

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ,
НАУКИ И КАДРОВОЙ ПОЛИТИКИ**

**Учреждение образования
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
ОРДЕНОВ ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ
И ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»**

Кафедра ихтиологии и рыбоводства

М.М. Усов, О.В. Усова

ВОДНАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

*Методические указания
по изучению дисциплины для студентов,
обучающихся по специальности
7-06-011-01 Зоотехния*

**Горки
БГСХА
2024**

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ,
НАУКИ И КАДРОВОЙ ПОЛИТИКИ

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
ОРДЕНОВ ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ
И ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

Кафедра ихтиологии и рыбоводства

М.М. Усов, О.В. Усова

ВОДНАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

*Методические указания
по изучению дисциплины для студентов,
обучающихся по специальности
7-06-011-01 Зоотехния*

Горки
БГСХА
2024

УДК

*Рекомендовано методической комиссией факультета
биотехнологии и аквакультуры . .2024 (протокол №)
и Научно-методическим советом БГСХА . .2024 (протокол №)*

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *М. М. Усов*;
старший преподаватель *О. В. Усова*

Рецензент:

доктор сельскохозяйственных наук, профессор *Н.А. Садо́мов*;

Водная токсикология : методические указания по изучению дисциплины / М. М. Усов, О. В. Усова. – Горки : БГСХА, 2024. – 41 с.

Приведены методические указания по изучению учебной дисциплины «Водная токсикология». Методические указания подготовлены в соответствии с учебной программой для высших учебных заведений по данной специальности.

Для студентов, обучающихся по специальности 7-06-011-01 Зоотехния.

© УО «Белорусская государственная
сельскохозяйственная академия», 2024

ВВЕДЕНИЕ

В XX в. в связи с широким применением химических веществ практически во всех сферах человеческой деятельности, в том числе и рыбоводстве, возникла необходимость решения сложных проблем токсического влияния веществ на человека, другие живые организмы, экосистемы в целом.

Токсикология (от греч. *toxikon* – яд, *logos* – учение) – наука о заболеваниях организма, вызванных воздействием вредных веществ (ядов), изучающая взаимодействие организма и яда.

Дисциплина «Экология и токсикология рыб» преследует определенные *цели*: это изучение основ водной токсикологии, реакции гидробионтов на воздействие ядов, симптомов интоксикации и механизмы действия различных видов токсикантов органического и минерального характера, процессы самоочищения водоемов.

Т е м а1. ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПОСТРОЕНИЯ МЕТОДИК ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ: ВОДЫ, ВОДОЕМОВ, РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ГИДРОБИОНТОВ

Цель: уяснить основные принципы построения методик токсикологических исследований: воды, водоемов, различных видов гидробионтов.

Материал и оборудование: плакаты, микроскоп, препараты.

Задание:

1. Освоить теоретический материал.
2. Изучить методику проведения токсикологических исследований на примере карася.

При построении методик токсикологических исследований изучают рыбоводно-биологические показатели, такие как: масса рыбы, длина до конца хвостового плавника (см), длина головы, ширина рта, обхват тушки, коэффициент упитанности (по Фультону), пол рыбы, возраст (лет), масса икры (г), выход икры на одну самку (%), плодовитость абсолютная (тыс.шт.), плодовитость относительная (тыс. шт./ кг), оплодотворяемость икры (%), объем эякулянта (мл³), подвижность сперматозоидов (по шкале Персова), (баллы), время подвижности сперматозоидов (с), выживаемость предличинок на стадии выклева (% выживаемости личинок на стадии перехода на активное питание), размерно-весовые показатели молоди, экспресс-оценка жизнестойкости.

Наиболее часто используют морфофизиологические исследования крови, определяющие следующие показатели: содержание гемоглобина (HGB), общее число эритроцитов (RBC), гематокритную величину (PCV). Кроме того, в современной медицинской и ихтиопатологической практике используют различные эритроцитарные индексы позволяющие количественно характеризовать состояние эритроцитов. К ним относят: среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средний объем эритроцита (MCV), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC). Эритроцитарные индексы важны для выявления гипо- и гиперхромазии, что, в основном у рыб, является следствием микро-, макро- и мегалоцитоза.

