інших риб негативно впливають прямі сонячні промені, тому для успішного протікання ембріогенезу ікру цих видів інкубують в темряві, або в умовах слабого освітлення. В ході інкубації ікри в заводських умовах здійснюють регулювання витрати води в апаратах, очищення ікри від мула, видалення загиблих ікринок, профілактична обробка ікри препаратами для недопущення її поразки сапролегнією.

Велике значення для успішної інкубації має гідрохімічний склад води. Наприклад, вода для інкубації ікри осетрових повинна бути гідрокарбонатною з сумою іонів не більше 0,3-0,4 г/дм³. Активна реакція в межах 7,0-8,0, окислення до 10 мг О/дм³, а насичення води киснем не нижче 80%. Якщо ці вимоги не дотримуються, то відбуваються різні порушення в розвитку ембріонів.

В біотехніці лососевництва пред'являються ще більш жорсткі вимоги до абіотичних чинників середовища.

Догляд за ікрою в період інкубації полягає в забезпеченні відповідного світлового режиму, певної якості води, що подається, постійного відбору мертвої ікри.

При штучному розведенні сигових риб ікру після закінчення процесів запліднення і набухання слід зберігати на базах збору при оптимально низькій температурі, нетривалий час. Нормальний розвиток більшості сигових риб протікає в температурному діапазоні 0,2-0,8, максимум 1,0°C. Підвищення температури води вище вказаних величин в 1,5-2 рази, особливо на ранніх етапах ембріогенезу, небажано, оскільки відбувається нерівномірний розвиток органів зародка, що утворюються ендодермою, мезодермою і ектодермою. В результаті збільшується відсоток потворних

ембріонів, а вихід життєстійких ембріонів (передличинок) суттєво знижується.

До заходів профілактики відносяться постійні спостереження, направлені на запобігання виникнення сапролегніозу (мікозна хвороба ікри) або вживання термінових заходів ліквідації цього грибкового захворювання. Сапролегніоз та інші захворювання виникають зазвичай в результаті порушення ветеринарно-санітарних правил або біотехнології, що забезпечує нормальний (оптимальне) розвиток ембріонів. В першу чергу це стосується температури води, її насичення киснем, та іншими газами, ступеня освітленості, проточності, хімічної якості води та інших чинників.

Попередження захворювання інкубованої ікри сапролегнією, паразитуючої на поверхні оболонки ікри, досягається шляхом проведення дезинфекції інкубаційних апаратів перед закладкою ікри, перевірки якості роботи бактерицидних установок. З антисептиків використовують 3% розчин повареної солі (NaCl), або нормовані розчини метиленового синього, марганцевокислого калія, слабкого розчину формальдегіду, малахітового зеленого та деяких інших препаратів.

В процесі штучного відтворення цінних видів риб можуть виявлятися аномальні цитологічні порушення зародка, підвищена частота мутацій. Найбільше число аномальних мітозов реєструється на стадіях середньої і дрібноклітинної морули. Частково даний деструктивний чинник на рибозаводах можна зменшити за допомогою ПАБК (параамінобензойної кислоти). З метою профілактики і підвищення стійкості риб до несприятливих умов зовнішнього середовища на ранніх стадіях онтогенезу ПАБК застосовують як біостимулятор. Вона є речовиною, що відноситься до розряду вітамінів, нетоксична і немутагенна. ПАБК є генетично активним з'єднанням і відновлює первинну хромосомну структуру організму, що розвивається. Цей біостимулятор позитивно впливає як при високих (18—22°C), так і при низьких (0,5-2,0°C) температурах, що дає можливість його широкого застосування в осетроводстві, лососевництві, карпівництві та сигівництві.

Дія ПАБК чітко проявляється на показниках загальної життєздатності риб:

- підвищується якість і знижується відсоток загибелі інкубованої ікри на 10—30%;
- підвищується стійкість личинок до несприятливих абіотичних чинників середовища;
- збільшуються виживання і темп зростання молоді при вирощуванні в садках, лотках і ставках.

При обробці ікри сигових риб ПАБК вносять безпосередньо в воду після запліднення в період набухання заплідненої ікри, а ікру осетра і

коропа обробляють в процесі знеклеєння. Розчини препарату ПАБК готують на звичайній воді.

