

ОЦІНКА ЯКОСТІ СТАТЕВИХ ПРОДУКТІВ САМЦІВ БІЛОГО АМУРА (*Ctenopharyngodon idella*)

Д.А. Сироватка

Інститут рибного господарства НААН

Проаналізовано морфологічні показники плідників білого амура (Ctenopharyngodon idella), проведено оцінку якості статевих продуктів за допомогою комп'ютерної програми "VideoТест-Сперм 2.1". Рекомендовано використовувати відібраних самців для подальшого здійснення кріоконсервації їх статевих продуктів.

Останнім часом застосування в сучасній рибницькій практиці кріоконсервованої сперми для отримання якісного посадкового матеріалу набуває все більшого поширення. Завдяки такій технологічній схемі знижуються витрати на утримання самців, не відбувається деградації популяційної та генетичної структури, рибоводи мають можливість займатись гібридизацією територіально віддалених груп та видів [8].

Відомо, що температура рідкого азоту становить -196°C , за таких умов більшість хімічних процесів спинається, заморожені клітини можуть зберігатись сотні років за відсутності впливу іонізуючого випромінювання. Проте більшість клітин гине, не досягнувши температури глибокого заморожування. Це відбувається тому, що в цитоплазмі виникають кристали криги, які порушують внутрішньоклітинні структури та позбавляють їх здатності запліднення [7].

Використання рослиноїдних риб у сучасному рибництві вимагає розроблення науково обґрунтованих методів формування та експлуатації маточних стад, здатних забезпечити зростаючу потребу в посадковому матеріалі. Враховуючи цінність білого амура як меліоратора і важливої ланки в біоценозі та продуктивності водойм, вважається за необхідне ведення з ним селекційно-плеїнної роботи, спрямованої на підвищення його продуктивних якостей та біологічних особливостей.

Мета досліджень 2011 р. полягала у відборі плідників відповідно до морфометричних показників, що встановлено нормативами. Також було заплановано

дослідити якість статевих продуктів відібраних особин для подальшого використання їх молок із метою довготривалого зберігання в рідкому азоті.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідні роботи проводили на базі дослідного господарства "Нивка" та лабораторії відділу селекції риб Інституту рибного господарства НААН. Матеріал для досліджень — плідники та статеві продукти білого амура, відібрані під час нерестової компанії 2011 р.

Під час весняного бонітування було відібрано 10 плідників. Відбір проводили відповідно до існуючих стандартів [1]. Морфометричні проміри виконано згідно із "Рекомендаціями по селекції білого і пестрого толстолобиков в умовах тепловодних господарств України (первий етап), 1990 г." [2].

Для стимулювання дозрівання гонад використовували синтетичний гонадотропін — рилізінг-гормон торгової марки "Ovopel" угорського виробництва. Відбір статевих продуктів здійснювали відповідно до загальноприйнятих у рибництві методик [3]. Сперму зціджували у пластикові контейнери. Об'єм еякуляту визначали за допомогою піпет-дозатора з точністю до $0,1\text{ см}^3$. Усі контейнери розміщували в термосі з кригою на пінопластовій пластинці.

Якість сперми визначали за існуючими методиками [3, 4]. Одержані матеріали опрацьовували статистично за допомогою комп'ютерної програми "VideoТест-Сперм 2.1", а також камери Маклера та оптичного мікроскопа "Zeiss AxioStar plus" із відеокамерою "JVC TK-C1480BE".

Для визначення співвідношення живих та мертвих сперміїв еякулят фарбували 5%-м водним розчином еозину натрію. На предметне скельце камери Маклера наносили краплину сперми та додавали відповідну кількість розчину. Мертві сперматозоїди зафарбовувались в рожевий колір. Під мікроскопом при збільшенні в $\times 20$ разів переглядали в п'яти полях по 100 сперміїв. В автоматичному режимі програма підраховувала кількість живих та мертвих сперматозоїдів.

Активність сперміїв визначали після активації їх водою. Пробу вносили в поле зору відеокамери мікроскопа та стежили за рухливістю. Коли 52% сперматозоїдів змінювали активний поступальний рух на коливальний, фіксували час. У кожній пробі дослід повторювали 3 рази.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Роботу з відтворення білого амура було розпочато за температури води 21–23°C. Усі відібрані самці мали добре

виражене “шлюбне вбрання”, морфометричні проміри яких представлено в табл. 1.

З даних табл. 1 видно, що коефіцієнт вгодованості риб коливався в межах 1,6–2,6, що свідчить про добру їх підготовку до нересту. Плідники мали характерне золотаво-жовте забарвлення та валькувате тіло довжиною від 62,5 до 69 см. Індекси I/H та I/O відповідно дорівнювали 3,82–5,30 та 1,53–1,72, що також входить в межі коливань морфометричних даних для самців першого класу. Відібрані самці за екстер'єрними показниками, згідно з існуючими стандартами даного виду, належать до класу елітних [2].

