

РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени А.И.ГЕРЦЕНА

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ,
ЭКОЛОГИЯ И ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ
ЖИВОТНЫХ

Научные труды кафедры зоологии

Выпуск 7

Санкт-Петербург
2007

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ ОСТЕОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ УЧЕБНЫХ И НАУЧНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ

К остеологическим препаратам относят черепа, целые скелеты животных или наборы костей животных. Остеологические препараты используются для научных исследований, в процессе педагогического обучения и в музейной экспозиции. Отпрепарированный экземпляр должен быть снабжен полной этикеткой, включающей информацию о видовой принадлежности, поле, возрасте, месте и времени добычи. Без этой информации материал не имеет научного значения. Для изготовления наглядных пособий и учебных препаратов используют, как правило, только взрослых животных. Одно из основных требований к остеологическим препаратам – кости должны быть хорошо очищены от мягких тканей, хрящей и сухожилий, обезжирены и отбелены.

Существует много способов препарирования черепов и костей посткраниального скелета. Рассмотрим особенности основных способов.

Подготовительный этап. Собранные сырые скелеты очищают от мышц. С костей срезают мускулатуру, на черепе удаляют глазные яблоки и язык, отделяют нижнюю челюсть, через затылочное отверстие извлекают мозг. Дистальные концы длинных костей конечностей крупных животных просверливают для облегчения выхода костного жира и мозга. Через эти отверстия с помощью металлической проволоки можно удалить костный мозг по частям, а затем промыть кости теплой водой.

Если в последующем скелет будет монтироваться в разборном виде, то его следует расчленить – отделить конечности в суставах и череп. Если же предполагают ставить скелет на связках, то расчленять его не следует. Обычно на связках монтируют только скелеты мелких животных (грызунов, насекомоядных, мелких птиц).

Мацерация гниением. Мацерация в воде – один из наиболее простых способов очистки черепа и костей. Собственно мацерацию проводят в холодной воде, используя деревянную, стеклянную или

пластмассовую посуду. Железная посуда для мацерации не используется, так как кости в ней заметно темнеют. Воду меняют каждые 5-7 дней. Мацерация длится не менее двух-трех недель, в зависимости от размеров объекта. После отхода остатков мускулатуры и сухожилий кости извлекают и промывают в проточной воде, затем в горячей воде с детергентами (мыло, стиральный порошок). Один из основных недостатков метода – сильный гнилостный запах, сопровождающий процесс. Чтобы ослабить запах, в воду рекомендуется добавлять агар-агар – 1.5 г агар-агара на 1 л воды (Заславский, 1966, 1980). При вовремя остановленной мацерации сохраняются остатки суставных связок, что позволяет получать скелет в анатомическом сочленении.

При мацерации скелетов в теплой воде (при температуре 30°-40°С) существенно ускоряется процесс отделения остатков мышц от костей, быстрее растворяется костный жир, более активно действует микрофлора. Мелкие объекты удобнее мацерировать непосредственно в термостатах. Скелеты крупных животных мацерируют с использованием «водяной бани» (Заславский, 1966). Мацерация в теплой воде длится не более 10-12 суток. Если она проходит недостаточно активно, добавляют кусочек свежего мяса, что ускоряет гнилостный процесс.

Вываривание. Наиболее распространенный способ подготовки остеологических препаратов. Хорошо подходит для очистки черепов и скелетов животных среднего и крупного размера.

При этом способе не требуется тщательная предварительная очистка скелета и черепа от мускулатуры. В процессе выварки могут выпадать зубы (особенно резцы и клыки), поэтому рекомендуется вываривать черепа зашитыми или завернутыми в матерчатые мешки. Также рекомендуется дистальные части конечностей (кисти и стопы) помещать в матерчатые или марлевые мешочки, предварительно забинтовав пальцы, чтобы не потерять и не перепутать мелких костей. Кости помещаются в емкость с большим количеством холодной воды и варятся на медленном огне. С кипящей воды снимают накипь. Если череп имеет рога, то следует позаботиться, чтобы они не погружались в кипящую воду. У полорогих копытных предварительно отделяют роговые чехлы, для чего, завернув в тряпку рог, поливают его кипятком. Размякший чехол обычно легко сходит со стержня. Сразу после выварки черепа чехлы следует вновь насадить на роговые стержни,

иначе они могут деформироваться. Вываривание длится до тех пор, пока мясо не начнет легко отделяться от костей. Для животных среднего и крупного размера это занимает обычно несколько часов. Для ускорения процесса можно использовать скороварку или автоклав (Brown, Twigg, 1967).