Обробку ікри сигових проводять в розчинах при концентраціях 0,001-0,0001%. Тривалість обробки для ікри чира становить – 4 г, пеляді – 2 г. Ікру осетра обробляють при концентрації ПАБК 0,0001% з експозицією 1-2 г, а ікру коропа при концентрації 0,001% протягом 1 г. По аналогічній схемі проводять обробку передличинок і личинок осетрових, сигових і коропових риб.

Значне зниження відходу і збільшення відсотку виживання личинок осетрових і лососевих досягається при додаванні в корм аскорбінової кислоти у поєднанні з вітамінами Е, В, і Н, причому співвідношення їх концентрацій в стартових кормах повинно бути наступним: біотіна 3 мг/кг, тіаміну 30 мг/кг, токоферолу 50 мг/кг і аскорбінової кислоти – 500 мг/кг.

Нормативи інкубації ікри

Тривалість ембріонального розвитку ікри риб залежить від її приналежності до нерестуючих екологічних груп – весінньо-літніх або осінньо-зимових. Наприклад, інкубація ікри білого амура або білого товстолобика при температурі води 22°C триває 34–36 г, коропа при 18°C близько 3,5 діб, ембріогенез більшості сигових риб при 0,2–1,0°C – 170—190 діб. В рибоводній практиці важливо знати закономірності біологічної залежності процесу інкубації від різних факторів середовища. Наприклад висока температура значно скорочує період ембріогенезу. Для кожного виду встановлена сума градусо-годин (або градусо-днів) ембріонального розвитку, що дозволяє орієнтовно встановити час вилуплення ембріонів (передличинок) з оболонки.

Особливості процесу інкубації ікри залежать від технології її підготовки до інкубації, знеклеєна вона, або буде інкубуватися в клейкому стані. Приналежністю риби до тієї або іншої екологічної групи (по характеру нересту), біологічними особливостями ікри (клейкість, плавучість, стійкість до механічних дій та ін.), відношенню до чинників навколишнього середовища (вибагливість до вмісту розчиненого в воді кисні, рН, умов освітлення, солоності, тощо). В залежності від перелічених особливостей ікри, процес інкубації може проходити в апаратах нерухомо (ікра лососів, форелі), в русі (ікра сигових, коропа, рослиноїдних риб), в умовах дрейфу, або періодичного підкидання яєць вгору струмом води (осетрові). В залежності від специфіки видових адаптацій при інкубації ікри застосовуються різні конструкції апаратів, принципи водообігу і методи інкубації. В одних випадках це конструкції які не припускають ніякого механічного впливу і забезпечують захист від прямих променів світла, в інших – системи, що забезпечують постійне перемішування ікри і допускають природне освітлення.

Інкубаційні апарати

Сучасна світова практика розведення риби, не дивлячись на всю її різноманітність, використовує фактично два способи інкубації ікри, відповідно біотехніці розведення. Перший, **не заводський спосіб** передбачає інкубацію ікри в апаратах, що встановлюються безпосередньо у водоймі. Цей спосіб широко застосовується в польових умовах для підвищення рибопродуктивності рік, озер і великих водосховищ.

Заводський спосіб передбачає інкубацію ікри в апаратах, конструкційні характеристики яких максимально відповідають видоспецифічним особливостям конкретних видів риби. Такі апарати використовують на спеціальних рибозплідних підприємствах для штучному розведення риби, в заводських умовах.

У зв'язку з цим інтерес уявляють основні типи і конструкції інкубаційних апаратів, що використовуються як в природних, так і заводських умовах.

Для інкубації ікри в природних умовах використовують Апарат СЕС-ГРІНА, Апарат ЧАЛІКОВА.

Інкубація ікри в заводських умовах. На всіх сучасних рибозплідних підприємствах, які займаються штучним розведенням риби, ікру інкубують в інкубаційних апаратах, які встановлені в спеціальних цехах. Такі цехи обладнані водопостачаючою і водоспускною мережею, іноді замкнутою системою водозабезпечення.

