

Министерство образования Российской Федерации  
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова  
Кафедра физиологии человека и животных

# **ТОКСИКОЛОГИЯ ГИДРОБИОНТОВ** *(Водная токсикология)*

*Методическое руководство*

Ярославль 2001

Составитель: **Е.В. Рябухина**

ББК Е 082.я73

Р 98

**Токсикология гидробионтов (Водная токсикология):** Метод. руководство / Сост. Е.В. Рябухина; Яросл. гос. ун-т. Ярославль, 2001; 28 с.

Предназначено для студентов факультета биологии и экологии, изучающих спецкурс по токсикологии гидробионтов (Водная токсикология).

**Рецензент:** кафедра физиологии человека и животных Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова

© Ярославский государственный университет, 2001

© Е.В. Рябухина, 2001

# **Тема 1. ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА КАЧЕСТВО ВОДЫ И ТОВАРНОЕ КАЧЕСТВО РЫБЫ**

## ***Контрольные вопросы***

1. Предмет, задачи и методы водной токсикологии.
2. Масштабы загрязнения гидросферы в результате деятельности человека. Загрязнение воды в России.
3. Качество воды и критерии его оценки: физические и химические показатели качества воды.

## ***Особенности предварительной оценки и установления расчетных ПДК веществ, обладающих запахом, привкусом и раздражающим действием***

В аспекте предварительной токсикологической оценки с расчетным прогнозированием ориентировочных ПДК в первую очередь отмечается то, что даже для воздушной среды далеко не во всех случаях лимитирующим показателем является общетоксическое действие. Например, для ряда производных меркаптана лимитирующим показателем оказался *порог запаха*. Для некоторых веществ характерно раздражающее действие, уровень которого также может существенно отличаться от параметров общетоксического действия.

При прогнозировании ПДК в воде водоемов неременным требованием должно быть определение возможности придания веществом воде характерного запаха, вкуса (горький, кислый, неприятный и т.д.) или окраски. Учитывая экспрессный характер исследования, вкус и запах обследуемых веществ, а также появление окраски, вероятно, следует определять на уровне теоретически ожидаемой (расчетной) ПДК по общетоксикологическому показателю, что позволит в значительной мере обеспечить безопасность проведения наблюдений на добровольцах. Кроме того, при такой постановке эксперимента сразу определяется лимитирующий показатель вредности (органолептический или токсикологический).

В настоящее время расчетный метод прогнозирования ПДК в воде водоемов можно распространять на те вещества, для которых есть убедительные основания полагать лимитирующим санитарно-токсикологический показатель вредности. Если же приходится предполагать иные лимитирующие показатели вредности (органолептический, общесанитарный), то возникает необходимость постановки соответствующих экспериментов. *Заключение* в таких случаях *возможно только после сопоставления расчетной ПДК по параметрам острой токсичности или физико-химическим константам с результатами изучения*

*влияния вещества на санитарный режим водоема и с показателями органолептических свойств.*

Таким образом, в настоящее время расчет ориентировочных ПДК (ОБУВ, ВДК) загрязняющих веществ в воде водоемов по параметрам острой токсичности нуждается в дополнении сведениями о влиянии этих веществ на санитарный режим водоемов, о порогах запаха и о придании воде привкуса или окраски.

Порог запаха химических веществ при установлении гигиенического норматива определяют в трех последовательно возрастающих категориях. Минимальная из них определяется концентрацией, ощущаемой только отдельными и наиболее чувствительными к этому запаху лицами. Фактически этот порог позволяет ориентировочно представить наличие контингента лиц, особенно чувствительных к данному запаху. Вероятно, большее практическое значение имеет средняя категория установления пороговой концентрации по ощущению специфического запаха большинством добровольцев. И наконец, третья категория порога запаха, когда он становится непереносимым или сочетается уже с порогом раздражающего действия.

Критериями оценки всех трех категорий порога запаха обычно признаются субъективные ощущения, которыми можно руководствоваться и при определении порога запаха у наиболее чувствительных лиц и большинства добровольцев.

Если теоретически ожидаемая расчетная ПДК обладает выраженным запахом или раздражающим действием, то следует установить соответствующий порог. За пороговую принимается концентрация, имеющая интенсивность ощущения в два балла и воспринимаемая хотя бы одним из добровольцев.

## ***Лабораторная работа № 1***

### **Методика органолептического исследования воды**

Орган обоняния у человека обладает большой чувствительностью, позволяющей определить по запахам ничтожно малые количества различных веществ, образующихся в результате химических процессов (например, фенол и его производные, нефть и продукты ее перегонки, смолы и дегти, канифоль, камфора, тимол, ментол, эфирные масла из хвои, смоляные кислоты). Большая группа соединений из числа пестицидов (особенно фосфорорганические соединения) также улавливается органолептически.

Следует особо отметить, что концентрация большинства сильно пахнущих веществ, определяемых органолептически, находится ниже границы, при которой они действуют токсически.

Чувствительность к запахам (или острота обоняния) у человека колеблется в широких пределах и зависит от многих условий. Восприятие запаха значительно усиливается при повышении температуры и снижается при ее понижении. Уменьшение остроты обоняния может наблюдаться в случае утомления,

при ряде заболеваний (ринит, грипп), в результате адаптации к тому или иному запаху при длительном его воздействии.

В принятой классификации запахи воды характеризуются терминами:

- *землянистый* - запах влажной почвы,
- *болотный* - запах торфа,
- *аптечный* - запах йодоформа,
- *углеводородный* - запах нефти,
- *хлорный, гнилостный, навозный, рыбный, сероводородный* и т.д.

Иногда запахи воде придает почвенная микрофлора (чаще - актиномицеты), особенно после пуска в эксплуатацию искусственных водоемов и каналов.

Запахи и вкусы воде могут придавать и представители фитопланктона, например:

*Астерионелла* - слабовыраженный землянистый, при значительных концентрациях - запах герани, при больших количествах - рыбный запах;

*Табеллярия* - ароматический, гераневый, рыбный;

*Пандорина* - рыбный;

*Анабена* - запах плесени, настурции, при разложении - свиного хлеба;

*Малломонас* - фиалки, ароматный, рыбный.

При анализе воды определяют характер запаха, пользуясь терминами, указанными выше.

Интенсивность запаха выражается по пятибалльной системе, согласно следующей классификации:

#### ***Оценка интенсивности запаха воды в баллах***

<i>Балл</i>	<i>Термин</i>	<i>Описательное определение</i>
0	Никакого	Запаха не ощущается.
1	Очень слабый	Запах, не поддающийся определению потребителем, но обнаруживаемый в лаборатории.
2	Слабый	Запах, поддающийся обнаружению потребителем, если обратить на него внимание, но сам по себе не привлекающий внимания.
3	Заметный	Запах, который легко замечается и может вызвать неодобрительные отзывы о воде.
4	Отчетливый	Запах, который легко замечается и может заставить воздержаться от питья.
5	Очень сильный	Запах настолько сильный, что вода непригодна для питья.

