

1962

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВКУСА И ОБОНЯНИЯ У РЫБ

М. П. Аронов

(Севастопольская биологическая станция
Академии наук СССР)

Деятельность вкусовых и обонятельных органов чувств у рыб имеет ту отличительную особенность, что раздражение рецепторов в обоих случаях осуществляется растворенными в воде веществами. В физиологии человека принято положение о различии между этими двумя органами химического чувства, основанное на том, что обонятельные рецепторы возбуждаются газообразными веществами, а вкусовые — при соприкосновении с растворенными веществами. В отношении рыб это положение оказывается неприменимым. Однако морфологически и функционально органы вкуса и обоняния у рыб различаются.

Обонятельные рецепторы рыб находятся в специальных парных мешках, каждый из которых открывается одним (у сельхоз) или двумя (у костистых рыб и гакоидов) отверстиями — ноздрями. Циркуляция воды через ноздри совершается при движении рыбы вперед, либо обеспечивается специальными приспособлениями (Bateson, 1890; Burne, 1909; Pipping, 1927). Гистологическое строение обонятельных рецепторов рыб описано в монографии Я. А. Винникова и Л. К. Титовой (1957).

Вкусовые рецепторы рыб, как и у высших позвоночных, расположены в полости рта, но в связи с водным образом жизни рыб могут выходить на наружные покровы и встречаются на губах и усиках, а у некоторых рыб на всем теле (Herrick, 1903; Schneider, 1931; Dykgraaf, 1934; Sato, 1937в; Дислер, 1953). При выходе наружу вкусовые рецепторы функционируют как экстерорецепторы. Наиболее специализированные в морфологическом отношении образования, приспособленные нести вкусовые рецепторы, — это усики и нитевидные лучи плавников многих рыб, а также свободные плавниковые лучи Triglidae. Наружными вкусовыми рецепторами обычно являются вкусовые почки, по своему строению подобные вкусовым почкам полости рта, но у Triglidae в специали-

зированных лучах грудных плавников имеются особые удлинённые клетки, не образующие групповых структур (Scharrer, 1935).

Обонятельные рецепторы представляют собой первичные чувствительные клетки. Их иннервация обеспечивается п. olfactorius, и первичные обонятельные центры находятся в переднем мозгу. Ноздри снабжаются также ветвями пятого нерва — п. trigeminus, окончания которого играют некоторую роль в восприятии острых раздражающих веществ (Sheldon, 1909).

Вкусовые рецепторы — это вторичные чувствительные клетки, которые иннервируются VII, IX и X парами нервов. Первичные вкусовые центры расположены в продолговатом мозгу. Исключение представляет иннервация вкусовых рецепторов из свободных плавниковых лучей Triglidae, связанная с корешками спинного мозга.

Обонятельные рецепторы играют роль дистантных рецепторов, тогда как вкусовые — контактных (Parker a. Sheldon, 1913). Эти две группы рецепторов могут различаться и по качеству воспринимаемых раздражителей (Strieck, 1924).

СПОСОБЫ ИЗУЧЕНИЯ ВКУСОВОЙ РЕЦЕПЦИИ РЫБ

Применяемые для изучения вкусовой чувствительности рыб различные методы, в связи с трудностью подачи в воду химических раздражителей, нуждаются в совершенствовании и разработке. Одним из способов исследования вкусовой чувствительности служит наблюдение за реакцией животных на испытуемое вещество. Этот способ позволяет к тому же оценить отношение животного к различным веществам, т. е. выявить специфические безусловные или натуральные условные рефлексы на определенные химические раздражители.

При изучении естественных реакций необходимо учитывать соответствие (адекватность) используемых раздражителей ожидаемому от животного ответу. Геррик (1903) указывает на ошибку Нагеля (Nagel, 1894), который изучал вкусовую чувствительность некоторых рыб при нанесении горького, сладкого, кислого или соленого раствора на наружные покровы, наблюдая за пищевой реакцией. Не получив ожидаемого ответа на стимул, Нагель заключил, что кожа тела карпа и сома нечувствительна к вкусовым раздражениям. Однако Геррик, используя пищевые раздражители — мясо и мясной сок, — обнаружил реакцию этих рыб на вкусовое раздражение кожи.

Исследование наружных вкусовых рецепторов. В качестве раздражителей при исследовании наружных вкусовых рецепторов применяют различные пищевые организмы, мясо разных животных, смоченную мясным соком вату, чистый мясной сок, выпускаемый из пипетки, растворы различных веществ, вымоченное в различных растворах мясо и др. Труднее

всего определить вкусовую чувствительность губ, так как при этом возможно попадание вкусовых раздражителей в полость рта. Однако некоторые простые способы позволяют в какой-то степени установить наличие вкусовых рецепторов в эпидермисе губ или рыла. Эти способы наиболее применимы для изучения малоподвижных донных рыб. Подкрашенный метиленовой синью мясной сок осторожно выпускают из пипетки над головой ослепленной рыбы и следят за движением струйки и за моментом ответной хватательной реакции (Андрияшев, 1944, 1944в). Для контроля ноздри рыбы можно заткнуть, например, пластилином.

В качестве наиболее точного контроля рекомендуется пользоваться гистологическими методиками, позволяющими обнаружить вкусовые почки.

Удобнее исследовать специализированные придатки, несущие вкусовые рецепторы, — усики и видоизмененные плавники — и разные участки тела позади головы. При раздражении усиков крапикового сома (*Ameiurus*) или морского налима (*Gaidropsagus*) мясом, поднесенным на палочке, или ваткой, смоченной мясным соком, обычно следует хватательная реакция (Herrick, 1903; Андрияшев, 1944а, и др.). Такая же реакция происходит, если раздражать усик стружкой мясного сока, что легко осуществить на рыбах, у которых кончики усиков находятся далеко от пасти. Такие опыты проводили Геррик (1903) на карликовых сомиках и Сато (1937а, 1938) на японских султанках.

Для изучения роли усиков и плавников в отыскании пищи применяют закапывание приманки (например, червей) в ил, зазывание мяса в марлевые пакеты (Сато, 1937, 1937а, 1937б, 1938) или заключение мяса между двумя пустыми раковинами, как это делал Геррик (1903). Способы приготовления марлевых пакетов (мешочков) будут описаны ниже. В контрольных опытах во всех случаях исключают обоняние. Способы подачи скрытой приманки позволяют выяснить специфическое значение усиков или других образований как специализированных органов.

