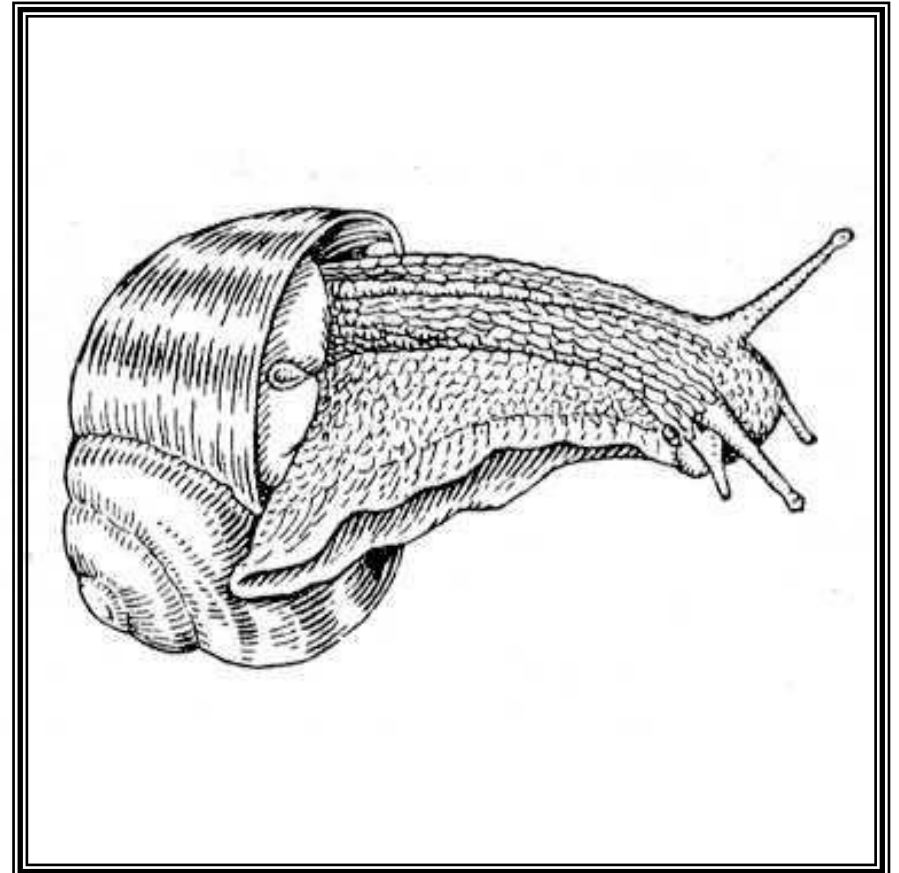


В.В. ЛЕОНТЬЕВ

**КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО
ПО ИЗГОТОВЛЕНИЮ «ВЛАЖНЫХ» ЗОО-
ЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**



ЕЛАБУГА
2015

Подписано к печати _____
Тираж – 100 экз. Объем – 1,5 п.л. Заказ № _____

Издательство ЕИ К(П)ФУ, лицензия № _____ от _____
423600 г. Елабуга, ул. Казанская, д. 89

СОДЕРЖАНИЕ

Глава 1. Общие сведения о «влажных» препаратах.....	4
1.1. Требования, предъявляемые к изготовлению «влажных» препаратов.....	4
1.1.1. Пластинка.....	5
1.1.2. Заглушка.....	6
1.1.3. Цилиндры.....	7
1.1.4. Фиксирующие растворы.....	8
Глава 2. Особенности фиксации некоторых животных.....	11
2.1. Фиксация беспозвоночных животных.....	11
Глава 3. Монтаж «влажных» препаратов.....	14
3.1. Оборудование и реактивы, необходимые для изготовления «влажного» препарата.....	14
3.2. Монтаж препаратов.....	15
Литература.....	23

Учебно-методическое пособие

КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО ПО ИЗГОТОВЛЕНИЮ «ВЛАЖНЫХ» ЗООЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Издательство
Елабужского института
Казанского (Приволжского) федерального университета
2015

УДК 59.082
ББК 28.6с
Л147

Печатается по решению РИСа
Елабужского института
Казанского (Приволжского) федерального университета
протокол № 47 от 30.04.2015 г.

Рецензенты:

доцент, к.б.н., зав. каф. зоологии и общей биологии, зам. директора по образовательной деятельности ИФМиБ К(П)ФУ Сабиров Рушан Мирзович

доцент, к.п.н., доцент каф. биологии и экологии Елабужского института К(П)ФУ Афонина Елена Александровна

Л 47

Леонтьев В.В. Краткое руководство по изготовлению «влажных» зоологических препаратов: учебно-методическое пособие. – Елабуга: Изд-во Елабуж. ин-та К(П)ФУ, 2015. – 24 с. – 8 ил.

Учебно-методическое пособие является практическим руководством, позволяющим студентам самостоятельно изготовить «влажные» зоологические препараты. Приводятся сведения об элементах подобных препаратов, фиксирующих растворах, способах их изготовления и монтаже. Пособие проиллюстрировано необходимыми рисунками.

Рекомендуется для использования на лабораторных занятиях по спецпрактикуму при изучении модуля «Зоология». Предназначено для студентов и преподавателей биологических факультетов вузов и учителей-биологов.