***Для работы необходимо:*** керосин, фенол, ФОС - 0,1%-ные р-ры; нашатырный спирт (2 мг/л); широкогорлые колбы емкостью 150 – 200 мл – 10 шт.; пипетки химические на 1 мл и 10 мл – 4 шт.; мерные цилиндры на 200 мл – 2 шт.; груши для пипеток - 2 шт.; дистиллированная вода.

**Задание:** установить пороговое разведение и пороговую концентрацию исследуемых растворов по органолептическому показателю (по характеру и интенсивности запаха).

### ***Методика исследования***

Для определения запаха взять широкогорлую колбу емкостью 150 – 200 мл, налить на 2/3 объема испытуемой воды. Колбу закрыть часовым стеклом, встряхнуть, производя вращательные движения, отнять стекло и определить характер и интенсивность запаха (*соблюдать технику безопасности работы с химическими веществами!*).

Определить пороговое разведение и пороговую концентрацию следующих веществ: керосина, метилацетофоса, фенола, нашатырного спирта, производя разведение маточных растворов веществ дистиллированной водой в  $10^n$ , т.е. в 10, 100, 1000 и большее количество раз, с указанием исходной концентрации токсических веществ.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

## ***Патологоанатомическое и органолептическое исследование рыбы***

### ***Лабораторная работа № 2***

#### **Патологоанатомическое исследование рыбы**

Внешний осмотр и последующее патологоанатомическое вскрытие имеют важное значение в диагностике отравления рыб различными веществами. Воздействия многих веществ вызывают характерные изменения в организме.

### ***Фенол и его производные***

Фенол, пирокатехин, резорцин, гидрохинон, эфиры гидрохинона, пирогаллол, ксиленол, крезол, аминфенол, флороглюцин, нафтол, катехол - производные фенола (кислота карболовая) представляют сухую часть продуктов перегонки древесины и каменноугольного дегтя.

Растворы фенола обладают сильной бактерицидной активностью (3 – 5%-ный водный раствор, растворимость 1:20). В фармацевтической промышленности фенол (0,5 - 0,1%) применяют для консервирования лекарственных веществ, сывороток и др. Также применяется для изготовления взрывоопасных веществ, пластмасс.

Фенол действует на кожные покровы и слизистые оболочки как раздражающее и прижигающее средство, легко через них всасывается и в больших дозах может вызвать токсические явления (расстройство ЦНС, нарушение координации движений, головокружение, расстройства дыхания, коллапс). Легко

адсорбируется пищевыми продуктами. Из фенолов наиболее токсичны ксиленол, гидрохинон; менее пирогаллол, флороглюцин. Крезол токсичнее фенола, причем токсичность разных изомеров различна и падает в ряду: ортокрезол, паракрезол, метакрезол. У ксиленола 6 изомеров, кроме метаксиленола все его изомеры выше по токсичности и фенола и крезола.

Из группы двухгидроксильных фенолов наиболее ядовит гидрохинон. Наименее токсичны трехгидроксильные фенолы: пирогаллол и флороглюцин. По убыванию токсичности все фенолы располагаются в следующем порядке: ксиленол > гидрохинон > крезол > фенол > пирокатехин > резорцин > пирогаллол > флороглюцин. Резорцин - мета-Диоксибензол - прижигающего и бактерицидного действия (2 – 5%-ный раствор).

Фенол является нервным ядом и вызывает паралич нейромускулярного аппарата. В результате отравления рыб фенолами происходит одностороннее сокращение мышц, и тело может быть дугообразно изогнуто, окраска тела часто бывает светлая, но при этом голова и спинка темные. Кроме того, при повышенных концентрациях яда отмечается обильное ослизнение покровов, нарушение респираторного эпителия и кровоизлияния. Кровь при этом густая и медленно свертывается. У погибших рыб в брюшной полости наблюдается скопление кровянистого транссудата. Печень, которая в норме должна быть плотной, вишнево-красного цвета, при отравлении фенолами приобретает грязно-сероватый цвет, дряблую консистенцию, окраска может быть мраморной. Паренхима печени гиперемирована. Почки и селезенка также дряблые и бледной окраски. В печени, почках, сердце отмечаются дистрофические изменения. В сердечной мышце, селезенке и почках - скопление гематоидина - желтого пигмента. В желудочно-кишечном тракте также имеется слизь желтого цвета, стенка кишки прозрачная. Фенол при отравлении обнаруживается в коже, мышцах, жабрах, желудочно-кишечном тракте, печени, селезенке, почках.

**Для работы необходимо:** препаровальный набор; чашка Петри – 2 шт.; поддон; рыба после острой затравки (48 часов) фенолом в концентрации 4 мг/л; керосином - 1 мг/л, аммиаком - 2 мг/л; здоровая рыба.

**Задание:** установить изменения в организме рыб, характерные для отравления фенолом и керосином.

### ***Методика исследования***

Внешний осмотр и последующее патолого-анатомическое вскрытие производится по определенной схеме. Результаты осмотра и вскрытия вносятся в протокол.

При *внешнем осмотре* рыбы следует установить ее возраст и вид, упитанность и время гибели. Обратить внимание на наличие или отсутствие трупного окоченения, изогнутость тела, положение жаберных крышек и жабр: открыты или прижаты к туловищу.

Обследуя *кожные покровы*, отметить: блестящие они или тусклые, цвет, состояние пигментных клеток - хроматофоров, отсутствие или наличие слизи, ее количество, качество, цвет.

Обследовать состояние *чешуйных покровов*, наличие или отсутствие ерошения чешуи, гидремии тела, состояние брюшка рыбы, жаберных крышек, ротовой полости, анального отверстия. Следует обратить внимание на плавники и их состояние, целостность лучей.

Затем осмотреть *жабры*, отметить их цвет, наличие слизи, ее количество, состояние жаберных лепестков, их слипание или срастание, расширение или истончение, наличие налета между лепестками, наличие осадка или инородных предметов, кровоизлияний и т.д. Особенно внимательно следует осмотреть кончики жаберных лепестков, хрящевые лучи которых могут оголяться вследствие разрушения мягких тканей. Иногда это можно установить только под микроскопом. Поэтому жабры следует всегда подвергать микроскопии.

Далее произвести *наружный осмотр глаз* (их размер, наличие слизи или гноя, наличие экзофтальмии). Затем глазное яблоко извлечь из орбиты и осмотреть, обращая внимание на наличие покраснений, кровоизлияний, помутнения хрусталика, определить состояние роговицы, наличие кератита, их посмертного помутнения.

Затем рыбу *вскрыть*, разрезав брюшную стенку и исследовать состояние скелетной мускулатуры, обращая внимание на ее цвет, консистенцию, наличие кровоизлияний, гиперемии, степени прикрепления к костям.

Осмотреть *брюшную полость* и отметить наличие в ней выпота (количество, цвет, запах, консистенцию). Обратить внимание на топографическое расположение органов, состояние внутреннего жира (количество, цвет), на изменения брюшины и серозных покровов, на состояние крови (жидкая или свернувшаяся).

*Органы* извлечь из брюшной полости и отделить друг от друга. Определить их состояние по следующим признакам: размер, характер краев, цвет, консистенция, наличие кровоизлияний или очагов некроза; на разрезе органа определить степень его кровенаполнения, характер рисунка. *Желудок и кишечник* после наружного осмотра вскрыть и учесть степень наполнения кормовыми массами и наличие студенистых масс. Осмотреть *слизистую оболочку*, обращая внимание на ее цвет, консистенцию, толщину, наличие гиперемии и кровоизлияния.

