

А. А. Вронский, Л. А. Николайчук, А. Г. Белоусов

МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОСЕВОЙ МУСКУЛАТУРЫ И КИНЕМАТИКИ ПЛАВАНИЯ РЫБ

При изучении локомоторного аппарата позвоночных многие исследователи не ограничиваются морфологическими данными и привлекают необходимые материалы кинематических и физиологических исследований (Манзий, Мороз, 1978; Ковтун, 1980).

Наиболее удобным методом для оценки уровня функциональной активности плавательной мускулатуры рыб является регистрация ее электрической активности, так как между усилием мышцы и величиной интеграла миограммы по модулю зависимость прямо пропорциональна (Персон, 1963). Этот метод сейчас успешно используется для изучения локомоторной мускулатуры рыб (Rayner, Keenan, 1967; Матюхин, Нешумова, Столбов, 1976) на специально оборудованных стендах (Матюхин, Хаскин, Столбов, 1970; Каян, Пятецкий, 1971). Однако в большинстве случаев электромиография и кинематика плавания рыб изучались или одновременно, или же запись электрической активности мышц сопоставлялась с результатами покадрового анализа кинограмм (Bainbridge, 1958; Webb, 1970). Исключением являются работы Хадсона (Hudson, 1973), производившего одновременную запись электромиографии и плавательных движений хвостового плавника рыб в виде электрического сигнала с фотоэлектрического следящего устройства, расположенного в рабочей камере под углом 45° к продольной оси рабочего участка.

Предлагаемый метод основан на комплексном изучении этих вопросов на созданной авторами установке, состоящей из замкнутой гидродинамической трубы и набора вспомогательных измерительных приборов (рис. 1). Гидродинамическая труба с окнами из оргстекла, толщиной 10 мм, имеет в сечении форму окружности и расположена на прочной подставке в горизонтальной плоскости. Передняя часть трубы длиной 80 и внутренним диаметром 30 см является рабочей камерой. Поскольку труба изготовлена из винилпласта, ее внутренней поверхности удалось придать плавный осесимметричный профиль и тем самым избежать турбулизирующих участков в местах технологических разъемов установки. Размеры ее $2,5 \times 1,5 \times 0,4$ м. Объем циркулирующей воды 350 л. Рабочий участок ограничен с двух сторон решетками. Для выравнивания потока воды перед камерой помещена решетка типа «honecomb». С помощью передвижных мелкоячеистых решеток камеру можно уменьшить, что использовалось при работе с мелкими рыбами и в период адаптации рыб к условиям эксперимента для исключения резких движений (бросков), нарушающих фиксацию электродов.

Направленная циркуляция воды в установке обеспечивается трехлопастным гребным винтом, приводом которого служит электродвигатель постоянного тока мощностью 3 квт. Число оборотов двигателя контролируется тахометром. Скорость потока воды в рабочей камере может быть изменена от 0 до 1,5 м/сек и измеряется по шкале тахометра привода, которая предварительно оттарирована путем измерения скорости потока при помощи трубки Пито, соединенной с дифференциальным манометром.

Для снятия биопотенциалов мышц рыб при плавании использовали крючковидные биполярные внутримышечные проволочные электроды, изготовленные из медной проволоки (тип ПЭВ-2, ГОСТ 7262-70) диаметром 0,11—0,15 мм, дополнительно покрытой двумя-тремя слоями цапонлака. Длина электродов 50—60 см, площадь отведения защищенных концов $2,4—4,2$ мм². Маркировка электродов до выхода на разъем коммутирующего устройства производилась изменением длины, которую при креплении электрода на разъем коммутирующего устройства делали стандартной. Электроды вводили в мышцу с помощью пары жестко закрепленных в держателе из оргстекла тонких инъекционных игл со спиленными головками. Держатель с фиксированным межэлектродным расстоянием (3 мм) позволял изменять глубину погружения электродов. После введения электродов держатель с иглами извлекается из мышцы (рис. 2).

Перед введением электродов рыбу обездвигивали раствором бензокаина гидрохлорида по методике Ferreira et al. (1979). Как дополнительный анестетик использовали временное охлаждение рыб по методике Williamson, Roberts (1981).

