

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

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

Учебно-методическое пособие

Ярославль
ЯрГУ
2017

УДК 574:615.9(072)
ББК Е081я73
Э40

Рекомендовано
Редакционно-издательским советом университета
в качестве учебного издания. План 2017 года

Рецензент
кафедра физиологии человека и животных
ЯрГУ им. П. Г. Демидова

Составитель
Е. М. Фомичева

Экологическая токсикология : учебно-методическое пособие / сост. Е. М. Фомичева ; Яросл. гос. ун-т им. П. Г. Демидова. — Ярославль : ЯрГУ, 2017. — 64 с.

Пособие содержит теоретические сведения по учебной дисциплине и материалы для ее практического освоения, краткий словарь терминов, список рекомендуемой литературы.

Предназначено для студентов, изучающих дисциплину «Экологическая токсикология».

УДК 574:615.9(072)
ББК Е081я73

© ЯрГУ, 2017

Введение

В связи с широким применением химических веществ во всех сферах человеческой деятельности появилась необходимость решения проблемы токсического влияния на растительный и животный мир, экосистемы и биосферу в целом.

Термин «экологическая токсикология» связывает понятия «экология» и «токсикология». Термин «экология» впервые предложил Эрнст Геккель в 1866 г. Согласно современным представлениям экология (от греч. *oikos* — жилище, местопребывание, убежище) — наука о структуре и функционировании надорганизменных живых систем. Токсикология (от греч. *toxicon* — яд, *logos* — понятие, учение) — наука о заболеваниях организма, вызванных воздействием вредных веществ (ядов), изучающая взаимодействие организма и яда. Яд — химический компонент среды обитания, поступающий в количестве, не соответствующем врожденным или приобретенным свойствам организма, и поэтому оказывающий на него вредное действие или несовместимый с жизнью.

Таким образом, экологическая токсикология рассматривает вопросы влияния вредных веществ на живые системы надорганизменного уровня, учитывая отклик отдельных особей.

Экотоксикология — это международное научное направление, связанное с изучением токсических эффектов химических веществ на живые организмы, преимущественно на популяции организмов и биоценозы, входящие в состав экосистем.

Экологическая токсикология изучает количество, форму и состояние загрязняющих веществ (поллютантов), попадающих в окружающую среду; их распространение и трансформацию; воздействие поллютантов на организм-мишень; отклик популяции, общества и экосистемы на воздействие загрязняющих веществ.

Механизм действия токсиканта изучается на молекулярном, генетическом и клеточных уровнях с использованием методов молекулярной биологии, биохимии и генетики. С помощью химико-аналитических методов определяется наличие и содержание загрязнителей в окружающей среде, устанавливается источник поступления токсиканта в окружающую среду, его концентрация в различных компонентах экосистемы и пр.

Основная методика в экологической токсикологии основана на системе длительных испытаний на тест-организмах разного систематического положения и экологии, в определенной степени связанных в единый трофический ряд, начиная от бактерий и заканчивая млекопитающими. Действие загрязняющих веществ исследуется на всех уровнях организации живых систем — от бактерий, одноклеточных водорослей до высших растений, животных и человека. Экотоксикологическая оценка опасности тех или иных веществ производится с учетом стадии развития организма. Чем тщательнее и систематичнее будут проводиться длительные лабораторные исследования, тем с меньшей ошибкой можно будет произвести экстраполяцию результатов лабораторных опытов на биологические процессы экосистем. Такой анализ дает основание прогнозировать возможный характер изменений биологических процессов в окружающей среде.

Биологическое действие токсических веществ

При воздействии токсического вещества одновременно может развиваться несколько деструктивных процессов в организме. Вклад каждого из них в общий патогенез может изменяться в зависимости от состояния организма и условий окружающей среды. Биологическая активность токсикантов определяется их химическим строением, химическими и физико-химическими свойствами. Условия поступления вещества в организм, его накопление, распределение, способность вступать в реакции и активность выведения обусловлены химическим строением вещества.

Первичное действие токсиканта, как правило, обусловлено:

- 1) изменением поступления в клетку веществ, необходимых для продукции энергии, реакций синтеза или для поддержания осмотических или электростатических свойств клетки;
- 2) реакцией токсиканта с ферментами или метаболитами ферментативных реакций;
- 3) влиянием на продукцию энергии или синтеза.

Фактически первичные взаимодействия и являются пусковым механизмом действия токсиканта.

При токсическом воздействии нарушаются разнообразные биохимические процессы, приводящие к инактивации ферментов, гипоксии и т. д. На молекулярном уровне последствия воздействий

токсиканта проявляются в изменении активности ферментов и в снижении концентрации важных биохимических субстратов.

Универсальным структурно-функциональным нарушением при любом токсическом воздействии является изменение проницаемости клеточных мембран. Так, нарушение проницаемости мембран является первичным при действии неэлектролитов и местном действии ионов тяжелых металлов. Для водных организмов одним из важнейших последствий изменения проницаемости мембран является нарушение осморегуляции.

Влияние токсического загрязнения на популяции и сообщества

Исход токсического действия на организм будет зависеть от характеристик организма и влияния сопутствующих факторов окружающей среды. С учетом всего многообразия условий, влияющих на ход экологических процессов в естественной среде, загрязняемой токсическими веществами, сложно оценить экологический эффект действия токсикантов на экосистему.

При загрязнении водоемов может происходить обеднение видового разнообразия, ухудшение флоры и фауны с точки зрения пригодности для человека, уменьшение промысловой продукции и снижение ее качества, ухудшение качества воды, используемой для питьевого и рыбохозяйственного водопользования.

Наиболее важное значение для исхода токсического воздействия имеют уровень и режим изменения таких абиогенных факторов среды, как температура, освещенность, концентрация биогенных элементов и ионов в воде. В свою очередь, режим изменения этих факторов зависит от состояния и функционирования биоты. Кроме того, возможно вмешательство загрязняющих веществ в контакт гидробионтов через экзометаболиты.

Наличие токсического агента в среде приводит к изменениям в судьбе отдельных особей гидробионтов, что впоследствии трансформируется в нарушения экологического масштаба. Высокая смертность или снижение плодовитости приводит к сокращению относительной численности популяции и снижению ее роли в биологическом сообществе водоема. Измельчение членов популяции без повышения плодовитости приводит к сокращению биомассы

популяции и, соответственно, к ослаблению роли трофического звена в экосистеме. Такие изменения на фоне естественных экологических взаимоотношений (хищничество, конкуренция) могут трансформироваться в перестройки биоценоза в целом.

Однако и существование естественных экологических взаимоотношений может изменить исход токсического воздействия. Так, нарушение координации, спад двигательной активности организма уменьшают его способность конкурировать за пищу или избегать хищников. В связи с этим и другими экологическими влияниями в загрязняемом водоеме возможно более быстрое вымирание популяции гидробионтов, что можно предсказать на основе лабораторных исследований на культурах.

Дополнительные преимущества в экологической конкуренции при токсическом загрязнении могут получить виды, малочувствительные к токсиканту, что может привести к заполнению ими освободившихся экологических ниш. Возможно, эти популяции смогут существенно приумножаться, создавая видимость процветания. Однако со временем и эти популяции могут погибнуть из-за накопления токсиканта в особях до критических уровней или истощения кормовой базы.

Таким образом, в результате воздействия токсического фактора в экосистеме может происходить смена доминирующих видов, изменение трофических связей, упрощение структуры сообщества и пр.

Характеристика основных токсикантов, используемых в лабораторных работах

В настоящее время синтезированы сотни фосфорорганических соединений (ФОС). Они широко применяются как инсектициды (хлорофос, карбофос, фосдрин и др.). Ряд наиболее токсичных ФОС относятся к боевым отравляющим веществам (зарин, иприт, фосген).

Фосфорорганические соединения являются ингибиторами ацетилхолинэстеразы, практически необратимо взаимодействуя с ее активным центром. Доказано, что ФОС реагируют с холинэстеразой (ХЭ) в две стадии. На первой стадии за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий образуется спе-

цифический комплекс, на второй возникает ковалентная связь ингибитора с серином в эстератическом центре фермента. Комплекс «ингибитор— фермент» на первой стадии легко распадается, тогда как на второй стадии становится более прочным. Прочность этого комплекса в значительной мере определяет длительность эффекта ФОС *in vivo*.

Известно, что ФОС, обладая высокой липофильностью, подвергаются активному окислению, в процессе которого инициируют образование свободных радикалов, что ведет к резкому нарастанию перекисного окисления липидов. В результате происходит увеличение проницаемости и изменение физического состояния мембран клеток, сопровождающееся массивным входом ионов кальция, что может вызвать гибель клеток.

Действие ФОС на организм может приводить к появлению гипоксии в результате затруднения проходимости дыхательных путей (спазм бронхов), изменению активности дыхательных мышц (гипертонус и паралич), нарушению микроциркуляции (агрегация эритроцитов и стаз), нарушению функции сердечной мышцы (аритмия, гипер- или гиподинамическая реакция), к угнетению дыхательного центра и подавлению утилизации кислорода тканями. Гипоксия активирует перекисное окисление липидов и нарушает биохимические процессы, обеспечивающие тканевое дыхание.

Обнаружено, что сочетание расширения емкостных сосудов с нарушениями микроциркуляции в ответ на действие ФОС создает предпосылки для дальнейшего развития эндотоксического шока. Конечной стадией отравления ФОС является цитотоксический эффект, который начинается с дезорганизации клеточного метаболизма и заканчивается гибелью нейронов, гепато- и кардиоцитов.

Фенолы отличаются значительным разнообразием: от практически нетоксичных до весьма токсичных. Они широко используются для синтеза различных ароматических соединений, дезинфекции, пропитки древесины, в качестве пестицидов. Токсичность фенолов зависит от строения, положения и количества радикалов, растворимости в жирах и воде. Некоторые из одноатомных фенолов являются сильными нейротоксинами, проникая через кожу, могут поражать печень, почки. При действии фенола

после первоначального возбуждения может наступить паралич дыхательного центра.

Как правило, многоатомные фенолы выступают в роли ингибиторов разнообразных ферментных систем. Они действуют на тиоловые группы SH-группы белков. Под действием фенолов происходит ингибирование таких ферментов, как АТФ-аза. Механизм действия фенола заключается в переносе ионов H^+ через внутреннюю мембрану митохондрий, что приводит к падению мембранного потенциала до 0, вызывая прекращение синтеза АТФ.

Фенолы способны накапливаться в рыбе и передаваться по трофической цепи. В наибольшем количестве аккумулируются в печени, жабрах, почках, селезенке, мышцах.

Из всех классов неорганических соединений, поступающих в окружающую среду, тяжелые металлы привлекают наибольшее внимание. Это связано с их высокой токсичностью для различных биологических объектов, способностью легко накапливаться и не подвергаться процессам разложения.

Среди тяжелых металлов к наиболее распространенным и опасным относят свинец. Антропогенным источником поступления свинца в окружающую среду является производственная деятельность человека. Свинец относится к веществам 1 класса токсичности. Он оказывает влияние на синтез и транспорт белка, энергетический баланс клетки, обладает канцерогенным, гонадотоксическим и эмбриотоксическим действием. Ионы свинца, как и ряда других тяжелых металлов, способны инициировать генерацию избыточного количества активных форм кислорода. Это может привести к нарушению структуры и повышению проницаемости клеточных мембран. Характерным проявлением воздействия солей свинца является образование комплексов «белок — металл» с накоплением металлотионеинов, снижение активности ферментных систем. Соединения свинца вызывают изъязвление кожных покровов и эпителия, выстилающего органы дыхания гидробионтов.

ТЕМА 1. Токсикологические исследования на одноклеточных организмах

При изучении токсичности сточных вод и их отдельных компонентов чувствительными показателями оказываются ответные реакции живых систем, вызванные изменением условий окружающей среды. Использование одноклеточных организмов для определения токсичности среды позволяет изучить как клеточные, так и организменные формы реакции на токсическое воздействие.