Биохимический комплекс – это ряд физиолого-биохимических показателей: скорость перекисного окисления липидов, активность антиоксидантов, цитохромксидазы и лактатдегидрогеназы – в белых мышцах и печени, содержание гликогена в последней, концентрация белка, холестерина фосфолипидов и лимфоцитов – в крови.

С помощью гистологических показателей изучают морфофункциональное состояние печени, жабр, белых мышц спины и гонад.

Общие методы диагностики отравлений рыб. Отравления рыб диагностировать очень сложно, так как они часто возникают внезапно, протекают в быстро изменяющихся условиях среды, проявляются недостаточно специфичными признаками.

Чтобы получить максимально полные сведения, диагностику отравлений осуществляют комплексно по следующей схеме:

- обследование водоема и выявление источника загрязнения;
- клинический осмотр отравленных рыб;
- патологоанатомическое исследование;
- биологические и органолептические исследования;
- лабораторные исследования;
- оценка результатов исследований.

Обследование водоема и выявление источника загрязнения. В случае массовой гибели рыб проводят комиссионное обследование водоема (рыбоводного хозяйства) с участием специалистов ветеринарной и ведомственной ихтиопатологической службы, органов рыбоохраны, водного хозяйства, санэпидемстанции и представителей местного Совета народных депутатов.

Определяют участки и места концентрации больных и погибших рыб, уточняют время появления болезни и характер ее течения, видовой и возрастной состав заболевших рыб и других гидробионтов. Ви-

зуально оценивают состояние водоема, его дна, береговой зоны, степень зарастания.

На месте определяют температуру, рН, прозрачность, запах, окраску воды, содержание в воде кислорода и двуокси углерода, а также проводят клинические наблюдения и патологоанатомическое вскрытие больных и погибших рыб. Берут пробы воды, рыбы, грунта и других объектов для химико-токсикологических исследований. Уточняют наличие промышленных предприятий, коммунально-бытовых, сельскохозяйственных объектов, сбрасывающих сточные воды в водоем. Собирают сведения о масштабах, ассортименте и сроках применения пестицидов и удобрений в сельском и лесном хозяйствах.

Клинический осмотр отравленных рыб проводят по схеме, принятой в ихтиопатологии. Осматривают 50 – 100 экземпляров рыб, а затем выборочно вскрывают 15 – 20 штук каждого вида и возраста.

В первую очередь изучают поведение рыб в естественном водоеме или аквариуме, учитывают реакцию рыб на внешние раздражители, положение тела в воде, подвижность и координацию движений, наличие спазмов мускулатуры и судорог, частоту и ритм дыхания и т.д.

По тяжести проявления симптомов условно различают легкую, среднюю и тяжелую степень острого отравления. При легком течении (начальной стадии) интоксикации симптомы слабо выражены, отмечают нарушение возбудимости, ориентации рыб в воде, замедление или ускорение плавания, изменение частоты дыхания, «кашель».

Средняя степень (стадия иммобилизации) отличается бурным проявлением типичных признаков отравления: потерей равновесия, нарушением координации движения (плавание в боковом положении, по кругу, спирали, штопорообразно и т. п.).

Тяжелая степень (агония) характеризуется угнетением, полной депрессией, потерей рефлексов, замедлением движения, опусканием на дно и гибелью рыб.

Патологоанатомические исследования. Включают в первую очередь количественный учет трупов рыб и других гидробионтов. При внешнем осмотре устанавливают вид, возраст рыб, регистрируют основные изменения внешних покровов и естественных отверстий. По трупному окоченению и степени разложения судят о времени гибели рыб.

При отравлении ядами нервно-паралитического действия (пестициды и др.) трупное окоченение наступает гораздо быстрее и сильнее выражено, по сравнению с веществами местнораздражающего и наркотического действия.

С повышением температуры воды разложение трупов ускоряется, что затрудняет правильную оценку морфологических изменений.