Глубину введения электрода определяли после рассечения мускулатуры замороженных рыб. Из-за сложного перекрытия миомеров (Кашин, 1971) и большого количества испытуемых животных электроды вводили по установленной нами схеме, при которой точки их введения располагались по длине тела следующим образом: 0,3 L; 0,48 L; 0,66 L; 0,84 L. Эти точки предварительно маркировались с помощью водостойкого красителя (рис. 3).

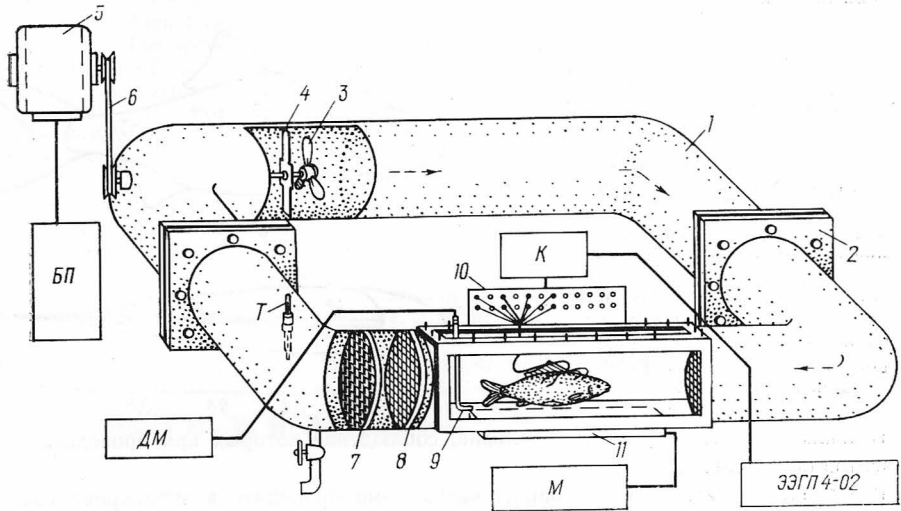


Рис. 1. Схема приборного комплекса для изучения электрической активности мускулатуры рыб и кинематики их плавания:

БП — блок питания; ДМ — дифференциальный манометр; М — фотоэлектрический монитор; К — коммутатор электроэнцефалографа; ЭЭГП4-02 — четырехканальный электроэнцефалограф; 1 — возвратно-циркулирующий участок трубы; 2 — соединительные фланцы; 3 — гребной винт; 4 — опорные стойки; 5 — электродвигатель постоянного тока; 6 — приводной ремень; 7 — крупноячеистая заградительная сетка; 8 — мелкоячеистая заградительная сетка; 9 — датчик скорости; 10 — разъем для подключения электродов; 11 — датчик амплитудно-частотных характеристик движения хвостового плавника рыбы.

ЭМГ регистрировали с помощью четырехканального электроэнцефалографа ЭЭГП4-02. Запись вели на диаграммной ленте шириной 140 мм при скорости протяжки 3,75; 7,5 и 15 см/сек. При этом коммутирующий разъем позволял при необходимости изменять комплекс записи: ЭМГ на четырех или на двух-трех каналах, а на одном — запись амплитудно-частотных характеристик движения хвостового плавника при плавании, полученных с помощью устройства, реагирующего на изменение освещенности прозрачного дна рабочей камеры гидродинамической трубы. Это устройство (монитор) представляет собой параллельно-балансный усилитель, на входную цепь которого включены два фоторезистора ФСД-Г1, помещенные в короткофокусные широкоугольные объективы. Они располагались под рыбой так, что не нарушали баланс токов усилителя при отсутствии колебаний ее тела. При потоке воды в рабочей камере гидродинамической трубы рыба вынуждена совершать изгибательно-колебательные движения, изменяя тем самым освещенность фоторезисторов. Вследствие этого на выходе усилителя постоянного тока появляется сигнал разбаланса, параметры которого прямо пропорциональны параметрам колебательных движений хвоста рыбы. Этот сигнал и выводится на один из гальванометров электроэнцефалографа. Электромиографическую запись проводили сначала в состоянии покоя (поток воды отсутствует), а затем при различных скоростях течения по 15—25 мин на каждой.

Таким образом, описанный метод позволяет определять фазы работы миомеров правой и левой сторон, а также время задержки в возбуждении последовательно расположенных миомеров, определять фазы работы дорсальных и вентральных частей миомеров, расположенных на одинаковом расстоянии от головы, сравнивать работу красной и белой мускулатуры при различных скоростях плавания и т. п.