Методики определения токсичности водной среды с использованием в качестве тест-объекта водорослей различного систематического положения разнообразны и по выбору тест-функций, и по длительности проведения испытания. Применение водорослей в качестве тест-объектов наиболее целесообразно наряду с исследованиями всех основных звеньев гидробионтов (от бактерий до рыб), поскольку им принадлежит ведущая роль в процессах самоочищения водоема.

Выбор методики для определения токсичности водной среды на гидробионтах, участвующих в процессах самоочищения и фотосинтеза, осложняется тем, что разные гидробионты имеют разную чувствительность к токсическим веществам. Имеются данные, что бактерии и водоросли являются менее чувствительными к некоторым ядам, чем животные. С другой стороны, к отдельным группам токсикантов, например к алкоксисиланам (алкоксисиланы используют при синтезе кремнийорганических продуктов; служат вулканизирующими агентами для кремнийорганических и других полимеров), фитопланктон оказывается более чувствительным, чем зоопланктон и моллюски.

При проведении исследований влияния загрязнений сточных вод, не обладающих узким избирательным действием на водоросли, необходимо подбирать наиболее чувствительные к токсикантам виды или повышать чувствительность методов за счет использования физиологических и биохимических показателей. Однако применение этих показателей требует установления корреляции с основными показателями токсичности: с изменением численности, плодовитости, размножения и качества потомства.

Лабораторная работа 1

Влияние химических веществ на численность клеток зеленых протококковых водорослей

При исследовании токсичности загрязнений и сточных вод в отношении численности водорослей и процессов фотосинтеза удобным объектом являются одноклеточные зеленые водоросли, выращенные в культурах в лабораторных условиях. Использование зеленых водорослей в токсикологических экспериментах в качестве тест-объекта необходимо, т. к. им принадлежит ведущая роль в синтезе органического вещества в водоемах, а также в процессах формирования качества природных вод, направление которых может заметно меняться в присутствии загрязняющих веществ.

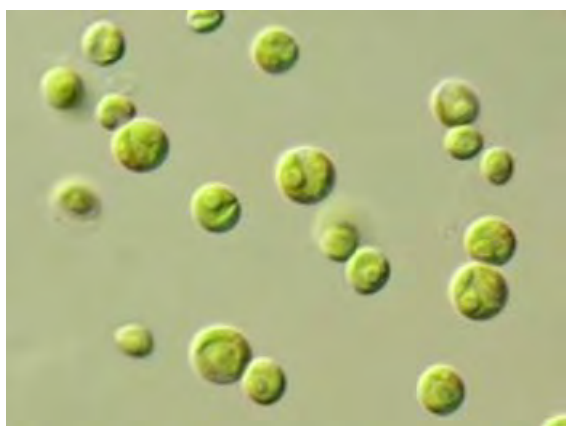
Культивирование, т. е. получение хорошего роста и развития одноклеточных зеленых водорослей, в лабораторных условиях обусловлено наличием определенной постоянной температуры, достаточно интенсивным освещением и наличием комплекса минеральных элементов в питательной среде.

Различные водоросли требуют для нормального роста и развития определенной температуры. Большинство зеленых водорослей хорошо растет при температуре 18–20 °С. Такой диапазон температуры легко поддерживается в лаборатории без применения дополнительных источников обогрева за счет света от ламп освещения. В качестве источников искусственного освещения желательно применять люминесцентные лампы дневного света (ЛДС, ДС), т. к. они имеют наибольшую интенсивность физиологической радиации. Для культивирования водорослей, как правило, используют питательные среды Тамия, Прата и Успенского (табл. 1).

При проведении токсикологических исследований по выявлению влияния различных токсических веществ и сточных вод на водоросли необходимо использовать два варианта определения токсичности: ускоренный и экспериментальный. Каждый вариант обладает определенными преимуществами. Ускоренный метод менее чувствительный, но быстрый и дает ответ на вопрос, является сточная вода или испытываемое вещество остро токсичным или нет. Он основан на определении выживаемости водорослей *Chlorella vulgaris* (рис. 1) и *Scenedesmus quadricauda* (рис. 2), выращенных на питательной среде.

Состав сред для культивирования зеленых водорослей

Соли	Среда, г/л		
	Тамия	Прата	Успенского
KNO_3	5,0	0,1	0,025
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	2,5	0,01	0,025
KH_2PO_4	1,25	0,01	0,025
CaNO_3	—	—	0,1
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,003	—	—
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	—	—	—
Микроэлементы	1 мл	—	—
$\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$	—	0,001	—
K_2CO_3	—	—	0,0345
Микроэлементы: H_3BO_3 — 2,86 мг/л; $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ — 1,81 мг/л; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,222 мг/л; MoO_3 — 0,1764 мг/л; NH_4VO_8 — 229,6 мг/л			

Рис. 1. *Chlorella vulgaris* BeijerРис. 2. *Scenedesmus quadricauda* Turp (Breb)

В качестве тест-объектов в методе определения токсичности с использованием физиологических показателей используют протококковые водоросли, выращенные в тех же условиях, что и при применении ускоренного метода. Исследование основных физиологических и биохимических показателей предусматривает использование таких тест-функций, как определение хлорофилла, соотношение хлорофиллов А и В, определение интенсивности фотосинтеза по количеству выделенного кисло-

рода на свету и интенсивности дыхания по количеству поглощенного кислорода в темноте.

Клетки водорослей характеризуются постоянством морфофизиологических признаков, что облегчает учет дегенерированных форм, возникающих под влиянием некоторых токсикантов. Наиболее характерными морфологическими изменениями при действии токсикантов являются уменьшение или, напротив, увеличение размеров клеток водорослей, а также появление в культуре многоклеточных конгломератов. Помимо этого, отмечают следующие превращения в состоянии культуры водорослей: изменение окраски (пожелтение, побледнение, поголубение суспензии); видоизменение состояния водорослей в суспензии (гомогенность или агрегация по сравнению с контролем).

Критерием токсичности при действии химических веществ следует считать изменение численности клеток водорослей, последовательность прохождения ими всех стадий развития и способность к размножению. Данные о численности водорослей являются исходным материалом для определения их биомассы и для пересчета других количественных показателей (содержания пигментов, белков, интенсивности дыхания, фотосинтеза и др.) на одну клетку или единицу биомассы. Основным критерием токсичности при действии химических веществ и сточных вод на водоросли считается изменение численности водорослевых клеток на 25 % и более.

В настоящее время разработаны методики биотестирования, использующие в качестве тест-объектов разнообразных гидробионтов, в том числе простейших (инфузории, жгутиконосцы), кишечнополостных (гидры), червей (планарии, пиявки), моллюсков (пластинчатожаберные, брюхоногие), ракообразных (дафнии, гамарусы) и рыб.

Методы, использующие в качестве тест-организмов инфузорий (*Tetrahymena pyriformis*, *Euplotes balteatus*, *Paramecium caudatum* и др.), основаны на оценке степени их спонтанной двигательной активности, выживаемости или степени прироста их численности. Исследуемый раствор считают токсичным в случае снижения двигательной активности, выживаемости или прироста численности инфузорий по сравнению с контролем. Однако в связи с физиологическими особенностями простейших одноклеточных организмов

их чувствительность ко многим факторам внешней среды, в том числе и к некоторым токсикантам, крайне специфична и не сопоставима с чувствительностью многоклеточных животных.

Для работы необходимо: контрольная культура *Scenedesmus quadricauda* (Turb.) в фазе логарифмического роста (8–10 дней); культура водорослей после 3-суточной экспозиции в растворах ФОС (0,01 мг/л); фенола (0,01 мг/л) и азотнокислого свинца (0,01 мг/л); микроскоп (окуляр $\times 15$, объектив $\times 8$); камера Горяева; покровные стекла; дозаторы пипеточные объемом 0,1 и 0,5 см³; бумага фильтровальная.

Задание. Произвести подсчет клеток водорослей в контрольной культуре и после 3-суточной экспозиции в растворах ФОС, фенола и азотнокислого свинца. Отметить наличие морфологических изменений клеток водорослей и состояние культуры.

Методика исследования

Камера Горяева — устройство для подсчета клеток или иных соизмеримых с ними частиц в заданном объеме жидкости. Камера представляет собой толстое предметное стекло, имеющее прямоугольное углубление (камеру) с нанесенной микроскопической сеткой (рис. 3).



Рис. 3. Камера Горяева

Глубина камеры составляет 0,1×0,005 мм. На дне углубления выгравирована сетка из 225 больших квадратов, часть которых подразделена на малые квадраты (рис. 4). Размер малого квадрата — 0,05×0,05 мм, размер большого квадрата — 0,2×0,2 мм. Глу-

бина камеры — 0,1 мм. Объем жидкости в 1 малом квадрате — 0,00025 мм³ (мкл). Объем жидкости в 1 большом квадрате — 0,004 мм³ (мкл). Объем камеры Горяева составляет 0,9 мм³ (мкл). Перед началом работы рекомендуется рассмотреть сетку камеры Горяева сначала под малым увеличением (объектив ×8,0), затем под большим увеличением.

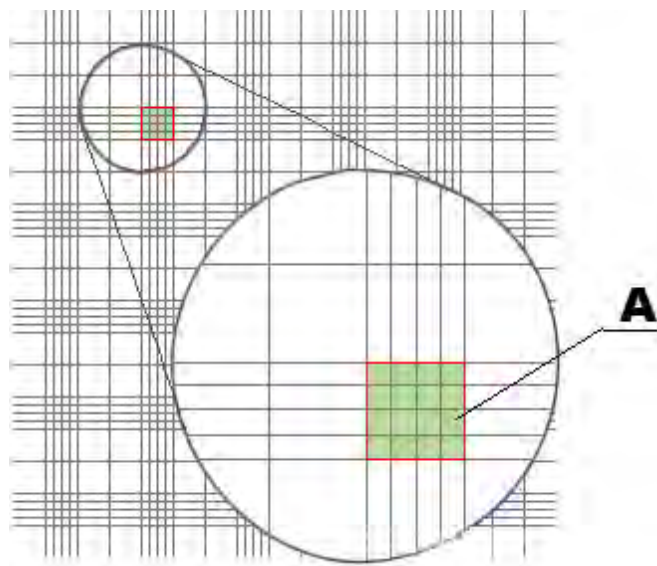


Рис. 4. Большой квадрат камеры Горяева, разделенный на 16 малых квадратов (А)

Перед использованием камеру Горяева и покровное стекло необходимо тщательно протереть кусочком чистого бинта, слегка смоченного в 96 %-ом спирте. Важно обратить внимание на то, что при обильном смачивании часть спирта может не успеть испариться. Это приведет к нарушению подвижности клеток водорослей.

Следует притереть покровное стекло к боковым площадкам камеры Горяева до появления колец Ньютона. Для более качественного притирания рекомендуется слегка выдохнуть воздух на покровное стекло, при этом небольшое количество влаги конденсируется на его поверхности и обеспечит хороший контакт. Тщательно взболтать культуру водорослей. С помощью дозатора отобрать каплю культуры и поднести ее к краю покровного стекла. В силу капиллярности жидкость заполнит камеру. Подсчет клеток в камере начинают через 3–5 минут после ее заполнения.

Количество клеток подсчитывают в 25 больших квадратах сетки, перемещая их по диагонали. Если в квадрате нет клеток, следует записать «0», чтобы искусственно не завысить количество клеток.

Подсчитав клетки в 25 больших квадратах, произвести перерасчет на 1 см^3 по формуле:

$$X = m \times 10^4,$$

где X — общее количество клеток в 1 см^3 ;

m — количество клеток (сумма) в 25 больших квадратах.

Повторить подсчет клеток в вариантах с культурами, затравленными ФОС, фенолом и азотнокислым свинцом.

Количество клеток выразить в млн на 1 мл (млн/мл) или в млрд на 1 л (млрд/л). Проанализировать полученные данные, отметив наличие морфологических изменений клеток водорослей и общее состояние культуры.

Оформить протокол. Сделать выводы.