Многие отравления рыб сопровождаются повышением секреции слизи на коже и жабрах. Однако механизм этого процесса и состояние слизи бывают неодинаковыми. Так, кислоты и тяжелые металлы способны коагулировать слизь, она становится густой, творожистой, плохо отделяется. Щелочи, соли щелочноземельных металлов, аммиак разжижают ее, в результате чего она быстро смывается, происходит истощение ее запасов и поверхность тела становится суховатой, а чешуя шероховатой.

Жабры являются важнейшим органом всасывания и выведения ядовитых веществ из организма рыб. Различные токсиканты оказывают на жабры рефлекторное, раздражающее и реже некротизирующее действие.

При вскрытии брюшной полости обращают внимание на ее содержимое, топографию и внешний вид органов, их консистенцию, размеры, степень кровенаполнения, окраску крови, серозных и слизистых оболочек, а также наличие запаха того или иного химического вещества.

Биологические и органолептические исследования. Для доказательства токсичности загрязненной водной среды ставят биопробы непосредственно в водоемах («рыбная» проба) – в делевых садках. Последние устанавливают в водоем, помещают в них чувствительных к токсикантам рыб (окунь, ерш, форель и др.) и ведут наблюдения за их поведением. Подобное исследование можно провести в аквариумах или бассейнах, заполнив их водой из водоемов, сточной водой в разных разведениях и др.

Токсичность нативного патологического материала или экстрактов ядов из органов рыб определяют на лабораторных животных (рыбах, мышах, крысах, кошках, лягушках, насекомых) путем скармливания, парентерального введения или прямого контакта с патматериалом. Выбор животных и методика постановки биопробы зависят от характера предполагаемого ядовитого вещества. Например, при подозрении на пестицидное загрязнение опыты ставят на комнатных мухах, дрозофилах, комарах, используя следующие методы.

Метод сухой пленки. Пестициды извлекают из исследуемого объекта ацетоном. Экстракт фильтруют в чашку Петри, испаряют и в чашку помещают 20–30 насекомых. Появление у них нервно-паралитических явлений и отсутствие их у контрольных указывает на наличие ядохимикатов.

Метод кормления. Внутренние органы отравленных рыб растирают в ступке с сахарным песком и скармливают насекомым. Проба считается положительной, если все насекомые погибают с типичными признаками судорог и параличей.

Метод водных взвесей заключается в выдерживании (экспонировании) комаров, дафний, циклопов, инфузорий или рыб в водных суспензиях органов.

Органолептические исследования основаны на свойстве многих химических веществ издавать запахи, которые определяют по пятибалльной шкале. Концентрации большинства сильно пахнущих веществ, оцениваемых органолептически, как правило, находятся на уровне или ниже границы, при которой эти вещества оказывают токсический эффект. Это обстоятельство весьма важно не только для диагностики отравлений, но и для ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы.

Прозрачность и цвет воды определяют по гидрохимическим методам (на других занятиях).

Лабораторные исследования. Предназначенную для исследования рыбу доставляют в лабораторию в живом виде. Ее перевозят в молочных бидонах, живорыбных машинах или чанах, заполненных водой из обследуемого водоема. Для химико-токсикологического анализа пригодна снулая рыба в охлажденном или замороженном виде. Объем пробы должен составлять не менее 1 кг по массе или 5 экземпляров рыб каждого вида и возраста. В качестве контроля следует отправлять такое же количество здоровых рыб из благополучной зоны того же или лучше из соседнего водоема. В исключительных случаях, если нельзя обеспечить вышеперечисленные условия транспортировки, рыбу, планктонные и бентосные организмы консервируют 70%-ным этиловым спиртом. Патологический материал для гистологических исследований фиксируют в 10%-ном нейтральном формалине, жидкостях Карнуа или Буэна.

Оценка результатов исследований. Заключение о причине гибели рыб составляется на основе тщательного анализа и сопоставления результатов всего комплекса полевых и лабораторных исследований. Для постановки диагноза на отравление решающее значение имеет обнаружение ядовитых веществ и их метаболитов в воде, биологических объектах и грунте, а также выявление специфических изменений в организме рыб.