© Леонтьев В.В., 2015

© Изд-во Елабужского института К(П)ФУ, 2015

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бастанов В.Г.* 300 практических советов. – М.: Московский рабочий, 1993. – 382 с.
2. *Стариков Ю.В.* Краткое руководство по фиксации рыб и изготовлению из них музейных экспонатов: методическое пособие / Государственный Дарвиновский музей. – М., 2001. – 59 с.
3. *Суворин А.С.* Обиходная литература. Первая серия. – М.: Тверь, 1993. – 320 с.
4. Miller R.R. Treated formalin as a permanent preservative // *Turtox News*. 1952. – 30. – P. 178-179.

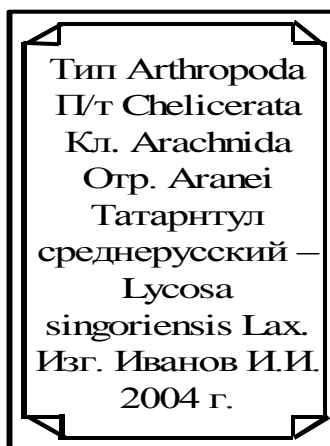


Рис. 8. Пример этикетки

Тогда они получатся стандартными и аккуратными.

Теперь можно считать монтаж «влажного» препарата законченным. Думается, конечный результат будет радовать не только самих создателей, но и тех, кто увидит эти экспонаты в зоологическом музее.

ВВЕДЕНИЕ

Данное учебно-методическое пособие является руководством для студентов 4 курса биологического факультета по спецпрактикуму при изучении модуля «Зоология». Студенты бакалавриата при изучении курса осваивают навыки изготовления зоологических препаратов и учебно-наглядных пособий.

Это важно по двум причинам. Во-первых, будущим биологам необходимо иметь навыки изготовления препаратов и реставрации пришедших в негодность. Во-вторых, зоологические препараты активно используются на лабораторно-практических занятиях и лучшие из них экспонируются в зоологическом музее кафедры биологии и экологии. Это способствует непосредственному ознакомлению студентов с животными различных групп, их морфологическими особенностями, жизненными циклами и их экологией. Тем более это важно при современной экономической ситуации, когда изготовление подобных препаратов своими силами, является часто единственным источником пополнения раздаточного учебного материала и фондов зоологического музея.

Структура данного руководства содержит разделы об общих сведениях «влажных» препаратов, фиксирующих растворах, особенностях фиксации некоторых групп животных и монтаже подобных препаратов. Методика и способы изготовления «влажных» препаратов основаны на использовании доступных реактивов и материалов. Данное руководство может использоваться как в учебном процессе, так и в кружковой работе. Тематика заданий при пользовании данным пособием может варьировать в зависимости от целей, наличия объектов, реактивов и материалов, что является удобным и не позволяет повторяться.

Думается, что данное руководство вызовет интерес у студентов, преподавателей и учителей, и должно способствовать приобретению навыков по анатомированию объектов и их фиксации. Результатом такой деятельности станут качественно и информационно изготовленные зоологические препараты.

ГЛАВА 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О «ВЛАЖНЫХ» ПРЕПАРАТАХ

Для лабораторно-практических занятий, а также для экспозиции в зоологическом музее, наиболее подходят «влажные» препараты, т.к. они дают более полное представления об изучаемом объекте, несут максимум информации о нем.

Как правило, «влажные» препараты изготавливаются из мягкотелых животных, ткани которых подвержены быстрой «порче». Но для этих целей можно использовать и объекты, имеющие твердые покровы и панцири. В отличие от «сухих» препаратов объекты во «влажных» препаратах не сохнут и не деформируются (если правильно соблюдать процесс фиксации), сохраняют свой первоначальный вид и форму. Правда, единственным недостатком таких препаратов является то, что многие пигменты при фиксации не сохраняются и разрушаются.

Для изготовления препаратов можно использовать весь организм целиком – тотальный препарат, или – только часть тканей, систему органов, орган и т.д. – фрагментарный препарат.

Чтобы объект нес максимум информации, он должен быть соответствующим образом расправлен и закреплен, выглядеть естественным образом. Поэтому, об этом следует позаботиться заранее, уже при фиксации, т.к. при этом объект «дубеет» и его трудно будет разогнуть, не повредив. В учебных целях все элементы объекта, как правило, маркируются и обозначаются. При изготовлении тотального препарата во вскрытом виде или системы органов (например, пищеварительной системы рыбы), как правило, все элементы также необходимо нумеровать и обозначить.

1.1. Требования, предъявляемые к изготовлению «влажных» препаратов

Основными элементами «влажного» препарата являются: цилиндр, заглушка, пластинка на котором крепится объект, фиксирующая жидкость, и сам объект (рис. 1).

Важно, чтобы все элементы соответствовали друг другу по размерам.

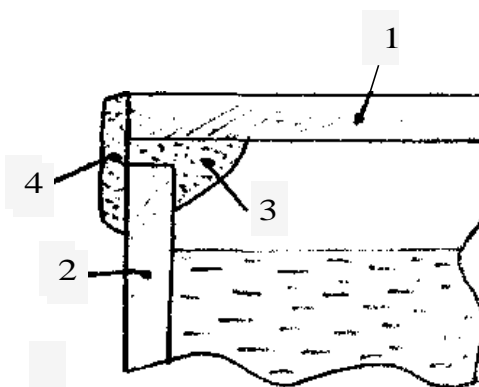


Рис. 7. Приклеивание заглушки к цилиндру без фланца

1. Заглушка;
2. Стенка цилиндра;
3. Клей, наносимый при склеивании заглушки к цилиндру;
4. Клей, наносимый по шву.

