

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

УДК 001.8:597–11

А.Е. Лапшина*

Сахалинское бассейновое управление по рыболовству и сохранению водных биологических ресурсов (Сахалинрыбвод),
693006, г. Южно-Сахалинск, ул. Емельянова, 43А

К МЕТОДИКЕ ПОДСЧЕТА ПИЛОРИЧЕСКИХ ПРИДАТКОВ У РЫБ

Описана методика подсчета пилорических придатков у рыб без использования химических фиксаторов, что сводит к нулю вредность анализа для здоровья исследователя и снижает финансовые затраты.

Ключевые слова: пилорические придатки, фиксация, морозильная камера, микроволновая печь.

Lapshina A.E. On technique for counting of fish pyloric appendages // *Izv. TINRO.* — 2014. — Vol. 177. — P. 295–297.

New technique for collecting, fixing and counting of fish pyloric appendages is described that does not use any chemical fixing reagent. It includes storing of chemically untreated deep-frozen samples during unlimited time, defrosting the samples, and heat treatment the samples in microwave oven depending on weight of sample and power of the oven. The technique allows to avoid work with toxic reagents, as ethanol and formalin, and to lower the costs of investigation.

Key words: pyloric appendage, fixation, deep-freezing, microwave oven.

Число, форма и расположение пилорических придатков играют важную роль в систематике рыб (в первую очередь лососевых, кефалевых) (Правдин, 1939, 1966; Моисеев и др., 1981; Ильмаст, 2005; и др.). Определение числа пилорических придатков позволяет как устанавливать принадлежность рыб к тому или иному виду, так и выявлять внутривидовые различия между ними.

Классические руководства по изучению рыб (Правдин, 1939, 1966; Руководство ..., 1961**; и др.) для подсчета пилорических придатков рекомендуют предварительно фиксировать пищеварительные органы рыбы в спирте (70 °) или в формалине (4 %), а затем, непосредственно перед подсчетом, выдерживать их до суток в холодной воде. Сам подсчет рекомендуется вести путем отрывания пинцетом каждого отростка.

Данная методика положительно зарекомендовала себя, успешно использовалась десятилетиями и продолжает применяться сегодня. Однако в современных условиях появились возможности проводить этот анализ без использования фиксирующих растворов, что позволяет избежать необходимости работы с токсичными фиксаторами.

Настоящее сообщение посвящено описанию данной методики.

Методика отбора и хранения проб. Сбор биологического материала для анализа осуществляется в полиэтиленовые пакеты. Пищеварительные органы каждой рыбы должны быть помещены в отдельный пакет, к которому степлером прикрепляется бирка

* Лапшина Анна Евгеньевна, аспирант, заведующая лабораторией, e-mail: cherevataya@gmail.com.

Lapshina Anna E., post-graduate student, head of laboratory, e-mail: cherevataya@gmail.com.

** Руководство по изучению питания рыб в естественных условиях: учеб. пособие. М.: АН СССР, 1961. 264 с.

с порядковым номером образца и всей сопутствующей информацией. После окончания сбора следует по возможности быстрее поместить пробы в морозильную камеру. Между сбором проб и их помещением в морозильную камеру (или непосредственно камеральной обработкой) допускается временной интервал не более 12 ч (летом — 1–2 ч).

Если полевые условия не позволяют поместить пробы в морозильную камеру в данном временном интервале, на помощь могут прийти всевозможные изотермические сумки (так называемые «сумки-холодильники») или автомобильные портативные холодильники. Максимальные сроки хранения проб в них зависят от того, какую минимальную температуру может поддерживать устройство. Так, если устройство может поддерживать температуру не более +8 °С, хранить пробы в нем можно 48 ч. Если устройство поддерживает отрицательную температуру, то хранение может быть и более длительным. Для усиления охлаждающего эффекта в изотермических сумках можно использовать лед.

Методика камеральной обработки материала

1. Дефростирование (размораживание) образцов (см. рисунок, а, б). Производится в бытовой микроволновой печи с использованием функции «Разморозка». Время размораживания устанавливается в зависимости от общей массы помещенных в камеру образцов и обычно прописано в инструкции к микроволновой печи. Размораживание можно производить как в полиэтиленовых пакетах, в которые изначально были помещены образцы, так и без них.

2. Промывание образцов (первый этап для незамороженных проб). После размораживания пробы освобождаются от полиэтилена (если это не было сделано раньше) и промываются проточной водой.

3. Термическая обработка в СВЧ-печи (см. рисунок, в). Ее длительность зависит от мощности печи и общей массы помещенных в камеру образцов. В таблице приведены некоторые соотношения общей массы образцов, мощности печи и времени обработки. В случае если данные таблицы не удовлетворяют имеющимся условиям, время обработки может быть легко вычислено эмпирически: термическая обработка считается завершенной, когда образцы приобретают характерный серый цвет и в них полностью исчезают элементы красно-розовых оттенков.