При обнаружении тяжелых металлов, стойких пестицидов (хлор- и ртутьорганических), полихлорбифенилов и других следует иметь в

виду, что они в небольших количествах могут содержаться во многих водоемах и не вызывать отравлений. Тяжелые металлы входят в состав тела рыб как микроэлементы, а также могут колебаться в зависимости от геохимической провинции. Поэтому при оценке количественного содержания этих веществ в органах рыб и других объектах нужно учитывать фоновый уровень и сопоставлять их с известными количествами, способными вызвать острую или хроническую интоксикацию рыб.

Многие химические вещества (фосфорорганические пестициды и другие органические соединения) быстро разлагаются в водной среде и организме гидробионтов. Они обнаруживаются только в ранние сроки интоксикации.

Поэтому в диагностике большинства отравлений решающее значение имеет совокупность дополнительных и косвенных показателей.

По данным гидрохимического анализа косвенно можно судить о загрязнении водоемов коммунально-бытовыми и животноводческими стоками, минеральными удобрениями и другими токсикантами, влияющими на гидрохимический режим. Ведущими показателями их действия являются резкий дефицит кислорода и увеличение аммиака, сероводорода, нитритов и других продуктов разложения органических веществ. Азотные удобрения сильно повышают содержание в воде аммиака, нитритов, нитратов.

Нередко решающее значение для диагностики токсикоза имеют подробно изученные обстоятельства гибели рыб, сообщения очевидцев, сведения о наиболее характерных признаках отравления, материалы обследования источников загрязнения, а также исключение заразных болезней рыб.

Таким образом, при постановке диагноза на отравление необходимо не только провести многосторонние исследования, но и уметь их правильно оценить, выявить характерные ведущие показатели, которые являются безусловным доказательством наличия интоксикации рыб тем или иным ядовитым веществом, группой соединений, сточных вод и т. д.

Контрольные вопросы

1. Какие рыбоводно-биологические показатели необходимо учитывать при построении токсикологических исследований?
2. Что включают в себя патологоанатомические исследования рыбы?
3. Как проводится оценка результатов токсикологических исследований?

Т е м а2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЧЕСТВА ВОДЫ

Цель: уяснить основные принципы построения методик по определению качества воды.

Материал и оборудование: тест-система оценки качества воды, оксиметр, рН-метр.

Задание:

1. Освоить теоретический материал.
2. Изучить качество воды из различных источников.

В настоящее время существуют пять основных условных показателей качества питьевой воды.

1. *Химические.* По ним определяется состав и количество химических веществ и элементов, которые образовались после обработки воды перед подачей её в водопроводы. В частности, определяется содержание в воде остаточного свободного хлора, серебра и хлороформа.

2. *Органолептические.* Этот вид показателей отвечает за вкусовые показатели: запах, цвет, мутность.

3. *Токсикологические.* С их помощью контролируется отсутствие или наличие в воде в пределах допустимых норм таких опасных веществ, таких как фенолы, свинец, алюминий, мышьяк, пестициды.

4. *Микробиологические.* По ним производят определение отсутствия в воде опасной микрофлоры.

Растворенный кислород – важный фактор, свидетельствующий о благополучном состоянии водоема, о возможности существования в нем живых организмов.

Наиболее популярными являются перечисленные ниже методы.

1. *По Насоновой.*

Оборудование и реактивы: пробы воды, 0,5 мл 30%-ной серной кислоты, 1 мл 0,01 н. раствора перманганата калия (KMnO_4), стеклянная посуда на 50 мл, стеклянная палочка.

Ход работы. Отфильтровать пробы воды. К 10 мл отфильтрованной воды добавить 0,5 мл 30%-ной серной кислоты и 1 мл 0,001н раствора перманганата калия. Тщательно перемешать содержимое и оставить на 20 минут при $t = 20\text{ }^\circ\text{C}$.

