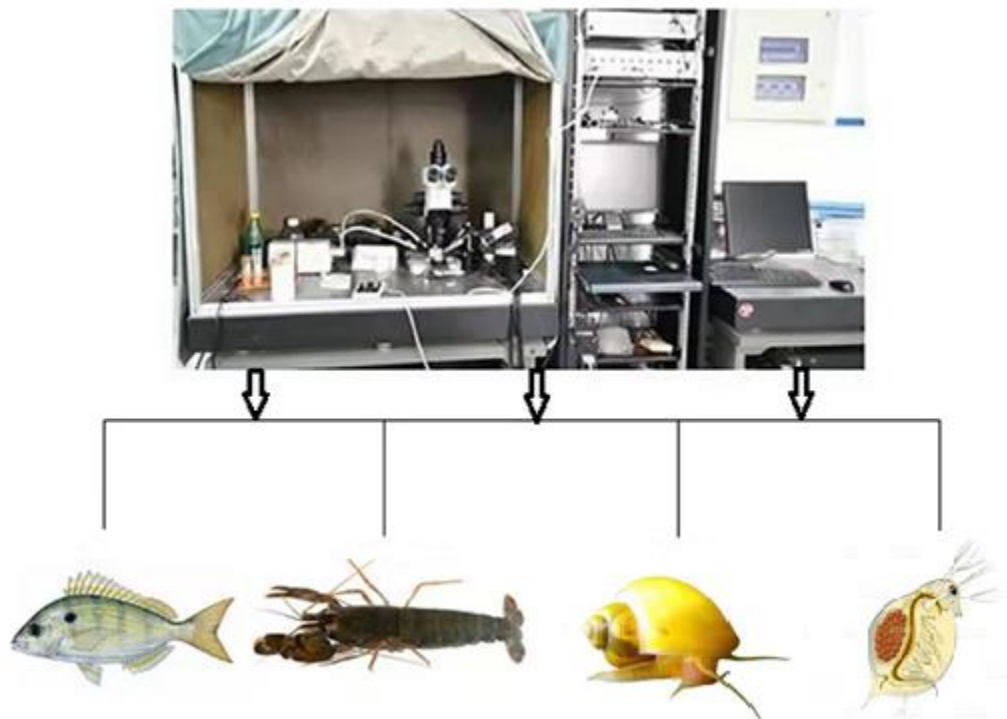


**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА**

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ З ДИСЦИПЛІНИ
«ЕКОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ ГІДРОБІОНТІВ»**

для студентів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
спеціальності 091 «БІОЛОГІЯ»
ОПП «СИСТЕМНА БІОЛОГІЯ ТА ГІДРОБІОРЕСУРСИ»
денної та заочної форми навчання



Дніпро

2022

Методичні рекомендації до лабораторних робіт з дисципліни «Екологічна фізіологія та біохімія гідробіонтів» для студентів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 091 «Біологія» ОПП «Системна біологія та гідробіоресурси» денної і заочної форм навчання / уклад.: Н. Б. Єсіпова. Д.: ДНУ, 2022. 48 с.

Укладач: Єсіпова Н. Б.

Рецензенти:

Методичні рекомендації містять 12 лабораторних робіт до дисципліни «Екологічна фізіологія та біохімія гідробіонтів». Тема кожної лабораторної роботи відповідає відповідній темі лекційного матеріалу і складається з короткої теоретичної частини і опису проведення практичного завдання. У рекомендаціях надається перелік тем для самостійної роботи та список рекомендованої літератури.

Затверджено на засіданні наукової ради БЕФ ДНУ,
протокол № від2022 р.

© Дніпровський національний університет
імені Олеся Гончара

ЗМІСТ

Вступ.....	4
<i>Лабораторна робота 1. Вміст води і сухої речовини в організмі гідробіонтів...</i>	5
<i>Лабораторна робота 2. Жири і жирнокислотний склад тіла риб. Визначення вгодності і жирності риб.....</i>	8
<i>Лабораторна робота 3. Експрес-методи визначення фізіологічного стану гідробіонтів.....</i>	13
<i>Лабораторна робота 4. Дослідження фізіологічних змін в шкірі риб під впливом екологічних факторів.....</i>	15
<i>Лабораторна робота 5. Методи відбору крові у риб і виготовлення мазків.....</i>	20
<i>Лабораторна робота 6. Дослідження мазків крові риб</i>	23
<i>Лабораторна робота 7. Патології еритроцитів риб.....</i>	27
<i>Лабораторна робота 8. Методи відбору гемолімфи у раків та виготовлення мазків.....</i>	31
<i>Лабораторна робота 9. Органи дихання гідробіонтів. Дослідження газообміну у риб.....</i>	34
<i>Лабораторна робота 10. Морфологія і фізіологія травної системи гідробіонтів.....</i>	39
Теми для самостійної роботи.....	46
Рекомендована література.....	47
Додаток	48

ВСТУП

Дисципліна «Екологічна фізіологія та біохімія гідробіонтів» вивчає фізіологічні зміни, які відбуваються в організмі риб і водних безхребетних під впливом різних факторів навколишнього середовища. Метою даної навчальної дисципліни є отримання студентами теоретичних знань і практичних навичок в галузі гідробіоресурсів.

Внаслідок отримання теоретичної і практичної підготовки з дисципліни «Екологічна фізіологія та біохімія гідробіонтів» у здобувачів вищої освіти, що навчаються за ОПП «Системна біологія та гідробіоресурси», будуть сформовані компетенції, за якими вони повинні

знати:

- фундаментальні властивості біологічних систем;
- механізми підтримання гомеостазу біологічних систем;
- новітні розробки в галузі фізіології та біохімії гідробіонтів;

вміти:

- досліджувати системні біологічні процеси і явища;
- демонструвати знання будови, процесів життєдіяльності та функцій живих організмів, розуміти механізми регуляції фізіологічних функцій для підтримання гомеостазу біологічних систем;
- прогнозувати розвиток гідробіологічних систем за показниками фізіологічного стану їх структурних компонентів;
- аналізувати вплив водного середовища на фізіологічний стан гідробіонтів;
- використовувати фізіолого-біохімічні показники гідробіонтів в якості індикаторів навколишнього середовища;

здобути навички:

- застосовувати у практичній діяльності методи визначення фізіолого-біохімічних характеристик гідробіологічних систем на різних рівнях організації;
- аргументувати вибір методів, алгоритмів планування та проведення польових, лабораторних, клініко-лабораторних досліджень;
- застосовувати на практиці експрес-методи визначення фізіологічного стану гідробіонтів;
- виконувати експерименти з гідробіонтами, а також описувати, аналізувати та оцінювати експериментальні дані;
- розробляти практичні рекомендації щодо покращення екологічного стану і збільшення біопродуктивності водойм на підставі фізіолого-біохімічного аналізу гідробіонтів.

Лабораторна робота 1. ВМІСТ ВОЛОГИ І СУХОЇ РЕЧОВИНИ В **ОРГАНІЗМІ ГІДРОБІОНТІВ**

Мета: опрацювати теоретичний матеріал щодо хімічного складу тканин та органів гідробіонтів; засвоїти методику визначення загального вмісту органічних і мінеральних речовин (суха речовина) та вологи (води) в організмі гідробіонтів.

Матеріали та обладнання: гідробіонти в свіжому стані (риба, раки, молюски), чашки Петрі, ножиці, електронні ваги з точністю до 0,01 г, сушильна шафа.

Теоретична частина

Організм гідробіонтів, як і будь-який інший організм, у процесі свого росту та розвитку отримує ззовні різні речовини, що входять до складу тіла. Основними джерелами надходження в організм є їжа і вода. Загальний хімічний склад тіла гідробіонтів коливається у широких межах і залежить від наступних основних факторів:

- виду та віку гідробіонтів;
- температури води;
- якості та кількості корму;
- рухової активності.

За кількістю хімічних елементів у тілі гідробіонтів їх можна розділити на три великі групи: макро-, мікро- та ультрамікроелементи. Макроелементи становлять основну масу тіла – близько 99 %. До них відносяться: О, Н, С, N, S, Р, Са, Na, Cl, К, Mg. Мікроелементи містяться в організмі в концентраціях від 3 до 10 % і до них відносяться: Mn, Fe, Cu, Co, Ni, Zn, I та ін. Мікроелементи розподіляються в тканинах та органах гідробіонтів у різних концентраціях. Наприклад, у риб кров та селезінка як кровотворні органи, де відбувається синтез гемоглобіну, містять на порядок більше заліза порівняно з іншими органами. Кількість ультраелементів мізерна та їх роль в організмі не до кінця зрозуміла. До них відносять алюміній Al, титан Ti, ванадій V, кадмій Cd, вісмут Bi.

Хімічні елементи входять до складу органічних комплексів (білок, ліпіди, вуглеводи) і неорганічних (мінеральних) сполук, з яких формуються тканини. Сумарний вміст органічних і неорганічних речовин відображає показник – **суха речовина**. У різних гідробіонтів вміст сухої речовини в тілі коливається в широких

межах – від 8 до 35 %. Вміст сухої речовини використовують в якості показника вгодованості риб при оцінці кормових раціонів і ступеню забезпеченості кормом.

Вода є не тільки зовнішнім середовищем для водних організмів, але і їх внутрішнім середовищем. Причому обмін між власною водою організму (водою тканин) і водою зовнішнього середовища відбувається дуже швидко. Тому у хімічному складі тіла гідробіонтів вода посідає перше місце. Її кількість становить середньому 70 – 80%. Вода є сильним розчинником багатьох речовин, тому вона відіграє велику роль у багатьох хімічних реакціях.

Розподіляється в організмі вода нерівномірно. У риб за ступенем зростання води тканини можна розташувати у такому порядку: жирова тканина, кісткова, м'язова, слиз, плазма крові. нерівномірно (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Вміст води в тканинах риб, %

Тканини	Слиз	Кров	Кістки	М'язи	Печінка
Вода, %	95–99	85–89	40–78	52–92	70–76

Кількість води залежить також від віку риб. У молодому організмі води більше, ніж у дорослому. Це пов'язано з вищим рівнем обміну речовин у молодому віці. Наприклад, у молоді форелі масою 0,1 г вміст води в тілі становить 88 %; у цьоголіток форелі масою 20 г – близько 75 %, а у дволіток масою 200 г – 70 %.

У прісноводних риб води у тілі більше, ніж у морських. Так, у м'язах прісноводних риб вміст води коливається в межах 60 – 80%, у морських – 55 – 75%. Виняток становить морська риба макрурус – 90 – 95%.

Великі зміни в кількості води у риб спостерігаються в періоди зимівлі, нерестових міграцій, тривалого голодування. Існує зворотна залежність між вмістом жиру та води у тканинах. У період нагулу в тілі риб збільшується вміст жиру і зменшується кількість води, а за тривалого зимового голодування, навпаки, відбувається обводнення тканин. Встановлено, що жири, що витрачаються, в тканинах замінюються водою. Наприклад, у коропа масою 5–10 г при нормальному харчуванні вміст води в тілі становить приблизно 78 %, а після 14 діб голодування зростає до 82 %.

Хід роботи

Метод визначення вмісту сухої речовини заснований на зважуванні частини подрібненої середньої проби тканини до та після висушування в сушильній шафі при 105 °С до постійної маси.

1. Пронумерувати і зважити на вагах порожні чашки Петрі із розрахунку на кожного досліджуваного гідробіоннта по 3 чашки. Точність зважування – 0,01 г.

2. Провести розтин гідробіонтів і з кожної особини виділити в окремі чашки Петрі м'язи, печінку, кістки (у риб) або карапакс (у раків). Ножицями подрібнити тканини.

3. Зважити чашки Петрі з подрібненими тканинами і поставити в сушильну шафу при температурі 105 °С для висушування до постійної маси (приблизно 6–8 годин).

4. Остуджені чашки Петрі зважити і розрахувати вміст сухої речовини за формулою:

$$X = \frac{C - A}{B - A} \times 100 \%$$

X – суха речовина, %

A – маса порожньої чашки Петрі, г

B – маса чашки Петрі з тканиною до висушування, г

C – маса чашки Петрі з тканиною після висушування, г

5. Вміст води (загальний вміст води) визначити шляхом віднімання від 100 % розрахункової кількості сухої речовини.

6. Результати занести в таблицю 1.2:

Таблиця 1.2

Вміст сухої речовини і води в тканинах гідробіонтів

Показники	Тканини		
	м'язи	печінка	кістки
Маса порожньої чашки Петрі, г			
Маса чашки Петрі з тканиною до висушування, г			
Маса чашки Петрі з тканиною до висушування, г			
Вміст сухої речовини, %			
Вміст води, %			

7. У висновку зробити порівняльний аналіз вмісту сухої речовини і води у різних тканинах гідробіонтів.

Питання для самоконтролю.

1. Які елементи відносять до групи макро-і мікроелементів?
2. Який відсоток води у середньому міститься в тілі риб?
3. У яких тканинах риб найвищий вміст води?
4. Які фактори впливають на вміст води у тканинах риб?
5. З віком вміст води у тілі риб знижується чи зростає?
6. Як визначити вміст сухої речовини і вологи в тілі гідробіонтів?
7. Про що свідчить зниження вмісту сухої речовини в м'язах риб?

Лабораторна робота 2. ЖИРИ І ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ТІЛА РИБ. ВИЗНАЧЕННЯ ВГОДОВАНOSTІ І ЖИРНОСТІ РИБ

Мета: опрацювати теоретичний матеріал щодо вмісту жирів в тілі риб та їх залежності від циклів розвитку і екологічних факторів; засвоїти методи визначення вгодованості і жирності риб.

Матеріали та обладнання: різні види риб, ножиці, електронні ваги з точністю до 0,1 г, вимірювальна лінійка, кювета.