Для обследования состояния *головного мозга* сделать три разреза черепной коробки, один из них - поперечный по заднему краю затылочной кости и два продольных - в направлении к носовым отверстиям. Основное внимание при обследовании головного мозга обратить на состояние жира, кровенаполнение сосудов, цвет, консистенцию мозга, отметить наличие застоя крови.

Произвести осмотр и вскрытие рыбы, затравленной фенолом или керосином, сопоставить с результатами вскрытия здоровой рыбы.

Составить протокол вскрытия. Сделать выводы.



## ***Лабораторная работа № 3***

### **Органолептическое исследование рыбы**

**Для работы необходимо:** препаровальный набор; широкогорлые колбы емкостью 50 – 100 мл – 15 шт.; рыба после острой затравки (48 часов) фенолом в концентрации 4 мг/л, керосином – 1 мг/л, аммиаком – 2 мг/л; здоровая рыба; плитки электрические лабораторные – 4 шт.; тазик почкообразный; дистиллированная вода.

**Задание:** установить, в каких органах и тканях рыбы локализуются запахи, характерные для фенола и керосина.

#### ***Методика исследования***

Органолептическое исследование рыбы проводится пробой варки. В колбы поместить кусочки различных частей тушки рыбы и залить дистиллированной водой (примерно 10 – 15 мл). Колбы закрыть часовыми стеклами, содержимое нагреть до кипения. После закипания снять колбу с плитки, приподнять часовое стекло и определить интенсивность запаха, его характер.

Следует учитывать, что различные запахи могут преимущественно локализовываться в различных частях тушки. Установлено, что запахи больше концентрируются в тканях, богатых жиром (нервная, жировая), в брюшной полости и на боках рыбы, в то время как в хвостовой части запахов значительно меньше.

Опыты проводить на контрольной (здоровой) рыбе и рыбе, затравленной фенолом в концентрации 4 мг/л или керосином в концентрации 1 мг/л (острая затравка, 48 часов).

Для органолептического исследования взять следующие части рыбы: кожу, мозг, мышцы, жабры, жир.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

## **Тема 2. ДИАГНОСТИКА ОТРАВЛЕНИЯ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ**

#### ***Контрольные вопросы***

1. Организация исследования ПДК в лабораторных условиях. Определение летальных концентраций  $CL_{100}$  или  $CL_{50}$ . Определение медианного времени выживания  $St_{100}$  или  $St_{50}$ .
2. Оценка острого летального, хронического летального и сублетального воздействия ядов. Организация подострых и хронических опытов.
3. Пороговые концентрации веществ. Зависимость токсического действия от времени действия яда. Характер зависимости "концентрация - время".
4. Симптомы отравления рыб и других гидробионтов.

5. Комбинированное действие ядов. Синергизм и антагонизм. Кумуляционный эффект.
6. Зависимость токсического эффекта от концентрации яда.
7. Адаптация рыб к ядам. Обратимость отравлений рыб.
8. Симптомокомплекс отравления рыб ядами локального действия (хлор, кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов). Механизм и последствия действия ядов.
9. Симптомокомплекс отравления рыб ядами резорбтивного действия (фенолы, ксилолы, хиноны, нефть, ФОС, хлорорганические пестициды). Механизмы и последствия отравления.

### ***Лабораторная работа № 4***

#### **Симптомокомплекс при отравлении рыб ядами локального действия**

Детальная характеристика симптомов отравления рыб, изучение поведения рыб в растворах, содержащих те или иные компоненты сточных вод в сублетальных и токсических концентрациях, важны для создания клинической картины отравления. На основании ее можно определить группу или природу яда, что в свою очередь позволяет установить причину гибели рыб в естественном водоеме. Поэтому следует всесторонне изучать симптомы отравления.

Условно различают яды с локальным и резорбтивным действием.

К ядам локального действия относят:

а) неорганические вещества: хлор, перекись водорода, марганцовокислый калий, озон, кислоты и щелочи, соли тяжелых металлов (марганец, никель, хром, мышьяк, кадмий, свинец, железо, ртуть, медь, серебро), борная кислота;

б) органические вещества: формальдегид, органические кислоты, краски, дубильные вещества и детергенты.

Еще раз подчеркиваем, что деление ядов на яды локального и яды резорбтивного действия чисто условное. Так, местно действующий формальдегид одновременно оказывает и нервно-паралитическое действие, и таких примеров немало.

Яды локального действия разрушают респираторный эпителий жабр, вплоть до полного отделения его от нитей жаберных пластинок, иногда вызывают кровотечение из жабр. Поражается кожа. Характерно обильное слизевыделение на жабрах и кожном покрове, нередко поражается роговица глаз. Наблюдается удушье. Рыба может погибнуть с широко раскрытым ртом и жабрами. Обратимость отравления рыб ядами локального действия невелика.

**Для работы необходимо:** банки на 3 л – 3 шт.; 10%-ный раствор KOH; 3%-ный раствор  $KmnO_4$ ; мерный цилиндр на 200 мл, пипетки на 10 мл – 2 шт.; здоровая рыба; сачок.

**Задание:** установить и описать симптомы отравления рыб, характерные для ядов локального действия.

### **Методика исследования**

В два аквариума налить отстоянную воду из расчета не менее 2 л на 1 рыбу весом 50 г. В воду первого аквариума добавить марганцовокислый калий из расчета 30 мг/л, во второй - КОН из расчета 200 мг/л.

В оба аквариума посадить рыб. Наблюдать за поведением рыбы (двигательная активность, дыхательная функция), состоянием внешних покровов (изменение окраски, ослизнение, кровоизлияния и т.д.). После гибели рыбы произвести тщательный внешний осмотр, описать изменения, характерные для каждого токсиканта.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы о специфичности симптомов отравления исследуемыми ядами.

### **Лабораторная работа № 5**

#### **Симптомокомплекс при отравлении рыб ядами резорбтивного действия**

При проникновении в организм яды действуют в зависимости от их природы либо на нервную систему (большинство органических соединений: фенолы, ксилолы, хиноны, нитросоединения, ациклические и гетероциклические соединения, алкалоиды, нефть, нефтепродукты, смолы и смоляные кислоты, танин, дубильные вещества, хлорорганические (ХОС) и фосфорорганические (ФОС) соединения и др.), либо гемолитически (аммиак, соли аммония, свинец, селен и др.). ФОС, фториды, цианиды, азид натрия, некоторые детергенты и другие вещества действуют на разные ферментные системы и называются *энзиматическими*.

Несмотря на различия в течении отравления рыб ядами нервного действия, как правило, можно наблюдать определенные стадии, которые следуют одна за другой (на примере фенольного отравления):

*1-я стадия* - начало беспокойства. При посадке рыбы в чистую воду она ведет себя беспокойно, мечется из стороны в сторону, учащается дыхательный ритм и т.д., однако уже через 2 – 3 минуты успокаивается. При посадке рыбы в токсический раствор эти явления могут затянуться.