Для стимуляції дозрівання статевих продуктів досліджуваній рибі робили ін'єкції синтетичним гонадотропним стимулюючим препаратом “Ovopel”. Залежно від маси риби та температури води на момент дослідження визначали необхідну кількість діючої речовини (рис. 1).

З рис. 1 видно, що під час проведення експерименту температура води перебувала в межах фізіолого-екологічних

Таблиця 1. Морфометричні та екстер'єрні показники самців білого амура

Номер самця	Показник									
	М, г	Л, см	І, см	Н, см	О, см	С, см	Кв	I/H	I/O	I/C
171	5000,00	69,00	65,50	15,50	40,20	15,00	1,78	4,23	1,63	4,37
172	4000,00	57,00	53,00	10,00	32,00	11,00	2,69	5,30	1,66	4,82
173	6500,00	79,00	74,00	18,40	44,00	16,30	1,60	4,02	1,68	4,54
174	4200,00	63,70	57,90	14,00	36,00	12,00	2,16	4,14	1,61	4,83
175	5300,00	74,40	66,00	17,30	43,20	16,00	1,84	3,82	1,53	4,13
176	4400,00	65,00	59,00	14,30	37,00	13,50	2,14	4,13	1,59	4,37
177	4900,00	63,00	61,30	15,40	39,00	14,00	2,13	3,98	1,57	4,38
178	4100,00	62,30	55,00	12,00	32,00	12,00	2,46	4,58	1,72	4,58
179	3900,00	57,40	53,00	10,00	31,50	11,00	2,62	5,30	1,68	4,82
180	4400,00	64,00	59,00	14,00	37,00	13,00	2,14	4,21	1,59	4,54
M	4670,00	65,48	60,37	14,09	37,19	13,38	2,16	4,37	1,63	4,54
m	250,36	2,20	2,09	0,88	1,42	0,61	0,11	0,17	0,02	0,07
δ	791,693	6,94	6,60	2,80	4,50	1,93	0,36	0,53	0,06	0,23
Cv	16,95	10,60	10,93	19,86	12,11	14,46	16,48	12,10	3,59	5,17
Max	6500,00	79,00	74,00	18,40	44,00	16,30	2,69	5,30	1,72	4,83
Min	3900,00	57,00	53,00	10,00	31,50	11,00	1,60	3,82	1,53	4,13

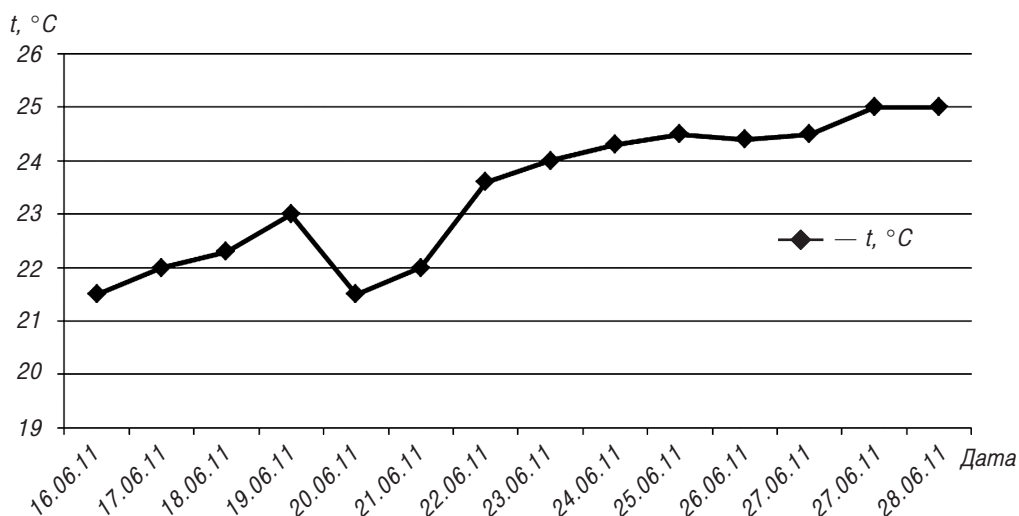


Рис. 1. Температурний режим води інкубаційного цеху за період досліджень

потреб білого амура для відтворення і становила 21,5–25°C. У період з 19.06.11 по 21.06.11 було зафіксовано зниження температури до 21,5°C, що відіграло негативну роль при відборі сперми.