Теоретична частина

Жири разом з білками та вуглеводами складають основну масу органічних речовин, з яких будуються клітини і тканини живих організмів. Найбільш лабільними органічними речовинами в тілі риб та інших гідробіонтів є **жири**. Значення жирів у життєдіяльності риб величезне. Жири є важливим джерелом енергії, що забезпечує розмноження, дозрівання статевих продуктів, міграції риб та їхню зимівлю. Крім того, жири є будівельним матеріалом, що входять до складу структурних компонентів клітин, насамперед мембранних структур, а також беруть участь у транспорті різних речовин у тканинах. Жири дозволяють підтримувати білковий баланс в організмі. Сумарна кількість всіх жироподібних речовин у тканинах називають **загальними чи сумарними ліпідами**.

За кількістю жиру в тканинах, в першу чергу - в мускулатурі, риб ділять на 4 групи: нежирні або худі – вміст жиру до 2 % (щука, тріска, судак); середньої жирності – 2–5 % жиру (короп, лящ, плітка); жирні – 6–15 % жиру (осетрові,

лососеві, оселедець, скумбрія); особливо жирні – більше 15 % жиру (вугор, сом, хамса).

Основними жировими депо у риб є: підшкірна жирова клітковина, черевна порожнина, м'язи, печінка (тріска, минь), у осетрових ще – ікра. У процесі еволюції одні види риб пішли лінією акумуляції великих кількостей жиру у тілі, інші – у печінці. Наприклад, у тріски, палтуса, мерлангу вміст жиру в печінці може досягати 70 %.

Для інших риб (коропові, оселедцеві, лососеві) характерне запасання ліпідів у м'язовій тканині та підшкірній клітковині. Наприклад, у тихоокеанських лососів (кеди, горбуші) 45 – 55% ліпідів зосереджено у м'язах, 25 – 35% – у підшкірному жировому шарі, 20 – 30% – у кістках і плавцях і лише 1 – 2% – у печінці. Значна кількість загальних ліпідів (до 15 – 20%) накопичується у зрілих яєчниках риб.

Вміст жиру в тілі риб змінюється в залежності від етапів їх онтогенезу, сезону року, температури води і забезпеченістю їжею. З віком риб кількість жиру в їх організмі збільшується. На стадії статевої зрілості у риб спостерігається різке зменшення ліпідів у м'язах та внутрішніх органах, що пов'язане з інтенсивним дозріванням гонад. Зростання гонад відбувається за рахунок накопичення жиру та білку, які перерозподіляються з тканин та органів у гонади.

Сезонні коливання жиру у риб пов'язані, перш за все, з їх репродуктивними особливостями та умовами нагулу. Мінімальна кількість жиру в тілі риб і в жировому депо посідає на період нересту, коли підвищується м'язова активність риб і жир витрачається на процес виміту статевих продуктів. Після закінчення нересту у більшості видів риб настає післянерестовий нагул, внаслідок чого в тканинах та органах вміст жиру значно підвищується.

Вивчення ліпідного обміну у риб показало, що одним із основних екологічних факторів, що визначають кількісні та якісні зміни ліпідів у тканинах, є температура водного середовища. З підвищенням температури ліпідний обмін у тканинах посилюється.

Ліпідний склад тканин риб. Ліпіди за своїм складом не однорідні і включають всі речовини з гідрофобними властивостями. У фізіологічному відношенні найбільш важливими ліпідами є фосфоліпіди, нейтральні жири, стерини та їх ефіри, жирні кислоти.

Фосфоліпіди (ФО) є структурними ліпідами і беруть участь у формуванні клітинної оболонки та внутрішньоклітинних мембран. У лососевих значну кількість ФО виявлено в печінці (42–62 % від загальної кількості ліпідів), гонадах (до 57 %), у м'язах (близько 30 %). Найбільш багатий на ФЛ кістковий мозок.

ФО порівняно з іншими фракціями більш стабільні. Однак їхня частка може знижуватися в період дозрівання гонад, для яких потрібні ФО як будівельний матеріал, що надходить з м'язів. Встановлено, що під час нересту лососів різко знижується кількість ФО у м'язах та печінці, особливо за рахунок фракції лецитинів.

До структурних ліпідів відносять також **холестерин (ХС)**. ХС разом із ФО бере участь у побудові клітинних мембран. Його частка у загальних ліпідах тканин становить 15 – 20%. Найбільш багата ХС печінка та гонади, але найбільше ХС у нервовій тканині.

Нейтральні ліпіди (тріацилгліцерини, ефіри холестерину) становлять у більшості риб до 75 % всього резервного жиру. З усіх ліпідних фракцій найбільш лабільні є триацилгліцерини (ТАГ). Вони є основним джерелом енергії, яка витрачається рибами в період міграцій, нересту, зимівлі. ТАГ переважають в органах, що депонують жир – м'язи, печінку. Накопичення ТАГ відбувається також у порожнині тіла. Велику рухливість мають також ефіри холестерину (ЕХС), які перед нерестом концентруються в гонадах.

У риб, крім сезонних змін фракційного складу ліпідів, спостерігаються вікові зміни. Так, кількість ФО, ТАГ та СЖК у м'язах риб з віком збільшується, а ХС знижується. У печінці з віком збільшуються ЕХС, а знижується вміст ФО та ХС.

Жиринокислотний склад у риб представлений в основному лінолевою, лінолевою, олеїною та пальмітоолеїною кислотами. Основний відсоток жирних кислот (ЖК) перебуває в організмі у зв'язаному стані. Надходячи в тканини, ЖК відразу ж залучаються до метаболізму та беруть участь у синтезі різних ліпідів. Концентрація ЖК у печінці та м'язах залежить від сезону та нересту, а також від їжі. При інтенсивному живленні кількість вільних жирних кислот (ВЖК) у крові риб збільшується, а при голодуванні знижується.

Найбільш розповсюдженими біохімічними методами визначення кількості загальних ліпідів у тканинах є методи екстрації за Фолчем і за Сокслетом. Фракційний склад ліпідів визначається за методами хроматографії. В якості експрес-методів визначення жирових запасів у риб використовують показники вгодованості та жирності.

Хід роботи

Показники вгодованості та жирності використовуються для оцінки жирових запасів у риб перед зимівлею та в переднерестовий період. Для розрахунку коефіцієнтів вгодованості за Фультоном використовують загальну масу тіла риби,

за Кларк – масу тіла риби без нутрощів (масу порки). Жирність риби визначають за 5-ти бальною шкалою жирності.

1. Визначити вид і вік риби.
2. Зважити риба на вагах з точністю до 0,1 г.
3. Заміряти малу або промислову довжину тіла риб (l): від початку рида до кінця лускатого покриву або до початку хвостового плавця (для безлускатих риб), як показано на рисунку 2.1, з точністю до 0,1 см.

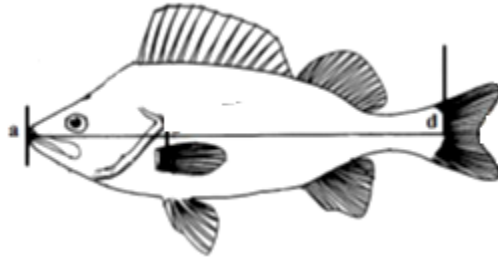


Рис. 2.1. Вимірювання малої (промислової) довжини тіла риби (ad).

4. За допомогою ножиць зробити розтин риб, надрізати початок і кінець кишкового тракту, вилучити і покласти на кювети внутрішні органи. Зважити риба без нутрощів на вагах з точністю до 0,1 г.
5. Оцінити накопичення внутрішнього жиру за п'ятибальною шкалою жирності риб (табл. 2.1):

Таблиця 2.1.

Шкала жирності риб	
Бали	Характеристика
0	Жиру на кишечнику немає.
1	Тонка шнуроподібна смужка жиру розташована між другим і третім відділами кишечника.
2	Неширока смужка досить щільного жиру між другим і третім відділами кишечника.
3	Широка смужка жиру в середині між другим і третім відділами кишечника.
4	Кишечник майже цілком вкритий жиром за виключенням маленьких просвітів, де видна кишка.
5	Увесь кишечник залитий товстим шаром жиру. Просвітів зовсім немає.

6. Розрахувати індекси вгодованості за Фультоном і за Кларк:

$$I_b = (m : l^3) \times 100 \text{ (од.)}$$

де: I_b – індекс вгодованості;

m – маса тіла риби (за Фультоном – загальна маса тіла, за Кларк – маса тіла без нутрощів), г;

l – мала довжина тіла, см;

100 – коефіцієнт перерахунку в одиниці коефіцієнту.

7. Дані вимірів і розрахунків занести в таблицю 2.2.

Таблиця 2.2.

Показники вгодованості та жирності риби

Показники	Вид і вік риби		
	1	2	3
Загальна маса тіла, г			
Маса тіла без нутрощів, г			
Мала довжина тіла, см			
Жирність, бали			
Коефіцієнт вгодованості за Фультоном, од.			
Коефіцієнт вгодованості за Кларк, од.			

8. У висновку зробити порівняльний аналіз отриманих показників, використовуючи Додаток 1.

Питання для самоконтролю.

1. На які групи діляться риби за жирністю?
2. Де риби запасують жир?
3. Як змінюється жирність риби в онтогенезі?
4. Які екологічні чинники впливають на процеси накопичення жиру у риби?
5. Які фракції ліпідів входять до складу клітинних мембранних структур?
6. Яку роль грають нейтральні ліпіди для риби?
7. Які жирні кислоти входять до складу тканин риби?
8. Якими методами визначають жирність риби?
9. Як розраховують коефіцієнти вгодованості за Фультоном і за Кларк.

Лабораторна робота 3. ЕКСПРЕС-МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ РИБ ЗА ІНДЕКСАМИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ

Мета: опрацювати теоретичний матеріал щодо функцій печінки, селезінки і серця в організмі риб; навчитись визначати індекси внутрішніх органів риб і трактувати їх показники.

Матеріали та обладнання: різні види риб, ножиці, електронні ваги з точністю до 0,1 г, чашки Петрі, кювета.

Теоретична частина

Стан внутрішніх органів є важливим показником фізіологічного стану всього організму. В якості індикатору фізіологічного стану риб часто використовують печінку, оскільки це ключовий орган, де з'єднуються та перетинаються майже всі біохімічні процеси. Печінку ще називають «хімічною лабораторією» організму.

У риб **печінка** – компактний орган, поділений на лопаті і розташований між петлями кишечника (рис. 3.1). Гепатоцити риб мають схожу будову з клітинами печінки інших хребетних. При хімічному аналізі у них виявляється велика концентрація ліпідів та глікогену. У печінці хрящових накопичуються також вітаміни, особливо багато вітаміну А.

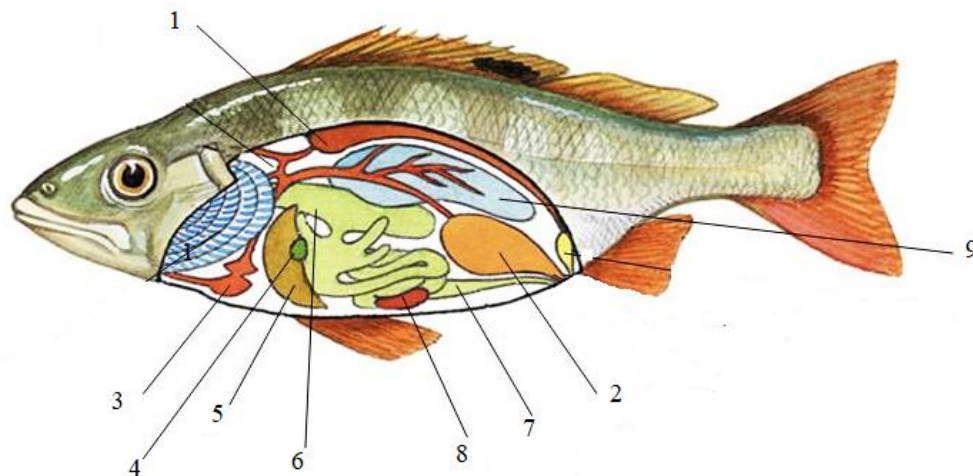


Рис. 3.1 Внутрішні органи риб:

1 – нирки, 2 – яєчник, 3 – серце, 4 – підшлункова залоза, 5 – печінка,
6 – шлунок, 7 – кишечник, 8 – селезінка, 9 – плавальний міхур.

Підшлункова залоза у всіх риб не компактна й у вигляді окремих часточок розкидана уздовж кишечника поблизу печінки та селезінки. Внаслідок

топографічної близькості печінки і підшлункової залози ці органи у риб часто називають гепатопанкреасом. Відносна маса печінки (гепатосоматичний індекс) у різних видів риб коливається у межах від 1 до 3 %. Тільки у тріскових риб вона досягає 5–8 %. Надмірне збільшення гепатосоматичного індексу може сигналізувати про жирове переродження органу. Збільшення відносної маси печінки у коропа відзначається при вуглеводній дієті, нестачі в кормі фосфору, вирощуванні в тепловодному господарстві за високих температур води. У форелі індекс печінки збільшується при вуглеводистій дієті та вмісті в кормах окислених жирів, а знижується – при нестачі в кормі вітаміну С та отруєнні важкими металами (міддю). Зменшення відносної маси печінки у риб спостерігається при недостатньому харчуванні і тривалому голодуванні.

Серце – насос, що забезпечує рух крові по судинах. Серце риб невелике, його відносна маса становить приблизно 0,1 % маси тіла. З цього правила, звісно, є винятки. Наприклад, у летячих риб маса серця сягає 2,5 % маси тіла. Серце риб працює ритмічно. Частота серцевих скорочень у риб залежить від багатьох факторів (вік риби, температура, фізіологічний стан) і коливається від 20 (у дорослих риб) до 40 (у молоді) ударів за хвилину. Зміни відносної маси серця звичайно пов'язані зі змінами активності риб. Збільшення індексу серця може бути наслідком посиленого серцебиття під впливом довготривалої гіпоксії і термофікації.

