

Тема: Паразитологічне дослідження риб

Мета: Вивчити й освоїти метод повного паразитологічного обстеження хребетних на прикладі риб.

Обладнання: мікроскоп, освітлювач (лампа), ФК пристрій до мікроскопу, імерсійна олія, ксилол, вата, піпетки, препарувальні голки, предметні та покривні скельця, скальпель, свіжа або морожена риба.

Хід роботи

Завдання 1. Провести повне паразитологічне обстеження риби і збір паразитів.

Методика паразитологічного дослідження риб

1. При дослідженні використовують живу або свіжу рибу з чистими зябрами. Знерухомлюють живу рибу, перерізвавши ножицями з спинної сторони хребет.
2. Переглядають покриви риби, зішкрібають слиз з різних частин поверхні тіла і досліджують її під стереомікроскопом.
3. Вимірюють і зважують рибу та беруть пробу луски (отолітів, жучків, зяброву кришку або колючку плавців) для визначення віку.
4. Відрізають плавці, виконують зішкріб скальпелем (піпеткою або голкою) з носових ямок, рота, каналу бічної лінії і переглядають його під стереомікроскопом.
5. Відбирають кров безпосередньо із серця, зябрової артерії, надрізу при знерухомленні, за допомогою піпетки Пастера. Краплю крові з піпетки поміщають на предметне скло, на відстань кілька міліметрів від його вузького краю. Покривним склом роблять тонкий мазок, потім його висушують і фіксують у метанолі.
6. Відрізати зябра так, щоб вони не були залиті кров'ю. Для цього необхідно відрізати голову за зябровими кришками або з сторони спини ножицями, тримаючи рибу хвостом донизу, почекати, щоб кров стекла і тільки після цього вирізати ножицями зяброві дуги. Краще класти зябра в чашку Петрі і тримати змоченими водою. Зяброві дуги спочатку почергово переглядають на препарувальному склі під стереомікроскопом, перебираючи пелюстки голками, збираючи і підраховуючи паразитів. Потім зішкрібають скальпелем слиз і м'які частини зябрових пелюсток, виділяють усіх раніше не виявлених паразитів.
7. Після ретельного зовнішнього огляду і збору ектопаразитів починають дослідження внутрішніх органів і тканин. Тримаючи рибу червону стороною догори в лівій руці, вводять гострий кінець ножиців у м'яку шкіру, що оточує анальний отвір, і коротким розрізом прорізають поперек червну стінку тіла, спереду від анального отвору. У розріз вводять тупий кінець ножиців і розрізають червну стінку тіла вздовж середньої лінії, до заднього краю ротової щілини. Потім, трохи відтягнувши стінку лівої сторони тіла, розсікають її ножицями від анального отвору в напрямку до бічної лінії, повертають ножиці й обережно ведуть розріз паралельно бічної лінії вперед до заднього кута зябрової кришки. Потім розрізають перетинку зябрової порожнини, направляючи ножиці донизу і доходять до переднього краю червонного розрізу.
Щоб дістати головний мозок потрібно гострим скальпелем зрізати в горизонтальному напрямку верхню стінку черепа між потилицею й очима, ведучи зріз по напрямку вперед. Далі виймають мозок, який досліджують компресорним методом. Для розкриття спинного мозку в спинномозковий канал вводять гострий кінець ножиців, якими і розрізають дуги хребців.
8. Звичайно приймають наступну послідовність дослідження внутрішніх органів: 1) серце, 2) сечовий міхур, 3) жовчний міхур, 4) печінка, 5) селезінка, 6) жирова тканина, 7) кишечник, 8) статеві залози, 9) плавальний міхур, 10) нирки, 11) очі, 12) головний мозок, 13) спинний мозок, 14) мускулатура, 15) скелет.
Дослідження внутрішніх органів проводиться компресорним методом. Частина органів і тканин, а також зішкреби зі стінок кишечника або його вмісту невеликими частинами розміщують між двома препарувальними скельцями або чашками Петрі і мікроскопують під стереомікроскопом при об'єктиві X2 і окулярі X8 або X14.
9. З кожного досліджуваного органу також береться піпеткою рідина, що переноситься на предметне скельце і розглядається під покривним скельцем на великому збільшенні мікроскопу, що необхідно для виявлення паразитичних найпростіших (наприклад спор мікроспоридій та мікроспоридій).
10. Збір паразитів з порожнинних органів травлення (кишечник, шлунок, стравохід) проводять із застосуванням методу промивання, що складається в послідовному промиванні водою зчищеного вмісту кишечника або шлунку. Потім осад береться частинами і проглядається під стереомікроскопом.

Методика фіксації й обробки паразитів

З моногеней і слизуватих споровиків виготовляють гліцерин-желатинові препарати, останні вивчають із застосуванням фазово-контрастного пристрою. Мікроспоридій для світлової мікроскопії фіксують на скельцях

метанолом або рідиною Шаудіна і фарбують гематоксиліном за Гейденгайном, а також роблять водні препарати. З інфузорій виготовляють постійні препарати в пикраті амонію, після чого досліджують з використанням фазово-контрастного пристрою. Інфузорій ряду (*Mobilis*) додатково фіксують метанолом або рідиною Шаудіна з наступною імпрегнацією 2% азотнокислим сріблом методом Клейна.

Трематод, цестод, акантоцефал і великих моногеней фіксують 70-градусним спиртом і фарбують наступними барвниками: карміном Блажина, ацетокарміном, гематоксиліном за Делафільдом.

Нематод фіксують і зберігають у 4% формаліні або 70-градусному спирті. Нематод і хоботки акантоцефал вивчають на тимчасових препаратах, прояснених молочною кислотою або гліцерином.

Паразитичних ракоподібних фіксують у 70-градусному спирті і досліджують у гліцерині без попереднього фарбування.

Завдання 2. Дати характеристику зараженості риби паразитами.

Для характеристики зараження тварин паразитами використовують класичні епідеміологічні показники:

- екстенсивність зараження (ЕЗ) – відношення числа заражених особин до числа досліджених особин, виражене у відсотках;

- середня інтенсивність зараження (СІЗ) – середня кількість паразитів, яка припадає на одного зараженого хазяїна (число зібраних паразитів поділене на число заражених особин); крім середньої інтенсивності інвазії часто наводять також межі інтенсивності (від – до: найменша і найбільша кількість паразитів, знайдених у дослідженій пробі тіла хазяїна);

- індекс рясності (ІР) – число паразитів, що припадає на одного хазяїна в популяції (число зібраних паразитів, поділене на число досліджених хазяїв).

Контрольні питання

1. Методика паразитологічного дослідження риб.
2. Методи фіксації паразитів та виготовлення препаратів.
3. Основні таксономічні групи паразитів риб.
4. Місця локалізації різних груп паразитів в організмі риб.
5. Умови, які уможливають утворення системи паразит-хазяїн (теорія "фільтрів").
6. Проблема виділення окремих популяцій серед паразитичних організмів (на прикладі простого та складного циклу розвитку).
7. Класифікація популяцій паразитів: інфрапопуляція, метапопуляція та супрапопуляція.
8. Категорії багатовидових угруповань, які функціонують в екосистемі: інфраугруповання, багатоконпонентні угруповання, збірні угруповання.
9. Просторова структура паразитичних угруповань.
10. Характеристики основних типів розподілу популяції паразитів: рівномірний, випадковий та агрегований.
11. Вікова структура популяцій паразитів.
12. Терміни, що визначають частоти виявлення паразитів (основні, проміжні, та супутні види).