Лабораторная работа 2

Влияние химических веществ на выживаемость и функциональные показатели ресничной инфузории *Paramecium caudatum*, Ehrenberg 1838

Для экологического прогнозирования возможных функциональных изменений водных сообществ актуально изучение экологии свободноживущих простейших, составляющих существенную часть микропланктона и микробентоса водных экосистем. Простейшие составляют важнейшее звено в пищевых цепях кормовых беспозвоночных, играют важную роль в процессах самоочищения и очистки сточных вод.

Использование *Paramecium caudatum*, Ehrenberg 1838 в токсикологических исследованиях обусловлено следующими критериями. Сочетание в парамеции признаков клетки и организма позволяет изучить как клеточные, так и организменные формы реакции на токсическое воздействие. Короткий жизненный цикл, быстрота размножения позволяют проследить реакцию на интоксикацию в относительно короткий срок в длинном ряду поколений.

Инфузория *Paramecium caudatum*, Ehrenberg 1838 — широко распространенная ресничная инфузория. Температурный оптимум лежит в пределах $24\text{--}28^\circ\text{C}$, pH $6,5\text{--}7,5$.

Основными регистрируемыми показателями являются выживаемость и размножение, дополнительно можно фиксировать

скорость фагоцитоза. Изменение функции питания является наиболее чувствительным и быстрым ответом на ранних этапах действия токсического вещества в нелетальных концентрациях, особенно в первые минуты и часы контакта с токсикантом.

Парамеций культивируют на различных средах.

Минеральная среда Лозино-Лозинского готовится на бидистиллированной воде, в 1 дм³ которой растворяют 0,1 г NaCl, 0,01 г KCl, 0,01 г CaCl₂, 0,01 г MgCl₂, 0,02 г NaHCO₂. Среду разливают в колбы объемом 20–25 см³ и автоклавируют в течение 30 минут под давлением 1,5 атм. Пищей для инфузорий служит смесь чистых культур дрожжей *Sacharomices ellipsodes* и бактерий *Bacillus subtilis*, культивируемых на сусло-агаре и мясо-пептонном агаре. Для приготовления питательной взвеси берут по одной петле дрожжей и бактерий на 25 см³ среды. Через 2–3 суток стерильной пипеткой производят кормление парамеций из расчета 5–7 капель на 5 см³ культуры. Показателем хорошего состояния культуры является образование парамециями «кольца» ниже мениска пробирки.

Банановая среда готовится на основе высушенной на воздухе банановой кожуры. Кусочки последней размером около 1 см² помещают в пробирки с отстоянной кипяченой водой, закрывают ватными пробками и оставляют при температуре 24–25 °С до появления бактериальной пленки и опускания кусочка на дно пробирки.

Для экспериментов используют клональные культуры парамеций. Клон выводят следующим образом: одну особь освобождают от посторонней микрофлоры путем последовательной пересадки через несколько микроаквариумов со средой и оставляют для размножения. Когда количество разделившихся инфузорий становится достаточным (30–40), их пересаживают в пробирку со средой.

Для работы необходимо: клональная культура парамеций *Paramecium caudatum*; ФОС (0,01 мг/л); фенол (0,01 мг/л) и азотнокислый свинец (0,01 мг/л); лабораторный планшет; капиллярные пипетки (2 шт.); микроскоп бинокулярный МБС–9; фильтровальная бумага; дозаторы пипеточные объемом 0,1 и 0,5 см³.

Задание. Определить выживаемость инфузорий в растворах ФОС (0,01 мг/л), фенола (0,01 мг/л) и азотнокислого свинца (0,01 мг/л). Отметить наличие снижения двигательной активности, изменения формы клетки, лизис.

Методика исследования

При работе с инфузориями используют лабораторный планшет (рис. 5).



Рис. 5. Лабораторный планшет

Для проведения токсикологического эксперимента в каждый луночный микроаквариум планшета с помощью капиллярной пипетки под микроскопом отсаживают по одной особи. Попавшую с парамециями воду максимально убирают с помощью фильтровальной бумаги и приливают по 1,0 мл раствора токсиканта необходимой концентрации. Для каждого раствора токсиканта использовать по 10 особей инфузорий. Через каждые 15 минут в течение 1 часа эксперимента отмечать наличие или отсутствие снижения двигательной активности особей, изменение формы клетки, лизис. Отметить время гибели инфузорий. Для сравнения в качестве контрольного варианта используют инфузорий, помещенных в луночные микроаквариумы с питательной средой.

Оформить протокол. Сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Действие токсикантов на разные уровни биосистем.
2. Основные регистрируемые показатели зеленых одноклеточных водорослей и ресничных инфузорий, учитываемых в токсикологических исследованиях.
3. Использование одноклеточных организмов в токсикологических исследованиях. Преимущества одноклеточных водорослей и инфузорий как тест-объектов.
4. Поведение экотоксикантов в окружающей среде: поступление, трансформация, удаление, накопление биотой.
5. Действие загрязняющих веществ на водные сообщества.

ТЕМА 2. Диагностика отравления гидробионтов

Диагностика (от греческого *diagnostikos* — способный распознавать) — учение о методах, принципах распознавания и оценки состояния объекта, процесса, явления. Термин «диагностика» первоначально применялся в медицине, обозначая процесс постановки диагноза. В настоящее время он широко используется и во многих других областях: диагностика техническая, диагностика конфликтности личности, диагностика компьютера и др.

При диагностике отравлений возникает ряд вопросов: произошла ли гибель организмов от токсикоза, от инфекционного заболевания или от неблагоприятных факторов среды; каким путем токсикант попал в водоем; известны ли подобные случаи отравления?

Для диагностики отравления гидробионтов можно использовать клинические, патологоанатомические, гистологические, гематологические, физиологические, биохимические, биофизические методы исследования, метод условных рефлексов, метод функциональных нагрузок, органолептические исследования.

Особенно важной является разработка экспресс-методов диагностики отравления.

В практическом отношении необходимо учитывать наиболее существенные реакции внешнего симптомокомплекса отравления. Так, при действии различных токсикантов на рыб, как правило, воспроизводится определенная совокупность реакций. Выделяют две стадии проявления реакций: 1) стадия возбуждения, сопровождаемая первоначальной двигательной активностью, потерей рефлекса равновесия и импульсным перемещением рыб в боковом положении; 2) стадия угнетения, включающая потерю двигательной активности, угнетение дыхания, потерю ориентировочной реакции и резкое ослабление чувствительности рыб к механическим раздражителям. При фенольном отравлении проявляется смена трех следующих друг за другом фаз: 1) резкая двигательная возбудимость с кратковременным заваливанием на бок; 2) потеря рефлекса равновесия, опрокидывание на бок, импульсивное перемещение в боковом положении; 3) боковое положение, сопровождаемое конвульсивными судорогами, завершающееся полной потерей двигательной активности, рас-

стройством дыхания и смертью. Специфические особенности действия разных концентраций одного яда и одной концентрации различных ядов выражаются в количественном варьировании неспецифической формы реагирования, которой характеризуется однотипная 3-фазовая реакция разных видов рыб.

Лабораторная работа 3

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, нервнопаралитические яды парализуют дыхательный центр. 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 дыха-

ние 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: стеклянная емкость на 3 л — 2 шт.; раствор ФОС (1 %); 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 ФОС (этот пестицид широко применяется в качестве контактного инсектицида и акарицида) из расчета 250 мг/л. После растворения препарата поместить рыбу и отметить время начала эксперимента. Тщательно запротokolировать поведение рыбы, время наступления и продолжительность всех стадий отравления.

Оформить протокол. Сделать выводы.

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.

Условно различают яды с локальным и резорбтивным действием.

К ядам локального действия относятся:

а) неорганические вещества: хлор, перекись водорода, марганцовокислый калий, озон, кислоты и щелочи, соли тяжелых ме-

таллов (марганец, никель, хром, мышьяк, кадмий, свинец, железо, ртуть, медь, серебро), борная кислота;

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

Деление ядов на яды локального и яды резорбтивного действия чисто условное. Например, местно действующий формальдегид одновременно оказывает и нервнопаралитическое действие.

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 выделение слизи на жабрах и кожном покрове, нередко поражается роговица глаз. Наблюдается удушье. Рыба может гибнуть с широко раскрытым ртом и жабрами. Обратимость отравления рыб ядами локального действия невелика.

Для работы необходимо: стеклянные емкости на 3 л — 2 шт.; 10 %-й раствор КОН; 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 аквариума добавить 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

Симптомы отравления дафний пестицидами

Пестициды — собирательный термин, обозначающий химические соединения различного строения и применяемые для борьбы с вредными организмами в сельском и лесном хозяйстве, здравоохранении, промышленности и др. Пестициды являются основным средством защиты растений, животных, различных материалов от повреждений разнообразными организмами. Применение пестицидов наносит огромный вред окружающей среде за счет содержащихся в них солей меди и арсениды. Пестициды попадают в водоем также в результате сброса отходов 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, 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. Например, фосфорорганические соединения, относящиеся к ядам нервнопаралитического действия, вызывают у гидробионтов однотипные симптомы отравления: возбуждение, расстройство координации движения, угнетение общего состояния и, наконец, паралич.

В острых опытах основным показателем токсичности является гибель организмов, а в некоторых случаях изменение поведения животных (двигательная активность, активность дыхания, реакция на корм и другие внешние раздражители). Так, низшие ракообразные при воздействии фосфорорганических пестицидов судорожно подергивают антеннами, вращаются вокруг своей оси, изменяют траекторию движения. Кроме того, фосфорорганические соединения, относящиеся к ядам нервнопаралитического действия, вызывают у гидробионтов схожие симптомы отравления: возбуждение, расстройство координации движения, паралич.

Для работы необходимо: культура дафний *Ceriodafnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea); 3 мерных стакана на 200 мл; отстоянная вода; ФОС (1 %); фенол (1 %); пипетки

химические на 5 мл; мерный цилиндр на 50 мл; пипетка для отлова дафний или мельничный газ.

Задание. Выявить симптомокомплекс при остром отравлении дафний ФОС и фенолом.

Методика исследования

В данной работе требуется провести наблюдение за состоянием и поведением дафний при остром отравлении их растворами ФОС 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.

Лабораторная работа 6

Влияние токсических веществ на частоту дыхательных актов брюхоногого моллюска *Potamocera* sp.

Моллюски часто используются как индикаторы токсичности водной среды. При воздействии различных концентраций ряда токсикантов выявляются изменения целого спектра поведенческих реакций.

Частота дыхательных актов у пресноводного брюхоного моллюска рода *Potamocera* в норме и при действии токсикантов может значительно отличаться. Мантийная полость моллюска имеет перегородку, разделяющую ее на две части. В одной части находится жабра для водного дыхания, вторая часть функционирует как легкое. В естественных условиях моллюски поднимаются к поверхности воды и захватывают воздух дыхательной трубкой благодаря ее ритмичным движениям. В неблагоприятных

условиях, когда содержание растворенного кислорода в воде снижено, количество подъемов моллюсков к поверхности воды возрастает. При действии токсикантов моллюски либо закрывают крышечкой устье для изоляции воздействия, либо увеличивают частоту подъемов к поверхности воды для совершения дыхательного акта. В отдельных случаях моллюск может оставаться у поверхности воды длительное время.

Для работы необходимо: стеклянные цилиндры — 4 шт.; ФОС (1 %), фенол (1 %); отстоянная аэрированная вода; моллюски — 4 шт.; пинцеты.

Задание. Отметить особенности поведения и изменение частоты дыхательных актов моллюсков при помещении их в раствор токсикантов.

Методика исследования

Приготовить растворы ФОС с концентрацией 250 мг/л и фенола 50 мг/л объемом 1 литр. Провести наблюдение за поведением и дыхательной активностью моллюсков при отравлении их растворами ФОС и фенола в заданных концентрациях. В три цилиндра (один — контрольный, с аквариумной водой, два других — со свежеприготовленными растворами исследуемых веществ) поместить по 1 моллюску. Отметить время начала эксперимента. Наблюдая за поведением моллюсков в опытных сосудах, зафиксировать время появления симптомов отравления: увеличение двигательной активности, закрытие устья крышечкой, изменение частоты дыхательных актов.