Селезінка у риб є основним органом кровотворення. Відносна маса селезінки є показником імунітету та нервового збудження. В стресових ситуаціях селезінка зменшується в об'ємі внаслідок викиду запасу формених елементів в кров. При дії на риб теплового та холодового шоку селезінка зменшується в 2 – 3 рази. В нормі індекс селезінки у різних видів риб знаходиться в межах 0,2–0,8 %.

У додатку 1 представлені показники індексів внутрішніх органів риб в умовах штучного розведення і природних умовах.

Хід роботи

1. Визначити вид і вік риби.
2. Зважити рибу на вагах з точністю до 0,1 г.
3. Ножицями зробити розтин риби, виділити і помістити в чашки Петрі печінку, селезінку і серце.
4. Зважити виділені внутрішні органи на вагах з точністю до 0,1 г.
5. Розрахувати індекси внутрішніх органів за формулою:

$$I = (m : M) \times 100$$

де: I – індекс органу (I_{печ.}, I_{сел.}, I_{сер.}), %;
 m – маса органу (печінки, селезінки, серця), г;
 M – маса риби, г;
 100 – коефіцієнт перерахунку в %.

6. Отримані дані занести в таблицю:

Вид і вік риби	Маса риби, г	Індекси органів		
		I _{печ.}	I _{сел.}	I _{сер.}

7. Порівняти отримані дані з нормативними показниками (додаток 1) і зробити відповідні висновки.

Питання для самоконтролю.

1. Як розрахувати гепатосоматичний індекс?
2. На що вказує надмірне збільшення або зменшення відносної маси печінки риб?
3. В яких випадках використовують індекс селезінки і серця як тест-об'єкти?
4. Індекси яких внутрішніх органів риб доцільно використовувати при оцінки кормових раціонів?

Лабораторна робота 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ШКІРІ РИБ ПІД ВПЛИВОМ ЕКОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ

Мета: ознайомитись з мікроскопічною будовою шкіри риб, навчитись розпізнавати клітини епідермісу і дерми, слизові клітини трьох типів, пігментні клітини.

Матеріали та обладнання: гістологічні препарати шкіри риб, мікроскопи, атлас «Гістології та ембріології промислових риб» (Козій та ін., 2011).

Теоретична частина

Шкіра риб складається з двох шарів: зовнішнього, або епідермісу, і нижнього або сполучнотканинного – дерми. Між ними виділяють базальну мембрану (рис. 4.1).

У більшості риб епідермальний шар тонкий і м'який. Він пронизаний чутливими нервовими закінченнями, але не містить кровоносних судин. У дермі є як нервові елементи, так і капілярна мережа.

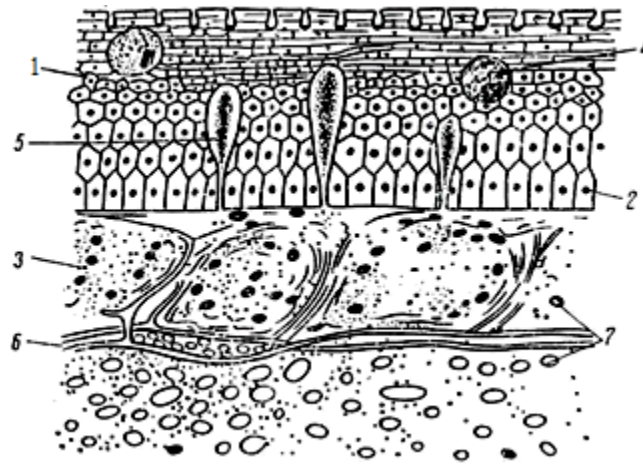


Рис. 4.1. Будова шкіри риб: 1 – верхній шар епідермісу; 2 – основний шар епідермісу; 3 – дерма; 4 – округлі грандулоцити; 5 – колбоподібні грандулоцити; 6– нерви; 7 – судини

Епідерміс шкіри риб представлений багат шаровим епітелієм, що складається з 2-15 рядів клітин. Клітини верхнього шару мають плоску форму. Частина клітин верхнього ряду ороговіє і відторгається. Нижній (ростковий) шар представлений одним рядом циліндричних клітин, які походять від призматичних клітин базальної мембрани. Середній шар епідермісу складається з кількох рядів клітин, форма яких змінюється від циліндричної до плоскої.

В епідермісі можуть бути слизові клітини (грандулоцити) трьох типів. Біля базальної мембрани розташовуються колбоподібні грандулоцити, трохи вище, у середньому шарі, проглядаються округлі грандулоцити, а у поверхні, у шарі плоских клітин, знаходяться келихоподібні слизові клітини. Проте всі три типи клітин одночасно присутні лише в деяких видів риб.

У швидкоплаваючих риб (тунці, мерлін) в епідермісі представлені лише округлі грандулоцити, що виділяють серозний секрет. У пелагічних риб, що плавають із середніми швидкостями, крім округлих клітин є келихоподібні грандулоцити. У донних та інших малорухливих риб можна виявити всі три типи клітин.

Наявність всіх трьох типів клітин свідчить про значне видлення слизу і притаманна риbam, позбавленим луски (сом, бичкові, вугор). Навпаки, у риб з добре розвиненим лускатим покривом звичайно присутній один тип слизових клітин і, відповідно, виділяється мало слизу.

Виділення слизу для риб має дуже важливе значення. Слиз виконує механічний захист і зменшує тертя риби під час руху. Вона має особливий біохімічний склад, завдяки якому набуває бактеріолітичні, антивірусні, протигрибкові та антипаразитарні властивості, створюючи, тим самим, захисний бар'єр. Слиз прискорює згортання крові при пораненнях і виконує осмотичну функцію.

Секрети слизових клітин відрізняються за своїм хімічним складом і мають різне призначення. Секрет колбоподібних клітин проявляє сильний біологічний ефект. Його називають "феромоном тривоги". Завдяки йому риби попереджають один одного про появу хижака або іншу небезпеку.

Шкіра риб містить пігментні клітини – хроматофори, які забезпечують забарвлення. Хроматофори розміщуються двома шарами – під і над кутісом. Розрізняють 4 типи хроматофорів, які містять різні пігменти: меланофори – містять чорний і коричневий пігмент меланін; еритрофори – червоний пігмент еритрин; ксантофори – жовто-помаранчевий пігмент; гуанофори містять кристали гуаніну, які надають рибі сріблясте забарвлення (рис. 4.2).



Рис. 4.2. Меланофори цьоголітка краснопірки.

Забарвлення риб залежить від різного поєднання і співвідношення пігментних клітин, а також від розподілу пігменту в клітині. Якщо зерна пігменту концентруються в центрі клітини, то риба стає більш світлою, а якщо на відростках клітини – то більш темнішою.

Хід роботи

1. На рисунку 4.3. визначити і відмітити цифрами: епідерміс, слизові клітини (грандулоцити), меланофори, дерму, м'язову тканину.

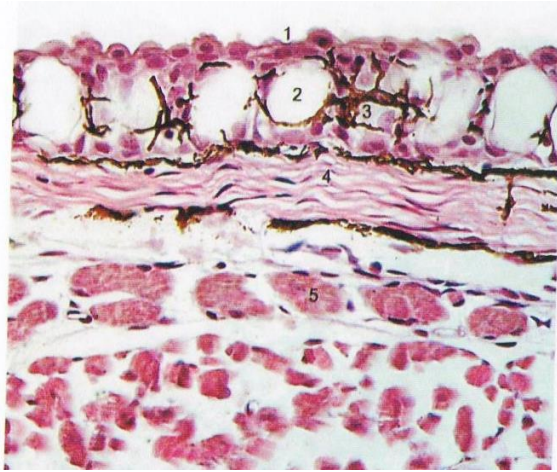


Рис. 4.3. Шкіра тулуба малька російського осетра

2. Розглянути фотографії мікроскопічної будови шкіри лускатих риб (рис. 4.4) і риб, що позбавлені луски (рис. 4.5). Вказати тканини і клітини, позначені цифрами. Встановити відмінності у будові епідермісу цих риб.



Рис. 4.4. Шкіра трирічки окуня.

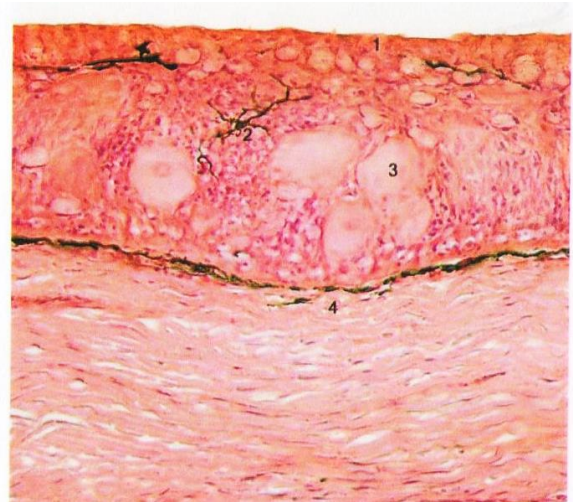


Рис. 4.5. Шкіра дворічки сома.

3. Зробіть порівняльний аналіз будови шкіри оселедця (рис. 4.6) і щуки (рис. 4.7).

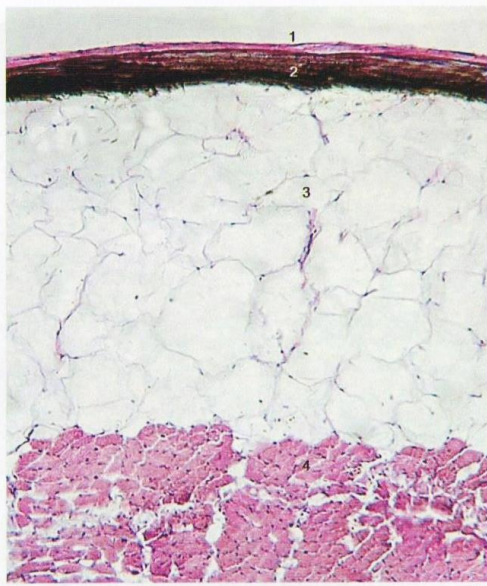


Рис. 4.6. Шкіра оселедця:
1 – епідерміс, 2 – дерма;
3 – підшкіряна основа (жирова
тканина), 4 – м'язова тканина.



Рис. 4.7. Шкіра щуки:
1 – епідерміс, 2 – грандулоцит,
3 – дерма, 4 – підшкіряна основа,
5 – м'язова тканина.

4. Позначити за вказаними цифрами тканини і типи слизових клітин на зрізі шкіри річника канального сома (рис. 4.8).



Рис. 4.8. Шкіра річника канального сома.

Питання для самоконтролю.

1. З яких шарів складається шкіра у риб?
2. Які функції виконує слизу у риб?
3. Які типи гранулоцитів виявляють у риб?
4. Які гранулоцити продукують «феромон тривоги»?
5. Які існують типи хроматофорів і де вони розташовані?

Лабораторна робота 5. МЕТОДИ ВІДБОРУ КРОВІ У РИБ І ВИГОТОВЛЕННЯ МАЗКІВ

Мета: засвоїти методику відбору крові у риб і виготовлення мазків.

Матеріали, реактиви та обладнання: жива риба, розчин Май-Грюнвальда (0,3-0,5 г еозинметіленового синього + 100 мл метилового спирту), розчин Романовського, 70% спирт, дистильована вода, шприці об'ємом 2 або 5 мм, предметні скельця, марля, кювета.

Теоретична частина

Кровь – це лабільна тканина, яка швидко реагує на вплив будь-яких чинників і тому широко використовується для оцінки фізіологічного стану організму і діагностики різних патологій.

Як і в інших тварин, кров у риб ділиться на циркулюючу та депоновану. Роль депо крові у них виконують нирки, печінка, селезінка, зябра та м'язи. Кровоносна система костистих і хрящових риб схожа: вона складається з серця і одного кола кровообігу (рис. 5.1).

Серце у риб складається з двох камер – шлуночка і передсердя, які з'єднані послідовно. З боку вени перед серцем знаходиться венозний синус – розширена камера, яка забезпечує безперервний потік крові в серце; з артеріальною боку – так звана артеріальна цибулина.

Особливих відмінностей в кровообігу риб різних видів немає. З артеріальної цибулини венозна кров йде в непарну черевну аорту, потім – у парні зяброві артерії, які розпадаються на капілярну мережу зябер, де кров насичується киснем.

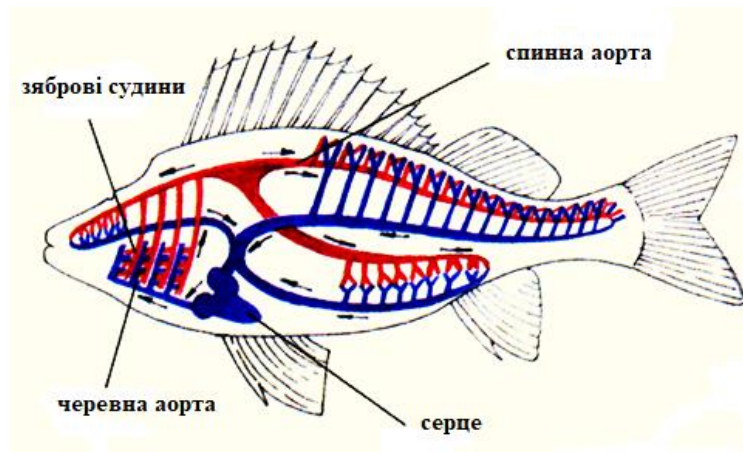


Рис. 5.1. Схема кровоносної системи риб.

Виносні артерії зябер входять в корені спинної аорти, від яких відгалужуються внутрішні і зовнішні сонні артерії, які постачають кров у головний відділ тіла риби. Ззаду коріння об'єднуються в спинну аорту, яка несе кров до тулуба, внутрішніх органів і хвоста.

Кров для дослідження у риб береться з серця, хвостовий артерії, на зрізі хвоста або зябрових вен. Вибір способу взяття крові залежить від розміру риби і обсягу, необхідного для аналізу.