Отличие вкусовой рецепции от осязательной. При исследовании наружной вкусовой рецепции приходится встречаться с такими случаями, когда рыба (например, карликовый сомик) отвечает хватательной реакцией на раздражение чистой ваткой, поднесенной к усику на конце тонкой палочки. Такую реакцию Геррик (1903) назвал «тактильным рефлексом», в отличие от «вкусового рефлекса». Если раздражение чистой ваткой повторить несколько раз, то хватательная реакция быстро пропадает, но тут же возникает вновь, если коснуться усика мясом или той же ваткой, смоченной отфильтрованным мясным соком. Реакция на вкусовые раздражения, по данным Геррика, не исчезает при достаточно большом числе повторений.

При раздражении усиков вкусовым раствором, выпускаемым из тонкой пипетки или шприца, также необходимо угадать ре-

акцию на тактильное раздражение, для чего применяют чистую воду, повторяя действие несколько раз.

Однако, чтобы полностью избежать осязательных раздражений, такие способы непригодны, так как тактильный компонент входит в состав подаваемого вкусового раздражения. Геррик для выяснения роли вкусовых рецепторов в пространственной локализации раздражителя осторожно выпускал из тонкой трубочки с заткнутым верхним концом подкрашенный мясной сок, который в силу несколько большего удельного веса по отношению к воде опускался вниз и раздражал кончик далеко выступающего усика карликового сома. На это воздействие была получена направленная реакция рыбы, но несколько более замедленная, чем при раздражении мясом.

Перерезка нервов, иннервирующих вкусовые почки на теле и плавниках рыбы, также позволяет отдифференцировать вкусовое раздражение от тактильного. Осязательная чувствительность тела рыб представлена свободными нервными окончаниями и иннервируется верхними корешками спинного мозга (Геррик, 1903, 1903а). Перерезка специализированных вкусовых нервов у вьюна (Дикграаф, 1934) и морского налима (Аронов, 1959) показывает, что осязательная чувствительность сохраняется, но рыбы при пищевом раздражении плавников или тела на оперированной стороне перестают отвечать пищевой реакцией, тогда как при раздражении других сохраняющих вкусовую иннервацию поверхностей такую реакцию обнаруживают.

Для изучения роли тактильного компонента в реакциях на пищевые раздражения применяют пропитывание мясным соком предметов различного качества. Геррик (1903) таким образом проверял реакцию карликовых сомов на кусочки кирпича, смоченные мясным соком. Как правило, рыба хватала эту приманку.

Различие чувствительности наружных и внутренних вкусовых рецепторов. Вкусовые рецепторы усиков и полости рта могут различаться по своей чувствительности к различным веществам. Один из способов для выяснения подобных различий состоит в пропитывании пищи некоторыми растворами.

Приманку, пропитанную хинином, карп берет в рот после опробывания усиком (Wunder, 1927), мясо, пропитанное горькой полынной настойкой, схватывается морским налимом (Андряшев, 1944а). Однако после проверки интратротовыми вкусовыми рецепторами рыбы выплевывают обработанную горьким раствором пищу. На сладкие вещества реакция может быть иной. Так, морской налим охотно проглатывает мясо, вымоченное в сахарном сиропе. Пища, обработанная 5%-ным раствором соляной кислоты, вызывает реакцию ухода, после того как эта рыба коснулась приманки усиками. Подобным образом распознает червей, вымоченных в слабой уксусной кислоте, одна из японских

султанок, которая, однако, лишается этой способности после ампутации усиков (Сато, 1937).

Вкусовая чувствительность рыб зависит, по мнению Геррика (1903), от количества вкусовых почек на единицу поверхности.

Электрофизиологическое исследование наружных вкусовых рецепторов. Для электрофизиологического изучения вкусовой чувствительности рыбу лишали способности двигаться перерезкой продолговатого мозга или проколом через продолговатый и спинной мозг (в настоящее время для этого существуют более совершенные способы — кураризация, например, инъекция диплацина и др.). Нервы в месте их выхода из мозга обнажали (Хогленд — Hoagland, 1932, 1932a), участок нервной ветви, отпрепарованный на подходящую длину (5—8 мм), проксимально обвязывали ниткой, перерезали позади перезвязки и при помощи нитки накладывали на электроды. Препаровку делали таким образом, чтобы рецептивные поля оставались погруженными в воду. Нерв и рана находились вне воды и увлажнялись раствором Рингера. Для отведения биопотенциалов применяли серебряные хлорированные электроды, соединенные по обычной схеме через два усилителя с осциллографом. В схему через дополнительный усилитель включали также громкоговоритель.

В качестве вкусовых раздражителей применяли растворы уксусной кислоты разной концентрации (от 1 до 20%), 10%-ный раствор соляной кислоты и насыщенный раствор сахара. Использовали также мясной сок. Перед подачей химических раздражителей проверяли потенциалы действия при механической стимуляции усиков кончиком птичьего пера. Растворы медленно вытекали в воду неподалеку от препарата и диффундировали к усикам. Импульсы от вкусовых раздражений можно было наблюдать на экране осциллографа, но особенно хорошо они прослушивались через громкоговоритель.

ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕЙ ВКУСОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Во многих экспериментах по исследованию вкусовой чувствительности рыб функция наружных и внутриротовых рецепторов не изучается изолированно, поэтому при рассмотрении соответствующих методик можно говорить об общей вкусовой чувствительности.

Изучение вкусовой избирательности рыб в отношении различных пищевых организмов. Методы изучения избирательного отношения к различным пищевым организмам также основываются на безусловных или натуральных условных реакциях рыбы.