В соответствии с поставленной задачей полученные электромиограммы обрабатывали по максимальной амплитуде всплесков, частоте следования и длительности циклов покоя и активности как составных элементов двигательного акта при различных скоростях плавания.

Расчет амплитуды всплесков ЭМГ проводили с помощью калибратора электроэнцефалографа следующим образом: в каждой данной записи электрической активности измеряли величину (в мм) 15—20 пиков с наибольшей амплитудой. Затем, пользуясь калибровкой сигналов, амплитуду, измеренную в миллиметрах, пересчитывали на микровольты. Наличие в приборе отметчика времени позволяет провести временной анализ полученных записей.

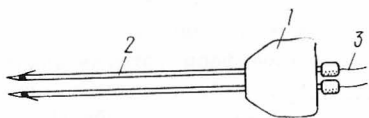
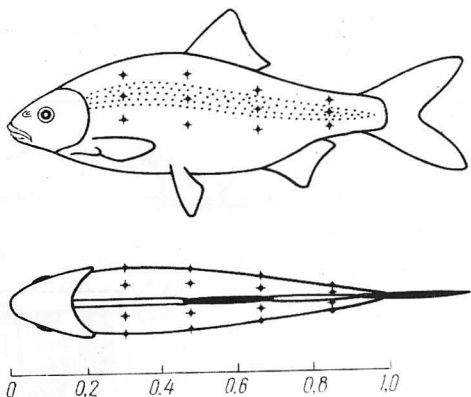


Рис. 2. Устройство для введения электродов в мускулатуру рыб:

1 — плексигласовая пластина; 2 — инъекционные иглы; 3 — электрод.

Рис. 3. Схема расположения точек введения электродов в латеральную мускулатуру рыб для регистрации их электрической активности.



В заключение перечислим ряд условий, соблюдение которых при проведении экспериментов обязательно.

Все электрофизиологические опыты необходимо проводить в экранированной камере, что позволяет избежать влияния электромагнитных полей и получить доброкачественные записи. Температуру воды в аквариумах и трубе следует поддерживать на постоянном уровне ($13 \pm 2^\circ\text{C}$), так как ее снижение или повышение резко уменьшает плавательную активность и выносливость рыб (Павлов, 1979). Рыб необходимо ежедневно кормить, так как голодание (даже 1—2 суток) снижает их плавательные способности. Перед записью электромиограммы рыб следует адаптировать к потоку воды скоростью 0,2—0,3 м/сек для восстановления нормального уровня метаболизма, который повышается при манипуляциях с рыбой во время подготовки опыта (Brett, 1964). Повторно использовать рыб в эксперименте можно лишь после суточного перерыва, т. к. менее продолжительный «отдых» не восстанавливает сил животного (Павлов, 1979). При вылове рыбы необходимо как можно меньше травмировать, при транспортировке воду (1,5—3 л на 1 кг живого веса) в емкостях постоянно аэрировать. Температуру при этом следует поддерживать на уровне 13—17°C. В связи с существованием в потоке воды пограничного слоя (со значительно меньшей скоростью) рекомендуется использовать в опытах рыбу, наибольшие поперечные размеры которой должны превышать 0,1 диаметра трубы (Павлов, Фомин, 1978). При этом крупных рыб (длиной более 40 см и поперечным сечением более 10 см) не следует использовать в трубе указанных выше размеров, так как это вызывает увеличение скорости потока из-за уменьшения площади его поперечного сечения. По данным Веба (Webb, 1970), ошибка метода в этом случае будет составлять 7,5—15% и зависит от размера рыбы.

Весь цифровой экспериментальный материал обрабатывается с использованием критерия Стьюдента — Фишера и разностного критерия для определения существенности различий в одной группе. Степень зависимости между изучаемыми показателями оценивается с помощью метода обычной корреляции.

Кашин С. М. Изучение кинематики плавания рыб и структурной организации их двигательной системы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— М., 1971.— 25 с.

Каян В. П., Пятецкий В. Е. Биогидродинамическая установка замкнутого типа для исследования гидродинамики плавания морских животных.— Бионика, 1971, № 5, с. 121—124.

Ковтун М. Ф. Сравнительная морфология и эволюция органов локомоции рукокрылых: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Киев, 1980.— 54 с.