Хід роботи

Взяття крові проводять, попередньо знявши луску, видаливши слиз і, обробивши шкіру 70% -м спиртом. Найбільш поширені 3 способи взяття крові у риб: з серця, хвостової артерії і зябрових вен (рис. 5.2).

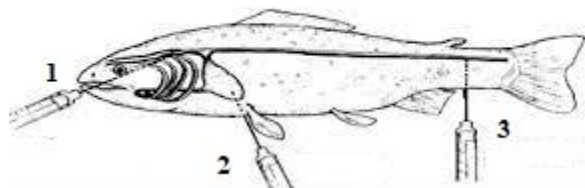


Рис. 5.2. Місця взяття крові у риб

На лабораторному занятті необхідно опрацювати всі 3 методи взяття крові.

1. При взятті крові з серця, місце уколу знаходиться в середині відрізка, що з'єднує основу грудних плавців (у форелі) і трохи вище цієї точки – у коропових риб. Голку вводять в місце уколу, під кутом 45° , щодо фронтальній площині.

2. При взятті крові з хвостової артерії місце уколу знаходиться в точці, утвореної при умовному перетині середньої лінії і лінії, що йде перпендикулярно від анального отвору у цьоголітків, і від заднього краю анального плавника - у корокових риб старшого віку (рис. 5.3).

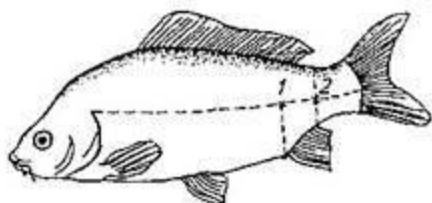


Рис. 5.3. Місце взяття крові з хвостової артерії: 1 – у цьоголітків, 2 – у риб старших вікових груп.

3. Взяття крові з зябрових вен. Попередньо видаляють зяброву кришку і вводять ін'єкційну голку в вену, біля основи однієї з зябрових дуг (рис. 5.4).



Рис. 5.4. Взяття крові з зябрової вени.

4. З отриманої крові відразу ж готують тонкі мазки. Для цього краплину відібраної крові поміщають біля краю предметного скельця (рис. 5.5, 1). До краплини підводять друге скельце під кутом 45° так, щоб кров розтіклася вздовж його грані (рис. 5.5, 2), і швидко рухом вперед – назад проводять по першому склу (рис. 5.5, 3). Мазок повинен вийти тонкий і рівномірний (рис. 5.5, 4). Виготовлений

мазок кладуть на горизонтальну поверхню у затемнене місце і тримають до повного висихання.

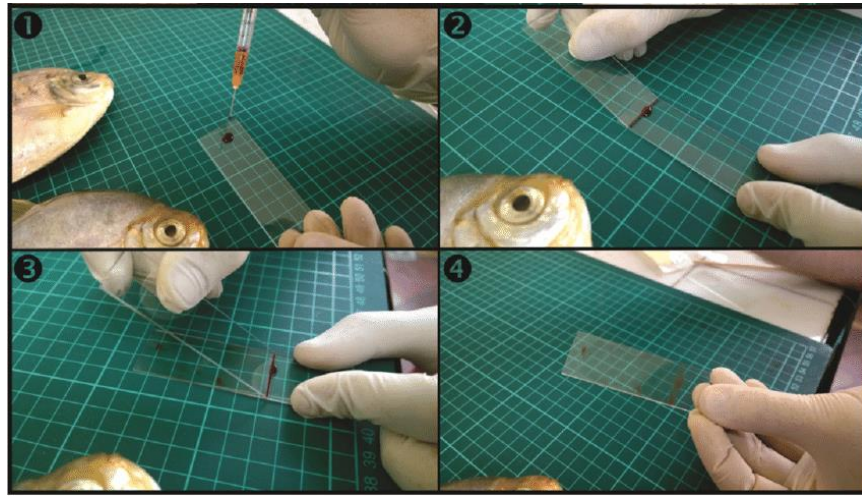


Рис. 5.5. Виготовлення мазків крові.

5. Мазки забарвлюють по методу Паппенгейма. Для цього висушені мазки занурюють в кювету з розчином Май-Грюнвальда (0,3-0,5 г еозинметіленового синього + 100 мл метилового спирту) на 5 хвилин, потім промивають дистильованою водою (рН = 6,81) протягом 2-х хвилин і дофарбовують в розчині Романовського 25-30 хвилин. Пофарбовані мазки промивають водопровідною водою і висушують на повітрі.

Питання для самоконтролю.

1. З чого складається і як функціонує кровоносна система у риб?
2. Які існують способи відбору крові у риб?
3. Як виготовити мазок крові?
4. Як відбувається фарбування мазків?

Лабораторна робота 6. ДОСЛІДЖЕННЯ МАЗКІВ КРОВІ РИБ

Мета: навчитись диференціювати формені елементи крові та аналізувати їх морфологічні показники.

Матеріали, реактиви та обладнання: препарати мазків крові риб, мікроскопи, «Атлас крові риб» (Іванова, 1983), атлас «Гістології та ембріології промислових риб» (Козій та ін., 2011).

Теоретична частина

В мазку крові риб можна побачити еритроцити різного ступеню зрілості, лейкоцити і тромбоцити.

Зрілі еритроцити у риб більші, ніж у теплокровних тварин, мають овальну форму і містять ядро (рис. 6.1). Наявність ядра забезпечує велику тривалість життя червоних клітин у риб (до року).

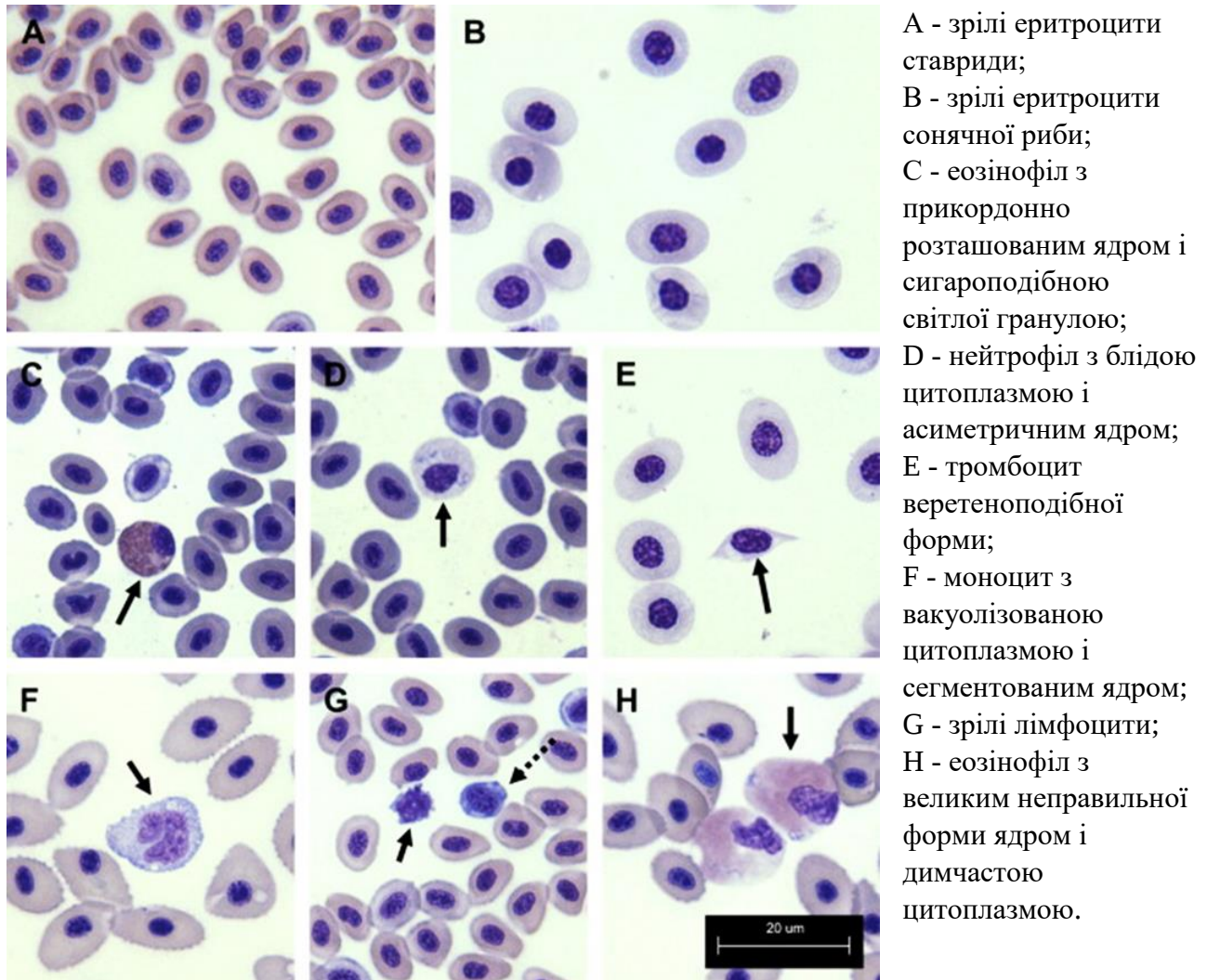


Рис. 6.1. Формені елементи крові риб.

Характерною особливістю крові риб є поліморфізм або одночасна присутність у кров'яному руслі еритроцитів різного ступеня зрілості. Молоді форми еритроцитів – еритробласти, на відміну від зрілих еритроцитів, часто менші за розмірами, мають округлу форму і світле ядро (рис. 6.2).

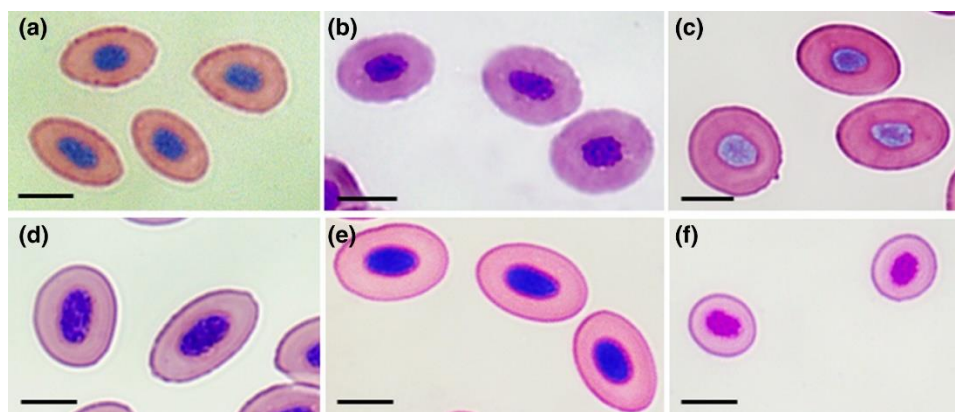


Рис. 6.2. Зрілі (a, b, d, e) і незрілі (c, f) форми еритроцитів.

Збільшення частки незрілих бластних форм спостерігається при гіпоксії внаслідок активізації амітотичного ділення зрілих еритроцитів (рис. 6.3) і є захисною реакцією крові, яка забезпечує подачу кисню до тканин і органів.

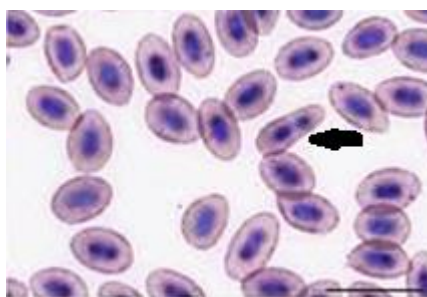


Рис. 6.3. Еритроцит у стадії мітозу.

Білі клітини крові (лейкоцити). Лейкоцити крові риб представлені у більшій кількості, ніж у ссавців. Для риб характерний лімфоцитарний профіль, тобто більше 90 % білих клітин становлять лімфоцити. Фагоцитуючими формами є моноцити та поліморфноядерні клітини (ПМЯ) – нейтрофіли, еозінофіли, базофіли.

Лімфоцит риб - дрібна клітина (5-10 мкм), має червоно-фіолетове ядро різної форми (округле, овальне, паличкоподібне, дольчасте), яке розташовується в клітині асиметрично (рис. 6.1, G). Хроматин розподілений у ядрі нерівномірно. Цитоплазма розташовується асиметрично відносно ядра і часто утворює псевдоподії, що надає клітині амeboподібної форми.

Моноцитоїдний ряд білої крові риб становлять три типи досить великих (11-17 мкм) клітин. Моноцит – найзріліша клітина ряду. Має велике ядро червоно-фіолетового кольору із відносно невеликою кількістю хроматинової речовини (рис. 6.1, F). Форма ядра найчастіше неправильна, сегментоподібна. На забарвлених препаратах цитоплазма зберігає димчастість.

Погіршення умов утримання риби (гіпоксія, бактеріальна та хімічна забрудненість водойми, голодування) призводить до збільшення фагоцитуючих форм. У процесі зимівлі коропа у 2–16 разів збільшується кількість моноцитів та ПМЯ клітин при одночасному зменшенні на 10–30 % кількості лімфоцитів. Для оцінки фізіологічного стану риб часто використовують лейкоцитарну формулу, яка відображає частку кожної групи лейкоцитів відносно загального числа лейкоцитів.

Тромбоцитам крові риб притаманна велика морфологічна різноманітність. У мазках крові виявляють, як мінімум, чотири морфологічні форми тромбоцитів – шилоподібну, веретеноподібну, овальну та округлу (рис. 6.1, Е). Є підстави вважати, що тромбоцити риб утворюються в селезінці, і подібно до тромбоцитів інших класів тварин, у риб вони забезпечують процес згортання крові.

Хід роботи

1. Ознайомитись з будовою зрілих еритроцитів риб та замалювати їх (рис. 6.1, А).
2. Ознайомитись з будовою лейкоцитів (клітин білої крові), представлених на рисунку 6.1 - лімфоцитів (G), еозинофілів (C), нейтрофілів (D), моноцитів (F) та поліморфноядерних клітин (H). Замалювати формені елементи білої крові риб.
3. Позначити на рисунку 6.4 наступні клітини: зрілий еритроцит, незрілий еритробласт, еритроцит у стадії мітотичного ділення, моноцит, лімфоцит, еозинофіл, тромбоцит.