*2-я стадия* - первые признаки расстройства чувствительности. Для нее характерно поднятие лучей плавников, судорожное, но большей частью поверхностное дыхание. Нередко наблюдается неполное закрытие рта и легкое дрожание челюстей.

*3-я стадия* - стадия повышения или понижения раздражимости. При повышении раздражимости характерно стремительное плавание. Даже слабые внешние воздействия вызывают бурную реакцию рыб. Аналогичная реакция рыб наблюдается и на световое раздражение. Наоборот, при понижении чувствительности рыбы почти не реагируют на раздражение, безразлично относятся

к свету, к прикосновению, инертно двигаются вместе с водой при ее переливании.

*4-я стадия* - первое расстройство равновесия. Наблюдается опрокидывание рыб на бок или спину. У бычков и налима опрокидывание не наблюдается.

Различают следующие *виды потери равновесия*:

- при наличии раздражения сильно напрягаются плавники, что вызывает потерю способности к движению;

- при понижении чувствительности наступает сильное изменение тонуса мышц и паралич плавников, что вызывает опрокидывание на бок;

- паралич деятельности плавательного пузыря при сохранении деятельности плавников;

- полное расстройство "сознания", нет реакции ни со стороны глаз, ни со стороны плавников.

*5-я стадия* - полная потеря равновесия, полная атаксия. На этой стадии рыба внезапно опрокидывается на бок или спину. Это состояние, в зависимости от природы яда, может быть вызвано различными причинами.

Тщательное наблюдение за потерей рыбой равновесия очень важно и может дать материал для заключения о действии яда. При этом следует обращать внимание на следующие моменты:

- а) дышит ли рыба;

- б) подвижна ли она (дрожание, стремительное плавание, вялые или затрудненные движения, паралич);

- в) "сознает" ли рыба свое положение (движение глаз, компенсаторные движения плавников);

- г) наблюдаются ли судороги челюстей, хвоста или плавников, какова их частота, увеличивается она или уменьшается.

*6-я стадия* - агония. Полная потеря равновесия переходит постепенно в конечную стадию: многие яды вызывают смерть путем удушья, нервно-паралитические яды вызывают паралич дыхательного центра. Рыбы, погибшие от паралича, тускло окрашены, туловище после смерти часто изогнуто.

Трупное окоченение представляет собой полное отвердение тела и всех плавников. Иногда оно может наступить, когда дыхание еще продолжается. У таких рыб жаберные крышки и плавники могут двигаться несколько часов после того, как окоченеет хвост. Хроматофоры во время трупного окоченения исчезают, потом появляются вновь.

**Для работы необходимо:** банка на 3 л – 3 шт.; 1%-ный раствор ФОС; 1%-ный раствор фенола; пипетки на 1 мл – 2 шт., 5 мл – 2 шт.; мерный цилиндр на 100 мл – 1 шт.; груша резиновая; сачок для рыбы; здоровая рыба.

**Задание:** установить симптомы отравления рыб, характерные для ядов резорбтивного действия.

### ***Методика исследования***

В аквариум с известным количеством воды, не менее 2 л на рыбу, добавить метилацетофос (этот пестицид широко применяется в качестве контактно-

го инсектицида и акарицида) из расчета 250 мг/л. После растворения препарата поместить рыбу и отметить время. Тщательно запротоколировать поведение рыбы, время наступления и продолжительность всех стадий отравления.

Оформить протокол. Сделать выводы.

## ***Лабораторная работа № 6***

### **Симптомы отравления дафний пестицидами**

Пестициды широко применяются как в сельском, так и в лесном хозяйстве в борьбе с кровососущими двукрылыми, с зарастанием мелиоративных систем и в других отраслях народного хозяйства.

Огромные масштабы применения пестицидов приводят к загрязнению ими биосферы и, в частности, водных экосистем. Сложность защиты водоемов от загрязнения пестицидами заключается в том, что они могут поступать в них самыми различными путями. Некоторые пестициды намеренно вносят в водоем при борьбе с личиночными стадиями кровососущих двукрылых, с нитчатыми и сине-зелеными водорослями, для уничтожения нежелательного вида рыб и моллюсков, при борьбе с сорняками на полях орошения.

Пестициды попадают в водоем также в результате сброса отходов с предприятий, производящих эти химические соединения. Особенно большую опасность представляет нерегулируемое попадание пестицидов в водоемы в результате стока с обработанных территорий с талыми или дождевыми водами, а также воздушными течениями, атмосферными осадками и мигрирующими животными.

Лабораторные эксперименты, направленные на выявление острой и хронической токсичности пестицидов для гидробионтов, дают представление о возможной опасности пестицидов для естественных водных экосистем.

Как в острых, так и в хронических опытах основным показателем токсичности является гибель организмов, а также иногда и поведение животных (двигательная активность, активность дыхания, реакция на корм и другие внешние раздражители). Так, например, низшие ракообразные при воздействии фосфорорганических пестицидов судорожно подергивают антеннами, вращаются вокруг своей оси, изменяют траекторию движения. Кроме того, фосфорорганические соединения, относящиеся к ядам нервно-паралитического действия, вызывают у гидробионтов однотипные симптомы отравления: возбуждение, расстройство координации движения, угнетение общего состояния и, наконец, паралич.

**Для работы необходимо:** культура дафний; 3 мерных стакана на 200 мл; отстоянная вода; 1%-ные растворы фенола и ФОС (маточные растворы); пипетки химические на 5 мл; мерный цилиндр на 50 мл; стеклянная трубка для отлова дафний или мельничный газ.

**Задание:** выявить симптомокомплекс при остром отравлении дафний метилацетофосом и фенолом.

### ***Методика исследования***

В данной работе требуется провести наблюдение за состоянием и поведением дафний при остром отравлении их растворами метилацетатофоса в концентрации 250 мг/л и фенола в концентрации 50 мг/л.

В три стакана (один – контрольный, с аквариумной водой, два других - со свежеприготовленными растворами исследуемых веществ) поместить по 3 – 5 взрослых особей дафний. Отметить время начала эксперимента. Наблюдая за поведением дафний в опытных сосудах, отметить время появления симптомов острого отравления: увеличение двигательной активности, нарушение траектории и характера движения, вращение вокруг своей оси, ограничение двигательной активности и гибель животных.

Сравнить поведение дафний в опытных растворах и в контроле.

Оформить протокол. Сделать выводы.

## **Тема 3: ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВОДНОЙ ТОКСИКОЛОГИИ**

### ***Контрольные вопросы***

1. Изменение физико-химических свойств крови под влиянием токсических веществ.
2. Изменение физиологических свойств эритроцитов под влиянием химических веществ.
3. Патологические формы эритроцитов, появляющиеся при отравлениях.
4. Нормальная лейкоцитарная формула крови рыб.
5. Изменение лейкоцитарной формулы при отравлении различными химическими веществами.
6. Изменение общего количества лейкоцитов при различных отравлениях.
7. Токсические вещества, вступающие в реакцию с гемоглобином. Характеристики соединений гемоглобина с ядами.
8. Отравления веществами, взаимодействующими с ферментами крови и тканей.
9. Отравления различными пестицидами. Механизм действия пестицидов на системы крови.
10. Изменения свертывающей системы крови при интоксикациях.