После вываривания кости промывают в проточной воде, удаляя размягченное мясо и счищая остатки сухожильий с помощью щеток (например, зубных) и хирургических инструментов (скальпеля, пинцета, препаровальных игл). При очистке черепа нужно следить за тем, чтобы не повредить решетчатые кости носа, основную кость и затылочное отверстие (при удалении мозга)

Превышение времени выварки приводит к частичному или полному разрушению черепов и костей мелких и молодых животных. Также это касается некоторых групп животных (зайцеобразные, мелкие копытные) с относительно непрочными черепными швами. Чаще всего приходится лишь слегка «отваривать» такие экземпляры и потом аккуратно дочищать вручную с помощью препаровальных инструментов.

Очистка костей при помощи беспозвоночных животных.

Чаще всего для подготовки остеологических препаратов используются жуки-кожееды. Семейство кожеедов *Dermestidae* включает около 800 видов. Многие виды являются опасными вредителями зоологических коллекций, например, так называемый музейный жук *Anthrenus museorum*. Однако при соблюдении соответствующих мер безопасности кожеедов можно использовать и для обработки остеологического материала. Этот способ очистки с давних времен используется в зарубежных естественноисторических музеях (Hall, Russell, 1933; Borell, 1938; Russell, 1947). Многие зоологические музеи мира располагают специальными инсектариями, есть они и в отечественных учреждениях, например, Зоологическом институте РАН в Санкт-Петербурге. Чаще всего для очистки скелетов используются жуки-кожееды *Dermestes maculatus* и *Dermestes caninus*.

Колонии жуков содержатся в металлических или стеклянных (аквариумы) емкостях. Взрослые жуки способны летать, поэтому емкости следует закрывать сверху мелкой сеткой для предотвращения расселения насекомых. В инсектарии поддерживается температура около 25°C. Перед помещением объекта в инсектарий рекомендуется

удалить внутренности и большую часть мягких тканей (для животных крупных и средних размеров). Желательно также несколько подсушить объект – кожееды лучше справляются с сухими тканями. Скелеты и черепа помещают в инсектарий в отдельных перфорированных коробках, что предохраняет кости от перемешивания, а отверстия обеспечивают доступ жуков и личинок к объекту. Большие колонии кожеедов способны достаточно быстро очистить даже скелеты крупных животных. Например, череп медведя или оленя – за 1-2 суток.

Сравнительные исследования показали, что сухой вес и содержание кальция в остеологических материалах, очищенных вручную и с использованием кожеедов, не различаются (Nefti et al., 1980), а значит, жуки оставляют кости скелета неповрежденными и неизмененными. Применение этого способа позволяет получать частично или полностью сочлененные скелеты мелких животных. Использование кожеедов особенно обосновано при деликатной очистке скелетов мелких и молодых животных.

В зоологических музеях остеологические объекты после очистки помещают в дезинсекционные камеры (газовые или морозильные) для предотвращения попадания в коллекционные фонды личинок кожеедов. После дезинсекционной камеры кости промываются и, если необходимо, обезжириваются.

Кроме жуков-кожеедов используются и другие насекомые, например личинки мучного хрущака *Tenebrio molitor*, так называемые «мучные черви». Мучной хрущак нетребователен к условиям содержания. При достаточном объеме инсектария и соответствующем кормлении колония довольно быстро развивается. Личинки мучного хрущака используются для очистки средних и крупных объектов. Мраморный, или пепельный, таракан *Nauphoeta cinerea* также применяется для очистки скелетов и черепов (Pecina, Porkert, 1975). Мраморный таракан неприхотлив, быстро размножается, всеяден – способен поедать как свежее мясо, так и вареное (но не высушенное). Для содержания необходим аквариум или пластиковый бокс с плотной крышкой и хорошей вентиляцией. Тараканы чувствительны к влажности воздуха, в инсектарии необходима поилка. Тараканы хорошо ползают по стеклу, так что необходимо исключить любые щели в боксе. Мраморные тараканы используются для очистки объектов среднего размера (Pecina, Porkert, 1975).

Химическая мацерация. К этому способу относятся различные виды обработки остеологических объектов с помощью химических веществ. В отличие от биологической мацерации (мацерации гниением) химическая обработка значительно быстрее и эффективнее. Следует помнить, что химическая мацерация требует соблюдения точности дозировок химических веществ и температурного режима.