Оценка результатов. Если раствор остался ярко-розовым, то содержание растворенного кислорода в воде можно считать равным 1 мг/л, если окраска раствора стала лилово-розовой – то 2 мг/л, если слабо –

лилово-розовой – то 4 мг/л, если бледно-лилово-розовой – то 6 мг/л, если бледно-розовой – то 8 мг/л, если желтой – то 16 мг/л.

2. По Винклеру.

Определение концентрации растворенного в воде кислорода проводится методом йодометрического титрования – методом Винклера, широко используемым и общепринятым при санитарно-химическом и экологическом контроле. Метод основан на способности гидроксида марганца (II) окисляться в щелочной среде до гидроксида марганца (IV), количественно связывая при этом кислород. В кислой среде гидроксид марганца (IV) снова переходит в двухвалентное состояние, окисляя при этом эквивалентное связанному кислороду количество йода. Выделившийся йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия в присутствии крахмала в качестве индикатора.

Определение растворенного кислорода проводится в несколько этапов. Сначала в анализируемую воду добавляют соль Mn (II), который в щелочной среде реагирует с растворенным кислородом с образованием нерастворимого дегидратированного гидроксида Mn (IV) по уравнению: $2Mn^{2+} + O_2 + 4OH^- = 2MnO(OH)_2$. Таким образом производится фиксация, т.е. количественное связывание, кислорода в пробе. Фиксация кислорода, являющегося неустойчивым компонентом в составе воды, должна быть проведена сразу после отбора пробы. Далее к пробе добавляют раствор сильной кислоты (как правило, соляной или серной) для растворения осадка и раствор йодида калия, в результате чего протекает химическая реакция с образованием свободного йода по уравнению: $MnO(OH)_2 + 2I^- + 4H^+ = Mn^{2+} + I_2 + 3H_2O$. Затем свободный йод титруют раствором тиосульфата натрия в присутствии крахмала, который добавляют для лучшего определения момента окончания титрования. При взаимодействии I_2 с крахмалом происходит синее окрашивание. О завершении титрования судят по исчезновению синей окраски (обесцвечиванию) раствора в точке эквивалентности.

Количество раствора тиосульфата натрия, израсходованное на титрование, пропорционально концентрации растворенного кислорода. В ходе анализа воды определяют концентрацию кислорода (в мг/л) и степень насыщения им воды (в %) по отношению к равновесному содержанию при данных температуре и атмосферном давлении.

В сточных и загрязненных поверхностных водах могут присутствовать компоненты, которые искажают результаты определения растворенного в воде кислорода методом Винклера.

Водородный показатель рН. В пробирку наливают 5 мл исследуе-

мой воды, 0,1 мл универсального индикатора, перемешивают и по окраске раствора оценивают величину рН:

розово-оранжевая – рН около 5;

светло-желтая – рН – 6;

светло-зелёная – рН – 7;

зеленовато-голубая – рН – 8.

Водородный показатель можно определить с помощью индикаторной бумаги, сравнивая её окраску со шкалой. Это более точное определение, чем при визуальном осмотре.

Жесткость воды. Жесткость воды обуславливается присутствием в ней ионов кальция, магния, железа и анионов гидрокарбоната, хлорида, сульфата и нитрата. Общая жесткость складывается из карбонатной (временной) и некарбонатной (постоянной). Временная жесткость обусловлена содержанием гидрокарбонатов кальция, магния, железа. Она устраняется кипячением воды; постоянная жесткость объясняется содержанием сульфатов, хлоридов, нитратов кальция, магния, железа и не устраняется кипячением, а только химическим путем или методом ионно-обменной адсорбции. Общая и временная жесткость воды определяется путем титрования пробы воды растворами точно известной концентрации, а постоянная рассчитывается по разнице между общей и временной жесткостью.

Общая жесткость воды определяется по ГОСТ 4151 – 72 . Метод определения общей жесткости, который основан на образовании прочного комплексного соединения трилона Б с ионами кальция и магния.