### ***Лабораторная работа № 7***

#### **Осмотическая резистентность эритроцитов как качественный показатель интоксикации**

Продолжительность жизни эритроцитов относительно постоянна, и возраст эритроцитов крови животных в каждый конкретный момент отражает динамическое равновесие систем кроветворения и кроверазрушения. Одной из

общих защитных реакций организма на действие неблагоприятных факторов является усиление эритропоэза. Молодые эритроциты более резистентны к повреждающим агентам, чем старые.

Изменения в системе крови могут происходить при интоксикации вследствие изменения *осмотического баланса* в организме.

До тех пор, пока равновесие между водой и растворенными веществами (главным образом  $\text{Na}^+$ ) не нарушается, объем и осмотическая концентрация внеклеточной и внутриклеточной жидкости остаются постоянными. Распределение воды между вне- и внутриклеточным пространствами зависит от действия осмотических сил.

*Осмотический гемолиз* происходит при попадании эритроцитов в растворы, осмотическое давление которых ниже, чем в плазме крови, гипотонические растворы. При этом вода начинает поступать через полупроницаемую мембрану внутрь эритроцита. Клетки сначала набухают и затем разрываются.

Мерой осмотической стойкости (резистентности) эритроцитов является концентрация  $\text{NaCl}$ , при которой начинается гемолиз. Эту концентрацию принято обозначать, как границу осмотической резистентности эритроцитов.

Различают минимальную и максимальную границы осмотической стойкости. Минимальная граница означает концентрацию, при которой появляются первые признаки гемолиза. Максимальная граница осмотической стойкости - это первая концентрация раствора, при которой происходит полный гемолиз (плазма крови при этом окрашивается в красный цвет и становится прозрачной ("лаковая кровь").

У человека гемолиз начинается в 0,4%-ном растворе, а в 0,34%-ном растворе разрушаются все эритроциты.

Изменение соотношения между объемами внеклеточной и внутриклеточной жидкости имеет большое значение. Такие изменения могут наблюдаться при целом ряде интоксикаций, например при поражениях сердца, печени (фебрильная интоксикация) или почек (токсическая нефропатия, приводящая к отекам тканей). Подобные изменения объемов водных пространств называют *гипергидратацией*, или *дегидратацией*.

*Таким образом, при некоторых интоксикациях осмотическая стойкость эритроцитов уменьшается, и гемолиз наступает при больших концентрациях  $\text{NaCl}$  в плазме.*

Существует также *химический гемолиз*, возникающий вследствие попадания в организм химических веществ ("кровяные яды"), вызывающих разрушение белково-липидной оболочки эритроцитов (аммиак, соли аммония, свинец, селен и др.).

Резистентность эритроцитов можно определить различными способами. Наиболее часто определяют стойкость их к различным гемолитическим веществам.

*И.И. Гительзон и Н.А. Терсков* разработали метод, позволяющий с большой точностью учитывать распределение эритроцитов по их способности к гемолизу под воздействием соляной кислоты. Получаемую кривую распределе-

ния эритроцитов по стойкости они называли эритрограммой. В первую очередь гемолизируются наименее резистентные эритроциты. В последнюю очередь - наиболее устойчивые. Получается ряд данных, на основе которых строится график распределения эритроцитов по их устойчивости к гемолизу во времени - *эритрограмма*.

**Для работы необходимо:** 16 пробирок, карандаш по стеклу; 1%-ный раствор хлористого натрия, дистиллированная вода; кровь лягушки или рыбы, отравленных раствором аммиака (0,2 мг/л, 48 часов); кровь интактных животных; пипетки химические на 10 мл – 4 шт.; пипетки глазные; 5%-ный раствор цитрата натрия; капилляр от гемометра Сали; стеклянная палочка; препаровальный набор; физиологический раствор.

**Задание:** определить границы осмотической стойкости эритроцитов крови интактных и опытных животных. Сравнить полученные данные.

### **Методика исследования**

В маленькую пробирку поместить 0,1 мл 5%-ного раствора цитрата натрия, 0,5 мл физиологического раствора. Произвести забор крови у животного капилляром от гемометра Сали и поместить в эту же пробирку.

Пронумеровать 8 пробирок (для одного опыта) и приготовить растворы хлористого натрия разных концентраций, используя таблицу 1.

В каждую пробирку добавить по 3 капли цитратной крови (можно не перемешивать). Пробирки оставить на 1 час в штативе (или центрифугировать в течение 5 минут).

Таблица 1

<i>Номера пробирок</i>	<i>1%-ный р-р NaCl, мл</i>	<i>Дистиллированная вода, мл</i>	<i>Полученная концентрация раствора NaCl, %</i>
1	4,5	0,5	0,9
2	4,0	1,0	0,8
3	3,5	1,5	0,7
4	3,0	2,0	0,6
5	2,5	2,5	0,5
6	2,0	3,0	0,4
7	1,5	3,5	0,3
8	1,0	4,0	0,2

О наличии гемолиза и его степени можно судить по появлению окраски растворителя и наличию осадка эритроцитов. Отсутствие осадка эритроцитов и окрашенный прозрачный раствор означают, что произошел полный гемолиз. Наличие осадка и окрашенного непрозрачного раствора свидетельствует о частичном гемолизе. Окрашенный осадок эритроцитов и неокрашенный раствор указывают на отсутствие гемолиза.



Через час просмотреть пробирки (*не встряхивать!*). Определить наличие осадка эритроцитов и окраски раствора.

Данные занести в таблицу 2. В последней графе таблицы отмечать концентрации, соответствующие минимальной и максимальной осмотической резистентности эритроцитов.

По результатам экспериментов сделать выводы.

Таблица 2

Концентрация раствора, %	Окраска раствора	Осадок эритроцитов	Границы стойкости	
			контроль	опыт
0,9				
0,8				
и т.д.				

## **Лабораторная работа № 8**

### **Патологические формы клеток крови рыб после воздействия токсических веществ**

Многие токсиканты при хроническом воздействии на рыб вызывают патологические изменения красной и белой крови. Так, например, ароматические углеводороды (бензол, толуол, ксилол и т.д.) в субтоксических концентрациях вызывают увеличение уровня гемоглобина, числа эритроцитов (на 500 – 700 тыс. мм). На различных стадиях отравления форменные элементы красной и белой крови подвергаются деформации, массовому разрушению, изменениям в оболочке, окраске ядра и цитоплазмы. Наблюдается анизоцитоз, полихромазия, другие изменения в эритроцитах. Такие изменения можно наблюдать в крови плотвы при выдерживании ее в течение недели в воде с концентрацией бензола 4 – 5 мг/л. Воду с бензолом в аквариуме надо менять каждый день.

Метилнитрофос в сублетальных концентрациях (5 мг/л) вызывает повышение в крови нейтрофилов (в 1,5 раза) и качественные изменения форменных элементов крови, анизоцитоз, пойкилоцитоз и полихромазию, и патологические ядерные и безъядерные формы. В протоплазме лейкоцитов, особенно нейтрофилов и моноцитов, наблюдается сильная вакуолизация.