Гартман (Hartmann, 1935), исследуя пищевую избирательность окуня, заключал кашницу из пищевых животных в белый

хлеб, так как заключение в желатину оказалось недостаточно эффективным. Взвешенное количество пищевых организмов определенного вида он растирал в ступке и замешивал в хлебный мякиш до консистенции густого теста. Такая приманка не распадалась в воде более 15 мин. Наибольшую пищевую активность рыб вызывало тесто, состоявшее из 75% пищевых животных и 25% белого хлеба. При добавлении белого хлеба привлекающее действие теста снижалось, однако прочность теста увеличивалась. Взвешенные комки теста, составленные из кашицы разных животных, опускали в аквариум на подвешенной горизонтально стеклянной палочке, снабженной для крепления теста стеклянными петлями, отстоящими одна от другой на 10 см. Приманка находилась в 2—3 см от дна. Учитывали количество съеденных кусочков и количество выплунутых. Общую частоту схватывания теста в расчет не принимали. Проверяли реакцию на тесто без мясной кашицы. В контрольных опытах для исключения обонятельных раздражений ноздри закладывали пластилином.

Для исследования пищевой избирательности карася заключение растертых пищевых животных в хлебную массу неприемлемо, так как сам хлеб вызывает пищевую реакцию. Поэтому для приготовления пищевого состава использовали песок. Пищевые смеси помещали на специальное приспособление. Стеклянную пластинку, несколько более узкую, чем дно аквариума, разделяли на четыре одинаковых поля тонкими стеклянными полосками. По краям пластинки также укладывали стеклянные полоски и получали четыре очень мелких камеры, границы которых после заполнения песком были незаметны. Поля заполняли смесью песка и мелко растертых пищевых организмов определенных видов. Вес животных составлял 1—5% веса песка. Одно поле для контроля заполняли чистым песком. Эту кормушку осторожно погружали в аквариум и после того, как вода становилась спокойной, туда подсаживали рыб. Подсчитывали общее число хватательных движений над каждым полем за каждую минуту. Опыты проводили над зрячими и слепыми рыбами. Этим же методом была проверена пищевая избирательность ершей.

Для исследования вкусовой избирательности угрей Гартман применил холщовые тряпки, на которые намазывали пищевую кашицу и опускали в аквариум вертикально, на распорках.

Изучение восприятия различных вкусовых веществ. Если удобная для регистрации естественная реакция рыбы на исследуемое вещество не проявляется, вкусовую чувствительность к нему можно изучать, вырабатывая условные рефлексы. Метод условных рефлексов позволяет установить, какие химические вещества воспринимаются рыбами, какова относительная пороговая концентрация разных веществ, вос-

принимаемых рыбами, различают ли рыбы некоторые химические вещества одно от другого, и т. п.

Дать точную количественную дозировку химических веществ в опытах на рыбах довольно трудно. Чтобы проверить способность голянов различать четыре вкусовые качества — сладкое, горькое, кислое и соленое, — Штрик (Strieck, 1924) применил следующий метод. Нарезанное свежее говяжье мясо клали в небольшие чашечки, в которые приливали 10 мл 40%-ного раствора виноградного сахара или 2%-ной уксусной кислоты, 2—10%-ный раствор хинина или 40%-ный раствор поваренной соли. Выдержав 0,5—1 час мясо в растворах, часть жидкости отфильтровывали и наливали в другие чашечки, куда клали ватные тампоны. Рыбам давали куски мяса, пропитанные определенным раствором, и несъедобные ватные тампоны, пропитанные мясным соком и какими-нибудь другими растворами. Мясной сок неизбежно входил в состав раздражителя при кормлении, и Штрик стремился устранить его сигнальное значение, для чего примешивал его к отрицательным раздражителям. Таким образом, действие раздражителя, например сахара + мясной сок, подкрепляли мясом, которое рыба находила в чашке; действие дифференцировочного раздражителя — мясной сок + уксусная кислота или хинин — не подкрепляли. Мясо подвешивали в аквариуме на одну минуту при помощи стеклянного пинцета. Исследуемое вкусовое вещество опускалось струями на дно. Раздражители разных значений сменяли через 5 мин. Опыты проводили на ослепленных рыбах. Регистрировали хватательную реакцию на исследуемый раствор. Дифференцировку удавалось выработать через 3—4 недели опытов, но наилучший результат получался через 6—8 недель. Если положительным сигналом служил горький вкус, рыбы через некоторое время погибали от истощения, так как отвергали горькое мясо.

Для ориентировочного определения относительных порогов был применен такой метод. Рыб, которых дрессировали на одинаковое вкусовое вещество, помещали в сосуд определенного объема (20 см в диаметре, объем воды 1000 мл). В центре сосуда подвешивали на веревочке открытую с обеих сторон трубку для реагентов, нижний конец которой находился в 8 см от дна и был прикрыт на 1,5 см ватным тампоном. Внутрь реагентной трубки вводили 5 мл раствора мясного сока и сигнального вкусового агента определенной концентрации. Раствор постепенно стекал на дно. За реакцией рыб наблюдали в течение одной минуты. Опыт начинали с наименьших концентраций вкусового вещества, в каждом последующем опыте концентрацию удваивали.

Эта методика, хотя и представляет интерес, не позволяет определить точное значение порогов воспринимаемых рыбами веществ. Криннер (Krinner, 1935) применил другой метод, пе-

решая предварительно приученных к пересадкам гольянов из чистой воды в воду с различными растворами; это давало возможность определить воспринимаемые концентрации более точно.

СПОСОБЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБОНЯНИЯ РЫБ

Изучать обоняние рыб, как и вкус, можно используя безусловные реакции животных, условные рефлексы и электрофизиологическое исследование рецепторов.

Изучение роли обоняния в пищевом поведении рыбы. Для проверки значения обоняния в пищедобывательных реакциях рыб обычно пользуются методом скрытых приманок или проверяют общее пищевое возбуждение рыбы при подаче в воду пищевого запаха.

Способы подачи в аквариум скрытой приманки довольно различны. Например, Бэтсон (1890) прятал мясо в открытую бутылку, опускаемую в воду, для проверки реакции морского налима на запах. Однако наиболее распространенные методы — это осторожное опускание пищи в аквариум к ослепленным или плохо видящим рыбам (Sheldon, 1911; Wunder, 1927; Андрияшев, 1944а, 1955, и др.), а также метод Паркера с подвешенными в аквариуме марлевыми пакетами, в которых находится пища (Parker, 1910, 1911; Pipping, 1926, 1927; Sato, 1937, 1937а, 1937б, 1938; Аронов, 1960, 1961).