Оборудование и реактивы: колбы конические вместимостью 250 см³ (3 шт), капельница, трилон Б (комплексон (III), динатриевая соль этилендиамина тетрауксусной кислоты), аммоний хлористый, аммиак водный 25%-ный раствор, натрий хлористый, спирт этиловый, хромоген черный специальный ЕТ-00(индикатор).

Приготовление 0,05 н. раствора трилона Б: 9,31 г трилона Б растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 дм³. Если раствор мутный, то его фильтруют. Раствор устойчив в течение нескольких месяцев. Можно приготовить раствор трилона Б фиксаля.

Приготовление буферного раствора. 10 г хлористого аммония (NH₄Cl) растворяют в дистиллированной воде, добавляют 50 см³ 25 %-ного раствора аммиака и доводят до 500 см³ дистиллированной водой.

Приготовление индикатора эриохрома черного. Раствор индикатора хромогена черного устойчив в течение 10 сут. Допускается пользо-

ваться сухим индикатором. Для этого 0, 25 г индикатора смешивают с 50 г сухого хлористого натрия, предварительно тщательно растертого в ступке.

Выполнение анализа. В коническую колбу на 250 мл вносят 100 мл исследуемой воды, прибавляют 5 мл буферного раствора и на кончике шпателя – индикатора (эриохрома черного). Раствор перемешивают и медленно титруют 0,05 н. раствором трилона Б до изменения окраски индикатора от вишневой до синей.

Уравнение взаимодействия трилона Б (комплексона III) с ионами металлов (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}), содержащимися в воде.

Расчет общей жесткость производят по формуле:

$$X \text{ мг экв./л} = (V_{\text{мл}} \cdot N \text{ г экв./л} \cdot 1000 \text{ мг экв./г экв}) / V_1 \text{ мл},$$

где: V – объем раствора трилона "Б", пошедшего на титрование, мл;

N – нормальность раствора трилона "Б", г экв./л;

V_1 – объем исследуемого раствора, взятого для титрования, мл.

Определение ионов железа. *Оборудование и реактивы:* 50%-ный раствор KNCS, 24%-ный раствор HCl.

Приближенное определение ионов Fe^{+3} :

отсутствие – менее 0,05;

едва заметное желтовато-розовое – от 0,05 до 0,1;

слабое желтовато-розовое – от 0,1 до 0,5;

желтовато-розовое – от 0,5 до 1,0;

желтовато-красное – от 1,0 до 2,5;

ярко-красное – более 2,5.

Окрашивание, наблюдается при рассмотрении пробирки сверху вниз на белом фоне.

Определение. К 10 мл исследуемой воды прибавляют 1 – 2 капли HCl и 0,2 мл (4 капли) 50%-ного раствора KNCS. Перемешивают и наблюдают за развитием окраски.

Примерное содержание железа находят по таблице. Метод чувствителен, можно определить до 0,02 мг/л. $\text{Fe}^{3+} + 3\text{NCS}^- = \text{Fe}(\text{NCS})_3$.

Определение сульфатов. *Оборудование и реактивы:* Штатив лабораторный с пробирками, пипетки объемом 5 и 10 см³ с делениями на 0,1 см³, колбы мерные вместимостью 100, 500 и 1000 см³, пробирки колориметрические с притертой пробкой и отметкой на 10 см³, палочки стеклянные, воронки стеклянные, HCl (1:5), BaCl₂ (5 %), калий серноокислый, серебро азотнокислое, вода дистиллированная.

Приготовление основного стандартного раствора серноокислого калия: 0,9071 г K₂SO₄ растворяют в мерной колбе вместимостью 1 дм³

в дистиллированной воде и доводят объем раствора дистиллированной водой до метки в 1 см³ раствора содержится 0,5 мг сульфат-иона.

Приготовление рабочего стандартного раствора сернокислого калия: основной раствор разбавляют 1:10 дистиллированной водой. В 1 см³ раствора содержится 0,05 мг сульфат-иона.

Приготовление 5%-ного раствора хлористого бария: 5 г BaCl₂ растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 100 см³.