Сравнить поведение моллюсков в опытных растворах и контроле.

Оформить протокол. Сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Симптомы отравления рыб и других гидробионтов.
2. Механизм действия ядов локального и резорбтивного действия.
3. Обратимость интоксикаций и факторы ее определяющие.
4. Зависимость токсического эффекта от концентрации и времени действия яда.
5. Метод функциональных нагрузок.

ТЕМА 3. Влияние токсических веществ на хеморецепцию гидробионтов

Хеморецепция — избирательная чувствительность организма обычно к низким концентрациям химических веществ, осуществляемая органами обоняния и вкуса. В широком смысле — взаимодействие хеморецепторов с различными химическими агентами, образовавшимися внутри организма (например, медиаторы нервной системы) или поступившими из внешней среды.

Хемосенсорные системы представляют собой одну из наиболее чувствительных мишеней для действия токсических веществ. Функциональное состояние хемосенсорных систем опосредованно влияет на поведенческие реакции организма в целом. Исследование механизмов и динамики нарушений процессов хеморецепции, вызванных действием токсикантов, является важным для разработки экспрессных и высокочувствительных методов контроля за окружающей средой и установления ПДК загрязнителей.

Анализ химического состава внешней и внутренней среды организмов осуществляется специальными чувствительными аппаратами — хеморецепторами, обладающими функцией восприятия химических раздражений и трансформации их в импульсную активность. Наиболее широко изучены функциональные свойства хеморецепторов, расположенных в тканях, непосредственно граничащих с внешней средой.

Первичное восприятие химических раздражителей осуществляется специализированными хеморецепторами — специальными образованиями, в которых происходит трансформация энергии раздражающего стимула в сигналы, несущие нервным центрам информацию о действующем агенте.

Важнейшим физиологическим свойством любого рецептора является чувствительность к адекватному стимулу. Уровень чувствительности оценивается порогом возбуждения, т. е. минимальной величиной стимула, способной вызвать возбуждение. Величина порога обратна величине возбудимости.

Возникшие в процессе эволюции хеморецепторы приобрели особую чувствительность и специфичность в восприятии отдельных свойств химических веществ, что позволяет им тонко анализировать химические изменения в окружающей среде и своевременно на них реагировать. Чем быстрее и точнее организм получает информацию о состоянии внешней среды и ее изменениях, тем быстрее он может включить защитные и компенсаторные механизмы в ответ на эти изменения. В этом случае выше будут и его возможности выживания в экстремальных условиях.

На кишечноротовых показано наличие у них специфичности хеморецепции. У сцифомедуз и гидр имеются хеморецепторы в виде удлинённых сенсорных нейронов со специализированными окончаниями. Некоторые из червей (планарии, дождевые черви) дифференцируют по химическому составу пищевые объекты. У моллюсков хеморецепция занимает значительное место в адаптивном поведении. У брюхоногих моллюсков, наряду с одиночными хеморецепторами, имеются специализированные хеморецептивные органы: головные и ротовые щупальца, губы и осфрадий (орган химического чувства в мантийной полости моллюсков у основания жабр, где к ним поступает ток воды). Ротовые щупальца и губы рассматриваются как органы вкуса, а головные щупальца — как органы обоняния.

Рецепторный аппарат вкусовой системы рыб представлен вкусовыми почками, расположенными в слизистой оболочке ротовой полости, на жабрах и наружной поверхности тела. Восприятие химических раздражителей осуществляется у рыб рецепторными аппаратами обонятельной и вкусовой систем, а также нервными окончаниями тройничного, блуждающего и спинномозговых нервов. Рыбы обладают исключительно высокой чувствительностью обонятельных рецепторов, в сотни раз превышающей чувствительность обонятельной рецепции человека. Это позволяет рыбам воспринимать чрезвычайно малые концентрации химических веществ, обладающих запахами.

Лабораторная работа 7
Влияние токсических веществ
на процессы хеморецепции в поисковых поведенческих
реакциях брюхоногого моллюска *Potamocera sp.*

Хемосенсорные системы являются одной из наиболее чувствительных мишеней для действия токсических веществ. Функциональное состояние хемосенсорных систем в значительной степени отражается на поведенческих реакциях организма в целом. Изменение пищевого поведения гастропод после воздействия нелетальных доз токсикантов может использоваться для оценки функционального состояния хемосенсорных систем в целом.

У моллюсков рода *Potamocera* пищевое поведение осуществляется в два этапа. Первый этап (поиск пищевой приманки) состоит в локализации пищевого источника и целенаправленного движения к нему. В запуске и поддержании этой реакции главная роль принадлежит дистантной хеморецепции. Об этом свидетельствует характерная работа обонятельных сенсорных органов — головных щупальцев, которыми моллюски совершают поисковые «лоцирующие» движения в вертикальной плоскости. Щупальца при этом, как правило, максимально вытянуты и расставлены в стороны. Вблизи пищевой приманки, на расстоянии 3–4 см, этап поиска сменяется этапом захвата, при этом изменяется стратегия поведения моллюска. По мере приближения к приманке щупальца сворачиваются, появляются характерные движения головой из стороны в сторону, сопровождающиеся жеванием. В результате происходит захват пищи. Реализация второго этапа осуществляется в основном благодаря взаимодействию контактной хемосенсорной и механосенсорной систем губ и полости рта.

После 48-часовой экспозиции моллюсков в растворах токсикантов наблюдаются изменения в периоде этапов пищевого поведения. Как правило, время, затрачиваемое моллюсками на поиск и захват пищевой приманки, увеличивается с возрастанием концентрации токсических веществ. Увеличение продолжительности этапов пищевого поведения моллюсков связано прежде всего с ухудшением функционального состояния обонятельной и вкусовой сенсорных систем. Морфологические данные показывают, что растворы токсикантов вызывают гибель отдельных рецептор-

ных и эпителиальных клеток в головных щупальцах и губах *Potamocera sp.* Число гибнущих клеток увеличивается по мере возрастания концентрации токсикантов.

Для работы необходимо: толстостенный стеклянный сосуд — 4 шт.; моллюски, предварительно затравленные в растворах ФОС, фенола в концентрации 0,1 мг/л; интактные (контрольные) моллюски; пинцет; отстоянная аэрированная вода.

Задание. Определить продолжительность этапов пищевого поведения в зависимости от варианта действующего токсиканта.

Методика исследования

Провести наблюдение за пищевым поведением моллюсков, затравленных в растворах токсикантов.

Для выбора точки помещения моллюска на обратной стороне стеклянной емкости маркером обозначить точку пересечения прямых (двух пересекающихся линий диаметра окружности сосуда). Налить отстоянной аэрированной воды в емкость. На точку пересечения поместить пищевую приманку. В качестве приманки можно использовать гранулы сухого корма.

В каждый сосуд поместить по одному моллюску (после 48-часовой экспозиции в растворах ФОС, фенола) на заданное расстояние от пищевой приманки. Отметить время начала эксперимента. Отметить особенности поведения, продолжительность первого и второго этапов пищевого поведения, общее время достижения моллюском приманки.

Сравнить поведение и продолжительность поискового поведения интактных и предварительно затравленных моллюсков.

Оформить протокол. Сделать выводы.

Лабораторная работа 8

Хеморецепция веществ кожей лягушки (по изменению частоты дыхания)

Частота дыхания у лягушки изменяется в широких пределах при воздействии различных факторов, в том числе и антропогенных (химическое загрязнение окружающей среды). По частоте

дыхательных движений лягушки можно судить о реакции организма животного на различные внешние воздействия.

Для работы необходимо: лягушка; препаровальная досочка с булавками; бинт; почкообразный тазик; универсальный штатив; фотопреобразователь с серфинкой; блок питания; самопишущий регистратор Н-338; глазной скальпель; вата; пипетки глазные; стеклянная трубочка; маленькая резиновая груша; отстоянная вода; растворы: фенола (50 мг/л), ФОС (250 мг/л).

Задание. Изучить влияние токсических веществ на дыхательную функцию лягушки, используя аппликацию вещества, обладающего кожно-резорбтивным действием, на кожу передней лапки животного.

Методика исследования

Установка для графической регистрации дыхательных движений лягушки включает препаровальную доску, универсальный штатив с фотопреобразователем, серфинку, закрепляющуюся на коже диафрагмы рта лягушки, самописец для регистрации дыхательных движений, блок питания.

С целью обездвиживания лягушку плотно перебинтовать по направлению сверху вниз, начиная с пояса передних конечностей. При этом необходимо оставить свободной левую верхнюю лапку лягушки.

Затем зафиксировать животное булавками за бинт на препаровальной доске спинкой книзу. Бинт смачивать отстоянной водой по мере высыхания, чтобы исключить подсыхание кожных покровов лягушки. Серфинкой захватить диафрагму рта. Наладить графическую регистрацию дыхательных движений лягушки. В течение 1 – 2 минут записать исходные дыхательные движения диафрагмы (контроль), затем, не прекращая записи, нанести на одну из передних лапок лягушки раствор исследуемого вещества и в течение 2 – 3 минут регистрировать дыхательные движения (отметить на диаграммной ленте момент нанесения раствора, а также название и используемую концентрацию вещества).

Записав исходный ритм дыхания, повторить эксперимент с другим токсикантом, предварительно промыв лапку большим количеством отстоянной воды и подсчитать частоту и амплитуду дыхательных движений лягушки в контроле и после воздействия

химического вещества. Проанализировать результаты, обосновать изменение дыхательной функции при воздействии веществ на кожу лягушки.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

Лабораторная работа 9

Избегание рыбами некоторых токсических веществ

Десятки и сотни веществ, в основном органической природы, поступающие в водоем, могут оказать отпугивающее действие на рыб. Одним из многочисленных негативных воздействий, оказываемых сточными водами на водоем, является появление непроходимых химических барьеров на пути миграции рыб.

Экспериментально установлено, что форель, гольян, колюшка обладают способностью различать и избегать токсические растворы свинца, сульфатные и сульфитные соединения, содержащиеся в сточных водах бумажной промышленности. Реакция рыб по отношению к различным концентрациям одного и того же вещества неоднозначна: рыбы могут избегать относительно высокие концентрации токсического вещества и привлекаться относительно низкими.

Физиологические механизмы реакции обнаружения и реакции избегания различны. В основе реакции обнаружения токсических веществ лежит функциональная активность химического анализатора, объединяющего вкус, обоняние и общее химическое чувство. Поступающая информация анализируется в центральной нервной системе и передается в локомоторный аппарат, функциональная активность которого лежит в основе реакции избегания.

В ряде случаев в результате блокады хеморецепторов (обонятельных рецепторов), механорецепторов боковой линии и поражения чувствительных клеток усиков рыб низкими концентрациями токсиканта наблюдается отсутствие у рыб реакции избегания на токсические вещества.

Для работы необходимо: прибор Джонса (рис. 6); мелкая рыба — гуппи (*Poecilia reticulata*); 1 %-е растворы азотнокислого свинца, аммиака; мерные цилиндры на 200 мл — 2 шт.; мерные колбы на 200 мл — 4 шт.; химические пипетки на 10 мл — 2 шт.;

аквариум с отстоянной и аэрированной водопроводной водой на 40 литров.

Задание. Исследуя реакцию рыб на различные концентрации токсикантов, установить «порог привлечения» и «порог отпугивания» рыб. Определить «отпугивающие» и «привлекающие» вещества.

Методика исследования

Величиной порога является наименьшее количество токсиканта наименьшей концентрации, пропущенного через камеру и вызывающего реакцию рыб.