При наблюдениях за рыбами оценивают их способность вообще реагировать на пищевой запах, который диффундирует сквозь воду или приносится слабым течением, а также их способность отыскать пищу по запаху. Приманку необходимо опускать по возможности дальше от рыбы, чтобы избежать случайного действия мясного сока в заметной концентрации, которая способна вызвать возбуждение вкусовых рецепторов. Следует учитывать, что мясо и мясной сок моллюсков, как это отмечено в ряде исследований, могут подвергаться в морской воде каким-то изменениям, сильно ослабляющим действие этих раздражителей на вкусовые и обонятельные рецепторы (Бэтсон, 1890; Геррик, 1903; Аронов, 1959а). Эти изменения наступают через 10—15 мин.

При постановке опытов с обонятельными раздражителями необходимо также учитывать состояние воды в аквариумах. Георик установил, что сомтики очень плохо находят приманку по запаху в неподвижной воде, но легко ориентируются на запах и отыскивают пищу, плывя навстречу течению.

Марлевые пакеты для опытов готовят следующим образом. Два кусочка марли в один или два слоя заполняют приблизительно одинаковым количеством промытого крупного песка или мелких камешков и в один из них добавляют некото-

рое количество нарезанного мяса. Оба пакета завязывают и подвешивают в аквариуме, в котором содержится группа рыб, приблизительно на одном уровне и на некотором расстоянии один от другого. Пакеты должны быть одинаковыми по внешнему виду. Во время опытов пищевой и контрольный пакет меняют местами. Чтобы оценить способность рыб находить скрытую в пакете пищу, подсчитывают число хватаний рыбами каждого из пакетов. Опыты желательно проводить в течение 10—15 мин. или в более короткие сроки в зависимости от интенсивности пищевой реакции подопытных животных. Ограничивать время опыта необходимо во избежание образования условного рефлекса на местоположение пакета с пищей. Однако Сато (1937, 1937а) вел такие опыты в течение часа.

При постановке опытов с пакетами следует учитывать также возможность различения двух пакетов при помощи хорошо развитых усиков, как это установлено в опытах Сато (1937а). Обязательна постановка контрольных опытов на рыбах с выключенным обонянием, зрением или с отрезанными усиками.

Исследовать общее пищевое возбуждение на действие запаха добычи удобно на рыбах, отличающихся активным поиском (например, морской налим, горбыль и т. п.). Д. С. Павлов любезно сообщил нам методику, которую он применял для исследования реакции на запах у этих рыб. В аквариум добавляли воду с пищевым запахом и регистрируют время активного плавания подопытной рыбы. Предварительно измеряют время реакции при добавлении такого же количества воды, но без запаха. Источником запаха служили пищевые организмы, за которыми охотятся подопытные рыбы, в данном случае живые атерины. Атерин выдерживают некоторое время в определенном объеме воды. Концентрация подаваемого запаха может меняться в зависимости от ряда условий: от объема воды, в которой содержится рыба, служащая источником запаха; от размеров этой рыбы; времени содержания в заданном объеме воды; состояния рыбы — ее активности и т. д. Эта методика позволяет использовать относительный количественный метод для оценки обонятельной чувствительности разных видов.

Изучение роли обоняния в оборонительных реакциях рыб. Обонятельные раздражители могут вызывать, помимо пищевых, также оборонительные реакции рыб. Фриш (Frisch, 1941) описал специфические вещества, находящиеся в коже гольяна и вызывающие у этих рыб «реакцию бегства». Для изучения разведений, при которых эти вещества способны вызывать реакцию, Фриш разработал простую методику. Кусочек кожи весом 0,2 г, снятой со свежееубитого гольяна, размельчают ножницами всегда одинаковым образом и помещают в сосуд с 200 мл водопроводной воды комнатной температу-

ры. Раствор взбалтывают каждые пять минут и через полчаса фильтруют. Гольянов в аквариуме предварительно приучают получать корм из пищевой трубки, около которой они собираются. Во время опыта 100 мл приготовленного раствора выливают в аквариум через пищевую трубку; спустя минуту туда же бросают пищу для привлечения гольянов и наблюдают за поведением рыб. Фриш указывает, что оборонительная реакция гольянов — уход от пищевой трубки в укрытие — вызывается разведением исходного раствора в пропорции 1 : 200, иногда 1 : 500.

После выключения обоняния стайки гольянов вообще перестают реагировать на отпугивающее вещество или обнаруживают быстро проходящую тревогу.

Изучение избирательных реакций на различные запахи. Висби и Хаслер (Wisby a. Hasler, 1952) сконструировали аппарат для изучения реакций лососей на различные органические запахи. Устройство состоит из центрального бассейна, в который ведут четыре канала. Вода поступает в верхние отделы каждого канала и каскадами, минуя восемь водопадов, стекает в центральный резервуар, откуда сливается через отточную систему. Вход в каналы со стороны центрального отделения закрыт дверцами, которые легко поднимаются, если потянуть за специальное проволоку. Молодь лососей помещают в центральное отделение, затем в один из каналов вводят пахучий раствор и поднимают дверцы. В течение некоторого времени подсчитывают распределение рыб и сравнивают с распределением контрольных рыб (в воде без запаха).

Условнорефлекторные методы изучения обоняния рыб. Для изучения различных вопросов обонятельной чувствительности у рыб условнорефлекторный метод применяется достаточно широко. Этим методом пользовались многие исследователи (Strieck, 1924; Wrede, 1932; Sanders, 1940; Göz, 1941; Neurath, 1949; Walker a. Hasler, 1949, и др.).

Приведем здесь только описание установок для выработки условных рефлексов на запахи, разработанных Гецем (1941) и Хаслером с сотрудниками (Хаслер, 1954).

Установка Геца очень проста и легко может быть сделана в любой лаборатории. Гец изучал способность гольяна различать запахи разных рыб и даже отдельных особей своего вида. Устройство состоит из двух аквариумов, помещенных один над другим (рис. 1). В нижнем аквариуме находится подопытная рыба (ослепленный гольян), в верхний помещают источник запаха (например, карась или карликовый сомик). В нижний аквариум непрерывной струйкой поступает чистая вода, которую во время опыта можно переключать поворотом изогнутой трубки в верхний аквариум, одновременно открывая кран (показанный в средней части рис. 1). Это позволяет подавать в сосуд с гольяном воду, насыщенную запахом, не прерывая тока воды.