Приготовление 1,7 %-ного раствора азотнокислого серебра: 8,5 г AgNO₃ растворяют в 500 см³ дистиллированной воды и подкисляют 0,5 см³ концентрированной азотной кислоты.

Проведение анализа. В колориметрическую пробирку диаметром 14–15 мм наливают 10 см³ исследуемой воды, добавляют 0,5 см³ соляной кислоты (1:5). Одновременно готовят стандартную шкалу. Для этого в такие же пробирки наливают 2, 4, 8 см³ рабочего раствора сернокислого калия и 1, 6; 3, 2; 6, 4 см³ основного раствора K₂SO₄ и доводят дистиллированной водой до 10 см³, получая таким образом стандартную шкалу с содержанием: 10, 20, 40, 80, 160, 320 мг/дм³ сульфат-иона. Прибавляют в каждую пробирку по 0,5 см³ соляной кислоты (1:5), затем в исследуемую воду и образцовые растворы по 2 см³ 5%-ного раствора хлористого бария, закрывают пробками, перемешивают и сравнивают со стандартной шкалой.

Определение иона свинца. Иодид калий дает в растворе с ионами свинца характерный осадок PbI₂. Исследования производятся следующим образом. К испытуемому раствору прибавить немного KI, после чего, добавив CH₃COOH, нагреть содержимое пробирки до полного растворения первоначально выпавшего мало характерного желтого осадка PbI₂. Охлаждать полученный раствор под краном, при этом PbI₂ выпадет снова, но уже в виде красивых золотистых кристаллов Pb₂⁺+2I⁻ = PbI₂

Определение ионов меди. В фарфоровую чашку поместить 3 – 5 мл исследуемой воды, выпарить досуха, затем прибавить 1 каплю концентрированного раствора аммиака. Появление интенсивно синего цвета свидетельствует о появлении меди:



Определение хлорида натрия в воде. Оборудование и реактивы: Пипетка объемом 10 мл, бюретка, три конические колбы, белая кафельная плитка, проба воды, дистиллированная вода, калий хроматный индикатор, 50 мл раствора AgNO₃ (2,73г на 10 мл).

Определение. Наливают 10 мл исследуемой воды в коническую

колбу и добавляют 2 капли калий-хроматного индикатора. Из бюретки оттитровывают хлорид-ион раствором AgNO_3 , постоянно встряхивая коническую колбу.

В конечной точке титрования осадок AgCl окрашивается в красный цвет. Дважды повторить титрование с 10 мл исследуемой воды.

Подсчитать среднее количество израсходованного AgNO_3 . Объем израсходованного AgNO_3 приблизительно равен содержанию хлоридов в пробе воды (в г/л).

Определение органических веществ в воде. Оборудование и реактивы: пробирки, пипетка на 2 мл, HCl (1:3), KMnO_4 .

Определение: Наливают в пробирки 2 мл фильтрата пробы, добавляют несколько капель соляной кислоты. Затем готовят розовый раствор KMnO_4 и приливают его к каждой пробе по каплям. В присутствии органических веществ KMnO_4 будет обесцвечиваться. Можно считать что органические вещества полностью окислены, если красная окраска сохраняется в течение одной минуты. Посчитав количество капель, которое потребуется для окисления всех органических веществ, узнаем загрязненность пробы

Определение нитратов. Оборудование и реактивы: пробирки, пипетка на 5 мл, 2 мл, физиологический раствор (0,9%-ный раствор NaCl), риванол солянокислый (0,25г риванола растворяют в 200 мл 8%-ный раствор HCl), порошок цинка.

Определение. К 1мл исследуемой воды прибавляют 2,2 мл физиологического раствора. Затем отбирают 2 мл приготовленного раствора, добавляют 1 мл солянокислого раствора риванола и немного порошка цинка (на кончике ножа). Если в течение 3 – 5 минут желтая окраска риванола исчезнет и раствор окрасится в бледно-розовой цвет, то содержание нитратов в воде превышает ПДК.