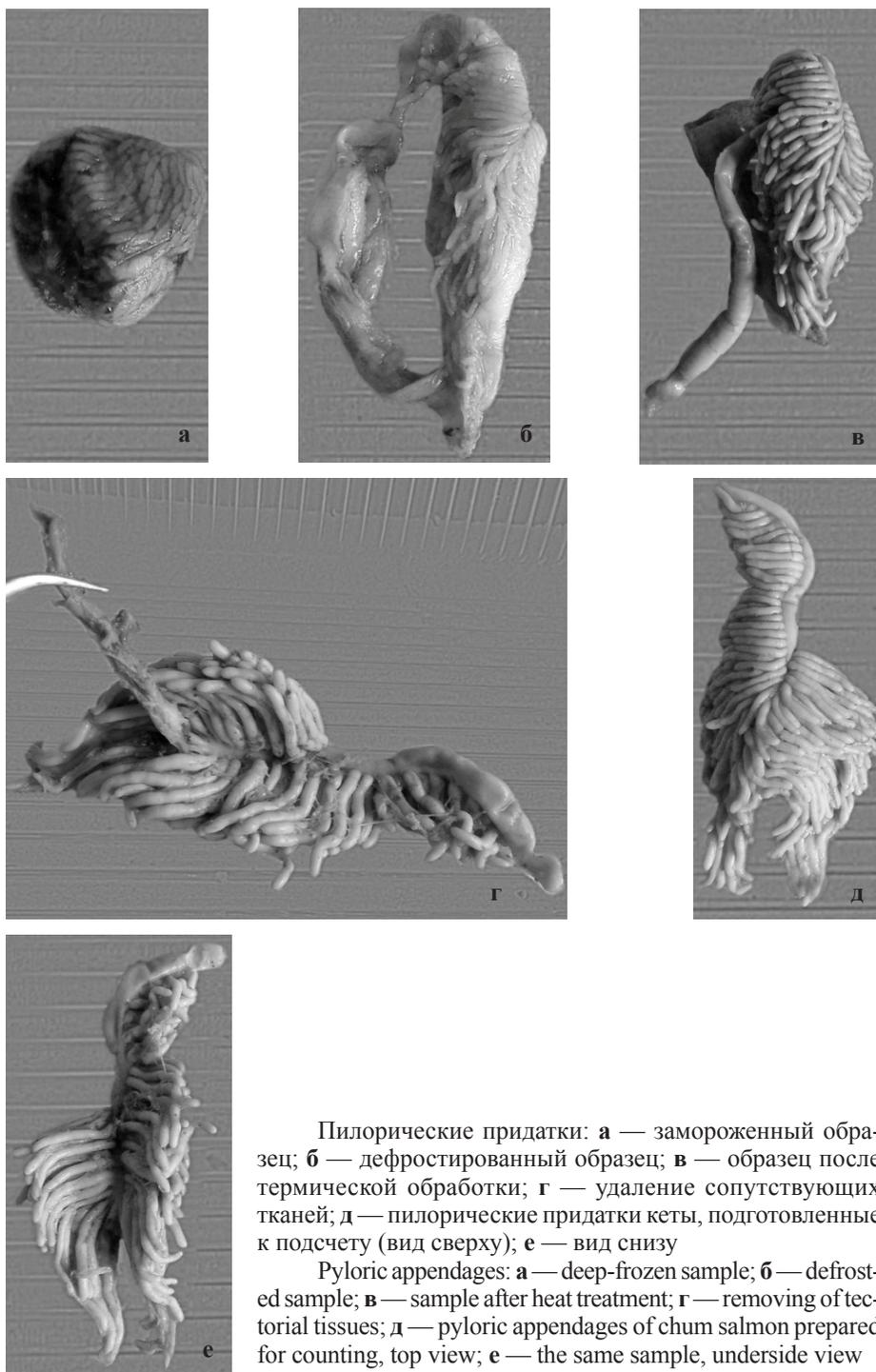
Длительность термообработки в зависимости от общей массы образцов и мощности СВЧ-печи
Time of heat treatment in dependence on weight of sample and power of microwave oven

Масса, г	Время обработки при 1000 W, с	Время обработки при 600 W, с
До 15		
15–30	30	50
30–45	40	60
45–60	50	70
60–75	60	80
75–90	80	100
90–115	90	110
115–130	100	120
130–145	110	130
145–160	130	150
160–175	150	170
175–190	170	190

4. Очистка образцов от сопутствующих тканей (отрезание мешающих элементов пищеварительной трубки, фрагментов печени, удаление печеночных протоков) и повторное промывание (см. рисунок, г).

5. Подсчет пилорических придатков путем отрывания пинцетом (см. рисунок, д, е). Данная методика успешно опробована на кете *Oncorhynchus keta* (см. рисунок) и наваге *Eleginus gracilis*.

Эмпирическим путем установлено, что при строгом соблюдении описанных условий термической обработки проб эффективность данной методики не уступает эффективности классических методик с использованием фиксирующих растворов.



Пилорические придатки: **а** — замороженный образец; **б** — дефростированный образец; **в** — образец после термической обработки; **г** — удаление сопутствующих тканей; **д** — пилорические придатки кеты, подготовленные к подсчету (вид сверху); **е** — вид снизу

Pyloric appendages: **a** — deep-frozen sample; **б** — defrosted sample; **в** — sample after heat treatment; **г** — removing of tectorial tissues; **д** — pyloric appendages of chum salmon prepared for counting, top view; **е** — the same sample, underside view

Список литературы

Ильмаст Н.В. Введение в ихтиологию : учеб. пособ. — Петрозаводск : КНЦ РАН, 2005. — 148 с.

Моисеев П.А., Азизова Н.А., Куранова И.И. Ихтиология : учеб. пособ. — М. : Лег. и пищ. пром-сть, 1981. — 384 с.

Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб : учеб. пособ. — Л. : ЛГУ, 1939. — 245 с.

Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных) (4-е изд.) : учеб. пособ. — М. : Пищ. пром-сть, 1966. — 376 с.

Поступила в редакцию 19.03.14 г.