Безпосередньо в інкубаційному цеху, де встановлені інкубаційні апарати, необхідно забезпечити неяскраве електричне освітлення, а вікна завісити шторами, які виключають попадання в цех прямих сонячних променів. Вода, яка подається до інкубаційних апаратів, повинна бути чистою, за своїми фізико-хімічними показниками відповідати характеристикам, необхідним для нормального ембріогенезу і раннього постембріогенезу конкретного виду риби. Для уникнення попадання хвороботворних організмів в інкубаційні апарати бажано завчасне проходження води через бактерицидні установки або використання води із артезіанських свердловин, що зменшить витрати при інкубації і усуне проблеми, пов'язані з карантинним рядом рибозплідних підприємств.

Перед конкретним розглядом різноманітних конструкцій інкубаційних апаратів, що існують, їх можна умовно розділити на групи за цільовим призначенням:

- ✓ Апарати для крупної ікри лососевих, яка при інкубації знаходиться в нерухомому стані (сьомга, кумжа, горбуша);
- ✓ Апарати для дрібної ікри лососевих, яка при інкубації знаходиться в безперервному русі (білорибця, пелядь, омуль);

- ✓ Апарати для знеклеєної ікри осетрових і коропових (рибець, осетер, білуга) яка почергово, через визначений час, знаходиться то в стані спокою, то руху;
- ✓ Апарати для не знеклеєної ікри осетрових і коропових, яка при інкубації знаходиться в нерухомому стані (білуга, осетер, сазан).

До інкубаційних апаратів призначених для інкубації ікри в заводських умовах відносяться: апарат КОСТА, апарат ШУСТЕРА, апарат Вільямсона, лоточний апарат, бетонний жолоб, апарат Аткинса, апарати далекосхідного типу, апарат ІМ, апарат ВЕЙСА, водострумний апарат Казанського, апарат Ющенка зразка 1959 року, апарат Ющенка зразка 1961 р. (Ю-4), апарат Ющенка зразка 1954р. (Ю-2), лотковий апарат Садова-Коханської, апарат ІВЛ-2, апарат «Дніпро-1», універсальний апарат «Амур».

В зв'язку з цим значимість інкубаційних апаратів для штучного відтворення переоцінити важко, особливості їх конструкції повинні гарантувати нормальний процес інкубації ікри, відповідний видоспецифічним особливостям, підтримувати оптимальні фізико-хімічні параметри середовища, ефективно видаляти продукти метаболізму, забезпечувати розвиток ембріонів в умовах наближених до оптимуму.

Завдання

1. Вивчити способи та нормативи інкубації ікри.
2. За допомогою наочного матеріалу дати характеристики інкубаційних апаратів з описанням їх переваг та недоліків.

Питання для самоперевірки

1. Що таке інкубація ікри?
2. Які нормативи інкубації ікри Ви знаєте?
3. Перерахуйте відомі Вам інкубаційні апарати.
4. Як поділяються інкубаційні апарати?
5. Назвіть недоліки та переваги апаратів при інкубації ікри різних риб.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

ТЕМА: ВИРОЩУВАННЯ ПЕРЕДЛИЧИНОК ТА ЛИЧИНОК РИБ

Теоретична частина

Біологічний процес вилуплення зародків риб з яєчних оболонок здійснюється за допомогою особливого ферменту хорионази, що ослаблює і розчиняє оболонки. З моменту вилуплення рухомий ембріон називають передличинкою.

Поява ферменту в перівітелліновій рідині у зародків костистих риб пов'язана з діяльністю одноклітинних залоз, розташованих в покривах голови і передньої частини жовткового мішка. Вони з'являються задовго до вилуплення, поступово їх чисельність збільшується і досягає максимуму на стадії вилуплення (Рис. 7.1). В цей час відбувається секреція ферменту із залоз в перівітелліновий простір, розчинення оболонок і вихід зародка у воду. Причому виділення ферменту в перівітелліновий простір є рефлекторною реакцією зародка в період вилуплення на присутність оболонок.