Субтоксические концентрации трихлорметафоса для карпа 40 мг/л вызывают изменения процентного соотношения лейкоцитов в лейкоцитарной формуле: резко увеличивается содержание моноцитов, полиморфных клеток и нейтрофилов (в 4 – 7 раз). Ядра эритроцитов набухают, позднее наблюдается пикнотизация, сильная вакуолизация протоплазмы лейкоцитов, особенно моноцитов и нейтрофилов.

**Для работы необходимо:** пипетки глазные - 2 шт.; мазки крови затравленной рыбы; микроскоп с иммерсией; масло кедровое; чашка Петри; стакан на

10 мл; краска Романовского; дистиллированная вода; тазик почкообразный; предметное стекло; атлас клеток крови.

**Задание:** изучить заранее приготовленные и окрашенные по способу Романовского - Гимза мазки крови контрольных и опытных рыб.

### *Методика исследования*

**Окраска мазков по Романовскому - Гимза.** Для получения хорошей окраски мазков крови методом Романовского - Гимза необходима совершенно чистая посуда и дистиллированная вода, реакция которой близка к нейтральной.

Для приготовления красящего раствора в мерный стаканчик емкостью 10 мл наливают 10 мл дистиллированной воды нейтральной реакции. После этого из пипетки в стаканчик быстро добавляют исходный раствор краски Романовского - Гимза аптечного приготовления из расчета на 10 мл воды 10 капель краски. Стаканчик встряхивают, добиваясь перемешивания жидкостей. Долго взбалтывать не рекомендуется, так как краска легко выпадает в осадок.

Для окраски на дно чашки Петри помещают половинки разломанного предметного стекла, которые раздвигают друг от друга. Сверху помещают стекло с мазком так, чтобы мазок был обращен вниз. Между мазком и дном чашки Петри возникает пространство. Пипеткой под стекло с мазком наливают приготовленный раствор краски до тех пор, пока он не заполнит все пространство между мазком и дном чашки Петри. Окрашивают в течение 30 – 45 минут, после чего мазок споласкивают струйкой дистиллированной воды и обсушивают на воздухе. Через несколько минут после высыхания на мазок наносят каплю кедрового масла и исследуют его под микроскопом.

Для окрашивания каждого мазка готовят свежий раствор краски, иначе при отстаивании быстро выпадает осадок и краска становится непригодной к употреблению.

Мазки следует рассматривать при малом увеличении, затем при большом увеличении и, наконец, с масляной иммерсией.

Изучить представленные препараты, зарисовать патологические формы клеток крови (использовать атлас клеток крови и таблицу патологических изменений клеток крови).

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

## **Тема 4: ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ**

### *Контрольные вопросы*

1. Изменения в электрокардиограмме при нарушениях возбудимости сердца. Формы нарушений возбудимости.

2. Изменения в электрокардиограмме при нарушениях проводимости в разных отделах сердца.
3. Влияние избытка минеральных солей ( $K^+$ ,  $Ca^+$ ,  $Na^+$ ) на работу сердца.
4. Влияние фосфорорганических пестицидов на работу сердца.
5. Влияние фосфорорганических пестицидов на кровеносные сосуды.
6. Влияние алкалоидов и гликозидов на работу сердца.

### ***Техника обездвиживания лягушки и обнажения сердца***

Лягушку обездвиживают, разрушая центральную нервную систему. С этой целью ее завертывают в марлевую салфетку, захватывают задние лапки четвертым и пятым пальцами левой руки, передние лапки удерживают вторым пальцем. Большим пальцем левой руки сгибают голову кпереди.

Концом длинной иглы (зонда) находят большое *затылочное отверстие* и производят вкол зонда. Признаком попадания зонда в продолговатый мозг является *общее вздрагивание лягушки*. Вводят конец зонда кпереди и тщательно *разрушают головной мозг*. Затем несколько извлекают зонд и поворачивают его конец кзади. Входят зондом в позвоночный канал и тщательно *разрушают спинной мозг*. Признаком полного разрушения спинного и головного мозга является отсутствие сокращений скелетных мышц при нанесении болевого раздражения.

Лягушку *фиксируют* булавками на препаровальной доске брюшком кверху. Захватывают пинцетом *кожу на середине брюшка* и пересекают ее. В отверстие вводят тупую браншу ножниц и *производят разрезы*, идущие от середины брюшка к плечевым суставам, а затем по краю нижней челюсти к ее середине. *Кожный лоскут срезают*, а затем *моют ножницы и руки*, так как попавший на них кожный секрет может изменить и даже прекратить работу сердца.

Пинцетом приподнимают *мечевидный отросток грудины* и непосредственно у нижнего края его делают небольшой поперечный разрез. При этом не следует повреждать переднюю брюшную вену, которая идет снизу по средней линии и несколько ниже мечевидного отростка уходит вглубь к печени. Входят в разрез тупой браншей ножниц и *рассекают справа и слева плечевой пояс*. Костно-мышечный лоскут приподнимают и срезают.

Открывается лежащее в перикарде и сокращающееся сердце. Осторожно приподняв пинцетом *перикард*, рассекают его в продольном направлении, обнажая сердце.

Для удобства работы с сердцем следует взять на лигатуру (нитку) его *уздечку*. Физиологи называют уздечку "ручкой сердца".

Для взятия уздечки на лигатуру стеклянный крючок подводят под желудочек сердца ближе к его основанию. Если крючок прошел правильно, то, приподняв его, вы приподнимете и сердце, а рассмотревшись, увидите на крючке тончайшую связочку. Набросив на кончик крючка нитку, протягивают ее под уздечку. Перевязывают уздечку возможно ближе к верхушке, затем перерезают ее между ниткой и основанием желудочка, обрезают один конец нитки. Теперь с помощью нитки можно поворачивать сердце в любую сторону.

## Лабораторная работа № 9

### Работа сердца при отравлениях алкалоидами и гликозидами

**АЛКАЛОИДЫ** - (лат. *alcali, alkali* - щелочь, араб. *al-gali* - растительная зола + греч. *eides* - вид) - азотсодержащие органические соединения природного, преимущественно растительного происхождения, обладающие свойствами оснований и физиологической активностью; многие алкалоиды токсичны, некоторые (например, кофеин, резерпин) применяют в качестве лекарственных средств.

**Атропин** - алкалоид, содержится в различных растениях семейства пасленовых: красавке (белладонне), белене, дурмане. Антихолинэргическое (холинолитическое, холиноблокирующее) средство, блокирующее преимущественно периферические холинореактивные системы - антагонист холинорецепторов. Способность атропина связываться с холинорецепторами объясняется наличием в его структуре фрагмента, роднящего его с молекулой эндогенного лиганда - ацетилхолина. Блокируя М-холинорецепторы, он делает их нечувствительными к ацетилхолину, образуемому в области окончаний постганглионарных парасимпатических (холинэргических) нервов. Эффекты действия атропина противоположны поэтому эффектам, наблюдающимся при возбуждении парасимпатических нервов. Введение атропина в организм сопровождается учащением сердечных сокращений, понижением тонуса гладкомышечных органов (bronхи, органы брюшной полости и др.), уменьшением секреции слюнных, желудочных, потовых и бронхиальных желез. Под влиянием атропина происходит сильное расширение зрачков. Мидриатический эффект зависит от расслабления волокон круговой мышцы радужной оболочки, которая иннервируется парасимпатическими волокнами. В больших дозах атропин стимулирует кору головного мозга и может вызвать двигательное и психическое возбуждение, судороги, галлюцинации, иногда паралич дыхания (психотропное, нейротоксическое действие). Атропин, как реактиватор холинэстеразы, является эффективным антидотом при отравлениях холиномиметическими и антихолинэстеразными веществами, в том числе ФОС.

