

негатива или позитива для измерений не имеет принципиального значения, но получение негативов дешевле и требует меньшего времени на их обработку.

Предлагаемый метод особенно целесообразен при массовом измерении ряда соразмерных структур (например, на одной нерасчлененной личинке мошки можно измерять: длину тела, длину и высоту головной капсулы, длину грудной ноги, размеры клубка дыхательных нитей, длину самих дыхательных нитей) (рисунок).

Предложенный принцип измерения в случае необходимости может применяться и для измерения более мелких структур. Для этого нужно лишь увеличить масштаб съемки. Это возможно при использовании микроскопов, дающих большое увеличение.

Измерение объектов на негативе более экономно. По нашим наблюдениям, на такие работы затрачивается в 2—3 раза меньше времени, и они менее утомляют исследователя, чем при традиционном способе измерений с помощью окуляр-микрометра.

Метод может найти широкое применение в морфометрии не только мошек, но и многих других членистоногих.

Донецкий университет

Получено 03.01.86

УДК 595.323

С. А. Гилевич, О. В. Нечаева

О ПРИМЕНЕНИИ АЗОТНОКИСЛОГО СЕРЕБРА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РОСТОВЫХ СЛОЕВ В ЗУБАХ И КОСТИ ТЮЛЕНЕЙ

Наиболее распространенным методом определения индивидуального возраста китообразных и ластоногих является подсчет ростовых слоев в зубах и кости. Слои подсчитываются на шлифах, изготовленных из недекальцинированного материала, а также на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином. Применение этих методов не всегда приводит к достоверным результатам, нередко случаи, когда определить возраст не удается. В. А. Потелов (1986) приводит данные, полученные норвежскими исследователями, согласно которым ошибки при определении индивидуального возраста хохлача и гренландского тюленя для различных возрастных групп составляют от 8,4 до 28,6 %. Опыт Всесоюзной конференции по изучению регистрирующих структур (Москва, 1984) и IX Всесоюзного совещания по изучению морских млекопитающих (Архангельск, 1986) показал, что совершенствование существующих и разработка новых методов определения точного возраста морских млекопитающих являются необходимыми.

Нами для определения возраста тюленей использована методика импрегнации азотнокислым серебром, которая отработывалась на образцах зубов (резцы, клыки, заклыковые) и кусочков нижнечелюстной кости каспийской (*Pusa caspica*, 25 особей), кольчатой (*P. hispida*, 15) нерп, а также клыков морского котика (*Callorhinus ursinus*, 8). Учитывался также пол животных. В процессе работы предстояло выяснить, пригоден ли для импрегнации нефиксированный материал. Поэтому, наряду с фиксированным в 12 %-м нейтральном формалине, исследовался сухой материал (зубы морского котика). Все пробы декальцинировались в 5 %-м растворе азотной кислоты, затем готовились замороженные срезы толщиной 5—15—25 мкм.

Для наиболее полной идентификации слоев и выбора оптимальных условий их определения вначале просматривались неокрашенные срезы, после чего часть из них окрашивалась хорошо созревшим гематоксилином Эрлиха, часть импрегнировалась по способу Бильшовского-Грос в классической прописи и модифицированной нами. При заключении сре-

зов в бальзам с целью предупреждения их деформации применялось гвоздичное масло.

Суть модификации заключается в дополнительной обработке срезов формалином. Препараты, извлеченные из серебряно-аммиачного комплекса, погружаются в чашечки с 5 %-м раствором кислого формалина. Необходимо также учитывать следующее: в 20 %-м растворе азотно-кислого серебра срезы должны выдерживаться не более 30 мин и извлекаться еще непожелтевшими; в серебряно-аммиачном комплексе допускается лишь легкое пожелтение срезов, следовательно, нужно готовить «слабый» комплекс; время пребывания срезов в 5 %-м растворе кислого формалина устанавливается визуально, они должны приобрести интенсивный коричневый цвет. Дальнейшая обработка срезов производится согласно прописи.

Импregnация нефиксированного материала также дает неплохие результаты, обработка зубов и кости без предварительной фиксации вполне допустима, однако структура слоев при этом видна хуже.

Сопоставление полученных результатов показало, что при импregnации по Бильшовскому-Грос слои выявляются более полно, они более контрастны, чем при окраске гематоксилином. Но наиболее четко микроструктура цемента и дентина, а следовательно, и ростовых слоев проявляется при обработке препаратов по модифицированному способу. При подсчете слоев мы неоднократно сталкивались со сложностями при определении границы первого года жизни, кроме того, с увеличением возраста, особенно в слоях, отложенных после 20 лет, границы становятся плохо различимыми. Исследование препаратов, импregnированных по предлагаемой методике, в большинстве случаев помогало прояснить картину.