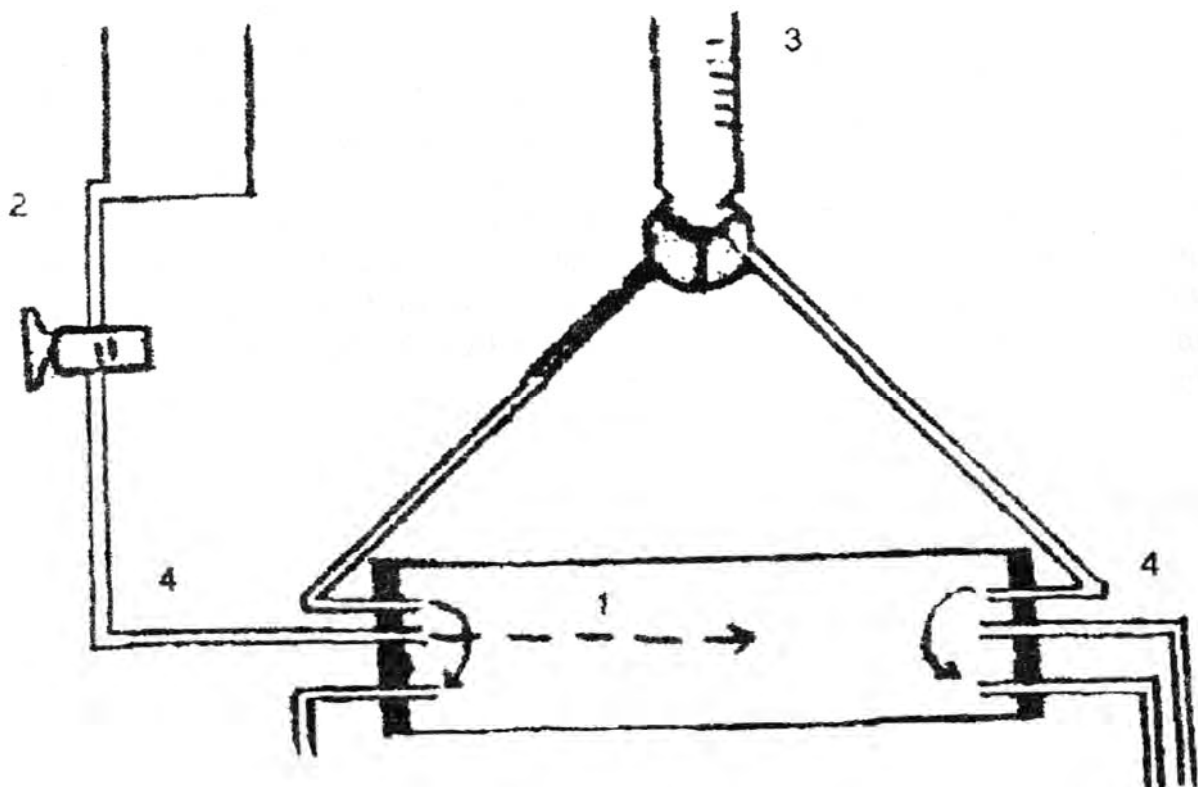


Рис. 6. Схема прибора Джонса:

- 1 — цилиндрическая стеклянная камера с резиновыми пробками, имеющими отверстия для стока воды;
- 2 — сосуд объемом 3 литра с двухходовым краном для создания проточной системы в камере;
- 3 — дозирующий сосуд для токсикантов объемом 200 мл с трехходовым краном, позволяющим пропускать токсикант через правую или левую половину камеры;
- 4 — шланги с винтовыми зажимами

Для работы стеклянную камеру (1) повернуть правой стороной вверх, открыть пробку, заполнить камеру на $\frac{3}{4}$ объема отстоянной водой из аквариума и поместить в нее 3 рыбок. Пробку плотно закрыть и укрепить камеру на подставке в горизонтальном положении. Регулируя винтовые зажимы (4), в том числе и на сливном шланге, создать в камере слабую проточность воды, доливая воду в сосуд (2) по мере необходимости. В течение 10–15 минут наблюдать за поведением рыб, отмечая характер их расположения в камере.

Приготовить по 100 мл рабочих растворов с концентрациями исследуемых веществ 1 мг/л, 10 мг/л, 100 мг/л.

Заполнить дозирующий сосуд (3) раствором токсиканта необходимой концентрации (начиная с малой — 1 мг/л) и медленно пропускать его через камеру со стороны сливного шланга (чтобы токсикант не распространялся по всему объему камеры). Отметить, какое количество вещества заданной концентрации вызывает ту или иную реакцию рыб. Определить пороговые концентрации «привлечения» и «отпугивания». Между каждым исследованием промывать аквариум отстоянной водой, создавая полную проточную систему.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Роль хеморецепции в жизни животных.
2. Хеморецепция гидробионтов. Локализация хеморецепторов и их специфичность.
3. Обнаружение и избегание рыбами токсических веществ.
4. Механизм действия фосфорорганических соединений и фенола на организм.
5. Структурно-морфологические нарушения при интоксикации.

ТЕМА 4. Действие токсических веществ на вегетативные функции гидробионтов

В начале XIX в. Мари Франсуа Биша (1801), французский анатом и физиолог, разделил функции животного организма на соматические, или анимальные, и вегетативные. Вегетативными называют те функции, которые осуществляют обмен веществ в целостном организме, т. е. такие процессы, как дыхание, кровообращение, пищеварение, выделение, рост и размножение.

По характеру «избирательной» токсичности выделяют:

- «сердечные» яды (никотин, кураре, атропин, мускарин и др.) — оказывают кардиотоксическое действие, которое проявляется в нарушении сердечного ритма и проводимости. При нарушении сердечной проводимости происходит нарушение проведения сердечного импульса по проводящей системе сердца. При этом наблюдается нарушение последовательности, скорости и силы возбуждения и сокращения сердца либо отсутствует сокращение определенного участка сердца;

- «печеночные» яды (хлорированные углеводороды, фенолы, альдегиды и др.) — оказывают гепатотоксическое действие, что, как правило, приводит к токсической дистрофии печени. Токсическая дистрофия печени характеризуется нарушением одной или нескольких функций печени, появляющимся вследствие повреждения ее паренхимы;

- «почечные» яды (этиленгликоль, соединения ртути, хрома, свинца, мышьяка и др.) — приводят к токсической нефропатии — поражению паренхимы почек и клубочкового аппарата различной этиологии;

- «кровяные» яды (нитриты, бензол, толуол и др.) — оказывают гематотоксическое действие, проявляющееся в гемолизе и метгемоглобинемии;

- «нервные» яды (фосфорорганические соединения, угарный газ и др.) — оказывают нейротоксическое действие — приводят к токсической коме, параличу.

Лабораторная работа 10

Влияние химических веществ на меланофоры чешуи рыб

Приспособительные изменения окраски кожи головоногих моллюсков, ракообразных, рыб, амфибий и рептилий достигаются путем передвижения зернышек пигмента цитоплазмой пигментных клеток, залегающих в коже (хроматофор). Различают следующие **хроматофоры**: *меланофоры* (содержат пигментные зерна черного цвета), *эритрофоры* (красного цвета), *ксантофоры* (желтого цвета) и *гуанофоры*, или *иридоциты* (не имеют пигментных зерен, содержат вещество кристаллической структуры — гуанин, благодаря которому рыба приобретает металлический блеск и серебристую окраску). В отношении химической стойкости черный пигмент (меланин) является самым стойким.

Меланофор — пигментная клетка холоднокровных позвоночных животных, содержащая гранулы с пигментом меланином (рис. 7). Меланофор отличается от меланоцита (пигментные клетки позвоночных животных и человека) способностью перемещать гранулы с пигментом (меланосомы) по клетке.

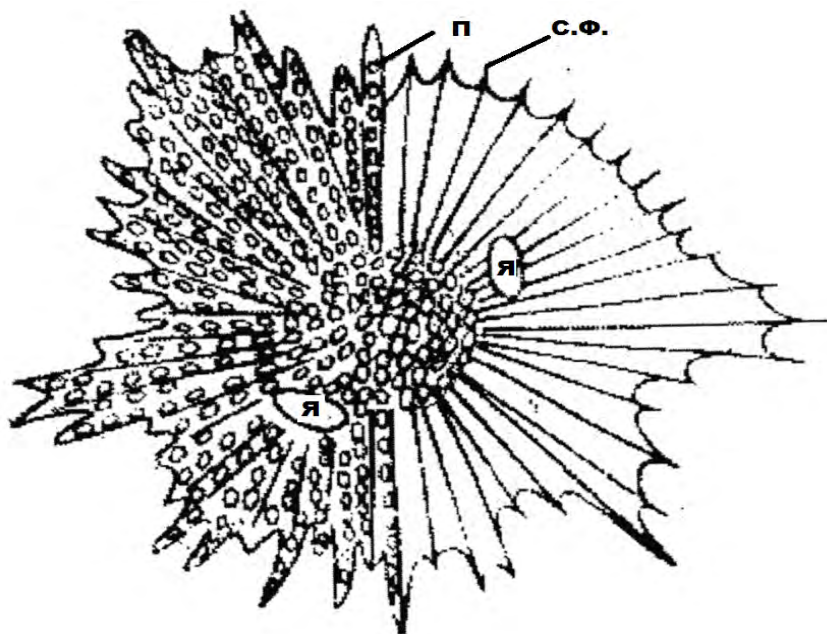


Рис. 7. Схематическое изображение меланофора карася:
справа — фаза контракции, слева — фаза экспансии: я — ядра,
п — пигментные зерна, с. ф. — скелетные фибриллы
(по Н. К. Кольцову)

Форма хроматофоров отличается значительным разнообразием, однако наиболее распространена звездчатая и дисковидная или близкая к ним (например, ветвистая). Из хроматофоров только к меланофорам подходят нервные окончания.

Функция пигментных клеток в основном сводится к расширению, занятию наибольшего пространства (экспансия) и к сокращению, занятию наименьшего пространства (контракция). Пигментные зерна находятся в плазме. Когда сокращается плазма, уменьшаясь в объеме, пигментные зерна в плазме концентрируются. Благодаря этому большая часть поверхности клетки освобождается от данного пигмента, и в результате уменьшается яркость цвета.

При экспансии плазма клетки растекается по большей поверхности, а вместе с ней распределяются по большей поверхности и пигментные зерна. Как правило, меланофоры хорошо видны в состоянии экспансии, когда пигмент растекается по всем отросткам клетки, четко обрисовывая ее форму. И наоборот, плохо или даже совсем не видна форма клетки, когда плазма находится в состоянии контракции и пигментные зерна сильно сгруппировались в центральной области клетки.

Причиной экспансии и контракции могут быть как внутренние факторы (физиологическое состояние клетки, организма), так и некоторые факторы внешней среды. Внутренние факторы действуют наиболее постоянно и длительно и связаны с самыми важными биологическими и физиологическими состояниями организма.

Меланофоры имеют двойную иннервацию (симпатическую и парасимпатическую). Такие вещества, как эрготамин и никотин, тормозят симпатический нерв, а адреналин возбуждает. При возбуждении парасимпатического нерва пилокарпином, холином, физостигмином наступает экспансия меланофоров.

В отличие от меланофоров, ксантофоры и эритрофоры не имеют иннервации. Следовательно, нервная система может оказывать непосредственное влияние только на меланофоры. Наряду с нервной регуляцией в организме существует гормональная, которой подчинены как эритрофоры и ксантофоры, так и меланофоры. Например, гормон надпочечника — адреналин — вызывает контракцию пигментных клеток в концентрации 1×10^{-9} . Его антагонист питуитрин вызывает экспансию. Ряд веществ мо-

жет заменить как адреналин (аскорбиновая кислота, пирокатехин, тимол и др.), так и питуитрин (алкалоиды: никотин, пилокарпин, атропин, ацетилхолин, физостигмин и др.; кислоты жирного ряда: лауриновая, пальмитиновая и др.).

На функцию пигментных клеток оказывают влияние и факторы внешней среды, которые способствуют изменению окраски рыбы. Появление темных или светлых тонов, яркая или бледная окраска — все это может произойти в течение короткого срока — от нескольких секунд до нескольких часов. Экспансия или контракция хроматофоров сменяются при воздействии различных факторов на пигментную клетку непосредственно или через нервную систему.