Использование органических препаратов. Один из старейших методов – очистка с помощью растворов различных протеолитических энзимов – трипсина, пепсина, панкреатина, папина (см. Заславский, 1966; Mahoney, 1973). Для мацерации используют водный раствор трипсина (на 4 л воды добавляют две чайные ложки трипсина и одну ложку сернистого натрия Na_2S). Обработку лучше проводить при температуре $35^\circ\text{-}40^\circ\text{C}$. Трипсиновый мацерационный раствор регулярно (раз в три дня) заменяют свежим. После отделения мягких частей от скелета в раствор добавляют 0.5 г нашатыря (NH_4Cl) и затем варят скелет на медленном огне в течение 1-2 час. При этом одновременно с мацерацией производится обезжиривание материала. При применении трипсина мацерационный раствор выделяет сильный и неприятный запах. Даже кости, полностью прошедшие обработку и сушку, сохраняют этот запах довольно долго. В настоящее время мацерация при помощи органических веществ почти не используется.

Использование неорганических препаратов. Неорганические препараты действуют быстрее органических, но при работе с ними необходимо точно соблюдать дозировки и температурный режим, так как можно легко испортить или уничтожить скелетный материал. В первую очередь это относится к таким сильнодействующим веществам, как едкий натрий и едкий калий, нашатырь и ряд других. Работать с этими веществами можно только в резиновых перчатках.

Мацерация едким калием и едким натрием производится при температуре раствора не выше $35^\circ\text{-}40^\circ\text{C}$. Перегревание может привести к разрушению костей. Для поддержания нужной температуры можно использовать принцип «водяной бани». Этот раствор размягчает мышцы и превращает жир в мыло, которое легко смывается теплой водой.

При мацерации содой Na_2CO_3 кости погружают в теплый раствор (20 г соды на 1 л воды) и проваривают в течение 4-5 часов на не-

большом огне до полного отделения мышц. Для мацерации скелетов молодых особей следует использовать менее концентрированный раствор (10 г соды на 1 л воды). Повышенная температура раствора и кипение может привести к разрушению костей.

Хорошие результаты достигаются при обработке антиформинном. Антиформин (раствор хлорноватистокислого натрия) используется как дезинфекционное средство в медицине и ветеринарии. Для приготовления антиформина 150 г соды растворяют в 250 см³ воды, затем 100 г хлорной извести – в 750 см³ воды. Оба раствора сливают вместе и тщательно перемешивают. Готовый раствор отфильтровывают и добавляют в него 1250 г едкого натра, 15% раствор этого состава и есть антиформин (см. Заславский, 1966). Раствор хранят в темном и прохладном месте. Кости помещают в теплый 10% раствор антиформина. Процесс мацерации длится 6-12 часов в зависимости от размеров объекта. Мышцы при мацерации антиформинном превращаются в желеобразную массу, легко смываемую струей горячей воды. Если мацерация не дала нужных результатов, ее можно повторить. По окончании мацерации кости следует выдержать в горячей воде не менее суток.

В Англии долгое время использовался метод очистки костей при помощи тетрагидрата пербората натрия $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Charman, Charman, 1969). Сначала скелет варится (до готовности мяса), потом помещается в раствор пербората натрия на несколько часов. После этого кости промываются с использованием детергентов и высушиваются. Существует модифицированный вариант этого метода (McDonald, Vaughan, 1999). Тушки животных помещаются в раствор тетрагидрата пербората натрия в просторную емкость и выдерживаются в течение 2-3 дней при температуре 60°C. Концентрация раствора и время экспозиции зависят от объекта. Авторы (McDonald, Vaughan, 1999) указывают следующие параметры для черепов и скелетов горностая и ласки: 15 г пербората на 150 мл воды, продолжительность 48 часов; для черепов и скелетов зайца-русака: 55 г вещества на 800 мл воды, продолжительность обработки 72 часа.

Сотрудники Всероссийского НИИ охотничьего хозяйства и звероводства (Соловьев и др., 2007) разработали способ очистки остеологических материалов с использованием дешевого и доступного реактива – декагидрата тетраборат натрия или бурсы ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$).

Кости и черепа, предварительно очищенные от мышц, помещаются в водный 10-13% раствор буры и подвергаются термической обработке. Термическая обработка проводится в термостате при температуре не выше 70°-90°С (используется стеклянная посуда) или на электрической/газовой плите (используется алюминиевая посуда). Мацерация в термостате более длительна, но требует меньше внимания. Время экспозиции зависит от температуры раствора. Авторы (Соловьев и др., 2007) указывают следующие параметры: для черепов ондатры – экспонирование в 13% растворе при температуре 60°С в течение 22-23 часов; для черепов барсука – экспонирование в 10% растворе при температуре 90°С в течение 16 часов. Избыточная концентрация раствора и излишняя продолжительность экспозиции может привести к разрушению костей, черепа могут распасться на отдельные кости. Черепа и скелеты молодых животных следует обрабатывать осторожно, постоянно контролируя состояние объекта. После мацерации с применением буры последующее обезжиривание и отбеливание костей не требуются.