После того как клей высох, и излишки клея срезаны, остается только приклеить на цилиндр этикетку с указанием на латинском языке систематической принадлежности виду (рис. 8). Важно на этикетке отметить имя изготовителя препарата и год изготовления. Если при вскрытии объекта были промаркированы особенности внутреннего строения, то на цилиндр необходимо приклеить табличку с обозначениями. Этикетку следует приклеить в верхней части цилиндра над объектом или слегка сбоку. Табличку с обозначениями приклеивают с тыльной стороны цилиндра, для приклеивания годится любой клей, приклеивающий бумагу к стеклянной поверхности («Момент», ПВА).

Этикетка должна быть некрупной и не закрывать объект. Чем меньше ее размеры, тем лучше. Средние размеры этикетки – 15X30 мм. Надписи на этикетке следует набрать на компьютере.

Клей «Герметик» удобен в обращении (выпускается в тубиках или тубах, быстро высыхает, легко снимается с рук) и годами сохраняет свои свойства.

Итак, высушив склеиваемые поверхности фланца цилиндра и заглушки, аккуратно и равномерно выдавливают клей из тубика на фланец цилиндра. Через 2-3 минуты клей схватывается. Поэтому нужно немедленно аккуратно положить заглушку, склеиваемой поверхностью, на фланец с клеем. Нужно слегка надавить на заглушку и притереть ее, чтобы канальцы в клее, возникшие выходящим воздухом, смазались. Поверх заглушки следует поставить небольшой груз (баночку с водой). При этом излишек клея выдавится по краю фланца. Его можно удалить с помощью острого ножа или скальпеля сразу или через сутки-двое, когда клей высохнет. При склеивании важно, чтобы цилиндр стоял на горизонтальной поверхности, иначе заглушка сместится в сторону.

Имеется своя особенность склеивания заглушки к цилиндру без фланца, например, вырезанные из бутылки. Кромки такого цилиндра должны быть ровными, без сколов.

При склеивании заглушки клей наносится ровным слоем на кромку цилиндра. Затем на цилиндр кладется заглушка, и она придавливается грузом. Далее шов между краем заглушки и кромкой цилиндра следует промазать клеем «Герметик» (рис.7.).

Клей наносить на шов лучше пальцем или палочкой. Через 5 минут, когда клей подсохнет, он легко скатывается с пальца. Через сутки-двое неровные края высохшего клея подрезаются острым ножом или скальпелем. Далее следует проверить герметичность склеивания заглушки. Для этого нужно перевернуть цилиндр и поставить на стол заглушкой вниз. Следует выждать 2-5 минут, чтобы убедиться, что утечки раствора не происходит.

Если утечка обнаруживается, то необходимо произвести переклеивание заглушки, для чего ножом или скальпелем следует аккуратно отделить её от цилиндра. Затем нужно аккуратно скальпелем очистить клей и обезжирить склеиваемые поверхности.

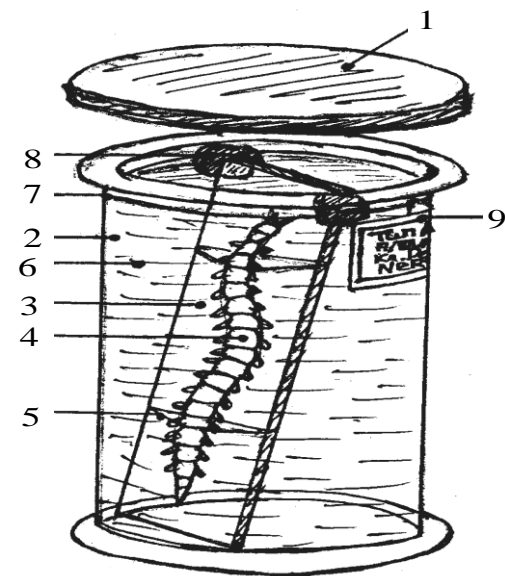


Рис. 1. Основные элементы «влажного» препарата:

1. Заглушка
2. Цилиндр
3. Пластика
4. Объект
5. Крепежная нить
6. Фиксатор
7. Уровень фиксатора
8. Пробка
9. Этикетка

1.1.1. Пластика

Пластика должна иметь ровные, без сколов, параллельные края. Ширина пластики должна быть уже внутреннего диаметра цилиндра на 8-10 мм с тем, чтобы между торцами пластики и стеклами цилиндра можно было плотно вставить аккуратно вырезанные кусочки пробки. Высота пластики может быть на 1-1,5 см короче внутренней длины цилиндра. Пластику можно вырезать самостоятельно с помощью стеклореза из оконного стекла. В некоторых случаях для изготовления пластики целесообразно использовать контрастные стекла.

На темных тонированных стеклах эффектно смотрятся светлоокрашенные объекты, а на белых матовых – темноокрашенные. Матовую поверхность стеклу можно придать самостоятельно, царапая ее грубой шкуркой, либо абразивным или речным песком.

Матовую поверхность стекла можно получить и химическим путем, используя для этого следующий раствор: фтористый натрий или калий – I вес. часть, желатин – I в.ч., вода горячая – 250 в.ч.

Стекло покрывают этим раствором с одной стороны и высушивают. Затем на 30-60 секунд стекло опускают в 6 %-й раствор соляной кислоты и снова высушивают, не промывая. После того как стекло высохнет, желатин со стекла смывают горячей водой. Поверхность стекла получается с тонким ровным матовым покрытием.