Сила струйки должна оставаться неизменной. Когда подопытная рыба проплывает рядом с входящей в аквариум струей воды, на тонкой палочке подают пищу. Если дается дифференцировочный запах, голяну наносят легкие удары стеклянной палочкой. В течение дня опыт повторяют несколько раз.

Аппарат, описанный Хаслером (1954), сложнее. Он состоит из аквариума объемом около 28 л и воздушно-сифонной циркуляционной системы (рис. 2). Вода через сифоны вытекает с двух сторон аквариума и давлением воздуха, подводимого при помощи специального шланга, прогоняется по двум вертикальным трубкам и выливается в воронки, закрепленные на двух противоположных углах аквариума. Каждая воронка соединена с трубкой, которая идет вниз и проходит поперек дна сосуда. Отверстия в этих трубках направляют воду вдоль дна. Струи, текущие с двух сторон навстречу одна другой, отклоняются при встрече посередине аквариума вверх, а затем назад. Эти течения как бы образуют два отделения — две конвекционные камеры, каждая из которых занимает половину аквариума.

Пахучие растворы вводят в аквариум из двух делительных воронок, соединенных с сифонными трубками. Во время интервалов между опытами циркулирующую в сифонной системе воду пропускают через активированный уголь для полного удаления исследуемых запахов. Это необходимо в целях устранения обонятельной адаптации у рыб. Активированный уголь набивают в две широкие стеклянные трубки около 4—5 см в диаметре и 50 см длиной. Опытным путем установлено, что дрессированные рыбы не реагируют на пахучие вещества, пропущенные через такие фильтры.

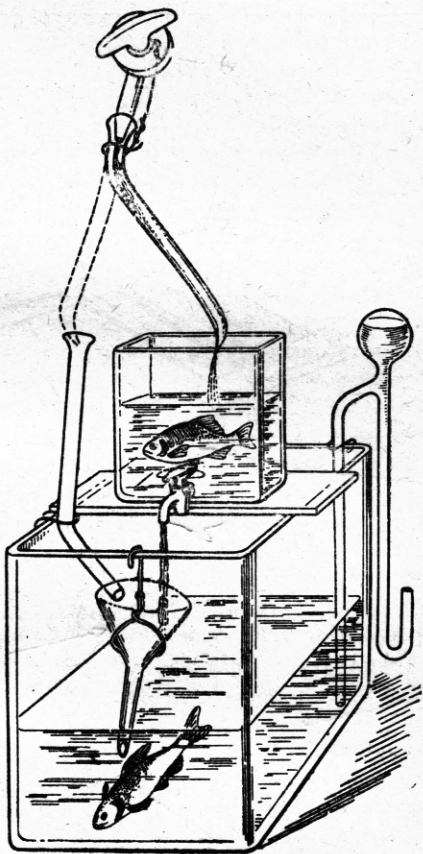


Рис. 1. Установка для выработки условных рефлексов на запах различных рыб (по Гёцу, 1941)

С каждой стороны аквариума размещено по три угольных электрода. Расстояние между ними составляет 5—7 см. Пространство между электродами — «концевая зона» — служит для кормления рыб или раздражения электрическим током в зависимости от значения запаха. Пища подается в кормушке,

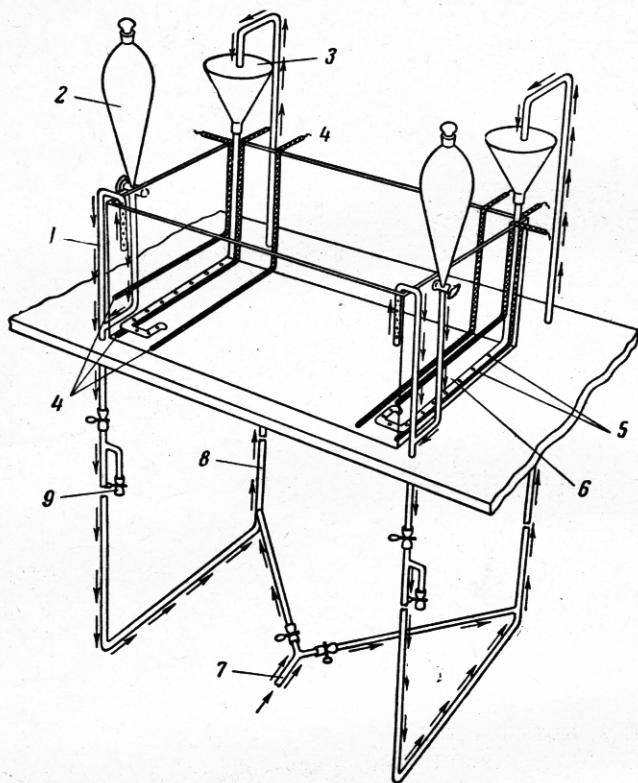


Рис. 2. Аппарат для проверки способности рыб дифференцировать различные запахи (по Хаслеру, 1954)

1 — отточный сифон; 2 — делительная воронка для пахучих растворов; 3 — воронка для деаэрации воды; 4 — электроды; 5 — направляющая трубка; 6 — кормушка; 7 — воздушный шланг; 8 — воздухонапорная трубка; 9 — кран

прикрытой дырчатой целлулоидной пластинкой. Электрический ток достигал 11,5 миллиампер по силе и по напряжению 1,5 в.

Опыты проводились на рыбах, ослепленных инъекцией фермерола в заднюю камеру глаза. Аквариум во избежание сотрясений был установлен на пористой резине.

Электрофизиологическое изучение обонятельных рецепторов рыб. Эдриан и Людвиг (Adrian a. Ludwig, 1938) применили электрофизиологический метод для исследования ответов обонятельных рецепторов карликового сомика, карпа и линя. Опыты проводились на переживающих препаратах, лишенных циркуляции крови. Голову рыбы после декапитации прикалывали к пробочной подставке. Освобожденный передний мозг поднимали на небольшое колечко из хлорированной серебряной проволоки; при этом обонятельный стебель висел в воздухе. Вторым серебряным электродом подводили к стеблю, который, по возможности, расщепляли тонкими иглами, или к другим частям головы. Чтобы уменьшить наводки, удаляли сердце. Приготовление препарата занимало около 5 мин., после чего можно было регистрировать колебания электрических потенциалов в течение получаса или часа. В таких условиях опыта орошение жабр водой у некоторых препаратов с сохраненной циркуляцией крови не увеличивало активности обонятельной системы. Схема для регистрации импульсов была аналогична описанной выше.