**Кофеин** - алкалоид, содержащийся в листьях чая (около 2%), семенах кофе (1 – 2%), орехах кола. Получают также синтетическим путем. Средство, стимулирующее ЦНС (психостимулирующие средства). Сердечная деятельность под влиянием кофеина усиливается, сокращения миокарда становятся более интенсивными и учащаются. Применяют кофеин при заболеваниях, сопровождающихся угнетением функций ЦНС и сердечно-сосудистой системы, при отравлениях наркотиками и другими ядами, угнетающими ЦНС. В механизме действия кофеина большую роль играет его угнетающее влияние на фермент фосфодиэстеразу, который тормозит выработку циклического аденозинмонофосфата (Ц-АМФ). Циклический АМФ, являясь вторичным медиатором, стимулирует метаболические процессы (выход  $\text{Ca}^{++}$  и повышение чувствительно-

сти к катехоламинам) в разных органах и тканях, в том числе в мышечной ткани и в ЦНС.

**Резерпин** - симпатолитик (симпатолитиками называют вещества, тормозящие передачу адренергического возбуждения путем уменьшения количества медиатора, поступающего к симпатическим нервным окончаниям). Резерпин является алкалоидом, содержащимся в растениях раувольфии - многолетний кустарник сем. кутровых. Экстракты из корней и листьев растения издавна применяют в индийской народной медицине. Растение содержит большое количество алкалоидов (резерпин, ресцинамин, аймалин, раувольфин, серпагин и др.), которые оказывают седативное, адренолитическое, гипотензивное и антиаритмическое действие. Под влиянием резерпина ускоренно выделяются катехоламины из депо пресинаптических нервных окончаний. В больших дозах наблюдаются брадикардия, головокружения, кошмарные сновидения.

**Красавка** - белладонна (*Atropa belladonna*) - многолетнее культивируемое травянистое растение, содержащее алкалоиды группы атропина (гиосциамин, скополамин, апоатропин и др.). Фармакологические свойства красавки совпадают в основном со свойствами атропина. Применяется при спазмах гладкой мускулатуры, при брадикардии в связи с перевозбуждением блуждающего нерва, и т.п.

**ГЛИКОЗИДЫ** - (глик-, глико-, глюк-, глюко- от греч. *glykys* - сладкий) - в сложных словах означает "сладкий, сахар, глюкоза". Сложные органические соединения типа эфиров, расщепляющиеся при гидролизе на сахара (гликоны) и бессахаристую часть (агликоны или генины). К растениям, содержащим сердечные гликозиды, относятся разные виды наперстянки (дигиталис), горицвета, ландыш, разные виды желтушника, строфанта, морозник и т.д. В больших дозах сердечные гликозиды могут вызывать рвоту (влияние на рвотный центр и хемочувствительные рецепторные зоны), понос, нарушения деятельности ЦНС (головная боль, беспокойство, бессонница, депрессивные явления, нарушения зрения, резкая брадикардия, экстрасистолия, трепетание желудочков и остановку сердца. Токсичные дозы вызывают угнетение  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  -насоса, потерю внутриклеточного калия, следствием чего является аритмия.

**Дигиталис** - наперстянка (*Digitalis purpurea*), двухлетнее травянистое растение, листья которого содержат сердечные гликозиды (дигитоксин и гитоксин), сапонины и другие вещества. Гликозиды наперстянки отличаются наибольшей стойкостью в организме по сравнению с другими сердечными гликозидами, медленно выводятся из организма и характеризуются высокой степенью кумуляции. Применяется при нарушениях ритма сердца. При передозировке могут приводить к резкой брадикардии, экстрасистолии. Токсические дозы могут вызывать трепетание желудочков и остановку сердца. При отравлении препаратами дигиталиса назначают атропин, кофеин, калий хлорид, унитиол.

**Строфантин** - зрелые семена тропических многолетних лиан (строфанта гладкого) содержат очень активный сердечный гликозид строфантин. Характеризуется высокой эффективностью, быстротой (эффект при внутривенном вве-

дении наблюдается через 5 – 10 минут) и малой продолжительностью действия. Особенно выражено систолическое действие и относительно мало влияет на частоту сердечных сокращений и проводимость по пучку Гиса. При передозировке строфантина могут появиться экстрасистолы, резкое замедление пульса.

**Ландыш** - многолетнее травянистое растение сем. лилейных. Все части растения содержат гликозиды, близкие по химическому строению к гликозидам наперстянки. Основные гликозиды ландыша конваллятоксин и конваллязид - отличаются малой стойкостью и не обладают кумулятивным эффектом. При попадании в кровь препараты ландыша оказывают быстрое и сильное влияние на сердечную деятельность.

**Для работы необходимо:** лягушка; препаровальный набор; шприц на 2 мл; ампульные растворы кофеина 10% - 1,0 мл и строфантина 0,05% - 1,0 мл; настойка ландыша и красавки; раствор Рингера; весы для взвешивания лягушек; установка для фотоэлектрической регистрации кардиограммы: штатив с фотопреобразователем и серфинкой, блок питания, самописец (регистратор Н-338); пипетка химическая на 1 мл; стаканчики на 50мл – 2 шт.; глазные пипетки – 3 шт.

**Задание:** установить влияние токсических доз алкалоидов (кофеина и атропина) и сердечных гликозидов (строфантина и настойки ландыша) на сердечную деятельность лягушки (кардиография).

### ***Методика исследования***

Для выполнения работы у лягушки разрушить спинной и головной мозг зондом, поместить на препаровальную доску брюшной поверхностью вверх и зафиксировать за лапки булавками. Обнажить сердце, для чего захватить пинцетом мечевидный отросток, ниже его ножницами сделать надрез кожи и вырезать над областью сердца переднюю поверхность грудной клетки. Осторожно, чтобы не повредить сердце, срезать перикард, перерезать уздечку.

Верхушку сердца захватить небольшой серфинкой, которая ниткой соединяется с рычажком фотоэлектрического преобразователя (преобразователь укрепляется в штативе над сердцем). Отрегулировать усиление на самописце так, чтобы амплитуда отклонения пера самописца при полном нажатии рычажка фотопреобразователя была в пределах 1,5 – 2 см. Наладить графическую регистрацию сокращений сердца при оптимальной скорости движения ленты.

Записать исходную кардиограмму (контроль) при периодическом орошении сердца раствором Рингера (т.е. не допускать пересыхания). Затем нанести на сердце несколько капель раствора кофеина определенной концентрации (ампульные растворы разводить раствором Рингера в соотношении 1:10; 1:5; 1:1, начинать эксперимент с малой концентрации). Записать кардиограмму, отметить наличие аритмий, рассчитать изменения частоты (количество сокращений в минуту) и силы сердечных сокращений (амплитуда отклонения пера самописца в мм).