Для этих же целей годится и следующий состав: сульфит бария – 10 г, фторид аммония – 10 г и плавиковая кислота – 12 г. Эту смесь тщательно перемешивают и кистью равномерно наносят на стекло. После высыхания смеси стекло промывают водой, а на стекле остается ровная матовая поверхность (Бастанов, 1993).

1.1.2. Заглушка

Зажушка должна иметь такой же диаметр, как и внешний размер фланцев цилиндра. Обычно цилиндры заводского изготовления имеют в комплекте зажушки из стекла.

Если зажушка подходящего размера отсутствует, ее можно изготовить своими силами. Зажушку можно вырезать из оконного стекла с помощью циркульного стеклореза. После этого следует обязательно зашлифовать торцы зажушки с помощью шлифовального камня.

Легче изготовить зажушку из органического стекла, вырезав ее с помощью лобзика. Размер зажушки снимается следующим образом. Перевернув цилиндр, прикладывают его фланцем к органическому стеклу. Затем острым царапающим предметом очерчивают по внешнему размеру фланца. По полученной линии и выпиливают зажушку.

Они должны вставляться без усилий, но – держать пластинку в цилиндре надежно, так, чтобы она не смещалась в нем.

Теперь в цилиндр с закрепленной в ней пластинкой заливают свежий раствор фиксатора. Для этого лучше пользоваться воронкой, трубку которой располагают в той половине цилиндра, где находится тыльная, без объекта сторона пластинки. Это важно для того, чтобы струя раствора не попадала на объект и не деформировала его (особенно если объект нежный и хрупкий). Если в цилиндре оказались крошки, отколовшиеся от пробковых кусочков, то они всплывают на поверхность раствора и их легко удалить пинцетом или полоской бумаги. Уровень фиксатора не должен доходить до края цилиндра примерно на 0,5-1 см. Важно, чтобы весь объект был в растворе и не выступал над его уровнем.

Далее, поставив цилиндр на ровную горизонтальную поверхность, необходимо обезжирить склеиваемые поверхности цилиндра и зажушки. Смочив спиртом тряпочку, нужно протереть ею фланцы цилиндра и внутреннюю поверхность зажушки, края которой ошкурены и имеют шероховатость. Выждав 2-5 минут, чтобы спирт высох, можно приступать к склеиванию зажушки к фланцам цилиндра.

Существуют различные способы склеивания зажушки к цилиндру. Наиболее распространенный из них – это способ с использованием бычьего мочевого пузыря. Этот способ хорош, но имеет некоторые недостатки. Клей со временем рассыхается, а высохший пузырь рвется и теряет герметичность. Бычий пузырь использовали ранее, когда не было водостойких клеев. К тому же, не всегда можно найти нужное количество пузырей и возникают проблемы с их хранением.

Проще всего для склеивания зажушки использовать водостойкий клей «Герметик» (см. 3.1.). Лучше всего для этих целей подходит силиконовый прозрачный «Герметик», так как склеенные им препараты получаются чистыми и аккуратными. Все остальные клеи, бывающие в продаже, не годятся для этих целей, т.к. при соприкосновении с водными растворами они размокают и теряют свои свойства.

Затем, когда объект прошит крепезными нитями и расправлен, следует их концы связать узелками на одной из боковых сторон пластинки. При вязке узелка не следует перетягивать крепезную нить, иначе она перережет объект. Не следует также перетягивать крепезную нить при ее расположении поверх объекта, что может к тому же деформировать его. Натяжение нити должно быть умеренным, чтобы объект не сползал вдоль пластинки, если ее поставить вертикально.

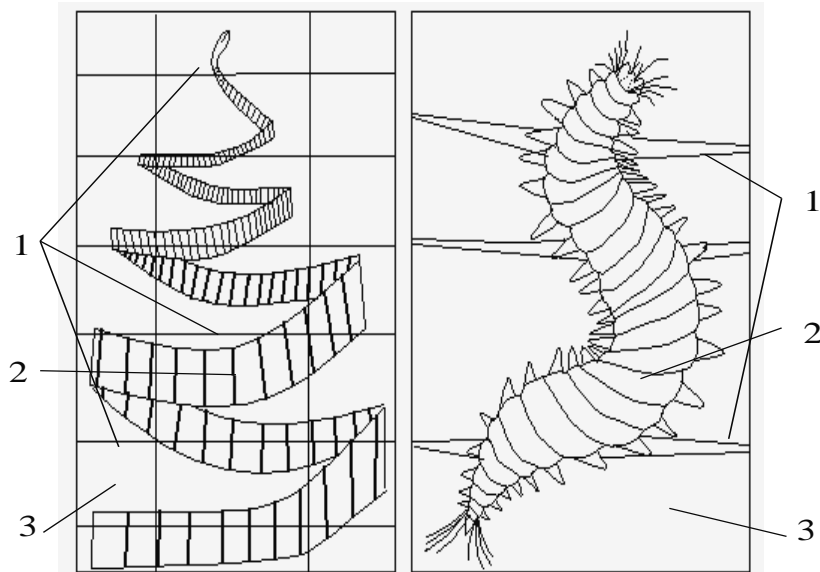


Рис.6. Крепление длинных червей

- 1 – крепезные нити;
2 – объект; 3 – пластинка

Далее закрепленный на пластинке объект аккуратно вставляют в подходящий по размеру цилиндр. Вырезают из пробки два прямоугольных кусочка нужного размера. Расположив пластинку по центру цилиндра, между ее внутренними стенками и боковыми краями пластинки вставляют пробковые кусочки, служащие распорками.