Обонятельное раздражение подавали двумя способами. В простейшем случае раздражающая жидкость капала или выбрызгивалась стружкой в обонятельный мешок и вымывалась из него струей воды. Для удобства крышу мешка иногда удаляли, но орган сохранялся лучше, если мешок оставался неповрежденным. Инъекция жидкости таким способом обеспечивала быстрое нарастание концентрации раздражителя у рецепторов и позволяла давать более интенсивный стимул. Недостаток способа заключался в механическом воздействии на обонятельный орган; к тому же трудно было предотвратить смещение записи из-за емкостного эффекта при попадании жидкости в обонятельный мешок.

Второй способ состоял в непрерывной подаче воды, вводимой в ноздрю рыбы через стеклянную канюлю. При переключении кранов вода заменялась раздражающей жидкостью. Канюлю жестко крепили на тяжелой стойке во избежание смещений при манипулировании с кранами и приводили в нужное положение винтовым устройством. Способ «непрерывного тока» дает меньше помех при регистрации.

Обонятельный орган давал ответ как на химическую, так и на механическую стимуляцию.

Существенным недостатком описанной электрофизиологической методики было то, что Эдриан и Людвиг могли регистрировать ответ только на очень большие концентрации пахучих веществ, тогда как в природе на обонятельный орган действуют ничтожные концентрации раздражителя.

СПОСОБЫ ВЫКЛЮЧЕНИЯ РЕЦЕПТОРОВ

В ходе исследования нередко возникает необходимость выключить один или два химических рецептора. Во избежание посторонних влияний многие исследователи, в зависимости от поставленных задач, ослепляют подопытных рыб.

Выключение зрения. Ослепляют рыб обычно путем полного удаления глазных яблок, прижигания роговицы гальванокаутером, удалением хрусталиков и инъекцией темерола в заднюю камеру глаза. В последнем случае берут около 0,03 мл неразведенного фемерола; это дает хорошие результаты, например, на муренах (Bardach, Winn a. Menzel, 1959). Сато (1937а) ослеплял некоторых подопытных рыб шорами из тонкой лайковой кожи, которые пришивал к покровам головы рыб в трех местах.

Все операции удобно проводить, держа завернутую в мокрую марлевую салфетку рыбу в руке и манипулируя свободной рукой.

Наркотизация. Для успешного оперирования подопытных животных их можно наркотизировать. Если операция занимает не больше 5—7 мин., можно обойтись без наркоза.

Немецкие исследователи чаще всего употребляют уретановый наркоз — 0,5%-ный раствор этилуретана (Штрик, 1924, и др.), а на морских рыбах применяется эфирный наркоз, также дающий удовлетворительные результаты (Сато, 1937б, 1938; Андрияшев, 1944, 1944а, 1944б; Аронов, 1959а). Сато применял 5—10%-ную эмульсию эфира; в опытах других авторов хорошие результаты давала 0,5—1%-ная эмульсия этого наркотика.

Для наркотизации рыбу помещают в закрытый крышкой кристаллизатор с отмеренным количеством морской воды. В банке с притертой пробкой путем взбалтывания готовят эмульсию из серного эфира с таким количеством воды, прилитие которого в кристаллизатор с рыбой создало бы требуемую концентрацию наркотика. Первые мгновения после добавления в кристаллизатор воды с наркотиком рыба мечется, но вскоре перестает двигаться. Обычно наркотизация длится 1,5—2 мин. Приостановка дыхательных движений, переворачивание на бок или на спину и потеря реакции на прикосновение служат показателем достаточной глубины наркоза. При затяжных операциях незначительное количество наркотика можно добавлять в воду, которая подается рыбе в рот при помощи шланга для поддержания дыхания. В таких случаях рыбу обычно закрепляют на операционном столике при помощи различных приспособлений.

Кратковременная наркотизация незначительно отражается на состоянии рыб; отмечены случаи, когда кефали и мерланги начинали принимать пищу через 1—3 часа после операции под наркозом (Аронов, 1959а, 1960). Обычно же многие рыбы начинают питаться на 2—3-й день после операции, иногда через одну-две недели и позже.

При оперировании без наркоза рыбу лишают возможности двигаться, завертывая ее в мокрую марлевую салфетку и набрасывая петлю салфетки на кончик морды. Оставляют открытым только операционное поле.

Выключение вкусовых рецепторов. Обычно в экспериментах выключают только наружную вкусовую рецепцию. Применяемые методы не всегда достаточно совершенны, но во многих случаях отвечают поставленным задачам. Эти методы таковы: разрушение наружных вкусовых почек кислотой (Андрияшев, 1944б; Аронов, 1959а); удаление придатков, несущих вкусовые почки — усики (Пакер, 1910; Сато, 1937, 1937а, 1937б, 1938; Андрияшев, 1944б, и др.); перерезка нервов, иннервирующих вкусовые рецепторы (Olmsted, 1920; Dykgraaf, 1934; Аронов, 1959, и др.).

Для разрушения вкусовых почек кислотой у рыбы, вынутой из воды, обрабатывают соответствующие поверхности — губы или усики — 5—7%-ным раствором соляной кислоты. Этим способом удается вывести из строя вкусовые рецепторы на несколько дней, однако надежность и полноту выключения при таком воздействии обычно бывает трудно проконтролировать.

Удаление усиков только устраняет функцию этого высокоспециализированного придатка, но не ликвидирует полностью наружную вкусовую чувствительность в районе рта, так как вкусовые рецепторы могут находиться еще в эпидермисе губ и рыла.

Перерезка определенных нервных ветвей наиболее надежно выключает вкусовую рецепцию соответствующего участка кожи, однако по отношению к сильным раздражающим веществам (например, к кислоте и т. п.) чувствительность может сохраняться вследствие раздражения окончаний нервов общей кожной чувствительности, что необходимо учитывать в работе (Пакер, 1912).

В случае применения естественных раздражителей, например пищи, наиболее подходящим способом выключения вкусовых рецепторов все же будет их денервация.