Отмыть сердце раствором Рингера и спустя 5 минут повторить эксперимент с другим веществом, предварительно записав кардиограмму на фоне раствора Рингера (контроль).

Оформить протокол. Сделать выводы.

## ***Лабораторная работа № 10***

### **Влияние ФОС на работу сердца**

***Для работы необходимо:*** препаровальная дощечка; глазные ножницы; шелк; канюли; пастеровская пипетка; установка для фотоэлектрической регистрации кардиограммы (штатив с преобразователем, блок питания, регистратор Н-338); раствор Рингера, хлорофоса и трихлорметафоса (50 мг/л).

***Задание:*** изучить работу сердца при воздействии растворами метилацетофоса (концентрация 250 мг/л), карбофоса (50 мг/л), фенола (50 мг/л) методом Штрауба.

#### ***Методика исследования***

Работа выполняется на сердце, изолированном по методу Штрауба. У лягушки разрушить центральную нервную систему, зафиксировать на препаровальной дощечке брюшком вверх и обнажить сердце. Подвести лигатуры под аорту до ее разветвления (1), под правую дугу аорты (2), под венозный синус (3), под корни обоих легких (эти лигатуры перевязать сразу).

Лягушку повернуть головой к себе и, слегка натягивая лигатуру 2, сделать надрез дуги аорты примерно посередине между лигатурой и разветвлением аорты. Надрез делается под углом в  $45^0$  и не больше чем на половину ширины сосуда. В разрез сосуда быстро ввести кончик канюли Штрауба, частично заполненный раствором Рингера. Кончик канюли легко продвинуть в полость желудочка так, чтобы желобок ее тонкого конца пришелся под лигатуру 1. Попадание канюли в желудочек всегда сопровождается появлением в растворе Рингера фонтанчика крови. Если при введении канюля встречает препятствие, то значит, ее кончик уперся в канал из полулунных клапанов, в этом случае канюлю вытащить и во время систолы сердца ввести вновь. Осторожно, не изменяя положения канюли, завязать лигатуру 1 вокруг шейки. Если канюля вставлена правильно, то при вертикальном положении препарата жидкость из канюли во время диастолы поступает в желудочек сердца, раздувая его, а во время систолы уровень жидкости в канюле поднимается.

Перевязать венозный синус (лигатура 3) и вырезать сердце из организма. Полые вены срезать на уровне синуса, перевязать обе дуги аорты, сосуды обоих легких и другие ткани. Укрепить в штативе канюлю с сердцем и промыть его полость. Для этого необходимо с помощью пастеровской пипетки сменить несколько раз раствор Рингера в канюле. Во всех случаях уровень жидкости должен быть в канюле постоянным.

С помощью рычажка Энгельмана и фотоэлектрического преобразователя наладить графическую регистрацию сокращений изолированного сердца на

чернильнопишущем регистраторе Н-338 и записать исходную кардиограмму. Заменить раствор в канюле на раствор Рингера, содержащий ФОС, и вновь записать кардиограмму. Затем отмыть сердце раствором Рингера. Спустя 5 минут повторить опыт с другими ФОС.

Оформить протокол опыта, вклеить отрезки кардиограммы в тетрадь, рассчитать частоту (количество сокращений в минуту) и силы сердечных сокращений (амплитуда отклонения пера самописца в мм) при воздействии каждого из исследуемых токсических веществ. Сравнить полученные результаты. Сделать выводы.



## Содержание

<b>ТЕМА 1. ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА КАЧЕСТВО ВОДЫ И ТОВАРНОЕ КАЧЕСТВО РЫБЫ .....</b>	<b>3</b>
ОСОБЕННОСТИ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОЦЕНКИ И УСТАНОВЛЕНИЯ РАСЧЕТНЫХ ПДК ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ ЗАПАХОМ, ПРИВКУСОМ И РАЗДРАЖАЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ .....	3
<i>Лабораторная работа № 1. Методика органолептического исследования воды .....</i>	<i>4</i>
ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОЕ И ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЫБЫ .....	6
<i>Лабораторная работа № 2. Патологоанатомическое исследование рыбы....</i>	<i>6</i>
<i>Лабораторная работа № 3. Органолептическое исследование рыбы .....</i>	<i>9</i>
<b>ТЕМА 2. ДИАГНОСТИКА ОТРАВЛЕНИЯ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ.....</b>	<b>9</b>
<i>Лабораторная работа № 4. Симптомокомплекс при отравлении рыб ядами локального действия.....</i>	<i>10</i>
<i>Лабораторная работа № 5. Симптомокомплекс при отравлении рыб ядами резорбтивного действия.....</i>	<i>11</i>
<i>Лабораторная работа № 6. Симптомы отравления дафний пестицидами .</i>	<i>13</i>
<b>ТЕМА 3: ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВОДНОЙ ТОКСИКОЛОГИИ .....</b>	<b>14</b>
<i>Лабораторная работа № 7. Осмотическая резистентность эритроцитов как качественный показатель интоксикации .....</i>	<i>14</i>
<i>Лабораторная работа № 8. Патологические формы клеток крови рыб после воздействия токсических веществ.....</i>	<i>17</i>
<b>ТЕМА 4: ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ .....</b>	<b>18</b>
<i>Лабораторная работа № 9. Работа сердца при отравлениях алкалоидами и гликозидами .....</i>	<i>20</i>
<i>Лабораторная работа № 10. Влияние ФОС на работу сердца.....</i>	<i>23</i>

# **Токсикология гидробионтов (Водная токсикология)**

Составитель **Рябухина** Елена Валерьевна

Редактор, корректор А.А. Антонова  
Компьютерная верстка И.Н. Ивановой

Лицензия ЛР № 020319 от 30.12.96.  
Подписано в печать 28.06.2001. Формат 60х84/16. Бумага тип.  
Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,4. Тираж 100 экз. Заказ .

Оригинал-макет подготовлен  
в редакционно-издательском отделе  
Ярославского государственного университета.

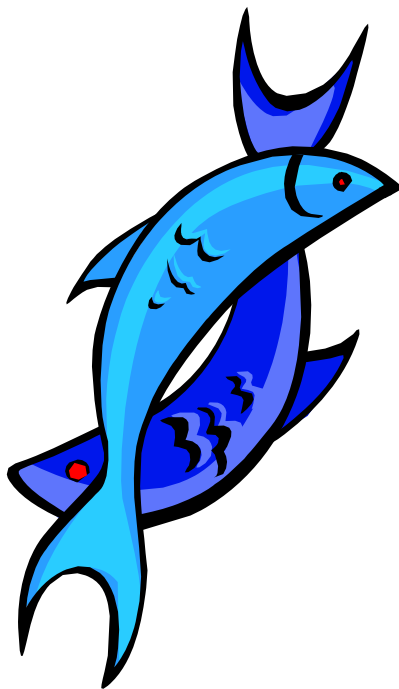
Отпечатано на ризографе

Ярославский государственный университет.  
150000 Ярославль, ул. Советская, 14.



# Токсикология гидробионтов

(Водная токсикология)



# **Токсикология гидробионтов**

## **(Водная токсикология)**