Обезжиривание очищенных костей. При химической мацерации большая часть жира и костного мозга из костей удаляется. Если же в процессе сушки скелета на отдельных костях появляются жировые пятна, то такие кости необходимо дополнительно обезжирить.

Можно использовать в качестве обезжиривающих средств различные органические растворители (технический трихлорэтилен, ацетон, хлороформ, серный эфир). Хорошим обезжиривающим средством является бензин. Отдельные жирные кости или целые скелеты, предварительно тщательно высушенные, погружают в очищенный бензин. Сосуд с бензином должен быть установлен в таком месте, где бы исключалось его возгорание. Бензиновое обезжиривание сильно зажиренных костей требует длительного времени (1-2 мес.).

Более удобный и доступный способ – обезжиривание с помощью соды (Na_2CO_3). Кости помещают в теплый 5-10% раствор соды. Раствор доводят до кипения и оставляют скелет в теплой воде на 24 часа. Вынутые кости проваривают в чистой воде. Образовавшиеся при взаимодействии жирных кислот с содой мыла хорошо растворяются в горячей воде.

При появлении незначительного жирного налета на костях можно обезжирить их погружением на 20-30 часов в 10% раствор нашатырного спирта.

М.А.Заславский (1966) рекомендует использовать для обезжиривания сероуглерод CS_2 . Сероуглерод растворяет многие жиры и смолы и может применяться, когда обезжиривание бензином не дает нужных результатов. Скелет или отдельные кости опускают в емкость с сероуглеродом. Обезжиривание длится 2-3 недели. Сероуглерод испаряется при комнатной температуре, поэтому для предотвращения быстрого испарения в емкость доливают воду, которая тонкой пленкой покрывает поверхность сероуглерода и препятствует его испарению.

Отбеливание. Отбеливание желательно для всех остеологических препаратов, особенно после мацерации. Оно производится 3-5% раствором перекиси водорода в эмалированной, деревянной или стеклянной посуде. Для ускорения реакции рекомендуется добавлять 2.5 г нашатырного спирта на 1 л раствора (Заславский, 1980). Отбеливание костей и черепов животных среднего размера (например, представители семейства куньих) длится 4-5 часов, крупных животных (крупные копытные и хищники) – 10-15 часов. Отбелку костей следует вести только при ярком освещении. Во время работы кости необходимо переворачивать для равномерного отбеливания. Естественная окраска костей светло-желтоватая, поэтому не следует добиваться слишком большой белизны. Отбеленные кости тщательно промываются теплой водой, а затем просушиваются.

Литература

- Заславский М.А. 1966. Изготовление чучел птиц, скелетов и музейных препаратов. Таксидермия птиц. Ленинград: Наука. 251 с.
- Заславский М.А. 1980. Обработка охотничьих трофеев // Охота и охотничье хозяйство, 1, 10-12.
- Соловьев В.А., Сергеев А.А., Жиряков А.С., Фоминых С.В. 2007. Эффективный способ обработки остеологического материала млекопитающих и птиц // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства. Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ВНИИОЗ. С. 411-412.

- Borell A.E. 1938. Cleaning small collections of skull and skeletons with dermestid beetles // Journal of Mammalogy, 19, 102-103.
- Brown J.C., Twigg G.I. 1967. The rapid cleaning of bones in quantity // Journal of Zoology (London), 153, 566-567.
- Chapman D.I., Chapman N. 1969. The use of sodium perborate tetrahydrate ($\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) in the preparation of mammalian skeletons // Journal of Zoology (London), 159, 522-523.
- Hall E.R., Russell W.C. 1933. Dermestid beetles as an aid in cleaning bones // Journal of Mammalogy, 14, 372-374.
- Hefli E., Trechsel U., Rufenacht H., Fleisch H. 1980. Use of dermestid beetles for cleaning bones // Calcified Tissue International, 31, 45-47.
- Mahoney R. 1973. Laboratory techniques in zoology. 2nd edition. London: Butterworths. 518 p.
- McDonald R.A., Vaughan N. 1999. An efficient way to prepare mammalian skulls and bones // Mammal Review, 29, 265-266.
- Pecina P., Porkert J. 1975. Chov švába *Nauphoeta cinerea* a jeho použití pro preparaci středně velkých koster a lebek obratlovců // Lynx (nov.ser.), 17, 76-78.
- Russell W.C. 1947. Biology of the dermestid beetle with reference to skull cleaning // Journal of Mammalogy, 28, 284-287.