Различные токсиканты, попадающие в водоем, могут вызвать расширение или сужение пигментных пятен в клетках. Например, при отравлении солями натрия тело рыбы окрашивается в темный цвет. При отравлении солями калия отмечается светлое окрашивание кожи. Сужение пигментных пятен в клетках вызывают соли кальция, бария и др., расширение пигментных пятен — щавелевокислые и лимоннокислые соли натрия, NH_4OH и др.

В результате отравления рыб фенолами окраска тела часто бывает светлая, но при этом голова и спинка темные.

Для работы необходимо: карп или карась; физиологический раствор для рыб; предметное стекло с лункой; покровное стекло; микроскоп; окуляр-микрометр; пастеровские пипетки; фильтровальная бумага; пинцет; растворы адреналина (1:100 000), ацетилхолина (1:500 000), ФОС (250 мг/л) и фенола (50 мг/л).

Задание. Изучить воздействие гормональных препаратов и токсических веществ на меланофоры чешуи карася (карпа). Объяснить, каким образом токсические вещества, попадающие в водоем, могут изменять окраску рыб и какое значение это имеет для диагностики отравления гидробионтов.

Методика исследования

У контрольного (интактного) карася взять из спинной части тела чешуйку. Поместить ее в капельку физиологического раствора для рыб на предметное стекло в лунку. Закрыть чешуйку покровным стеклом. Под микроскопом рассмотреть пигментные пятна. С помощью окуляр-микрометра измерить диаметр основного пиг-

ментного пятна (тела) и длину одного из отростков. Сделать 2–3 повторных измерения через каждые 5 минут. Зарисовать меланофоры, учитывая пропорции тела и отростков пигментной клетки.

Затем пипеткой набрать раствор адреналина в разведении 1:100 000 и, не сдвигая чешуйку с места, заменить физиологический раствор на раствор адреналина следующим образом: нанести каплю раствора исследуемого вещества на границу покровного стекла, а с противоположной стороны стекла приложить фильтровальную бумагу и убрать излишки физиологического раствора. Наблюдая за изменениями формы меланофора, произвести повторные измерения размеров тела и отростков. После этого промыть чешуйку физиологическим раствором до возвращения пигментных клеток в исходное состояние. Повторить эксперимент с другими веществами: ацетилхолином, ФОС и фенолом.

Составить таблицу изменения диаметра пигментного пятна при воздействии исследуемых веществ. Проанализировать результаты.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

Лабораторная работа 11

Влияние токсических веществ на движение ресничек мерцательного эпителия пищевода лягушки

Клетками мерцательного эпителия выстлана поверхность дыхательных, пищеварительных и половых путей разных животных. Движение ресничек мерцательного эпителия обеспечивает перемещение жидкости и твердых частиц в соответствующем направлении. Гребное движение осуществляется распрямленной ресничкой, а возвратное — согнутой, чем достигается одностороннее перемещение среды относительно закрепленной клетки. Ресничные движения — достаточно сложный процесс, сходный с механизмом мышечных сокращений, и осуществляется специальными сократительными белками с АТФ-ной активностью. Кроме источника энергии АТФ здесь, как и в мышце, играет роль пластификатора, т. к. в отсутствие АТФ реснички застывают в одном положении. Существенную роль в движениях ресничек

играют ионы Mg^{2+} и Ca^{2+} . При росте концентрации Ca^{2+} в среде происходит остановка движения ресничек.

Важной чертой работы мерцательных эпителиев является согласованность, координированность движения ресничек в пласте клеток — метахрональные волны, — что делает гребные движения ресничек высокоэффективными. Механизм этой координации сложен и недостаточно изучен. По-видимому, он основывается на клеточных взаимодействиях. Также на мерцательную активность влияют нейромедиаторы вегетативной нервной системы (ацетилхолин, адреналин и т. д.). Их действие осуществляется через изменение кальциевой проницаемости клеток эпителия.

Для работы необходимо: препаровальная дощечка; булавки; препаровальный набор; нитки; толченый древесный уголь; секундомер; линейка; фильтровальная бумага; раствор Рингера; глазные пипетки; растворы: фенола с концентрацией 50 мг/л и ФОС с концентрацией 250 мг/л.

Задание. Изучить влияние растворов фенола и ФОС на мерцательную активность ресничек эпителия пищевода лягушки.

Методика исследования

Лягушку обездвигить разрушением головного и спинного мозга и закрепить на препаровальной дощечке спинкой вниз. Пинцетом приподнять нижнюю челюсть, ввести тупую браншу ножниц в полость рта и разрезать по средней линии нижнюю челюсть и пищевод вплоть до желудка. Расправить пищевод и зафиксировать в таком положении булавками на препаровальной дощечке. С помощью раствора Рингера и фильтровальной бумаги освободить поверхность слизистой пищевода от слизи и сгустков крови.

Провести регистрацию движения ресничек после смачивания раствором Рингера (контрольный вариант). Регистрация проводится визуально. Для этого нитками наметить верхнюю и нижнюю границы отрезка пищевода длиной 10 мм и поместить у верхней границы крупинку древесного угля. Следить за движением угля по мерцательному эпителию и отметить по секундомеру время, в течение которого будет достигнута нижняя граница. Зная пройденное расстояние, рассчитать линейную скорость передвижения частиц мерцательным эпителием пищевода.

Повторить измерение скорости движения уголька после смачивания поверхности пищевода сначала раствором ФОС, а затем раствором фенола, предварительно отмыв поверхность эпителия раствором Рингера. Излишки жидкости осторожно удалить с помощью фильтровальной бумаги, не касаясь поверхности эпителия. Сравнить опытные данные с контрольными. Проанализировать результаты.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

ТЕМА 5. Особенности предварительной оценки и установления расчетных ПДК веществ

Методология разработки ПДК (предельно допустимые концентрации) предполагает определение прямого и косвенного (опосредованного) воздействия токсического вещества.

В первом случае устанавливают границы концентраций, оказывающих прямое остролетальное, хроническое летальное и сублетальное действие на представителей основных звеньев биологического круговорота веществ в изучаемом водном, воздушном или почвенном объекте.

Для установления опосредованного влияния определяют границы концентрации загрязняющих веществ, при которых обычные показатели качества среды, например водной среды: содержание O_2 , БПК, pH, формы азота и т. д., — могут достигать критических значений, оказывающих остролетальное, сублетальное и хроническое действие.

Для установления ПДК принято проводить острые, подострые и хронические опыты. Острые опыты проводят в краткосрочном эксперименте для предварительной оценки степени токсичности и выявления остротоксичной концентрации вещества или кратности разбавления сточных вод для снижения их токсичности. Подострые опыты применяются для выявления действия токсикантов на организм и механизмов отравления, с тем чтобы выбрать адекватный метод определения пороговой концентрации исследуемого вещества. Хронические опыты — заключительный этап токсикологического исследования. Его задача — выявление пороговых кон-

центраций веществ, зоны их токсического действия и максимально недействующих (безвредных) концентраций, необходимых для установления ПДК токсических веществ или выявления минимальной кратности разбавления исследуемых вод, при которой хроническое токсическое действие не проявляется.

В аспекте предварительной токсикологической оценки с расчетным прогнозированием ориентировочных ПДК в первую очередь отмечается, 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 неперенным 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 12

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 фито-планктона, 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 хлева;

малломонас — фиалки, ароматный, рыбный.

При анализе воды определяют характер запаха, пользуясь указанными терминами.

Интенсивность запаха выражается по пятибалльной системе, согласно следующей классификации (табл. 2).

Таблица 2

Оценка интенсивности запаха воды в баллах

Балл	Термин	Описательное определение
0	Никакого	Запах 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: растворы: фенол — 1 %, ФОС — 1 %, аммиак — 10 %; 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: ФОС, фенола, аммиака, — производя разведение маточных растворов веществ дистиллированной водой в 10^n , т. е. в 10, 100, 1 000 и большее количество раз, с указанием исходной концентрации токсических веществ.

Оформить протокол опыта. Сделать выводы.

Лабораторная работа 13

Методики оценки порога раздражающего действия химических веществ на верхние дыхательные пути мелких лабораторных животных

Ведущим критерием ощущения запаха, естественно, на всех этапах токсиколого-гигиенических и гигиенических исследований остается ощущение запаха людьми. Однако определенное представление о наличии запаха или раздражающего действия можно получить и в экспериментах на животных.

Для оценки порога раздражающего действия на верхние дыхательные пути у мелких лабораторных животных учитываются интегральные показатели, рефлекторные реакции и функциональное состояние слизистых оболочек (Н. Г. Иванов и др., 1973). В качестве интегральных показателей, например, можно применять определение времени сгибательного рефлекса у кроликов, спонтанную активность белых мышей, показатель суммационной способности центральной нервной системы. Многими учеными доказано, что при адекватных методиках регистрации порог раздражающего действия у крыс находится на уровне, близком таковому у человека.

Для работы необходимо: белые мыши или крысы; клетка для мелких лабораторных животных; корнцанги; чашки Петри — 3 шт.; хлебные сухарики; мерные колбы на 100 мл — 3 шт.; мерные цилиндры на 100 мл — 3 шт.; пипетки химические на 1,0 и 10,0 мл — по 3 шт.; дистиллированная вода; карандаш по стеклу; растворы: фенола, ФОС — 1 %, аммиака — 10 %.

Задание. Установить пороговые разведения и пороговые концентрации токсических веществ по запаху и раздражающему действию на лабораторных животных. На основании результатов исследования провести сравнение и сделать вывод о возможности экстраполяции на человека данных, полученных на животных.

Методика исследования

Белым мышам или крысам предлагать хлеб, смоченный растворами исследуемых веществ различных разведений (концентраций). Установить пороговые разведения и концентрации по запаху и раздражающему действию следующих веществ: фе-

нола, аммиака и карбофоса, производя разведение исходных маточных растворов в геометрической прогрессии с шагом 10 n, где $n = 1, 2, 3 \dots$. Контрольным вариантом будет кусочек хлеба, смоченный водой. Наблюдать за поведением животных, отмечая характер реакции на конкретную концентрацию исследуемого вещества. За недействующую концентрацию принимается та, при которой животное сразу же начинает поедать корм.

По результатам наблюдений составить таблицу. Оформить протокол. Сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Определение предельно допустимой концентрации.
2. Основные принципы установления предельно допустимых концентраций.
3. Практика разработки ПДК.
4. Классы опасности экотоксикантов.
5. Проблемы установления предельно допустимых концентраций.

Краткий словарь терминов

Адаптация компенсаторная — биохимические изменения в организме, восстанавливающие его функциональные способности до прежнего уровня (т. е. до начала нарушений под воздействием токсиканта).

Аддитивное действие ядов — суммирование действия ядов. При нормировании сброса сточных вод, содержащих ядовитые вещества, учитывается их суммированное действие. Предельно допустимая концентрация (ПДК) для каждого яда должна быть уменьшена на соответствующую величину, определяемую для каждого входящего компонента. Учитывают арифметическую сумму эффектов действия.

Активно действующее вещество — часть технического препарата (ядохимиката), обладающая токсическими свойствами. Остальная его часть является наполнителем (гранулы, порошок и др.) или загрязнителем. В некоторых случаях наполнители и загрязнители тоже могут обладать токсическими свойствами.

Антагонизм токсикантов — ослабление или уничтожение действия одного токсиканта другим. Известно антагонистическое действие ионов металла, одновалентных и двухвалентных металлов и пестицидов, фтористых соединений и извести и др.

Биологическая очистка воды — удаление (разрушение) загрязняющих воду веществ с помощью водных организмов, которые в процессе своей жизнедеятельности разрушают и переводят в другие формы токсические вещества. Для биологической очистки широко используют аэротенки и биологические пруды. Биологическая очистка наиболее эффективна при очистке воды, загрязненной органическими веществами.

Биологический контроль — проверка качества воды по биологическим показателям (составу видов животных, растений, особенно водорослей, простейших, бактерий и грибов), определение токсичности воды для некоторых гидробионтов.