- Манзий С. Ф., Мороз В. Ф. Морфо-функциональный анализ грудных конечностей млекопитающих.— Киев : Наук. думка, 1978.— 133 с.
- Матюхин В. А., Хаскин В. В., Столбов А. Я. Установка для комплексного изучения энергетики и физиологии плавания рыб.— Вопр. ихтиологии, 1970, 10, вып. 5, с. 925—928.
- Матюхин В. А., Нешумова Т. В., Столбов А. Я. Электромиографическая активность мышц байкальского хариуса и общее потребление им кислорода при дозированных скоростях плавания.— Изв. сиб. отд-ния АН СССР. Сер. биол. наук, 1976, вып. 1, с. 112—116.
- Павлов Д. С., Фомин В. К. Методика определения критических скоростей течения для рыб.— Рыбное хоз-во, 1978, № 11, с. 30—32.
- Павлов Д. С. Биологические основы управления поведением рыб в потоке воды.— М.: Наука, 1979.— 170 с.
- Персон Р. С. Электромиография в исследованиях человека.— М.: Наука, 1963.— 200 с.
- Vainbridge R. The speed of swimming of fish as related to size and to the frequency and amplitude of the tail beat.— J. Exp. Biol., 1958, 35, p. 109—133.
- Brett J. R. The respiratory metabolism and swimming performance of young Sockeye Salmon.— J. Fish. Res. Bd. Can., 1964, 21, p. 1183—1226.
- Hudson R. C. L. On the function of the white muscles in teleosts at intermediate swimming speeds.— J. Exp. Biol., 1973, 58, p. 509—522.
- Rayner M. D., Keenan M. J. Role of red and white muscles in the swimming of the skipjack tuna.— Nature, 1967, 214, p. 392—393.
- Webb P. W. Some aspects of the energetics of swimming of fish with special reference to the cruising performance of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. Bristol: Ph. D. thesis. Bristol University, 1970.— 189 p.
- Williamson R. M., Roberts B. L. Body cooling as a supplement to anaesthesia for fishes.— J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 1981, 61, N 1, p. 129—131.
- Ferreira J. T., Schoonbee H. J., Holzapfel C. W. Comparison of anaesthetic potency of benzocaine hydrochloride and MS-222 in fresh water species.— Progre. Fish-cult., 1979, 41 (3), p. 161—163.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена
АН УССР

Получено 14.02.83

УДК 599.002

Н. В. Лобанов, А. Е. Отрада

ОБЕЗДВИЖИВАНИЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТА М-99 В АСКАНИИ-НОВА

Обездвиживание животных на расстоянии является перспективным методом их отлова для перемещения, мечения, взятия крови и пунктата из грудной кости, ветеринарных манипуляций, расчистки копыт, срезки рогов или пантов (олени), вакцинации и т. д. Методика обездвиживания животных описана ранее (Лобанов, 1979).

В 1971—1976 гг. для обездвиживания диких копытных мы использовали стандартный алкалоид никотина и сернилен (США). Индекс безопасности этих препаратов составлял 110—115 %, это не позволяло нивелировать в какой-то мере весовые различия в полевых условиях, что иногда приводило к передозировке препаратов и гибели животных. Алкалоид никотина был отвергнут из-за негуманного по клиническим проявлениям действия, сернилен — из-за отсутствия антидота.

В 1977—1979 гг. для обездвиживания диких млекопитающих мы использовали препарат М-99 (эторфин гидрохлорида) с мощным антидотом М-50-50 (депринорфен гидрохлорида). Эти препараты мы получили от фирмы Рэкит и Колмен (Англия). Преимущества М-99 перед другими обездвиживающими препаратами: микроскопические дозы, большой индекс безопасности (можно вводить двухкратные дозы) и наличие надежного противоядия. Для удобства мы приготавливали навески М-99 по 10 мг и М-50-50 по 20 мг. Применяли 0,2 %-ный раствор М-99 и 0,4 %-ный раствор М-50-50. Оба препарата растворяли на 20 %-ном спирте с бидистиллированной водой, подогретой до 40 °С, что обеспечивало их лучшую растворимость. Такие растворы летом не плесневеют, а зимой при —15 °С не замерзают. Спиртовый раствор ускоряет процесс проникновения эторфина в кровяное русло. Оба препарата вводились животным внутримышечно: М-99 с помощью ружья и пистолета, антидот М-50-50 — вручную медицинским шприцом в дозе в 2 раза большей, чем М-99. Как правило, стреляли с расстояния от 5