В природних умовах інкубації на щільному дні річки з швидкою течією у літофільних **осетрових риб** зародки, що вилупилися, роблять енергійні рухи ввєрх, ніби здійснюють стрибки—«свічки», тобто, спливаючи і падають на дно. Така поведінка покращує дихання зародків і забезпечує їх знос вниз за течією. Зпливання – «свічки» передличинок осетрових спостерігаються і в умовах штучного відтворення в рибоводних ємкостях.

Вихід передличинок у осетрових після закінчення інкубації ікри із застосуванням методу обезклеювання зазвичай складає 65—70%, після чого їх розміщують в садки–виросники, встановлені у висококормних ставках, або в лотки і басейни, що забезпечуються чистою добре аерованою водою. Догляд за передличинками полягає в щоденному видаленні загиблих ембріонів, очищенні дна і стінок ємкостей від мула, що осів, водоростей. Через 5–7 діб ембріони переходять на зовнішнє живлення дрібними організмами зоопланктону.

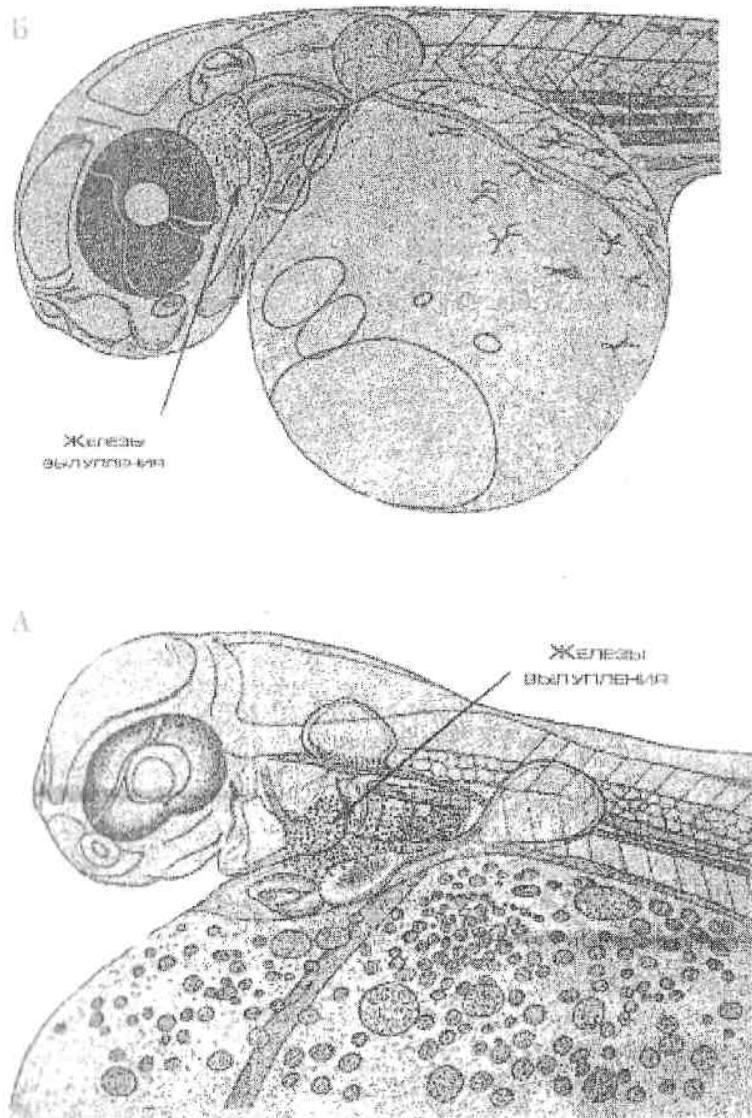


Рисунок 7.1 – Залози вилуплення у ембріонів риб:
A — залози вилуплення у зародка лосося (стадія почала пігментації очей);
Б — залози вилуплення у зародка сига (стадія пігментованих очей).