Вода загрязненная — вода ухудшенного качества по сравнению с теми требованиями, которые предъявляет водопотребитель. Процесс ухудшения качества воды происходит в результате деятельности человека (промстоки, смывы, нефть и т. п.). Характер и степень загрязнения могут по-разному оцениваться разными водопотребителями. Первым признаком загрязненности воды служит появление пленок, осадков, окраски, запаха и т. п.

Вторичное загрязнение — изменение свойств природной воды в результате жизнедеятельности организмов, выделяющих в воду продуктов обмена, например выделения водорослей, особенно сине-зеленых, выделения сероводорода, метана, угольной кислоты и других веществ. Вторичное загрязнение является часто результатом смены биоценозов вследствие изменения физико-химических свойств воды (уменьшение освещенности слоев воды, понижения содержания кислорода и др.). При сильном развитии фитопланктона выделяемые им метаболиты могут вызвать заморы и отравление домашнего скота.

Гидробиологический контроль — длительное слежение за изменениями биологических процессов в водоемах (видовой состав гидробионтов, их разнообразие, численность и биомасса, ихтиофауна и т. п.), контроль за темпами роста и продуктивностью преобладающих видов, сменой сообществ, качеством промысловых объектов. Задачи гидробиологического контроля: отмечать тенденции происходящих изменений; анализировать причину и следствие данных изменений; служить исходным материалом для прогнозирования качества воды и биологических процессов в водоеме.

Границы действия вещества — концентрация вещества, при которой еще заметно действие на один из изучаемых показателей (имеется статистически значимое влияние).

Детоксикации ферменты — ферменты, которые, соединяясь с ядами (токсикантами), разрушают их или переводят в инактивное состояние. Ферменты могут образовываться вновь в ответ на поступление яда в организм.

Детоксикация — процесс уменьшения или полного снятия токсичности, который может достигаться путем разрушения молекулы токсиканта и ее химического превращения в другие, не токсические вещества и т. п. Этот процесс называется истинной детоксикацией. В организме степень детоксикации зависит от активности механизмов детоксикации: ферментов разрушения, связывания яда, состояния организма, характера среды. Токсикант, попавший в водоем, распределяется между толщей воды, грунтом и водными организмами, сохраняя при этом свою токсичность (например, тяжелые металлы). Вследствие этого процесса концентрация токсиканта в воде уменьшается. Такую детоксикацию называют ложной.

Доза — количество вещества (г/кг, мг/кг, мкг/кг), вводимого в организм в расчете на его единицу веса. Термин «доза» большей частью употребляется по отношению к наземным животным и человеку. В применении к водным организмам используют термин «концентрация», обозначающий количество вещества, которое растворено в единице объема водной среды.

Доза эффективная — количество вещества, вызывающее регистрируемый эффект (например, боковое положение у рыб, судороги, исчезновение реакции на что-либо, отсутствие активного движения и т. п.). В этом случае гибели организма нет.

Залповый сброс сточных вод — процесс, при котором, в отличие от непрерывного потока сточных вод производства, в силу тех или иных причин в открытый водоем сразу сбрасывается значительное количество сточных вод производства, накопленных за некоторое время. В результате концентрация токсических веществ в водоеме сразу повышается до значительного уровня и может оставаться стабильной в течение нескольких часов и суток.

Замор — массовая гибель водных животных, особенно рыб. Причинами замора: значительное понижение концентрации растворенного в воде кислорода (до 40–50 % от нормы); появление в воде токсических веществ, среди которых главное место занимают промышленные сточные воды, пестициды, продукты гние-

ния от бытовых сточных вод. В природных условиях заморы обычно возникают в ночное время, в период массового «цветения» воды. В зимнее время причиной заморов является отсутствие проникновения в воду воздуха из атмосферы через толщу льда. Гибель разных животных зависит от их чувствительности к дефициту кислорода или токсическим веществам.

Зона загрязнения — часть акватории, имеющая загрязнение выше допустимых норм. Степень загрязненности уменьшается от центра источника загрязнения к периферии.

Зона токсического действия — диапазон концентраций токсиканта, при которых отмечается токсический эффект для высокочувствительных и малочувствительных особей данного вида. Зону токсического действия можно рассматривать как характеристику расселения разночувствительных особей вида. Другое понимание зоны токсического действия — это диапазон концентраций токсиканта от пороговых до смертельных.

Зона сапробности — классификация водоемов по степени загрязненности, т. е. по относительному содержанию органических веществ.

Избирательность действия токсиканта (определяется разной чувствительностью видов к данному яду) — действие токсиканта на узкую группу или на некоторые виды животных, например только на рыб, или только моллюсков, или на их отдельные виды. Избирательность действия токсиканта наиболее резко выражается на уровне крупных таксономических единиц (тип, класс, отряд) и наименее резко — на уровне видов. Подбор токсикантов с узким избирательным действием (только на один вид) весьма затруднителен.

Инверсия токсичности (лат. «инверсио» — переворачивание, перестановка) — токсичность вещества не изменяется синхронно с его концентрацией; в некотором интервале концентраций наблюдается увеличение токсичности с уменьшением концентрации.

Индекс токсичности — количество вещества, накапливающееся в организме в расчете на 1 кг живого веса в момент его гибели.

Интермиттирующее действие — прерывистое, периодическое действие токсиканта на организм.

Интоксикация — нарушение жизнедеятельности, вызванное токсическими веществами, проникшими в организм извне (экзогенная интоксикация) или образовавшимися в нем (эндогенная интоксикация).

Концентрация — содержание вещества в единице объема воды или на единице поверхности. Концентрацию выражают в процентах (%), граммах на литр (г/л), миллиграммах на литр (мг/л), граммах на м² (г/м²), миллиграммах на м² (мг/м²), а также числом организмов в 1 литре и на 1 м².

Концентрация допустимая — понимается в двух значениях: 1. Концентрация, которая допустима для данных условий по хозяйственному использованию водоема (заводской водоем, водоем, не имеющий промышленных объектов и т. п.). 2. Концентрация, при которой нет нарушений в качестве воды, т. е. недействующая концентрация с нулевой токсичностью.

Концентрация переносимая — концентрация отравляющего вещества, при которой нормальный организм может существовать в течение одних суток без какого-либо вреда для себя. Величина переносимой концентрации имеет относительное значение.

Концентрация пороговая — минимальная действующая концентрация токсиканта, вызывающая изменения какого-либо показателя. Зависит от выбранного показателя: чем этот показатель чувствительнее, тем меньше пороговая концентрация, на которую влияет также ряд других факторов (видовая принадлежность, пол, возраст, физиологическое состояние, индивидуальные различия, особенности окружающей среды и др.). Понятие «пороговая концентрация» имеет практическое значение в оценке опасного влияния токсиканта.

Концентрация смертельная (летальная) — концентрация вещества, при которой наступает гибель организма. Величина

смертельной концентрации зависит от ряда причин: видовых различий, пола, возраста, индивидуальных различий, длительности действия токсиканта, особенностей окружающей среды (рН, температура, содержание в воде кислорода, жесткость воды и т. п.).

Концентрация накопления токсиканта — отношение концентрации токсического вещества в организме (мг/кг) к концентрации его в воде (мг/л). Коэффициент накопления показывает, во сколько раз больше вещества накапливается в организме, чем его содержится в таком же объеме окружающей среды.

Критерий токсичности — признак (показатель), на основании которого производится оценка токсичности.

Кумуляция — накопление, суммирование. Кумуляция токсического воздействия происходит в том случае, когда скорость поступления токсического вещества в организм больше скорости его выведения из организма. Различаю два вида кумуляции: 1) накопление вещества (материальная кумуляция); 2) накопление эффектов, вызываемых веществом (функциональная кумуляция).

Латентный период (скрытый период) — время от момента поступления токсиканта в организм до момента появления признаков отравления, нарушений физиологических функций или время между моментом начала контакта организма с ядом и временем проявления его влияния (проявлением реагирования на яд).

Лимитирующий признак вредности — показатель (органолептический, токсикологический, общесанитарный), по которому ограничивается концентрация токсиканта в воде.

Метатоксическое действие веществ — способность химических соединений снижать сопротивляемость организма, главным образом к инфекциям.

Мониторинг — непрерывный длительный процесс наблюдения и регистрации параметров объекта.

Нитрификация — процесс разложения органических веществ до аммиака и окисление его до азотистой кислоты, а затем до азотной кислоты.

Норма организма (норма в физиологии и медицине) — условное обозначение равновесия организма, отдельных его органов и функций в условиях меняющейся внешней среды.

Остаточная вредность — последствия токсического или вредного влияния. Выражается в понижении общей жизне-способности и устойчивости к инфекционным заболеваниям. В отличие от острого отравления остаточная вредность не приводит к смертельному исходу.

Отклик системы — реакция системы (организма, сообщества, экосистемы) на воздействие токсиканта или вообще на внешнее воздействие.

Отравление — нарушение физиологических функций организма в результате воздействия токсического вещества.

Первичное загрязнение — попадание в чистые поверхностные воды бытовых, промышленных, рудных, шахтных и нефтесодержащих стоков, а также смывных вод с поверхности суши, содержащих пестициды, удобрения и т. д.

Персистентность — см. Стойкость токсиканта.

Показательные организмы — организмы, по которым судят о качестве воды данного водоема. По набору видов гидробионтов, характерных для водоемов с той или иной степенью загрязнения (степенью сапробности), судят о характере и степени загрязненности водоема. Для водоемов с различной степенью сапробности и специфическим загрязнением имеются перечни видов гидробионтов, встречающихся в таких водах. По видовому составу биоценозов водоемов судят о степени и характере его загрязнения.

Порог вредного действия вещества — такая минимальная концентрация его во внешней среде, при которой в организме (при конкретных условиях поступления вещества) возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций, или скрытая (временно компенсированная) патология.

Порог вредности численности вида — такая величина численности вида в данном водоеме, которая лежит на грани поддержания равновесного состояния в сообществе. При увеличении

численности вида равновесие в сообществе нарушается (например, при увеличении численности сине-зеленых водорослей).

Порог недостаточности численности вида — численность вида, которая не обеспечивает его нормального существования в течение длительного времени.

Порог отпугивания — та минимальная концентрация токсиканта, при которой подвижный организм (например, рыба) активно избегает участка воды с данной концентрацией токсиканта.

Порог раздражения — минимальная граница действия, определяемая минимальной концентрацией (в мг/л) отравляющего вещества, которая вызывает начальное типичное изменение или осязаемое раздражение органа, главным образом подвергнутого действию данного отравляющего вещества.

Последствие ядов — явление, при котором яд, не вызывая смерти данного организма, нарушает его физиологические функции таким образом, что приводит к нарушению дальнейшего развития, уменьшению плодовитости, появлению дегенеративного потомства и в ряде случаев — гибели потомства.

Предельно допустимая концентрация — официально утвержденная максимальная величина допустимого содержания вредного вещества в среде, т. е. такая максимальная концентрация, при которой еще возможно нормальное существование организма (вида), полное осуществление его биологического цикла. Эту концентрацию также называют максимально действующей.

Предельно допустимый выброс (ПДВ) — ограниченный выброс загрязняющих веществ в окружающую природную среду. ПДВ ограничивает объем выбросов токсикантов для каждого источника загрязнения.

Привыкание к ядам — частный случай приспособления. В водоеме привыкание к яду (токсиканту) может быть результатом индивидуальной приспособленности и отбора организмов с повышенной резистентностью к данному токсиканту или группе сходных токсикантов.

Резистентность к ядам — способность организма поддерживать нормальный уровень жизненных процессов в условиях химического загрязнения среды обитания. Достигается благодаря повышенному регуляционному механизму сопротивления действующему раздражителю или слабой проницаемости токсиканта в организм. Резистентность зависит от физиологического состояния, возраста и видовой принадлежности.

Самоочищение воды водоемов — совокупность процессов, протекающих в водоеме, в результате которых загрязняющие вещества разрушаются или переводятся в другие формы. Главными процессами, участвующими в самоочищении, являются: физические (оседание суспендированных частиц, всплытие на поверхность легких фракций, испарение и др.); химические (окисление кислородом, растворенным в воде, переход в гидраты, коагуляция и осаждение, гидролиз токсикантов и др.); биологические (включение загрязняющих веществ в обменные процессы, их разрушение или перевод в другие, не токсические формы соединений у различных гидробионтов). В самоочищении водоема принимают участие все гидробионты, но главную роль играют бактерии, грибы, простейшие и многоклеточные животные — фильтраторы.