После того как заглушка выпилена, ее торцы необходимо аккуратно зашлифовать и заровнять напильником или бруском. Затем следует с одной стороны заглушки, по ее периметру, грубой шкуркой или точильным бруском густо оцарапать поверхность шириной 1-1,5 см от края. Это необходимо сделать для того, чтобы склеиваемая поверхность заглушки имела шероховатость и лучше схватывалась клеем.

Толщина заглушки может быть произвольной, но чем больше диаметр цилиндра, тем толще толщина заглушки. Для изготовления заглушки можно использовать прозрачное и непрозрачное органическое стекло. Матовости органического стекла можно добиться путем ошкуривания одной поверхности.

1.1.3. Цилиндры

Цилиндры заводского изготовления могут быть различных размеров, формы и из различного материала. Стекланные цилиндры обычно округлого сечения и различных пропорций по соотношению ширины и высоты. Существуют и стекланные емкости прямоугольного сечения. Стекланные цилиндры и емкости предпочтительнее пластиковых тем, что первые прозрачные и не царапаются со временем. Пластиковые (оргстекло) цилиндры чаще изготавливаются квадратного или прямоугольного сечения. Плоская поверхность не искажает изображения, но пластиковые емкости быстро царапаются и подвержены агрессивному влиянию фиксирующей жидкости, в результате чего мутнеют.

Стекланные цилиндры возможно изготовить самостоятельно, но это требует некоторых навыков работы с электроприборами. Для изготовления самодельных цилиндров и емкостей можно использовать бутылки из светлого стекла различных объемов и формы.

С помощью самодельного электроприбора у бутылки отрезают горлышко. Следует правильно подключать все элементы электростеклореза и пользоваться им, соблюдая осторожность.

Схема электростеклореза приведена на рисунках 2 и 3.

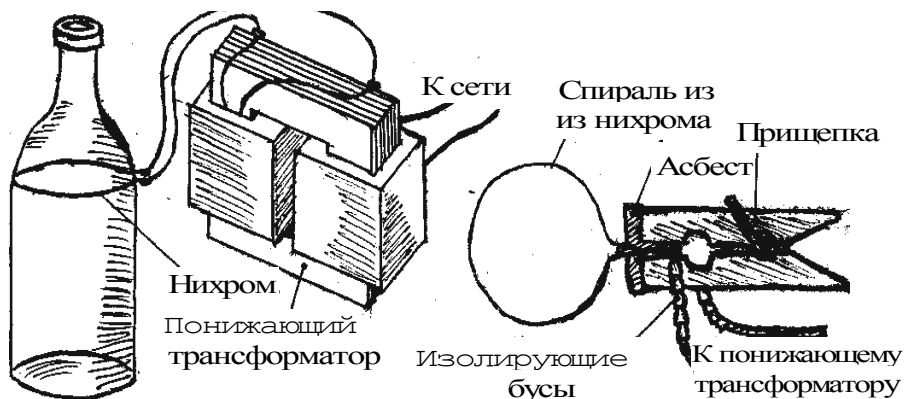


Рис.2. Электростеклорез

Рис.3. Схема спирали из нихрома

К вторичной обмотке понижающего трансформатора напряжением 10-12 В подсоединяют железную или нихромовую проволоку диаметром 0,4-0,6 мм. Этой проволокой обвивают в один виток по линии отреза стеклянный сосуд. В том месте, где начало витка сходится с его концом, между проводками прокладывают кусочки асбеста или слюды, чтобы не произошло короткого замыкания. Концы проволоки при этом закрепляют зажимами (прищепкой). Трансформатор включают в электрическую сеть. После нагрева проволоки, сосуд легко раскалывается по линии разреза (Бастанов,1993). Вместо понижающего трансформатора можно использовать автомобильный аккумулятор.

Затем кромки разреза необходимо заровнять и зашлифовать шлифовальным бруском или на наждачном круге.

1.1.4. Фиксирующие растворы

Для долговременной фиксации объектов используют фиксирующие жидкости или фиксаторы. Фиксатор – это обезживающий и фиксирующий объект раствор. К таким растворам, чтобы фиксация прошла удачно, предъявляются особые требования:

После того как объект выложен на пластинку и при наличии подходящих крепежных нитей, приступают к его закреплению на пластинке. Большинство объектов перед этим прошивают в определенных местах. Для прошивания используют швейную иглу, вдев в нее крепежную нить. Прошивать следует аккуратно, чтобы не повредить ткани, мелкие и средние объекты обычно прошивают в 1-2 местах, крупные – в 2-3-х (рис. 5). Длина одной крепежной нити должна быть достаточной, чтобы ее длины хватило опоясать пластинку с двух сторон и завязать узелочек. Затем следует расправить объект на пластинке, придав ему естественное положение: расправить конечности, плавники, хвосты, усики, щупальца и другие выступающие части тела.