Труднее всего осуществить перерезку определенных ветвей в районе головы. В каждом случае необходимо проводить тщательное анатомическое изучение хода нервов у различных видов. Олмстед (1920) готовил препарат головы карликового сома, обрабатывая ее 30%-ной азотной кислотой. На таком препарате легко устранить мышцы, сохраняя нервы в неприкос-

новенности. Можно также воспользоваться прижизненной окраской нервов метиленовой синью.

Гораздо проще перерезывать возвратные ветви лицевого нерва — *rami resurgens n. facialis* или *g. accessorius*, которые иннервируют вкусовые почки плавников и тела у тресковых, карповых и других рыб. У морского налима эти нервы легко обнаружить, сняв кожу с верхней части головы (Аронов, 1959). Перерезают нервные ветви скальпелем или ножницами в том месте, где они выходят из черепа. По заранее подготовленной схеме такую операцию можно делать коротким разрезом сквозь кожу, не нанося обширных повреждений. Обычно перерезки делают на одной стороне рыбы, другая же служит контролем для проверки реакции при раздражении. После завершения опытов результаты перерезки контролируют под бинокуляром.

Следует учитывать, что перерезанный нерв может через некоторое время регенерировать. Олмстед (1920) установил на карликовом соме, что у основания усиков вкусовые почки, исчезнувшие после перерезки нерва, появляются вновь на 18-й день, а через 40 дней функция усика полностью восстанавливается.

Выключение обонятельных рецепторов. Есть несколько способов выключения обонятельных рецепторов: затыкание ноздрей различными материалами (Шелдон, 1909; Вундер, 1927; Андрияшев, 1944, 1944а, и др.; Бардач и др., 1959; Аронов, 1959а, и др.); наложение лигатуры из тонких шелковых нитей на передние ноздри (Паркер, 1911); прижигание обонятельных розеток гальванокаутером (Андрияшев, 1944а, 1944б; Вокер и Хаслер, 1949; Аронов, 1959а); перерезка обонятельных нервов (Геррик, 1903; Паркер, 1910, 1911; Сато, 1937а, 1937б, 1938; Андрияшев, 1944а); удаление обонятельных луковиц — *bulbus olfactorius* (Гец, 1941) и экстирпация переднего мозга (Штрик, 1924).

Для затыкания ноздрей у собачьей акулы Шелдон (1909) применял простую вату или вату с вазелином; Вундер (1927) выключал обоняние у шук, вводя им в ноздри тонкие пластилиновые палочки, подогнанные к диаметру носовых отверстий. В местах выхода из ноздрей пластилин слегка утолщался, затем концы палочек смыкались кольцом. Но пластилин очень непрочен и может выпасть из ноздрей. Для затыкания ноздрей у форели Вундер рекомендует кусочки булавок, которые своими шляпками прикрывают отверстия передних ноздрей; в случае необходимости булавки легко удалить. Однако для лишения обоняния морских рыб железные «пробки» менее подходят из-за коррозии металла в морской воде; А. П. Андрияшев (1944а) рекомендует алюминиевые проволоочки, которыми он затыкал ноздри морского налима.

При выжигании обонятельных розеток гальванокаутером результаты операции необходимо контролировать под биноклем.

Перерезать обонятельные нервы можно небольшим разрезом через крышу черепа. Место разреза уточняют в зависимости от анатомических особенностей рыбы. У *Fundulus heteroclitus* Паркер (1911) перерезал обонятельный нерв между глазами. Операция давала лучший результат без применения наркоза. Сато (1937а, 1937б, 1938) выключал обоняние у японских султанок разрезом сразу позади обонятельных ямок, у морского сома — разрезом позади назального усика. В этих случаях рыбы находились под эфирным наркозом.

Обоняние можно выключить также путем удаления обонятельных центров, т. е. экстирпацией переднего мозга, как это делал Штрик (1924). А. В. Бару (1955) и Г. А. Малюкина (1954) применили простой и быстрый способ экстирпации переднего мозга, выгодно отличающийся от трудоемкого метода Штрика и с успехом используемый ими в опытах как с пресноводными, так и с морскими рыбами.

ЛИТЕРАТУРА

- Андрিয়াшев А. П. 1944. Способы добывания пищи у морского ерша (*Scorpaena roscus* L.).— Журн. общ. биол., т. V, № 1.
- Андрিয়াшев А. П. 1944а. Роль органов чувств в отыскании пищи у морского налима.— Там же, № 2.
- Андрияшев А. П. 1944б. Способы отыскания пищи у султанки (*Mullus barbatus ponticus* Ess).— Там же, № 3.
- Андрияшев А. П. 1944в. О биологии питания некоторых хищных рыб Черного моря.— Докл. АН СССР, т. 44, № 7.
- Андрияшев А. П. 1955. Роль органов чувств в отыскании пищи у рыб — Труды Совещ. по методике изучен. кормовой базы и питания рыб. Изд-во АН СССР.
- Аронов М. П. 1959. О наружном вкусовом аппарате морского налима.— Научн. докл. высш. школы, биол. науки, № 4.
- Аронов М. П. 1959а. Роль органов чувств в отыскании пищи у черноморского мерланга.— Труды Севаст. биол. ст. АН СССР, т. XI.
- Аронов М. П. 1960. Роль органов чувств в отыскании пищи у кефали (*Mugil auratus* R.).— Бюлл. Моск. об-ва испытат. прир., т. 65, вып. 4.
- Аронов М. П. 1961. Роль органов чувств в отыскании пищи у темного горбыля [*Corvina umbra* (L.)].— Вopr. ихтиол., т. I, вып. 1.
- Бару А. В. 1955. Влияние удаления переднего мозга и зрительных покровов на условнорефлекторную деятельность костистых рыб.— В сб.: «Вopr. сравнит. физиол. и патол. высш. нервн. деят.», Медгиз.
- Винников Я. А. и Титова Л. К. 1957. Морфология органа обоняния. Госиздмедлит. М.
- Дислер Н. Н. 1953. Эколого-морфологические особенности развития органов чувств системы боковой линии ислык-кульского чебака и верховки.— Труды Ин-та морфол. животн. АН СССР, вып. 10.
- Малюкина Г. А. 1954. Материалы к физиологии анализатора боковой линии рыб.— Канд. дисс. М.