Синергизм действия ядов — одновременное действие ядов нескольких токсических веществ на организм в одном направлении. При синергизме яды оказывают более губительное действие, чем арифметическая сумма последовательных эффектов каждого яда в отдельности.

Стабильность яда — устойчивость яда в воде, почве. При повторных внесениях яд может накапливаться, сохраняя токсичность. Например, к наиболее стабильным ядам относятся хлорорганические соединения, к менее стабильным — фосфорорганические.

Стойкость токсиканта (персистентность) — способность токсиканта сохранять свою токсичность в продолжение какого-то времени, не подвергаясь распаду, окислению, комплексообразованию и т. д. Положительное свойство устойчивости токсиканта

состоит в том, что созданная в водоеме концентрация остается действующей в течение длительного времени и можно избежать дополнительного внесения токсиканта. Отрицательное следствие персистентности токсиканта — в длительном загрязнении среды.

Суммация эффекта — сложение эффектов, обусловленных воздействиями, исходящими от разных токсических веществ и от разных факторов среды.

Токсиканты — общее название ядовитых для организмов веществ разной химической природы.

Токсикодинамика — динамика отравления, изменения, вызываемого ядом, процесс отравления, его развитие. В широком смысле — динамика действия химического вещества вообще.

Токсикокинетика — раздел токсикологии, изучающий скорость и механизмы действия яда, закономерности протекания токсических эффектов во времени, миграции яда (поступление, места накопления, распределение, метаболизм и выведение), кинетику взаимодействия яда с рецепторами.

Токсикология — наука о реагировании организмов на воздействие яда и о способах борьбы с отравлениями.

Токсикометрия — измерение токсичности действующего вещества. На основании токсикометрии разрабатываются профилактические мероприятия для оздоровления внешней среды.

Токсины — ядовитые вещества специфического действия, образуемые преимущественно бактериями, а также растениями и животными.

Токсичность — ядовитость, свойство химических соединений оказывать вредное или даже смертельное воздействие на организм. Естественная токсичность — токсичность среды, обусловленная природными процессами (выделения микроорганизмов, растений и животных, выбросы вулканов и т. п.). Искусственная токсичность — токсичность, возникшая в результате деятельности человека (сброс сточных вод в водоемы и водотоки, смыв с поверхности суши ядохимикатов, выпадение из атмосферы ядовитых веществ).

Условия действия ядов — особенности условий, при которых действует яд (токсикант). Главными являются особенности организмов, физико-химическая характеристика водной среды, концентрация растворенных органических веществ, наличие других токсикантов, химическая природа токсиканта.

Функциональная нагрузка — дополнительное воздействие на организм, вызывающее усиление его физиологических функций. Действие яда (токсиканта) в сочетании с физиологической нагрузкой проявляется сильнее, чем действие одного яда при нормальном уравновешенном состоянии. Форма функциональной нагрузки может быть разной: изменение температуры среды, общей солености воды, понижение концентрации растворенного в воде кислорода, голодание и др., физиологические нагрузки, воздействие прочих ядов, т. е. токсические нагрузки.

Химическое потребление кислорода (ХПК) — количество кислорода, идущее на окисление органических веществ в пробе воды, определяемое по окислению бихромата калия в присутствии катализатора (серноокисное серебро).

«Цветение» воды — значительное увеличение в поверхностном слое воды численности водорослей, придающих ей зеленую, сине-зеленую, буроватую и другую окраску в зависимости от видовой принадлежности преобладающих видов водорослей. В период «цветения» вода может стать токсичной для некоторых гидробионтов, например рыб, вследствие повышения концентрации ядовитых выделений водорослей.

Чувствительность организма к яду — скорость и степень реагирования на воздействия яда (токсиканта). Определяется временем начала проявления реакции или величиной концентрации яда, при которой возникает реакция. Чувствительные организмы быстрее реагируют на меньшие концентрации яда по сравнению с малочувствительными.

Эвтрофирование водоема — повышение концентраций биогенных элементов в воде (азота, фосфора, серы, железа, марганца и др.).

Эффективная концентрация — та минимальная концентрация токсиканта, при которой регистрируется эффект — отклик организма на воздействие.

Эффективное действие токсиканта — заметное, определяемое по каким-либо показателям изменение состояния гидробионта. Обусловливается той концентрацией вещества, которая накапливается в основной для данного воздействия точке приложения действия (органе, ткани и т. п.), откуда затем иррадируют импульсы, сигналы нарушения в другие органы и ткани, что может привести к значительным нарушениям.

Яд — химическое соединение, которое, попав в организм в малом количестве, вызывает повреждение, нарушение жизнедеятельности или даже смерть. Каждое вещество может при определенной концентрации быть ядом, и, наоборот, яд в малых концентрациях может не быть ядом.

Ядов характеристика — важнейшими характеристиками ядов являются токсические и действующие концентрации, вызывающие повреждающий эффект (чем меньше действующая концентрация, тем сильнее яд); время от момента контакта организма с ядом до времени проявления его действия; обратимость действия, т. е. глубина и степень повреждения; способность к кумуляции; стабильность; широта токсического действия.

Литература

1. Основы физиологии человека : учебник : в 2 т. / Н. А. Агаджанян, И. Г. Власова, Н. В. Ермакова, В. И. Торшин. — М. : РУДН, 2014. — 443 с.
2. Батян, А. Н. Основы общей и экологической токсикологии : учеб. пособие / А. Н. Батян, Г. Т. Фрумин, В. Н. Базылев. — СПб. : СпецЛит, 2009. — 352 с.
3. Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях поверхностных вод объектов (на примере нефти) / отв. исп. Л. В. Михайлова. — М. : РЭФИА, НИА-Природа, 2002. — 132 с.
4. Зайцева, О. В. Исследование специфики нарушений процессов хеморецепции в поисковых поведенческих реакциях модельных объектов при действии различных доз основных классов токсикантов / О. В. Зайцева, В. В. Ковалев, Н. Е. Шувалова // Сенсорные системы. — 1993. — Т. 7 — С. 78–82.
5. Зайцева, О. В. Современное биотестирование вод, требование к тест-организмам и тест-функциям с позиций сравнительной физиологии и физиологии адаптационных процессов / О. В. Зайцева, В. В. Ковалев, Н. Е. Шувалова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. — 1994. — Т. 30. № 4. — С. 575–592.
6. Карпухина, О. В. Исследование металл-индуцированного окислительного стресса у одноклеточных организмов / О. В. Карпухина, К. З. Гумаргалиева, А. Н. Иноземцев // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 11-4. — С. 671–674.
7. Котелевцев, С. В. Экологическая токсикология и биотестирование водных экосистем : учеб. пособие / С. В. Котелевцев, Д. Н. Маторин, А. П. Садчиков. — М. : ИНФРА-М, 2015. — 251 с.
8. Лебедева, В. А. Механизмы хеморецепции / В. А. Лебедева. — М. ; Л. : Наука, 1965. — 153 с.
9. Толкачева, Т. А. Изучение физиологических, биохимических показателей тканей пресноводных моллюсков для экологического мониторинга водоемов / Т. А. Толкачева, Д. М. Хитров // Наука —

образованию, производству, экономике : материалы XX (67) Региональной научно-практической конференции преподавателей, научных сотрудников и аспирантов : в 2 т. ; гл. ред. И. М. Прищепа. — Витебск : ВГУ им. П. М. Машерова, 2015. — С. 79–81.

10. Лукьяненко, В. И. Общая ихтиотоксикология / В. И. Лукьяненко. — М. : Легкая и пищевая промышленность, 1983. — 320 с.

11. Осипов, Б. С. Нейрофизиология беспозвоночных : учеб. пособие / Б. С. Осипов. — Калининград : КГУ, 1982. — 83 с.

12. Рябухина, Е. В. Токсикология гидробионтов (водная токсикология) : метод. руководство / Е. В. Рябухина. — Ярославль : ЯрГУ, 2001. — 28 с.

13. Рябухина, Е. В. Экологическая токсикология : метод. указания / Е. В. Рябухина. — Ярославль : ЯрГУ, 2004. — 47 с.

14. Рябухина, Е. В. Водная токсикология : метод. указания / Е. В. Рябухина, Е. М. Фомичева. — Ярославль : ЯрГУ, 2013. — 48 с.

15. Сердюк, В. С. Основы токсикологии : учеб. пособие / В. С. Сердюк, Л. Г. Стищенко. — Ханты-Мансийск : РИЦ ЮГУ, 2006. — 232 с.

16. Строганов, Н. С. Краткий словарь терминов по водной токсикологии : учеб. пособие / Н. С. Строганов. — Ярославль : ЯрГУ, 1982. — 43 с.

17. Филенко, О. Ф. Основы водной токсикологии / О. Ф. Филенко, И. В. Михеева. — М. : Колос, 2007. — 144 с.

18. Ястребов, М. В. Экология : соотношение основных понятий : учеб. пособие / М. В. Ястребов, И. В. Ястребова. — Ярославль : ЯрГУ, 2006. — 156 с.

Оглавление

Введение	3
Биологическое действие токсических веществ.....	4
Влияние токсического загрязнения на популяции и сообщества	5
Характеристика основных токсикантов, используемых в практических работах	6
ТЕМА 1. Токсикологические исследования на одноклеточных организмах	9
Лабораторная работа 1. Влияние химических веществ на численность клеток зеленых протококковых водорослей.....	10
Лабораторная работа 2. Влияние химических веществ на выживаемость и функциональные показатели ресничной инфузории <i>Paramecium caudatum</i> , Ehrenberg 1838.....	15
ТЕМА 2. Диагностика отравления гидробионтов.....	18
Лабораторная работа 3. Симптомокомплекс при отравлении рыб ядами резорбтивного действия.....	19
Лабораторная работа 4. Симптомокомплекс при отравлении рыб ядами локального действия	21
Лабораторная работа 5. Симптомы отравления дафний пестицидами.....	23
Лабораторная работа 6. Влияние токсических веществ на частоту дыхательных актов брюхоногого моллюска <i>Potamocorbula aspera</i> sp.	24
ТЕМА 3. Влияние токсических веществ на хеморецепцию гидробионтов	26
Лабораторная работа 7. Влияние токсических веществ на процессы хеморецепции в поисковых поведенческих реакциях брюхоногого моллюска <i>Potamocorbula aspera</i> sp.	28
Лабораторная работа 8. Хеморецепция веществ кожей лягушки (по изменению частоты дыхания)	29

Лабораторная работа 9. Избегание рыбами некоторых токсических веществ.....	31
ТЕМА 4. Действие токсических веществ на вегетативные функции гидробионтов	34
Лабораторная работа 10. Влияние химических веществ на меланофоры чешуи рыб	35
Лабораторная работа 11. Влияние токсических веществ на движение ресничек мерцательного эпителия пищевода лягушки.....	38
ТЕМА 5. Особенности предварительной оценки и установления расчетных ПДК веществ.....	40
Лабораторная работа 12. Методика органолептического исследования воды	42
Лабораторная работа 13. Методики оценки порога раздражающего действия химических веществ на верхние дыхательные пути мелких лабораторных животных	45
Краткий словарь терминов.....	47
Литература.....	59

Учебное издание

Экологическая токсикология

Составитель

Фомичева Елена Михайловна

Учебно-методическое пособие

Редактор, корректор М. Э. Левакова

Верстка М. Э. Леваковой

Подписано в печать 20.06.17. Формат 60×84 1/16.

Усл. печ. л. 3,72. Уч.-изд. л. 2,5.

Тираж 4 экз. Заказ

Оригинал-макет подготовлен

в редакционно-издательском отделе ЯрГУ.

Ярославский государственный университет

им. П. Г. Демидова.

150003, Ярославль, ул. Советская, 14.