Для проведення досліду всіх риб поділили на дві групи по 5 плідників у кожній. Відбір молок здійснювали за два етапи. Під час першого були використані самці з порядковими номерами 171–175, другого — 176–180. Перший етап був прове-

дений з 19.06.11 по 20.06.11, другий — з 26.06.11 по 27.06.11. Відразу після відбору сперми здійснили попередню візуальну оцінку її якісних показників (колір, консистенція). Дані експрес-оцінювання наведено в табл. 2.

За візуальною оцінкою групи № 1 самців № 171; 173 оцінено на 4 та 3 бали через присутність в еякуляті домішок. У спермі цих плідників був підвищений вміст оваріальної рідини та крові (№ 173).

Таблиця 2. Візуальна оцінка сперми білого амура

Група	Ознака				Бали
	Індивідуальний номер плідника	Колір	Консистенція	Наявність сторонніх домішок*	
№ 1	171	Кремowo-жovтий	Сметаноподібна	+	4
	172	Білий	Рідкої сметани	-	5
	173	Кремowo-жovтий	Рідка	+	3
	174	Білий	Сметаноподібна	-	5
	175	Кремowo-жovтий	Рідкої сметани	-	5
№ 2	176	Кремowo-жovтий	Сметаноподібна	-	4
	177	Білий	Рідка	-	5
	178	Кремowo-жovтий	Рідка	-	5
	179	Кремowo-жovтий	Рідкої сметани	-	5
	180	Білий	Рідкої сметани	-	5

* — підвищений вміст оваріальної рідини, наявність крові, слизу, фекалій.

Це могло бути спричинено різким зниженням температури води (див. рис. 1) або індивідуальною реакцією організму на синтетичний гонадостимулюючий препарат.

Кількість сперми, отриманої від одного плідника, відповідала нормативним даним [3] і становила 20–30 см³.

Для визначення кількісного співвідношення живих та мертвих спермій, їх активності та концентрації використовували комп'ютерну програму. Результати обробляли в автоматичному режимі (табл. 3, 4).

За результатами аналізу “Співвідношення живих та мертвих спермій” плідники групи № 1 за номерами 172, 174, 175 оцінено в 5 балів, за номерами 171 та 173 — мали найбільше недоброякісних

спермій — 14% та 33% відповідно, їх оцінено в 4 та 3 бали. У групі № 2 лише самець № 176 оцінений у 3 бали. Кількість мертвих статевих клітин у його спермі становила 23%. Решта самців групи № 2 практично не мали недоброякісних спермій і їх оцінено в 5 балів. Згідно з літературними даними [3], використання самців, які оцінено в 3 і менше балів, є недоцільним з точки зору селекції.

У табл. 4 наведено результати оцінки тривалості руху статевих клітин. Головним показником при оцінюванні був поступальний рух сперматозоїдів. Порівнюючи отримані дані з нормативними [3], потрібно виділити плідників № 171, 173, 176, тривалість руху сперматозоїдів яких не відповідала нормативним

Таблиця 3. Співвідношення живих та мертвих спермій білого амура ($n=100$)

Група № 1			Група № 2		
Індивідуальний номер плідника	Кількість живих спермій	Кількість мертвих спермій	Індивідуальний номер плідника	Кількість живих спермій	Кількість мертвих спермій
	I — 85	15	176	I — 85	15
171	II — 84	16		II — 73	27
	III — 89	11		III — 72	28
M±m	86±1,52	14±1,52	M±m	76,6±4,17	23,3±4,17
	I — 100	0	177	I — 100	0
172	II — 100	0		II — 95	5
	III — 98	2		III — 98	2
M±m	99,3±0,66	0,6±0,66	M±m	97,6±1,45	2,3±1,45
	I — 65	35	178	I — 100	0
173	II — 67	33		II — 100	0
	III — 68	32		III — 98	2
M±m	66,6±0,88	33,3±0,88	M±m	99,3±0,66	0,6±0,66
	I — 100	0	179	I — 100	0
174	II — 100	0		II — 99	1
	III — 99	1		III — 100	0
M±m	99,6±0,33	0,3±0,33	M±m	99,6±0,33	0,3±0,33
	I — 100	0	180	I — 100	0
175	II — 100	0		II — 100	0
	III — 100	0		III — 100	0
M±m	100±0	0±0	M±m	100±0	0±0

Таблиця 4. Тривалість руху спермійв білого амура, охолоджених до температури 17°C