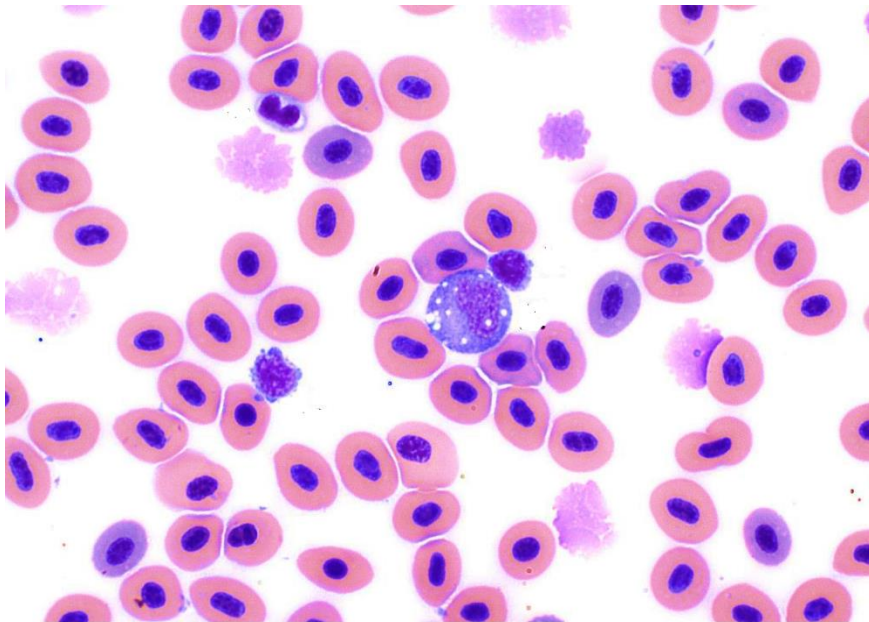


Рис. 6.4. Формені елементи у мазку крові риб.

4. Роздивитись під мікроскопом препарати мазків крові риб, знайти клітини червоної і білої крові.

Питання для самоконтролю.

1. Які морфологічні особливості зрілого еритроциту і еритробласту?
2. Про що свідчить збільшення амітозів і бластних форм у крові риб?
3. Що таке лейкоцитарна форму і з чого вона складається?
4. На що вказує збільшення частки фагоцитуючих форм лейкоцитів?
5. Як виглядають тромбоцити у риб і які функції виконують?

Лабораторна робота 7. ПАТОЛОГІЯ ЕРИТРОЦИТІВ РИБ

Мета: ознайомитись з патологічними змінами, що спостерігаються в еритроцитах риб, і навчитись їх діагностувати.

Матеріали, реактиви та обладнання: препарати мазків крові риб, мікроскопи, «Атлас крові риб» (Іванова, 1983), Atlas of Fish Histology and Histopathology (Sharon, Zilberg, 2011).

Теоретична частина

Еритроцити, крім основної функції – переносу кисню від зябер до тканин і вуглекислого газу – від тканин до зябер, виконують в організмі ще ряд важливих функцій: забезпечують стабільність рН крові, підтримують іонний гомеостаз, приймають участь у транспорті поживних речовин, адсорбують токсини. Багатофункціональна роль еритроцитів робить їх чутливими до будь-яких негативних змін зовнішнього середовища. Морфологічний стан і цитометричні показники еритроцитів риб часто використовують в якості тест-об'єктів для оцінки екологічного стану водойм.

За характером і ступенем прояву порушення еритроцити умовно розподілені на 4 групи. Патології, пов'язані зі змінами **форми, забарвлення і розміру клітин** і належать до першої групи патоморфологічних порушень, виявляються в пойкилоцитозі, анізацитозі, аглютинації, гіпохромії і порушенні осморезістенції (рис. 7.1).

Пойкілоцитоз – зміна форми клітини.

Анізоцитоз – різнорозмірними еритроцитів.

Аглютинація – злипання еритроцитів.

Гіпохромія – стан клітини, коли збіднені гемоглобіном ділянки цитоплазми займають значну частину еритроцита, і тільки невелика зона зберігає здатність забарвлюватися. Освітлення цитоплазми побічно свідчить про малий вміст гемоглобіну.

Фестончастий край – порушення осмотичної резистентності еритроцитів.

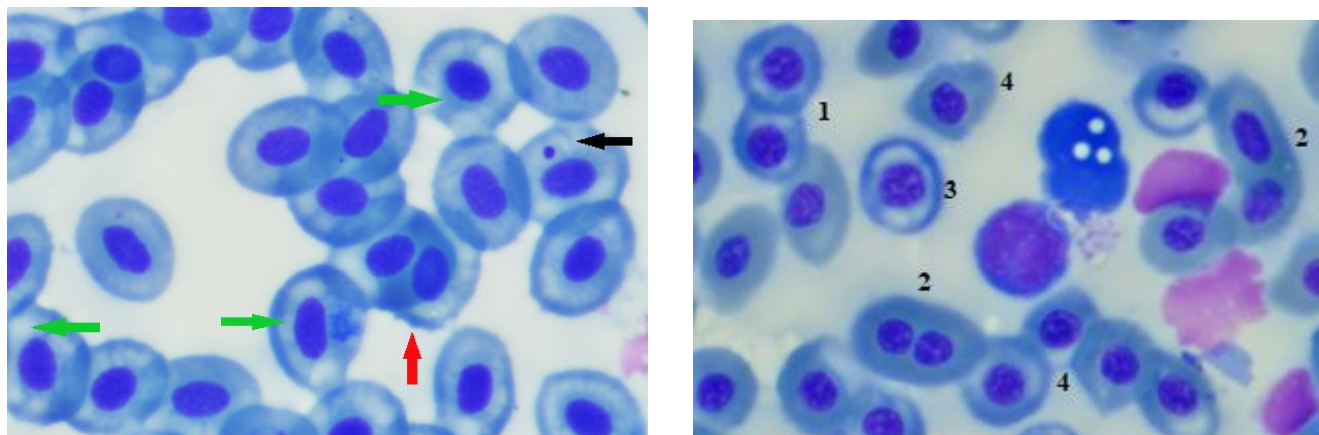


Рис. 7.1. Патології еритроцитів у риб в умовах інтоксикації важкими металами: чорна стрілка – мікроядра, зелена стрілка – гіпохромія, червона стрілка – фестончаста оболонка і аглютинація; 1 – еритробласти, 2 – амітози, 3 – вакуолізація цитоплазми, 4 - пойкилоцитоз

До другої групи порушень, пов'язаних зі **змінами ядра**, відносяться: зміщення ядер до периферії, інвагінація ядра, мікроядра, пікноз, хроматіноліз, каріорексис, каріолізис (рис. 7.1).

Каріопікноз – ущільнення і зморщення ядра.

Каріорексис – розпад хроматину ядра на безформні скупчення гранул і уламків.

Каріолізис – повне розчинення фрагментів ядра. Каріолізис є самим останнім етапом некробіозу і відбувається після каріопікнозу і каріорексису.

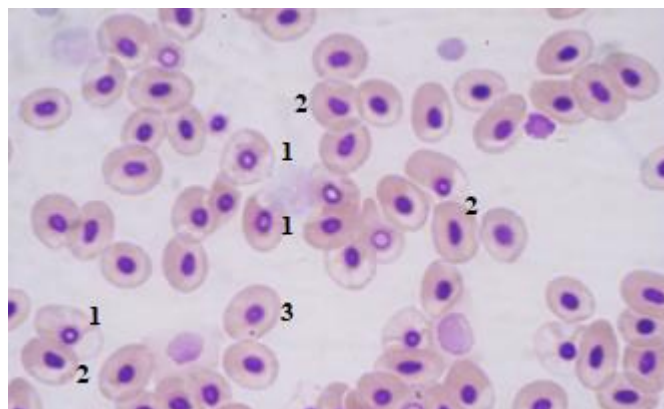


Рис. 7.1. Патології ядра еритроцитів риб.

До третьої групи порушень, **пов'язаних з поділом клітини**, відноситься амітоз. При амітозі поділ клітини супроводжується прямим поділом (перешнурованням) ядра.

До четвертої групи порушень, пов'язаних з **дегенеративними змінами клітин** червоної крові віднесені: вакуолізація цитоплазми, гемоліз і ядерні тіні, утворення без'ядерних фрагментів цитоплазми, що виникають при амітотичному поділі.

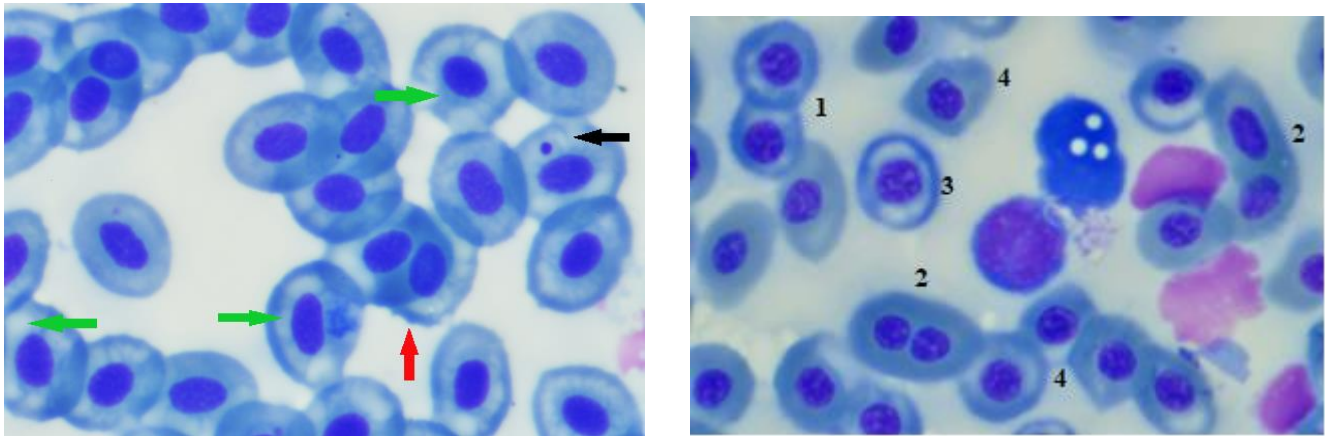


Рис. 7.1. Патології еритроцитів у риб в умовах інтоксикації важкими металами: чорна стрілка – мікроядра, зелена стрілка – гіпохромія, червона стрілка – фестончаста оболонка і аглютинація; 1 – еритробласти, 2 – амітози, 3 – вакуолізація цитоплазми, 4 - пойкилоцитоз

Хід роботи

1. Вивчити за фотографіями мазки крові риби, що знаходилась в умовно чистій зоні (рис. 7.2). і риби, що знаходилась у забрудненій важкими металами зоні Запорізького водосховища (рис. 7.3). Виявити різні патологічні зміни в еритроцитах риби, що мешкали у токсичній зоні. Порівняти з кров'ю риби з умовно чистої зони.
2. За допомогою мікроскопу оглянути препарати мазків крові риби з умовно чистої і забрудненої зони водойми. Підрахувати кількість еритроцитів з різними патологіями і дані занести в таблицю.
3. У висновку вказати, які спостерігаються найбільш розповсюджені патологічні зміни в еритроцитах риби, що мешкали у забрудненій зоні.

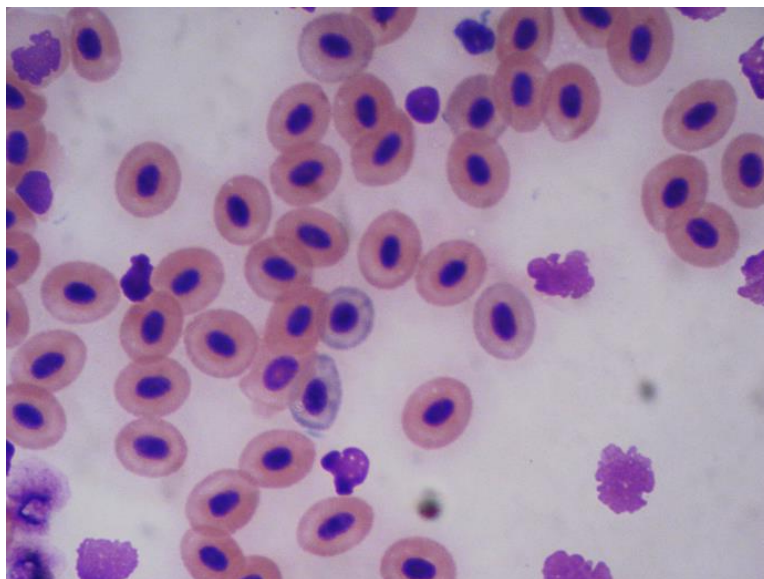


Рис. 7.2. Картина крові карася в нормі.

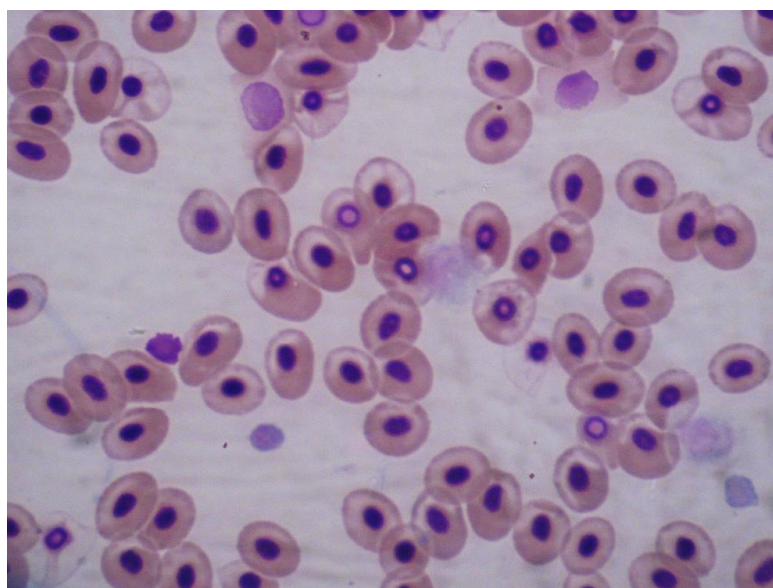


Рис. 7.3. Картина крові карася при інтоксикації важкими металами.