У **лососевих** вилуплення ембріонів з ікринки відбувається після накопичення певної суми градусів. Вільні ембріони, що звільнилися від оболонок, проходять в своєму розвитку 10-12-добовий етап пасивного стану, що характеризується ендогенним живленням і малою рухливістю. Передличинки після виходу з оболонок мають округлий жовтковий мішок, покритий густою мережею кровоносних судин. У жовтку є крупні і дрібні жирові краплі яскраво-оранжевого кольору. Залози вилуплення зникають відразу після виходу зародків з оболонок. Тіло у зародків напівпрозоре, боки сірувато-голубуватого кольору, а на поверхні голови і уздовж спини забарвлення темніше, зеленувато-жовтуватого відтінку. У тілі видно кровоносні судини з інтенсивно забарвленою кров'ю. Мережа капілярів

видно на голові і в сегментах тіла. Травний тракт має вид прямої трубки. Добре розрізняються жовчний міхур, зачатки селезінки і підшлункової залози. Зябровий апарат недорозвинений, зяброві кришки закривають тільки перші 2-3 пари зябрових дуг. Предличинки безладно розташовуються на дні інкубаційних апаратів, лежать на боці, не реагують на світло і течія. До кінця етапу пасивного стану довжина передличинок складає 20-24 мм, залишок жовтка – близько 50%.

На початку наступного активного етапу, що триває в середньому 10 діб, зовнішній вигляд рухомих зародків міняється, тіло стає менш прозорим, набуваючи зеленуватого відтінку, збільшуються довжина, маса, розміри зябрових пелюсток, з'являються зяброві тичинки, зяброві кришки майже повністю закривають всі зяброві дуги. Змінюється поведінка передличинок. Вони повертаються спинками вгору і починають шикуватися віями, орієнтуючись в один бік, а потім розходяться до стінок і кутів апаратів, утворюючи там скупчення. Предличинки періодично піднімаються до поверхні води, заковтують повітря, яким заповнюється плавальний міхур. Відбувається інтенсивний розвиток пігментації тіла. Зростає кількість меланофорів на спинці і боків тіла. Скупчення пігментних плям характеризують завершення активного етапу передличинки і готовність до переходу на розвиток за участю екзогенного живлення, що характеризує перехід в біологічний стан личинки.

Вільні ембріони сигових, що вилуплюються в апаратах Вейса струмом води виносить у верхні шари, і через злив по направляючому жолобу вони концентруються в лотку (басейні) личинкоуловлювачі. По мірі накопичення рухомих ембріонів їх переносять в ємкість-відстійник з слабо проточною водою, тому оболонки осідають на дно, і потім їх прибирають сифоном, а передличинок пересаджують в лотки для витримки і підрощування.

Витримка проводиться в сітчастих садках з газу № 13-17 з постійною проточністю при температурі води 1-2° (чира), і 4-8° (муксуна, сиг, пелядь, ряпушка, рипус, омуль). Витримка вільних ембріонів в умовах сигових рибзаводів триває 2-4 діб. Щільність посадки передличинок і проточність залежать від температури води і вмісту в ній кисню. Аерована вода подається в лотки і басейни знизу, але при верхньому зливі. Освітлення лотків і басейнів з передличинками сигових риб повинне бути рівним, неяскравим, а зміст кисню в межах 12-14 мг/л. Через три доби після вилуплення перед личинок починають годувати доступною по розмірам живою їжею безпосередньо в лотках і басейнах, або оперативно перевозять їх у вирощувальні водоймища.

На заводах рибоводів Нижньої Волги передличинок білорибичі після вилуплення, розміщують в садках-личинкоуловлювачах, де в 3-4 добовому віці починають годувати зоопланктоном.

Масове вилуплення ембріонів **коропа** відбувається дружно протягом 2-3 годин. При затримці викльову, що більшою мірою зумовлено зниженням температури, рибоводи використовують штучне стимулювання процесу викльову. Для цього після появи перших передличинок, що виклюнулися, різко скорочують подачу води в інкубаційні апарати, а це приводить до погіршення умов дихання ембріонів і стимулює інтенсивну діяльність залоз вилуплення, виробляючих хорионазу. В результаті відбувається швидке розчинення оболонок ферментом, що забезпечує масовий вилуплення передличинок.

Зародки фітофільних риб – **коропа, сазана, щуки** та інших після виходу з оболонки ікринки проходять стадію спокою, прикріплюється до рослин на 1-3 діб. Для цього вони забезпечені спеціальними органами приклеювання, які виділяють клейку речовину, що дозволяє їм міцно утримуватися в поверхневому шарі води, насиченому киснем. У коропових риб органи приклеювання представлені тільки одноклітинними залозками, розташованими поверхнево в шкірі голови попереду і нижче за очі зародка, а у щуки орган приклеювання – група залозистих клітин, розташована під очима.