Група № 1			Група № 2		
Активність, с					
Індивідуальний номер плідника	Загальний рух, с	Поступальний рух, с	Індивідуальний номер плідника	Загальний рух, с	Поступальний рух, с
	I — 70	40		I — 60	39
171	II — 65	39	176	II — 59	37
	III — 63	35		III — 55	36
M±m	66±2,08	38±1,52	M±m	58±1,52	37,3±0,88
	I — 110	79		I — 95	64
172	II — 110	75	177	II — 93	60
	III — 108	75		III — 92	60
M±m	109,3±0,66	76,3±1,33	M±m	93,3±0,88	61,3±1,33
	I — 54	29		I — 98	73
173	II — 54	25	178	II — 95	68
	III — 48	25		III — 98	70
M±m	52±2	26,3±1,33	M±m	97±1	70,3±1,45
	I — 105	89		I — 93	67
174	II — 90	85	179	II — 89	65
	III — 91	85		III — 87	56
M±m	95,3±4,84	86,3±1,33	M±m	89,6±1,76	62,6±3,38
	I — 85	46		I — 103	70
175	II — 82	43	180	II — 101	71
	III — 80	43		III — 105	75
M±m	82,3±1,45	44±1	M±m	103±1,15	72±1,52

значенням для селекційного матеріалу білого амура.

Кількість запліднення ікри спермою плідників групи № 1 дорівнювала 85%, групи № 2 — 94%. Деяко гірші результати, одержані з використанням сперми плідників групи № 1 могли бути зумовлені погодними умовами або індивідуальною реакцією організму на штучне стимулювання вивільнення гонадотропіну.

Органолептична оцінка сперми є швидким методом визначення якості еякуляту, проте це не завжди надає достовірні дані й у деяких випадках такий експрес-метод не може бути об'єктивним для застосування сучасних кріотехнологій. Аналізуючи результати, наведені

у табл. 3, 4, можна рекомендувати для використання сперму відібраних плідників із метою їх використання в експериментах із кріоконсервації генетичного матеріалу.

ВИСНОВКИ

Відібрані для заводського відтворення плідники білого амура за існуючими екстер'єрними стандартами належать до класу елітних.

Найкращі самці за екстер'єрними ознаками характеризуються такими показниками якості еякуляту:

- візуальна оцінка молок: колір — білий із жовтим відтінком, консистенція — від сметаноподібної до рідкої;

- кількість живих сперміїв — 98–100%;
 - тривалість руху сперміїв за температури 17°C: загальний рух — 97–103 с, поступальний — 72–86 с.
- Відібрані плідники з № 171, 173, 176 мали відхилення від нормативних показників якості сперми, про що свідчать результати експериментів, також це підтверджено даними щодо запліднення ікри. Отже, молоки всіх плідників, крім № 171, 173 та 176 можна рекомендувати для використання в експериментах із довготривалого зберігання в рідкому азоті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балтаджи Р.А. Технологія відтворення рослиноїдних риб у внутрішніх водоймах України. — К.: УААН ІРГ, 1996. — 82 с.
2. Гречковская А.П., Басалкевич Е.Е. Рекомендации по селекции белого и пестрого толстолобиков в условиях прудовых и тепловодных хозяйств Украины (первый этап). — Львов, 1990. — 22 с.
3. Казаков Р.В. Определение качества половых продуктов самцов рыб (метод. указания). — Л.: ГосНИОРХ, 1978. — 15 с.
4. Методическое пособие по криоконсервации спермы карпа, лососевых и осетровых рыб / Л.И. Цветкова, С.И. Савушкина, Л.Н. Титарева. — М.: ВНИИПРХ, 1997. — 10 с.
5. Цветкова Л.И., Каранова М.В. Влияние антифризных гликопротеинов на качество криоконсервированной спермы рыб // Цитология. — 1994. — Т. 36, № 11. — С. 1157–1163.
6. Персов Г.М. Учет осетроводных работ в связи с применением гипофизарных инъекций / Г.М. Персов // Метод гипофизарных инъекций и его роль в воспроизводстве рыбных запасов. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1941. — С. 42–50.
7. Ashwood-Smith M.J. (1980) In: Low-temperature preservation in medicine and biology (M.J. Ashwood-Smith and J. Farrant, Eds.) // Pitman Medicals, London, 19–45.
8. Ilker Yavas, Yusuf Bozkurt, Mustafa Kemal. Effect of different thawing rates on motility and fertilizing capacity of cryopreserved grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) sperm // Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 25/2011/1.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ САМЦОВ БЕЛОГО АМУРА (*Ctenopharyngodon idella*)

Д.А. Сыроватка

Проведена оцінка якості половых продуктів белого амура (*Ctenopharyngodon idella*) с помощью компьютерной программы “ВидеоТест-Сперм 2.1”. Показана возможность использования отобранного генетического материала для использования криобиотехнологий.

QUALITY PRODUCTS SPERM GRASS CARP (*Ctenopharyngodon idella*)

D. Syrovatka

The estimation of quality sperm grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) using computer software program “VideoTest-Sperm 2.1.” The possibility of using selected genetic material for future use kriobiotehnolohiy.