Таблиця 7. Види патологій еритроцитів карася з чистої і забрудненої зони водойми.

Види патологій	Кількість еритроцитів з патологією	
	чиста зона	забруднена зона
Зміни форми клітин		
Пойкілоцитоз		
Анізоцитоз		
Аглютинація		

Гіпохромія		
Фестончатий край		
Патології ядра		
Каріопікноз		
Каріолізіс		
Каріорексіс		
Порушення ділення клітин		
Амітоз		
Дегенеративні зміни в клітинах		
Вакуолізація цитоплазми		
Ядерні тіні		
Без'ядерні фрагменти цитоплазми		

Питання для самоконтролю.

1. Які патологічні зміни морфології еритроцитів Ви знаєте ?
2. Які патології ядра еритроцитів спостерігаються у риб?
3. Які патологічні явища мають місце під час поділу еритроцитів?
4. Укажіть, які бувають дегенеративні зміни в клітинах червоної крові риб.

Лабораторна робота 8. МЕТОДИ ВІДБОРУ ГЕМОЛІМФИ У РАКІВ ТА ВИГОТОВЛЕННЯ МАЗКІВ

Мета: опанувати методи відбору гемолімфи у мармурових раків і навчитись виявляти і оцінювати стан формених елементів гемолімфи.

Матеріали, реактиви та обладнання: живі мармурові раки, предметно скло, ножиці, розчин Май-Грюнвальда (0,3-0,5 г еозинметіленового синього + 100 мл метилового спирту), розчин Романовського, 70% спирт, дистильована вода, бинт, кювета.

Теоретична частина

Мармурові раки *Procambarus virginalis* (Lyko, 2017) (Decapoda) широко розповсюджені у водоймах Сполучених штатів Америки, а з кінця 90-х років минулого століття стали з'являтися у водоймах Німеччини, куди потрапили випадково, скоріше за все як об'єкти декоративної акваріумістики (рис. 8.1). У 2015 році мармурових раків виявили у водоймах Дніпропетровської та Одеської областей. Висока екологічна пластичність та здатність до партеногенетичного

розмноження дозволяють цьому виду швидко адаптуватися до нових умов і нарощувати чисельність.



Рис. 8.1. Мармуровий рак.

Багато дослідників вважають мармурових раків потенційно небезпечними інвазійними видами. Збільшення біомаси мармурових раків може спричинити підриг кормової бази, при тому, що як об'єкти промислового розведення вони не уявляють інтерес. Для попередження ризиків розповсюдження мармурових раків необхідно вивчити їх фізіологічні особливості і діапазон пристосувальних можливостей. Одним із доступних експрес-методів оцінки фізіологічного стану мармурових раків є аналіз гемолімфи.

Гемолімфа – рідина, що циркулює в судинах та міжклітинних порожнинах багатьох безхребетних (членистоногих, молюсків), які мають незамкнуту кровоносну систему. Вона виконує ті ж самі функції, що і кров та лімфа у тварин із закритою системою крові: транспортування кисню та вуглекислого газу, поживних речовин, гуморальну регуляцію, виділення метаболитів і захист. Гемолімфа складається з рідини (плазми) і клітин, представлених гемоцитами 4-х типів: агранулоцити, гранулоцити і полугранулоцити, прозорі клітини (8.2).

Агранулоцити (ГЦ I) – малі клітини розміром 3–17 мкм, сферичні, містять малу кількість внутрішньоклітинних включень.

Полугранулоцити (ГЦ II) – є проміжними клітинами між агранулоцитами і гранулоцитами, мають розміри 8–40 мкм і невелику кількість гранул. Гранули швидко руйнуються, і тоді їх важко відрізнити від агранулоцитів.

Гранулоцити (ГЦ III) – найбільш великі клітини гемолімфи розміром 50 мкм і більше. Цитоплазма заповнена багаточисельними гранулами. Здатні утворювати псевдоподії і переміщуватися.

Прозорі клітини (ГЦ IV) – розмір 8–35 мкм, без забарвлення важко підлягають ідентифікації, оскільки ядро не проглядається і клітини виглядають прозорими. Вважаються попередниками інших гемоцитів.

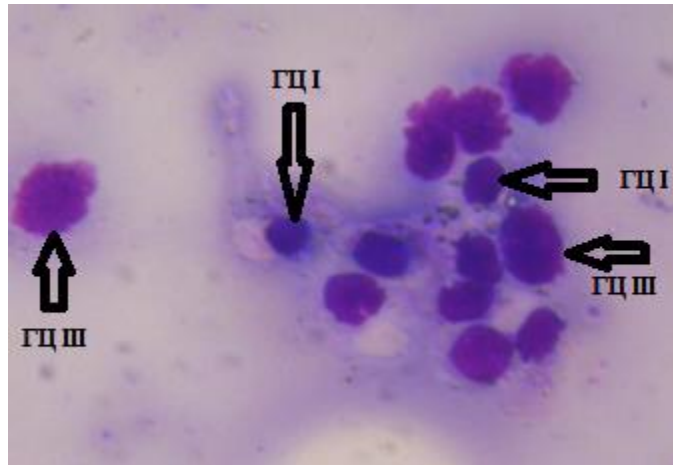


Рис. 8.2. Клітини гемолімфи мармурового рака.

Хід роботи

Гемолімфу в мармурових раків відбирають прижиттєво. Для виготовлення мазків та подальшої морфологічної оцінки гемоцитів необхідно чітко дотримувалися такої схеми:

1. *Відбір раків.* Відібрати раків сачком з акваріуму і помістити в кювету..
2. *Фіксація.* У відібраних раків обгорнути бинтом карапакс таким чином, щоб був доступ до ходильних ніг.
3. *Відбір гемолімфи.* Відібрати гемолімфу шляхом ампутації 1/3 частини 5-ї пари ходильної ноги (рис. 8.2).

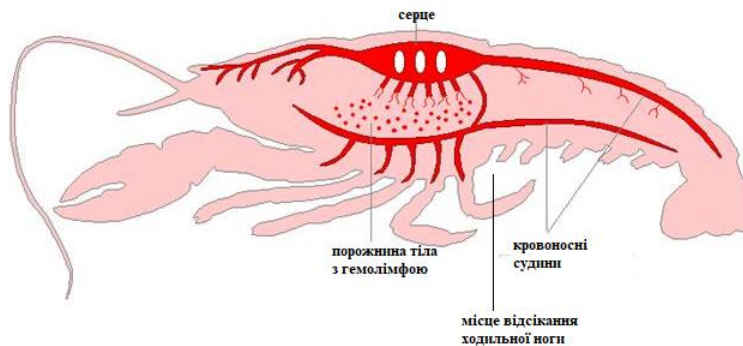


Рис. 8.2. Місце забору гемолімфи у мармурового рака.

Після ампутації частини ходильної ноги чекали одну секунду до появи краплини рідини на місці зрізу ноги рака. Необхідно враховувати, що гемолімфа раків характеризується високою швидкістю аглютинації, тому втрачає свою

текучість уже через 3–5 с після відсікання ноги. У зв'язку з цим, усі процедури з відбору гемолімфи потрібно проводити швидко.

4. *Виготовлення мазка.* На одне предметне скло нанести гемолімфу від одного рака. Другим предметним склом розподілити рівномірно мазок тонким шаром. Далі фарбувати мазок, як вказано в лабораторній роботі №5.

5. *Дослідження мазка.* За допомогою мікроскопу знайти і замалювати різні типи гемоцитів. Підрахувати процентне співвідношення кожного типу клітин. У висновку вказати відносну кількість різних типів гемоцитів та їх функції.

Питання для самоконтролю.

1. Які функції виконує гемолімфа?
2. Які типи клітин містить гемолімфа?
3. Як відібрати гемолімфу у мармурового рака і виготовити мазок?

Лабораторна робота 9. ОРГАНИ ДИХАННЯ ГІДРОБІОНТІВ. ДОСЛІДЖЕННЯ ГАЗООБМІНУ У РИБ.

Мета: ознайомитись з будовою органів дихання у різних гідробіонтів, засвоїти методи визначення інтенсивності газообміну у риб.

Матеріали та обладнання: 10 екземплярів дрібних акваріумних риб (гуппі), розміщених в акваріумі, три склянки об'ємом 200 – 250 мл, оксиметр, ваги з точністю до 1 г, секундомір, марлева серветка.

Теоретична частина

Переважає більшість дрібних водних безхребетних дихає всією поверхнею тіла і спеціальних дихальних органів, як правило, не має. Деякі гідробіонти погано засвоюють кисень з води і тому змушені підніматися до поверхні, щоб «заковтнути» кисень з повітря (рис. 9.1)

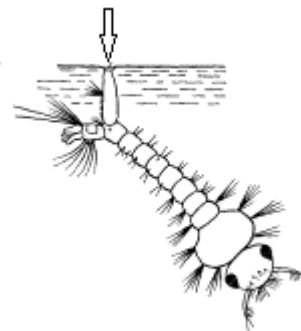


Рис. 9.1. Дихальні сифони личинок комарів.

Червоногі молюски дихають зябрами. Зябра або ктенідії молюсків уявляють собою парні шкіряні вирости, розташовані у мантийній порожнині. Також важливе значення для має шкірне дихання, для деяких молюсків воно навіть є єдиним.

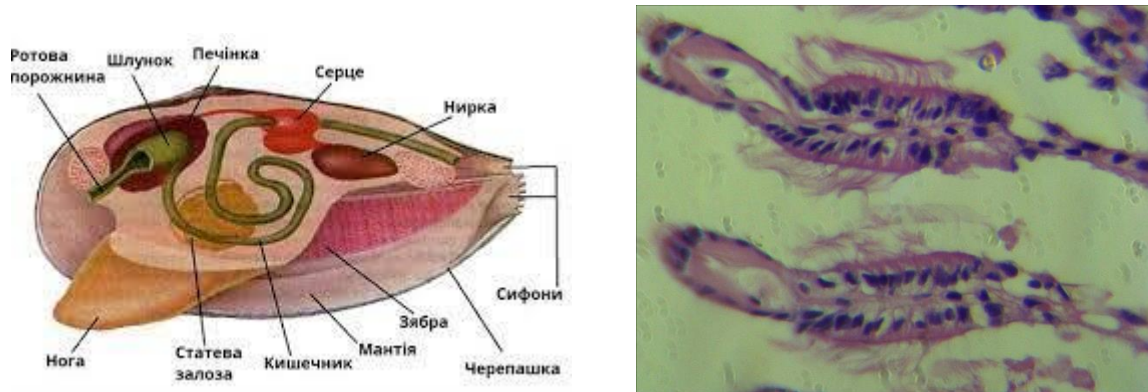


Рис. 9.2. Зябра або ктенідії червоногих молюсків:
зліва – розташування зябер, справа – гістоструктура зябер.

У наземних і вторинноводних **легеневих молюсків** замість ктенідіїв є особливий орган повітряного дихання — легеня (рис. 9.3), що являє собою модифіковану мантийну порожнину, стінки якої пронизані кровоносними судинами. Вторинні легеневі молюски дихають повітрям, підіймаючись до поверхні води. При зануренні у воду їх дихальний отвір закривається.

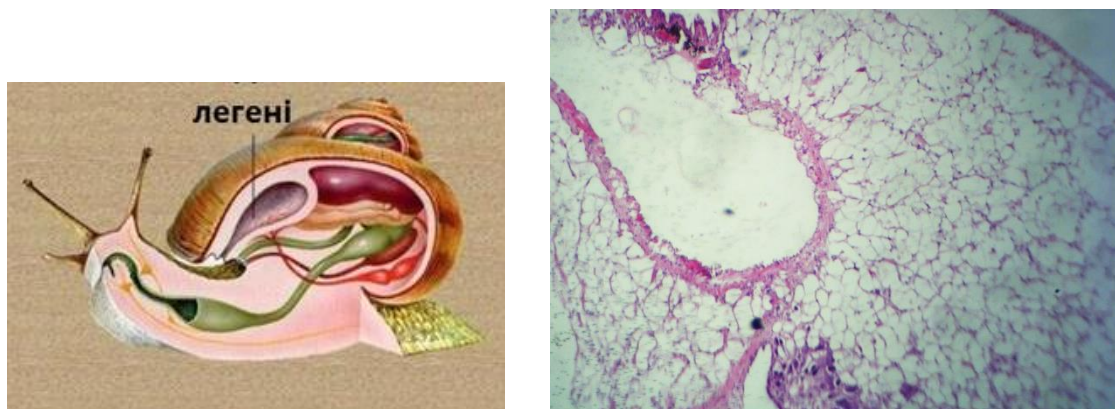


Рис. 9.3. Орган дихання легеневих молюсків:
зліва – розташування легенів, справа – гістоструктура легенів.

У дрібних **ракоподібних** спеціальні органи дихання відсутні і дихання здійснюється всією поверхнею тіла. У вищих раків органами дихання слугують зябра. Це розгалужені тонкі вирости, що простягаються від грудних ніг. Зябра

знаходяться всередині спеціальної зябрової порожнини і ззовні прикриті грудним панциром – карапаксом (рис. 9.4). Вода входить до зябрових порожнин з одного кінця через щелепу між панцером і тілом, а виштовхується з іншого, причому напрямок току води може змінюватись. Циркуляція води в зябровій порожнині забезпечується постійним рухом особливих відростків другої пари нижніх щелеп (200 махальних рухів за хвилину).