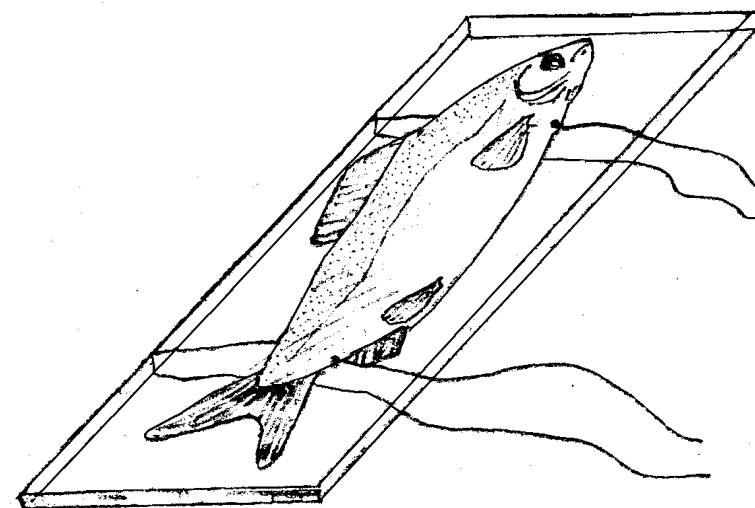


Рис.5. Прошитый крепежными нитями объект

Длинных червей можно расположить волнообразно и зигзагообразно (рис. 6). При зигзагообразном креплении объекты (ленточные черви) не прошиваются, а крепежные нити накладываются поверх них.

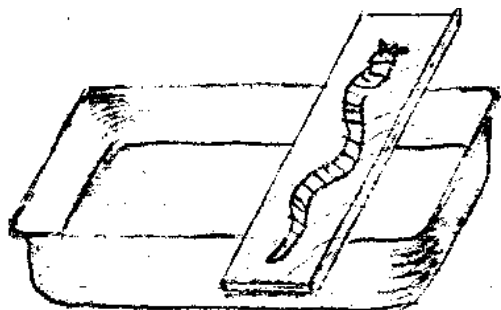


Рис. 4. Положение пластинки и объекта на фотокуvette

Такую проволоку можно найти в обмотках трансформаторных катушек. Для объектов покрупнее следует использовать леску потолще. Чем тоньше и крепче леска, тем лучше. Она не порвется под весом объекта и в глаза не бросается. Не следует для крепления объекта использовать швейные нитки – они слишком толстые и яркие (белые, черные или красные). Главное требование к крепёжным нитям – это прочность и незаметность.

Но перед закреплением объекта нужно определить его «лицевую» сторону, которая будет ориентирована к наблюдателю. Это обычно спинная или боковая сторона. Если пластинка прозрачная, брюшная сторона объекта будет видна с «тыльной» стороны препарата. Особенно важно правильно ориентировать объект на пластинке, если она тонированная или матовая. «Тыльной» стороны объекта через такую пластинку видно не будет.

В учебных целях обычно изготавливают препараты во вскрытом виде для того, чтобы были видны анатомические особенности объектов. Существует множество определенных способов вскрытия животных. Но нужно помнить, что беспозвоночных вскрывают со спинной стороны, а позвоночных – с брюшной. Для того чтобы правильно отпрепарировать объект, следует заранее изучить его морфологию, особенности внутреннего строения.

1. Объем раствора в несколько десятков раз должен превышать объем объекта;
2. Фиксатор не следует приливать постепенно; объект сразу опускается в готовый раствор;
3. Если объект имеет плотную кутикулу, ее необходимо в нескольких местах проколоть;
4. Если объект имеет крупные размеры, его необходимо в незаметных местах надрезать с тем, чтобы фиксатор одновременно проник внутрь тканей;
5. Фиксировать следует свежее анестезированные объекты до того, пока не начался процесс отмирания тканей;
6. Фиксацию крупных объектов следует повторить, т.к. раствор впитывает в себя воду из объекта и, поэтому его концентрация понижается;
7. При окончательной фиксации объекта, т.е. при заключении его в цилиндр, следует заливать объект свежим раствором.

Самым обычным фиксатором является раствор формалина, который готовят из его концентрированного раствора (40 %). Для фиксации объекта в цилиндре обычно используют 4 %, 6 % и 10 % растворы формалина, которые получаются путем разведения 40 % раствора дистиллированной, пресной или морской водой. Для получения 10 % раствора разводят водой 40 % раствор формалина в соотношении соответственно 9:1, 6 % – 15,5:1, 4 % – 18,5:1. Раствор формалина имеет кислотные свойства, поэтому для ее нейтрализации кладут щепотку мела.

Для предотвращения декальцинирования костей, чешуи, раковин, панцирей используют буферные растворы:

- 1) к 2,25 л 10 % раствора формалина добавить 1 чайную ложку буры (боракс);
- 2) к 0,57 л формалина (40 %) добавить 56,6 г гексамина и 3,42 л воды;
- 3) к 0,57 л формалина (40 %) добавить 2,85 л воды и 85 г концентрированного раствора аммиака (Стариков, 2001).

Для нейтрализации формалина при необходимости изучения объекта, его на несколько минут погружают в раствор: 60,4 г NaHSO_3 + 40,6 г Na_2SO_3 + 1 л H_2O (Miller, 1952).

При изготовлении препарата объект, предварительно зафиксированный в первичном растворе, окончательно заливают

чистым, прозрачным, отфильтрованным новым раствором формалина.

Помимо чистого формалина для фиксации используют и различные смеси с формалином.

Жидкость Бюэна:

Насыщенный водный раствор пикриновой кислоты (150 см³), 40 % раствор формалина (50 см³) и ледяной уксусной кислоты (10 см³).

Жидкость Карнуа:

Готовится раствор из спирта 100 % (60 см³), хлороформа (30 см³), ледяной уксусной кислоты (10 см³). Раствор очень быстро проникает в ткани и часто используется для фиксации членистоногих.