Недостатком метода является то, что по сравнению с окраской гематоксилином, импregnация-процесс более трудоемкий, требующий соблюдения определенных условий и навыка исполнителя. Это ограничивает область его применения, особенно при массовых определениях возраста. Мы рекомендуем использовать данный метод в качестве контрольного, когда более простые способы дают неудовлетворительные результаты, а также при специальных исследованиях морфологии комплекса ростовых слоев (КРС). В настоящее время КРС исследуются глубоко и всесторонне, выясняются причины и закономерности их формирования. Предпринимаются попытки установить связь между образованием некоторых дополнительных линий и определенными функциональными состояниями животных (Клевезаль, 1982). Это требует детального анализа структуры дентина и цемента, возрастных особенностей процессов обызвествления, учета и классификации дополнительных линий и т. д. На наш взгляд, использование метода импregnации серебром в исследованиях такого рода целесообразно и может принести большую пользу. Импregnация, например, дает возможность дифференцировать



Ростовые слои в верхнем клыке каспийского тюленя (оригинальная модификация импregnации по Бильшовскому-Грос; стрелкой указаны гипокальцинированные слои, $\times 40$).

зоны более и менее кальцинированного дентина, позволяя решить спорные вопросы. Учитывая, что в гистохимии азотнокислое серебро применяется для качественного определения кальция, можно заключить, что слои повышенной аргентофильности содержат больше кальция, т. е. являются гиперкальцинированными. Преимущество методики Бильшовского-Грос перед гистохимическими методами в данном случае состоит в том, что при импрегнации сохраняется картина распределения слоев (рисунок). Необходимо отметить следующее: слои, проявляющие повышенную аргентофильность, более интенсивно окрашиваются гематоксилином.

Сравнивая слои в зубах различных типов, а также у самцов и самок, мы пришли к убеждению, что у всех исследованных животных, независимо от метода обработки срезов, структура КРС наиболее четко проявляется в верхних клыках, у самцов лучше, чем у самок.

Клевезаль Г. А. Метки в дентине зубов, связанные с размножением // Изучение, охрана и рац. использование морских млекопитающих.— Астрахань, 1982.— С. 161—163.

Потелов В. А. Значение метода определения индивидуального возраста и пути его совершенствования.— Архангельск, 1986.— С. 324—325.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена АН УССР
(Киев)

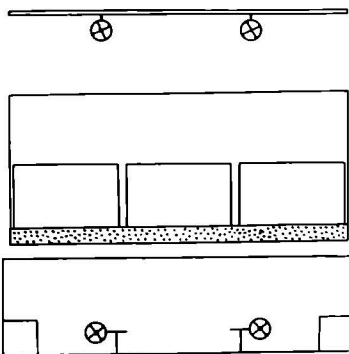
Получено 19.05.87.

УДК 591.471.3 : 001.8

О. Н. Котляров

МЕТОДИКА ОЧИСТКИ СКЕЛЕТА МЕЛКИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Существующие способы биологической мацерации скелетного материала не лишены ряда недостатков, связанных как с характером воздействия агентов на очищаемый скелетный материал, так и с возможным заселением ими помещений. Использование кожеда *Dermestes frischii* K u g. позволило избежать опасности заселения насекомыми помещений, т. к. оптимум температуры, обуславливающий их интенсивное размножение, составляет 30—35 °С, в связи с чем потребовались некоторые изменения конструкции инсектария. Щели аквариума средней величины, заполненные заводской замазкой, покрываются эпоксидной смолой. Крышка изготавливается из органического стекла (толщиной не менее 5 мм) или металла, в ней просверливается ряд отверстий, которые затягиваются мелкоячеистой сеткой. Обогревается инсектарий лампами накаливания (по две на крышке, и в поддоне). Температура регулируется подбором ламп определенной мощности (15, 25, 40 или 60 Вт) (рисунок). Возможна установка автоматического реле для поддержания заданного температурного режима. Колбы ламп, наружная поверхность стенок инсектария, а также его крышка окрашиваются черным термостойким лаком.



Материал, предназначенный для очистки, должен быть плотно уложен в металлические или пластмассовые коробки. Один-два раза в месяц в емкость с культурой необходимо выкладывать влажную ветошь.

Крышка и поддон инсектария с уложенными в нем коробками, древесной и лампочками