- Adrian E. D. a. Ludwig C. 1938. Nervous discharges from the olfactory organs of fish.— *J. Physiol.*, v. 94, N 3.
- Bardach J. E., Winn N. E. a. Menzel D. W. 1959. The Role of the senses in the feeding of the nocturnal reef predators *Gymnothorax moringa* and *G. vicinus*.— *Copeia*, N 2.
- Bateson W. M. A. 1890. The sens-organs and perception of fishes; with remarks on the supply of bait.— *J. Marine Biol. Assoc.*, N. S., v. 1, N 3.
- Burne R. H. 1909. The anatomy of the olfactory organ of Teleostean fishes.— *Proc. Zool. Soc. London*, v. 2.
- Dykgraaf S. 1934. Untersuchungen über die Function der Seitenorgane an Fischen.— *Z. vergl. Physiol.*, Bd. 20.
- Frisch K. 1941. Bedeutung des Geruchssinnes im Leben der Fische.— *Naturwiss.*, Bd. 29, H. 22/23.
- Göz H. 1941. Über den Art- und Individualgeruch bei Fischen.— *Z. vergl. Physiol.*, Bd. 29.
- Hartmann D. 1935. Untersuchungen über die Wirkung von Geruchs und Geschmacksstoffen verschiedenen niederer Wassertiere of Brasche, Kaulbarsche, Goldkarauschen und Aale. Diss. Berlin
- Hasler A. D. 1954. Odour perception and orientation of fishes.— *J. Fish. Res. Board Canada.*, v. 11, N 2.
- Herrick C. J., 1903. The Organ and sense of taste in fishes. U. S. Fish Commission Bull.
- Herrick C. J. 1903a. On the morphological and physiological classification of the cutaneous sense organs of fishes.— *Amer. Naturalist*, v. 37, N 437.
- Hoagland H. 1932. Impulses from sensory nerves of catfish.— *Proc. National Acad. Sci. USA*, v. 18, N 12.
- Hoagland H. 1932a. Specific Nerve Impulses from Gustatory and Tactile Receptors in catfish.— *J. Gen. Physiol.*, v. 16, N 4.
- Krinner M. 1935. Über die Geschmackssinn bei Elritzen.— *Z. vergl. Physiol.*, Bd. 21.
- Nagel W., 1894. Vergleichende physiologische und anatomische Untersuchungen über den Geruchs- und Geschmackssinn und ihre Organe mit einleitenden Betrachtungen aus der allgemeinen vergleichenden Sinnesphysiologie.— *Bibl. Zool.*, Bd. 7 (18).
- Neurath H. 1949. Über die Leistung des Geruchssinnes bei Elritzen.— *Z. vergl. Physiol.*, Bd. 31.
- Olmsted J. M. D. 1920. The results of cutting the seventh cranial nerve in *Ameiurus nebulosus* (Lesueur).— *J. Exp. Zool.*, v. 31.
- Parker G. H. 1910. Olfactory reaction in fishes.— *J. Exptl. Zool.*, v. 8.
- Parker G. H. 1911. The Olfactory reactions of the common killfish, *Fundulus heteroclitus* (L.).— *J. Exptl. Zool.*, v. 10.
- Parker G. H. 1912. The relation of smell, taste and the common chemical sense in vertebrates.— *Proc. Acad. Natur. Sci. Philadelphia*, v. 15.
- Parker G. H. a. Sheldon R. E. 1913. The Sense of smell in fishes.— *Bull. Bur. Fisheries*, v. 32.
- Pipping M. 1926. Der Geruchssinn der Fische mit besonderer Berücksichtigung seiner Bedeutung für das Aufnehmen des Futters.— *Soc. Sci. Fennica Comm. Biol.*, 2, N 4.
- Pipping M. 1927. Ergänzende Beobachtungen über den Geruchssinn der Fische mit Berücksichtigung seiner Bedeutung für das Aufsuchen des Futters.— *Soc. Sci. Fennica. Comm. Biol.*, Bd. 2, N 9.
- Sanders F. K. 1940. Second-order olfactory and visual learning in the optic tectum of the goldfish.— *J. Exptl. Biol.*, v. 17, N 4.
- Sato M. 1937. Preliminary report on the barbels of a Japanese goatfish, *Upeneoides bensasi* (Temnick et Schlegel).— *Sci. Repts Tôhoku Imp. Univ. (Biol.)*, v. 11, N 3.
- Sato M. 1937a. Further Studies on the barbels of a Japanese goatfish, *Upeneoides bensasi* (Temminck and Schlegel).— *Sci. Repts Tôhoku Imp. Univ. (Biol.)*, v. 11, N 3.

- Sato M. 1937a. On the barbels of a Japanese sea catfish, *Plotosus anguillaris* (Lacépède).— Ibid.
- Sato M. 1937b. Histological observation on the barbels of fishes.— Sci. Repts Tôhoku Imp. Univ. (Biol.), v. 12, N 2.
- Sato M. 1938. The Sensibility of the barbel of *Upeneus spilurus* Bleeker, with some notes on the Schooling.— Sci. Repts Tôhoku Imp. Univ. (Biol.), v. 12, N 4.
- Scharrer E. 1935. Die Empfindlichkeit der freien Flossenstrahlen des Knurrhahns (Trigle) für chemische Reize.— Z. vergl. Physiol., Bd. 22.
- Schneider A. 1931. Zur vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Fischbarbel. Berlin.
- Sheldon R. E. 1909. The reaction of the dogfish to chemical Stimuli.— J. compar. Neurol., v. 19.
- Sheldon R. E. 1911. The sense of smell in Selachians.— J. Exptl. Zool., v. 10.
- Strieck F. 1924. Untersuchungen über den Geruchs- und Geschmackssinn der Elritze (*Phoxinus laevis*).— Z. vergl. Physiol., Bd. 2, H. 2.
- Walker T. J. a. Hasler A. D. 1949. Detection and discrimination of odors of aquatic plants by the bluntnose minnow (*Hyborhynchus notatus*).— Physiol. Zool., v. 22.
- Wisby W. J. a. Hasler A. D. 1952. Цит. по Hasler, 1954.
- Wrede W. L. 1932. Versuche über den Artduft der Elritzen.— Z. vergl. Physiol., Bd. 17.
- Wunder W. 1927. Sinnesphysiologische Untersuchungen über die Nahrungsaufnahme bei verschiedenen Knochenfischarten.— Z. vergl. Physiol., Bd. 6.