Коли в апаратах починається масове вилуплення перед личинок, коропа переносять в лотках (басейнах), в поверхневому шарі води яких розвішені тонкі смуги-екрани для проходження стадії спокою.

Закінчення стадії спокою у ембріонів коропа співпадає з розсмоктуванням жовткового мішка і наповненням плавального міхура повітрям. Швидкість цих процесів залежить від температури води: при 22°C споживання зовнішньої їжі починається через дві доби, а при 18-20°C – через три.

Ембріони **рослиноїдних риб**, що звільнилися від оболонок, струмом води виносяться з інкубаційних апаратів в спеціальні контейнери — личинкоуловлювачі, звідки їх переносять в садки з млинового газу № 18, встановлені в басейнах або лотках. Щоб уникнути великої скупченості передличинок, прагнучих залягти на дно садки, створюють циркулюючі потоки добре проаерованої води. Під час витримки передличинок очищають садках від оболонок ікринок, загиблих ембріонів. Процес витримки передличинок в садках триває 1,5–2 доби при оптимальній температурі води 24-26°. Потім передличинки починають споживати дрібний живий корм — зоопланктон, що відповідає початку личинкового періоду розвитку.

Завдання

1. Визначити особливості вирощування передличинок та личинок лососевих риб.
2. Визначити особливості вирощування передличинок та личинок осетрових риб.
3. Визначити особливості вирощування передличинок та личинок рослиноїдних риб.
4. Визначити особливості вирощування передличинок та личинок корошових риб.

Питання для самоперевірки

1. За допомогою якого ферменту проходить процес вилуплення зародків риб?
2. Охарактеризуйте вирощування перед личинок та личинок осетрових риб.
3. Охарактеризуйте вирощування перед личинок та личинок лососевих риб.
4. Охарактеризуйте вирощування перед личинок та личинок корошових риб.
5. Охарактеризуйте вирощування перед личинок та личинок рослиноїдних риб.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основний

1. Шекк П.В. Розведення риб. Конспект лекцій. Одеса, Вид. «ТЕС», 2010 – 190 с.
2. Сабодаш В.М. Рибництво. К.: Урожай .– 2004.– 302 с.
3. Шекк П.В, Куликова Н.І. Марикультура риб и перспективи её развития в черноморском бассейне.– Киев.: КНТ, 2005.– 305 с.
4. Бардач ДЖ., Макларни У. Аквакультура. – М.: Пищевая промышленность, 1978.– 291 с.
5. Привезенцев Ю.А. Интенсивное прудовое рыбоводство. М.: Агропромиздат. 1991.– 368 с.
6. Титарев Е.Ф. Форелеводство.– М.: Пищевая промышленность, 1980.– 300 с.
7. Чижик А.К., Шерман И.М. Прудовое рыбоводство. – К.: Вища шк., 1989. – 287 с.
8. Шерман І.М. Ставовє рибництво. – К. : Вища школа. 1992.– 214 с.
9. Шерман І.М., Краснощєк В.П., Пилипенко Ю.В. Рибництво. К.: Урожай, 1992. – 191 с.
10. Шерман І.М., М.В. Гринжєвський, І.І. Грициняк. Розведення і селекція риб. – Рівне: УДУВГП, 2002. – 246 с.

Додатковий

1. Шекк П.В., Крюкова М.І. Розведення риб. Методичні вказівки для самостійної роботи студентів. Одеса, Вид. «ТЕС», 2009.–19 с.
2. Мартышев Ф.Г. Прудовое рыбоводство. – М.: Пищепромиздат, 1973.– 425 с.
3. Саковская В.Г., Ворошилаина З.П., Сыров В.С., и др., Практикум по прудовому рыбоводству.– М.: Агропромиздат, 1991.– 174 с.
4. Сборник нормативно технической документации по товарному рыбоводству: У 2 т. – 3. М.: 1986. –215 с.