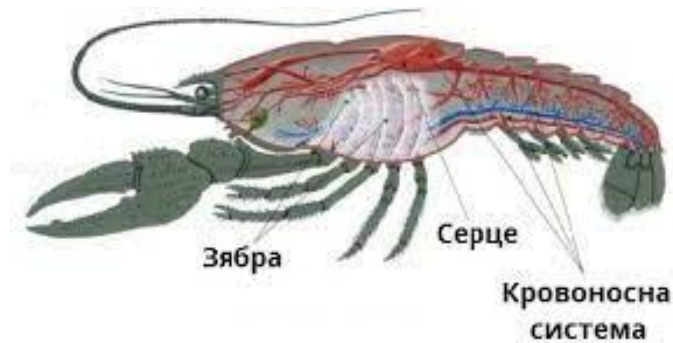


Рис. 9.4. Дихальні органи раків.

У **ембріонів риб** на ранніх стадіях розвитку спеціалізованих респіраторних органів дихання немає і кисень поглинається всією поверхнею тіла. Личинки риб вже мають дихальні органи, якими є судини жовтого мішка, кюв'єрові протоки (місце з'єднання передніх і задніх кардинальних вен) та інші судини (рис. 9.5).

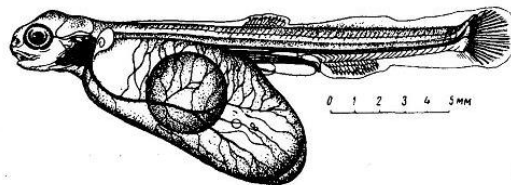


Рис. 9.5. Кровоносні судини жовткового мішка личинок риб.

У **риб** функцію газообміну виконують зябра. Найдосконаліша структура зябрового апарату характерна для кісткових риб. Основою зябрового апарату є 4 пари зябрових дуг. На зябрових дугах – зяброві пелюстки, які утворюють дихальну поверхню (рис. 9.6). Всередині них проходять кровоносні капіляри. Поперечно зябровим пелюсткам розташовані мікроскопічні зяброві пелюсточки, які є структурними елементами зябер як органів дихання.

На стороні зябрової дуги, що виходить на ротову порожнину, розташовані зяброві тичинки. Вони більше відповідають за механічне очищення води, яка потрапляє до зябер. У хижих риб (щука) зяброві тичинки мають вигляд загостених клинків і слугують додатковим органом, крім зубів, для утримання жертви.

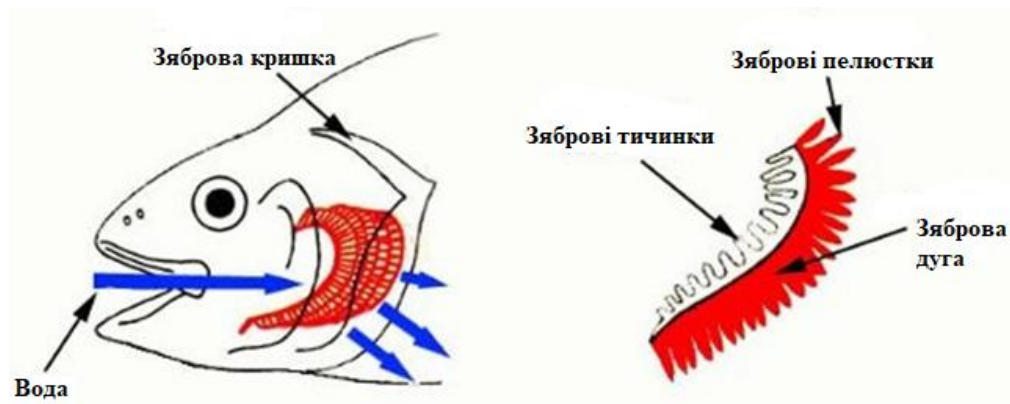


Рис. 9.6. Зябровий апарат риб.

Зябровий газообмін може бути ефективним тільки при постійному струмі води через зябровий апарат. Вода зрошує зяброві пелюстки постійно, і цьому сприяє ротовий апарат. Вода прямує з ротової порожнини до зябер. Такий механізм має більшість видів риб. Нагнітання води забезпечують два насоси – ротовий і зябровий. Роботу зябрового насосу забезпечує рух зябрових кришок.

Інтенсивність дихання риб залежить, насамперед, від газового режиму. Нестача розчиненого у воді кисню і збільшення концентрації вуглекислоти викликають у риб збудження дихального центру, яке супроводжується прискореними рухами зябрових кришок. Таким чином, тіло риби реагує на гіпоксію збільшенням дихальної активності.

Під **газообміном** у риб розуміють споживання кисню і виділення у водне середовище вуглекислоти. Швидкість та інтенсивність споживання кисню характеризує загальний енергетичний обмін у риб. Загальний обмін складається з двох компонентів – основного та активного. Основний обмін вимірюють кількістю кисню, який споживає риба у стані спокою. Активний обмін – це трата енергії на рух, тобто безпосередньо на м'язову роботу.

Хід роботи

1. Визначити об'єм 3-х склянок і заповнити їх водою з акваріуму.
2. В дві склянки (варіанти №1 і №2) висадити по 5 екземплярів гуппі і відмітити початковий час досліду. Склянка без риби – контрольний варіант. Тривалість досліду – 1 година.
3. У варіанті №1 рибу залишити у стані спокою і з періодичністю в 15 хвилин підраховувати кількість рухів зябрових кришок за 1 хв.

4. У варіанті №2 примушувати рибу рухатися, стукаючи по стінкам склянки, і кожні 15 хвилин підраховувати кількість рухів зябрових кришок за 1 хв.
5. Під час проведення досліду замалювати у зошиті органи дихання гідробіонтів, використовуючи рис. 9.1 – 9.6 і позначити їх будову.
6. Через 1 годину у дослідних і контрольній склянках визначити вміст кисню за допомогою оксиметру.
7. Після закінчення досліду рибу зважити, попередньо висушивши марлевою серветкою.
8. Розрахувати інтенсивність дихання риби у кожному варіанті за формулою:

$$K = \frac{(m_0 - m_1) \cdot V}{P \cdot t}$$

де, K - кількість кисню, яку спожила риба, мг/кг за 1 годину;

V - об'єм дослідної склянки, л;

t - час досліду, годин;

P - маса риби, кг;

m₀ - вміст кисню в контрольній склянці, мг/л;

m₁ - вміст кисню в дослідній склянці, мг/л.

9. Отримані дані занести в таблицю:

Варіант	V, мл	P, г	m ₀ , мг/л	m ₁ , мг/л	K, мг/кг	Частота рухів зябрових кришок, разів/сек
1						
2						

У висновку зробити порівняльний аналіз основного і активного обміну та інтенсивності дихання у риби в стані спокою і рухів.

Питання для самоконтролю.

1. Які органи дихання мають безхребетні гідробіонти?
2. Які особливості дихання у червононогих і легеневих молюсків?
3. Що уявляє собою дихальний апарат у риби?
4. Яку функцію виконують зяброві тичинки?
5. Завдяки чому забезпечується постійне зрошування зябер водою?
6. Від чого залежить інтенсивність дихання у риби?
7. За якими показниками оцінюють газообмін у риби?

Лабораторна робота 10. МОРФОЛОГІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ ГІДРОБІОНТІВ

Мета: ознайомитись з будовою і функціонуванням органів травлення у гідробіонтів різних систематичних груп.

Матеріали та обладнання: свіжа риба – короп, білий і строкатий товстолобики, білий амур, стерлядь, форель, сом; ножиці, пінцет, препарувальні голки, скальпель, лінійка, чашки Петрі, кювети для розтину риби.

Теоретична частина

Потреби організму в енергії, поживних речовинах, які забезпечують його ріст і розвиток, задовольняє травна система.

У **молюсків** травна система починається з ротового отвору, який веде в ротову порожнину, куди відкриваються слинні залози. Далі йде глотка, стравохід, шлунок, середня і задня кишка (ректум). Задня кишка відкривається анусом в мантийну порожнину. Анус омивається потоками води, що йде від зябер. Є також травна залоза (печінка), яка бере участь у перетравлюванні, всмоктування і накопичення поживних речовин (клітини печінки молюсків відрізняються здатністю до фагоцитозу). У водних молюсків є спеціальний орган - сифон, який є частиною мантиї. Через сифон молюск здійснює ток води, який використовується для харчування, дихання, розмноження.

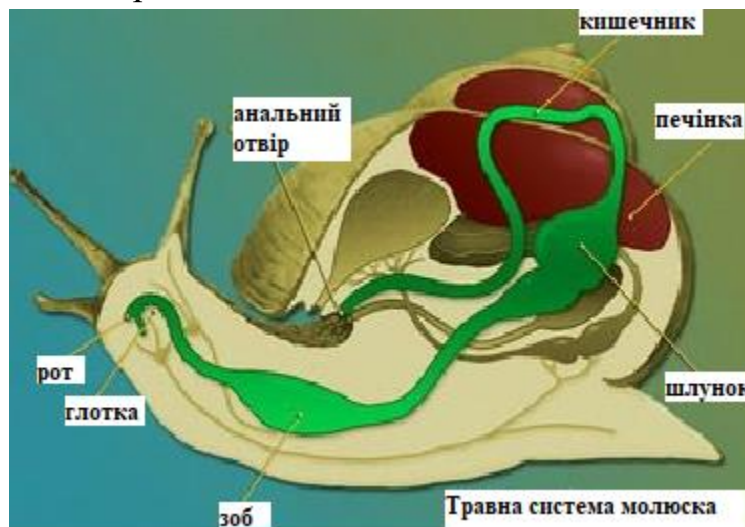


Рис. 10.1. Схема травної системи молюсків.

Травна система **ракоподібних** складається з ротового отвору, далі розташований стравохід, який переходить у шлунок, що складається з двох відділів: жувального й цідильного (рис. 10.2). Стінки жувального відділу мають спеціальні хітинові вирости (вапняні хітинові зубці), котрі перетирають їжу. У цідильному відділі їжа фільтрується. При цьому дуже крупні харчові часточки виключаються з травлення, а відфільтровані поступають в травну залозу — складну систему виростів середньої кишки, де відбувається власне переварювання і всмоктування. Неперетравлені залишки виводяться назовні через анальний отвір, розташований на тельсоні (анальній лопаті).

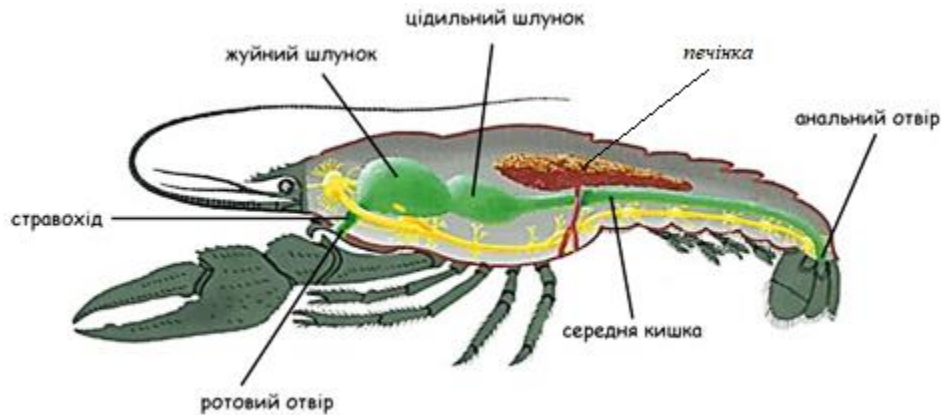


Рис. 10.2. Схема травної системи раків.

Загальна будова травного тракту **риб** не відрізняється від будови травних органів інших хребетних тварин. Їх травний тракт поділяється на рот, глотку, стравохід, шлунок (у корокових риб він відсутній), кишечник. У перетравленні їжі приймають участь травні залози – печінка і підшлункова залоза. Водночас адаптація риб до різних видів їжі призвела до різноманітності у будові і функціях травної системи.

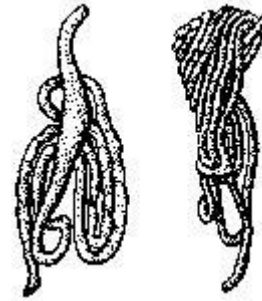
За характером живлення усі риби поділяють на три основні групи: рослиноїдні (фітофаги), твариноїдні (зоофаги) і всеїдні (зоофітофаги). У **родині Коропові** присутні представники всіх трьох груп. Усім їм характерне безшлункове травлення. Личинки всіх корокових після розсмоктування жовткового мішка живляться дрібними формами зоопланктону: коловертками, босмінами, дафніями і менше – циклопами. Із віком короп (сазан) переходить на живлення донними організмами, такими як личинки комах (хірономіди), малощетинкові черви (трубочники) і дрібні молюски. Дорослий білий амур живиться вищою водною рослинністю та нитчастими водоростями. Білий товстолобик у дорослому віці – типовий фітопланктофаг, а строкатий товстолобик – зоопланктофаг. Чорний амур живиться молюсками, в основному дрейсною.

У всіх корошових риб травний тракт має вигляд трубки, яка утворює в черевній порожнині декілька петель. Розширена передня частина кишкової трубки замінює шлунок (рис. 10.3).



Рис. 10.3. Травний тракт корошових:

- 1 – передній відділ кишечнику;
- 2 – середній відділ кишечнику;
- 3 – задній відділ кишечнику;
- 4 – плазальний міхур



а

б

Рис. 10.4. Будова кишечнику:

а – коропа; *б* – товстолобика

Довжина травного тракту корошових різна і залежить від характеру їжі. Чим більше в раціоні риби рослинної їжі, тим довший відносно довжини тулуба кишечник (рис. 10.4). Наприклад, кишечник коропа перевищує лінійні розміри тулуба в 2–3 рази, білого амура – 2,5–4 рази, строкатого товстолобика – 4–6 разів, білого товстолобика – 5–10 разів.