Жидкость Эдема:

Спирт 96 % (6 мл), 40 % раствор формалина (15 мл), ледяная уксусная кислота (2 мл), дистиллированная вода (30 мл). Сохраняет окраску у членистоногих со светлыми или прозрачными покровами.

Жидкость Валлворка:

Спирт 96 % (750 мл), эфир (250 мл), ледяная уксусная кислота (30 мл), 40 % раствор формалина (3 мл). Фиксатор используется для тех же целей.

Жидкость Фабра-Демерже:

К горячей воде (25 частей) добавляют 1 часть крахмального сахара. Когда раствор остынет, к 100 частям его прибавляют 10 частей белого глицерина, 20 частей древесного спирта и несколько щепоток камфарного порошка. Для нейтрализации добавляют немного соды, фильтруют и вновь прибавляют несколько кусочков камфары.

В таком растворе ткани хорошо сохраняют естественную окраску, особенно голубые, зеленые и красные пигменты (Суворин, 1993).

Жидкость Кордые:

Вода дистиллированная (3 части), спирт 70 % (1 часть), кристаллы медного купороса (до появления легкой окраски).

В таком растворе хорошо сохраняются грибы, но при использовании важно удалить воздух из цилиндра (Суворин, 1993).

17. Стекланные ёмкости (1 и 3 литровые банки) с крышками – для хранения фиксатора;
18. Препаровальные иглы с ручками – для расправления объекта;
19. Кусочек сухой материи – для протирания фланца цилиндра, и заглушки – при их обезжиривании;
20. Спирт – для обезжиривания фланца цилиндра и заглушки;
21. Раствор формалина 40 % или формалин в форме порошка – для изготовления фиксирующего раствора;
22. Известь или мел – для нейтрализации 40 % раствора формалина.

3.2. Монтаж препаратов

После того как все элементы «влажного» препарата изготовлены, подобраны и собраны воедино, и объект прошел предварительную фиксацию, приступают к его монтажу.

Перед этим следует правильно подобрать размер цилиндра к определенному объекту. Нелепо смотрится и несет минимум информации объект, который едва вмещается в цилиндр. Не рационально помещать мелкий объект в цилиндр, длина которого в несколько раз превышает длину объекта. Длина цилиндра не должна превышать длину объекта более чем в два раза.

Далее следует закрепить объект на пластинке. Если объект не крупный, то соответствующего размера пластинку удобнее положить поперек фотокуветки. В дальнейшем это позволит манипулировать крепежными нитями. Если пластинка короче ширины фотокуветки, то поверх нее и под пластинку можно положить стеклянную полоску. Эта полоска должна быть немного длиннее ширины фотокуветки. В фотокуветку будет стекать излишек раствора с зафиксированного объекта.

Положив на фотокуветку пластинку, следует выложить на нее предварительно зафиксированный объект (рис. 4). Далее этот объект необходимо закрепить крепежными нитями на пластинке. В качестве крепежных нитей можно использовать прозрачную леску или тонкую медную проволоку, которая должна быть тонкой, крепкой, не яркой.

ГЛАВА 3. МОНТАЖ «ВЛАЖНЫХ» ПРЕПАРАТОВ

3.1. Оборудование и реактивы, необходимые для изготовления «влажного» препарата

Ниже приводим перечень основного оборудования и реактивов, кроме специальных, указанных в тексте, необходимых для монтажа «влажных» препаратов.

1. Стеклорез – для резки стеклянных пластинок;
2. Лобзик и пилки – для выпиливания заглушек из органического стекла;
3. Шлифовальный брусок, напильник – для зашлифовки краев заглушек;
4. Тонкая леска или тонкая медная проволока в катушке – для изготовления крепёжных нитей;
5. Клей «Герметик» белый в тубиках бытовой, или лучше – «Mastertex» силиконовый прозрачный – для склеивания заглушки к цилиндру;
6. Желатин – для приклеивания номерков к объекту при обозначении особенностей их внутреннего строения;
7. Клей «Момент», ПВА – для приклеивания этикеток и табличек к цилиндру;
8. Пробка – для изготовления распорок пластинки в цилиндре;
9. Скальпель или острый нож – для срезания излишков высохшего клея и вырезания пробковых распорок;
10. Ножницы малые и средние – для препарирования объекта, вырезания этикеток и табличек, отрезания крепёжных нитей;
11. Пинцет малый и средний – для расправления объекта;
12. Иглы швейные разных размеров – для прошивания объекта крепёжными нитями;
13. Фотокуветка средняя – для расположения на ней во время монтажа пластинки с объектом;
14. Воронка малая – для вливания фиксатора в цилиндр с объектом;
15. Воронка большая – для расположения в ней фильтрующего материала во время фильтрации фиксатора;
16. Фильтрующий материал (несколько слоев марли, проложенных слоев ваты, или фильтровальная бумага) – для фильтрации фиксирующего раствора;

ГЛАВА 2. ОСОБЕННОСТИ ФИКСАЦИИ НЕКОТОРЫХ ЖИВОТНЫХ

В зависимости от размеров объекта, гистологических особенностей и используемого фиксатора, ткани пропитываются им с различной скоростью и интенсивностью.

Большинство объектов хорошо фиксируются в растворе формалина, но в некоторых случаях имеется необходимость применять растворы из списка, приведенного выше (1.1.4.). Имеются свои особенности фиксации некоторых беспозвоночных и позвоночных животных, о которых будет сказано ниже (Стриганова, 1975).

Время предварительной фиксации объектов, до их заключения в цилиндры, зависит от их размеров и плотности тканей. Мелкие объекты (дождевые черви, моллюски) достаточно выдержать в предварительном растворе 1-2 недели. Более крупные (рыбы средних размеров) следует выдерживать в фиксаторе до 4-6 недель. Причем в области клоаки и грудных плавников можно сделать короткие надрезы стенки тела для того, чтобы раствор проник в брюшную полость. Во время предварительной фиксации крупных объектов следует два раза произвести полную замену фиксирующего раствора, т.к. он оттягивает воду из объекта и его концентрация понижается, при этом фиксирующая способность раствора понижается, и неизбежно будет происходить разложение тканей объекта.

2.1. Фиксация беспозвоночных животных

Личинок насекомых, ракообразных, нематод с сильно склеротизированными покровами (проволочники, ложнопроволочники) фиксируют в 70 % спирте с добавлением глицерина (2-3 %). Глицерин способствует сохранению эластичности покровов. Через 2-3 недели материал переносится в чистый 70 % спирт, в котором он сохраняется годами.

При фиксации личинок насекомых с более мягкими покровами, (личинки мягкотелок, жуужелиц) рекомендуется добавлять в 70 % спирт некоторое количество 40 % формалина (4:1) для предотвращения покровов от мацерации. Для длительного хранения этих личинок необходимо перенести в спирт.

Крупные личинки с белыми мягкими покровами (личинки пластинчатоусых, долгоносиков, двукрылых, общественных перепончатокрылых) в спирте или формалине темнеют и теряют свою форму в следствие микробиальных и автолитических процессов, развивающихся в их кишечнике после фиксации, пока фиксатор не пропитывает все органы. Поэтому их рекомендуется фиксировать кипятком. Личинок заливают кипящей водой, а после того, как они всплывают (через 1-3 мин.), помещают в спирт или формалин. При обваривании происходит свертывание белков, что способствует сохранению формы тела и окраски покровов. При фиксации кипятком нужно следить за тем, чтобы поверхность воды была спокойной. При бурном кипячении пузырьки воздуха могут деформировать их тело.

Особые трудности представляет фиксация гусениц вследствие нарушения формы тела и потери окраски. Для фиксации гусениц предлагается специальная смесь: спирт, салициловая кислота, поваренная соль (реактив), дистиллированная вода.

Этот раствор готовится следующим образом: 2 г салициловой кислоты растворяют в 100 мл 96 % спирта. Раствор смешивают с 100 мл 1 % раствора поваренной соли. Этот фиксатор может быть использован через 24 часа после приготовления. В него помещают живых гусениц. Уровень раствора должен быть не менее чем на 0,5 см выше уровня фиксируемого материала. Фиксатор и фиксируемый материал должны храниться в темноте. При этом окраска гусениц сохраняется от 5-6 месяцев до 5 лет (Мержеевская, 1965).

Для личинок насекомых и многоножек со светлыми или прозрачными покровами рекомендуются также следующие смеси, сохраняющие окраску и структуру покровов, без предварительной обработки кипятком:

1) 96 % спирт (6 мл), 40 % формалин (15 мл), ледяная уксусная кислота (2 мл), дистиллированная вода (30 мл) (Van Emden, 1958; Гиляров, 1964);

2) 96 % спирт (750 мл), эфир (250 мл), ледяная уксусная кислота (30 мл) 40 % формалин (3 мл) (Wallwork, 1970).

Моллюсков перед фиксацией помещают в сосуд, до краев заполненный охлажденной или слегка теплой кипяченой водой и закрывают крышкой. При этом моллюски высовываются из раковин и в таком положении погибают от недостатка кислорода. Это важно сделать до фиксации, т.к. при помещении их живыми в фиксатор, они сокращаются и сжимаются, что нарушает их естественную форму.

После анестезии их фиксируют сначала в сильно разведенном спирте, а затем переносят в растворы все повышающейся концентрации, до 70-80 % спирта. В их теле содержание воды высокое, поэтому если моллюсков сразу поместить в 70 % спирт, они могут отдать всю воду, сморщатся и станут непригодными.

Дождевых червей, пиявок фиксируют сначала слабым раствором формалина, в котором они сначала двигаются и погибают. Анестезировать их можно также, поместив в неглубокий сосуд с водой и, медленно закапывая в нее спирт. Это необходимо сделать также для предотвращения их сокращения при фиксации формалином в живом виде. Сразу после анестезии, их надо вынуть, расправить на фильтровальной бумаге и ваткой стереть слизь. Через несколько минут, когда черви несколько подсохнут и зафиксируются в расправленном состоянии, их помещают в длинные химические пробирки с 4 % раствором формалина для закрепления окончательной формы тела (Малевич, 1951).

Для определения нематод, симфил и простигнатических клещей рекомендуется приготовление временных препаратов с лактофенолом, который смешивают с поливиниловым спиртом (1:1). Этот состав осветляет покровы (Wallwork, 1970).

Прямokрылых, пауков предварительно фиксируют в спиртах возрастающей крепости или в 4-6 % растворе формалина. После этого из них можно изготовить сухие препараты. Если их сразу расправлять и высушивать, то они теряют окраску и сморщиваются.

Медуз, состоящих большей частью из воды, лучше фиксировать в 10 % растворе формалина для уплотнения их покровов.