У передньому відділі кишечнику корм надовго не затримується. За рахунок перистальтики кишечнику він повільно переміщується до середнього й заднього відділів. У процесі цього він підлягає дії травних ферментів, які виділяє підшлункова залоза. У корошових підшлункова залоза структурно пов'язана з печінкою і утворює з нею сумісний орган – гепатопанкреас. Активність перетравлення їжі залежить від концентрації рН у травному тракті. Оптимальне значення рН у кишечнику під час перетравлення їжі коливається в межах 6,4–7,3. Концентрація водневих іонів залежить в основному від якості та кількості корму.

Лососеві риби переважно хижі зі шлунковим типом травлення. Личинки з початком зовнішнього харчування споживають дрібні, а з віком середні та великі форми зоопланктону й личинок комах. Більш дорослі особини живляться дрібною рибою, жабами, личинками однокорів та інших тваринних організмів. Будова травного тракту різних лососевих риб схожа і складається зі стравоходу, шлунку, пілоричних придатків, кишечнику (рис. 10.5). Довжина кишечнику перебільшує довжину тулуба в 1,5–2 рази.

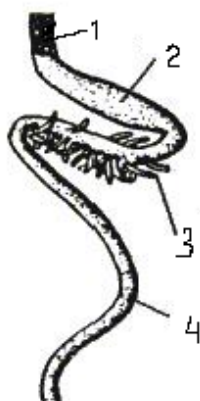


Рис. 10.5. Травний тракт лососевих:

1 – стравохід, 2 – шлунок, 3 – пілоричні придатки, 4 – кишечник.

Перетравлення білка їжі в шлунку хижих риб відбувається в кислому середовищі (рН 2–3) і є більш удосконалене, ніж у мирних риб. Із просуванням хімусу по кишковому тракту показник рН змінюється послідовно від кислого до слабколужного.

Годівля лососевих риб, особливо райдужної форелі, недоброякісними кормами з високим вмістом жирів, приводить до жирової і цероїдної дегенерації печінки.

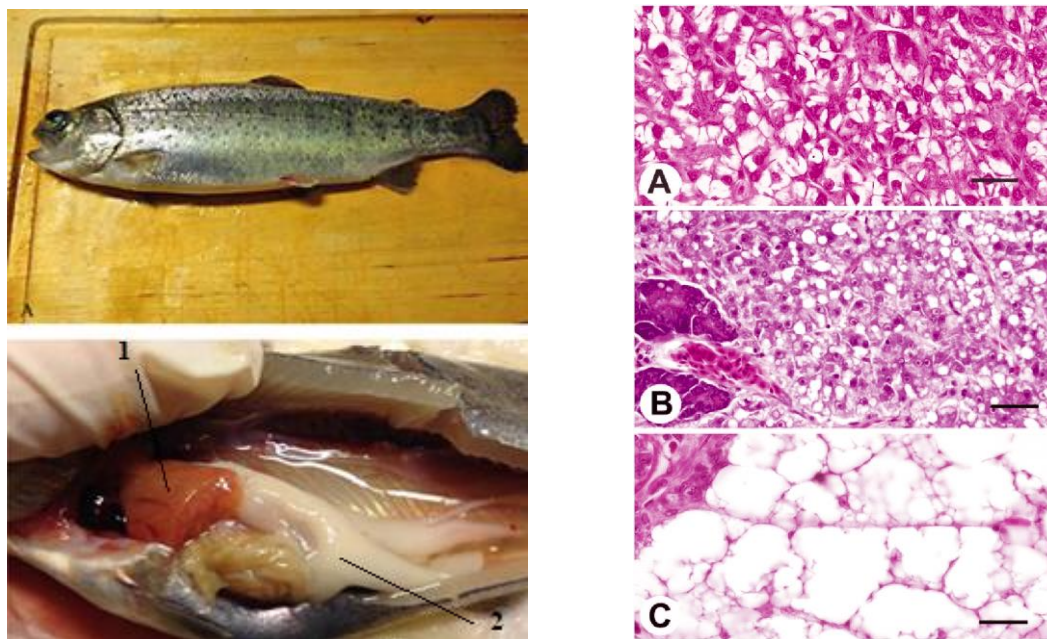


Рис. 10.6. Морфологічні (зліва) і патогістологічні (справа) зміни в печінці райдужної форелі при ожирінні:

1 – печінка, 2 – внутрішній жир; А, В, С – стадії ожиріння печінки.

Цероїд – це продукт самоокислення ненасичених жирних кислот, який накопичується в печінці, порушуючи її структуру і функції. При цьому печінка збільшується в розмірах і набуває світло-жовтого кольору замість темно коричневого. Хвора риба відстає в рості і поступово гине. Висока чутливість райдужної форелі до жирних кормів, пояснюється тим, що організм лососевих риб, на відміну від карпових, не здатний самостійно синтезувати вітамін С, який має антиоксидантні властивості і нейтралізує дію окислених жирів.

Осетрові риби – хижаки зі шлунковим типом травлення. Їх личинки харчуються поживними речовинами жовткового мішка протягом 20–25 днів. Молодь живиться дрібними ракоподібними, личинками комах і м'якими бентосними організмами. У дорослому віці осетрові харчуються великими личинками комах, червами, дрібною рибою.

Травний тракт осетрових складається зі стравоходу, шлунку, переднього та середнього відділів кишки та інших органів травлення (рис. 10.6). Співвідношення довжини кишечника до тулуба становить 1 : 0,7–1,0.

На відміну від лососевих риб пілоричних придатків у осетрових немає. Вони зрослися в єдиний орган – пілоричну залозу, яка бере участь у процесі травлення їжі.

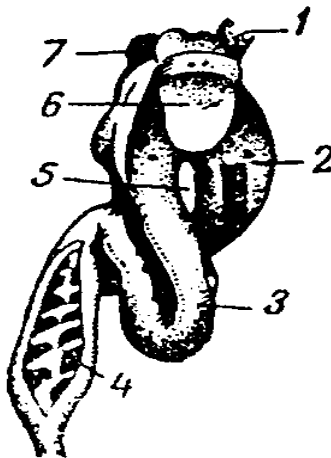


Рис. 10.6. Травний тракт осетрових:

1 – стравохід; 2 – шлунок; 3 – передній відділ кишки; 4 – спіральний клапан у задньому відділі кишки; 5 – селезінка; 6 – пілорична залоза; 7 – печінка

Сомові належать до хижих риб із шлунковим типом травлення. Довжина їх кишечника приблизно дорівнює довжині тулуба. Перетравлювання їжі відбувається послідовно в кислому, слабкокислому та нейтральному середовищі. Відхилення від оптимальних значень рН знижує перетравність. Будова травної системи сомових подана далі (рис. 10.7).

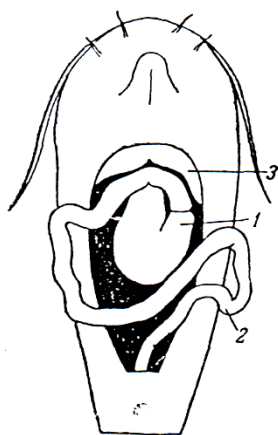


Рис. 10.7. Травний тракт сомових:
1 – шлунок; 2 – петлі кишечника; 3 – печінка

Перші 7–8 днів личинки сомових харчуються поживними речовини жовткового мішка, розсмоктування якого залежить від температури води. За температури води 20–22°C він розсмоктується через 4 доби. Потім у личинок починається період змішаного харчування. Личинки й молодь живляться дрібними й великими формами зоопланктону, личинками жуків, комах, а дорослі особини – дрібною рибою, жабами, молюсками.

Хід роботи

1. Замалювати травний тракт коропових, лососевих, осетрових та сомових риб.
2. Зробити розтин риби ножицями або скальпелем по черевній стороні від анального отвору до голови. Шлунок-кишковий тракт відрізати від стравоходу до анального отвору й помістити в чашку Петрі.
3. Ретельно розглянути будову травного тракту риб різних родин. У коропових визначити передній, середній та задній відділи кишечника, гепатопанкреас; у форелі – шлунок, пілоричні придатки, кишку, печінку; у стерляді – шлунок, передній та задній відділи кишки, печінку; у сомових – шлунок, кишечник, печінку.
4. Заміряти довжину тіла риби від початку голови до початку хвостового плавця та довжину кишкового тракту й визначити їх співвідношення.
5. Отримані дані занести в таблицю:

Вид риби	Довжина тіла, см	Довжина кишкового тракту, см	Співвідношення довжини кишечника і тіла
----------	------------------	------------------------------	---

Питання для самоконтролю.

- 1. Які особливості будови травної системи у молюсків?*
- 2. Які органи входять до складу травної системи ракоподібних?*
- 3. Із якого віку починають формуватись особливості будови травного тракту мирних і хижих риб?*
- 4. Від чого залежить довжина кишкового тракту в різних видів коропових риб?*
- 5. Яку роль у процесі травлення відіграє рН середовища кишкового тракту і як воно змінюється в різних його відділах?*
- 6. Яка причина жирової дегенерації печінки у райдужної форелі?*
- 7. Що уявляють собою пілоричні придатки, у яких риб вони спостерігаються і які виконують функції?*
- 8. В чому особливість будови травного тракту у осетрових риб?*

ТЕМИ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

1. Вміст води та водний обмін у тканинах різних гідробіонтів.
2. «Жирні» і «нежирні» риби. Роль жирів у життєдіяльності риб.
3. Особливості вуглеводного обміну у риб.
4. Біохімічний склад тканин водних молюсків.
5. Особливості кровотворення та кровообігу у риб.
6. Біохімія крові риб.
7. Механізм осморегуляції у прісноводних та морських риб.
8. Органи фільтрації у молюсків. Екологічне значення молюсків як біофільтраторів.
9. Філогенетичні особливості системи травлення гідробіонтів.
10. Типи м'язової тканини та їх функціональні властивості під час руху риб.
11. Особливості структури осевого та периферичного скелета риби.
Мінеральний склад кісток.
12. Фізіологія розмноження молюсків.
13. Оксифільні і оксифобні гідробіонти. Пристосування гідробіонтів до дефіциту кисню.
14. Функції печінки як травної залози.
15. Додаткові органи дихання у риб.
16. Особливості відтворення раків.
17. Фактори, що впливають на швидкість руху риби.
18. Забарвлення риб та його біологічне значення.
19. Явище флюоресценції у гідробіонтів та його біологічне значення.
20. Поведінка риб у зграях. Типи зграй та їх роль у житті риб.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Вогнівенко Л. П., Євтушенко М. Ю., Шевряков М. В., Архангельська М. В., Пентилюк С. І. Біохімія гідробіонтів. Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС, 2009. 536 с.
2. Гроховська Ю.Р., Кононцев С.В. Екологічна фізіологія та біохімія гідробіонтів. Методичні вказівки. Рівне: НУВГП, 2020. 37 с.
3. Екологічна біохімія / В.М. Ісаєнко, В.М. Войціцький, Ю.Д. Бабенюк та ін. К.: Книжкове вид-во НАУ, 2005.
4. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). М.: Лег.и пищ. промсть, 1983. 80 с.
5. Козій М.С., Шерман І.М., Лянзберг О.В. Атлас гістології та ембріології промислових риб. Навчальний посібник. Херсон: Грін Д.С., 2011. 404 с.
6. Крушельницька О.В., Кравець С.І., Сенечин В.В. Фізіологія риб: навчально-методичний посібник. Львів: Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького, 2021. 129с.
7. Фізіологія риб: практикум / П.А.Дехтярьов, І.М.Шерман, Ю.В.Пилипенко, О.О.Яржомбек, С.Г.Вовченко. К.: Вища школа, 2001. 128 с.
8. Маренков О.М., Лихолат Т.Ю. Анований атлас з гістології мармурового рака. Д.: ДНУ, 2018. 18 с.
9. Мельничук Д.О., Мельникова Н.М. Біохімія гідробіонтів. Посібник для лабораторних робіт. К., 2011. 216 с.
10. Sharon, G., Zilberg, D. Atlas of Fish Histology and Histopathology. Arava Research and Development Centers, 77. 2011.

Коефіцієнти вгодованості та індекси внутрішніх органів риб

Вид риби, її вік (роки)	Коефіцієнт вгодованості за Фультоном	Індекси внутрішніх органів, %			Примітка
		печінка	селезінка	серце	
Плітка (2-4-х річки)	2–2,3	0,9–1,1	0,11–0,18	0,13–0,14	Водосховище, норма
Карась сріблястий (2-4-х річки)	3–3,5	2,1–2,4	0,11–0,18	0,11–0,12	Водосховище, норма
Судак (3-5-ти річки)	1,2–1,5	0,9–1,1	0,12–0,14	0,06–0,07	Водосховище, норма
Плоскирка, (3-4-х річки)	2,3–2,9	1,11–1,2	0,12–1,18	0,11–0,15	Водосховище, норма
Щука (2-3-х річки)	1,1–1,3	1,1–1,4	0,10–0,12	0,03–0,04	Водосховище, норма
Щука (2-3-х річки)	0,2-0,6	-	-	-	Крайнє виснаження
Лящ (2-5-ти річки)	2,2–2,5	1,5–1,8	0,20–0,22	0,11–0,12	Водосховище, норма
Короп (цьоголітки)	2,4–3,5	2,4–2,8	1,21–1,23	0,1–0,3	Восени, повноцінний корм
	-	3,0-4,0	-	-	Восени, вуглеводисті корма
Короп (2-х річки)	2,6–3,0	2,4-2,8	0,80–0,84	0,1–0,3	Ставки, норма
Короп (3-5-ти річки)	2,5–4,0	1,7–2,0	0,19–0,21	0,14–0,15	Ставки, норма
Білий товстолобик, (2-х річки)	1,7–1,8	-	-	-	Ставки, норма
Райдужна форель (2-3-х річки)	1,5–1,9	1,7–2,2	0,20–0,30	0,2	Басейни, норма
Райдужна форель (2-3-х річки)	-	0,9–1,2	0,17	-	Отруєння, стрес