Определение запаха воды. Запах воды определяют при комнатной температуре и при нагревании до 50 – 60 °С. Характеризуется качественно (запах ароматический, гнилостный, болотный и т. д.) и количественно.

Сила и характеристика при пятибалльной шкале.

<i>Баллы</i>	<i>Степень</i>	<i>Характер запаха</i>
0	Нет запаха	Запах совсем не ощущается
1	Очень слабый	Запах обычно не наблюдается, определяется только опытным путем
2	Слабый	Запах обнаруживается потребителем
3	Заметный	Запах легко замечается, заставляет воз-

- 4 Очень сильный держаться от питья
Запах резко выраженный, вода непригодна
для питья

Контрольные вопросы

1. Какие методы определения растворенного в воде кислорода вам известны?
2. Как определить содержание в воде рН, нитритов, железа?

Т е м а 3. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КСЕНОБИОТИКОВ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРАСИТЕЛЕЙ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ РЫБ

Цель: уяснить основные виды ксенобиотиков.

Материал и оборудование: таблицы, графики, схемы.

Задание:

1. Освоить теоретический материал.
2. Изучить классификацию ксенобиотиков и их источники.

Чужеродные вещества, поступающие в организм с пищевыми продуктами и имеющие высокую токсичность, называют ксенобиотиками, или загрязнителями.

Под токсичностью веществ понимается их способность наносить вред живому организму. Любое химическое соединение может быть токсичным. По мнению токсикологов, следует говорить о безвредности химических веществ при предлагаемом способе их применения. Решающую роль при этом играют: доза (количество вещества, поступающего в организм в сутки); длительность потребления; режим поступления; пути поступления химических веществ в организм человека.

При оценке безопасности пищевой продукции базисными регламентами являются предельно допустимая концентрация (далее ПДК), допустимая суточная доза (далее ДСД), допустимое суточное потребление (далее ДСП) веществ, содержащихся в пище.

ПДК ксенобиотика в продуктах питания измеряется в миллиграммах на килограмм продукта (мг/кг) и указывает на то, что более высокая его концентрация несёт опасность для организма человека.

ДСД ксенобиотика – максимальная доза (в мг на 1 кг веса рыбы) ксенобиотика, ежедневное пероральное поступление которой на про-

тяжении всей жизни безвредно, т. е. не оказывает неблагоприятного воздействия на жизнедеятельность, здоровье настоящего и будущих поколений.

ДСП ксенобиотика – максимально возможное для потребления количество ксенобиотика для конкретного вида рыбы в сутки (в мг в сутки). Определяется умножением допустимой суточной дозы на массу рыбы в килограммах. Поэтому ДСП ксенобиотика индивидуально для каждого конкретного вида рыб, и очевидно, что для молодежи этот показатель значительно ниже, чем для взрослых особей.

Наиболее распространённая в современной науке классификация загрязнителей продовольственного сырья и продуктов питания сводится к следующим группам:

- 1) химические элементы (ртуть, свинец, кадмий, др.);
- 2) радионуклиды;
- 3) пестициды;
- 4) нитраты, нитриты и нитрозосоединения;
- 5) вещества, применяемые в животноводстве;
- 6) полициклические ароматические и хлорсодержащие углеводороды;
- 7) диоксины и диоксинподобные вещества;
- 8) метаболиты микроорганизмов.

Основные источники загрязнения продуктов рыбоводства:

- воды, загрязнённые отходами жизнедеятельности человека;
- загрязнение растительного и животноводческого сырья пестицидами и веществами, которые являются продуктами их биохимических превращений;
- нарушение технологических и санитарно-гигиенических правил использования удобрений и оросительных вод в рыбоводстве;
- нарушение правил использования в рыбоводстве кормовых добавок, стимуляторов роста, медикаментов;
- использование неразрешённых пищевых, биологически активных и технологических добавок;
- использование разрешённых пищевых, биологически активных и технологических добавок, но в повышенных дозах;
- внедрение новых плохо проверенных технологий, основанных на химическом или микробиологическом синтезе;
- несоблюдение санитарно-гигиенических правил производства продукции;
- технологическое оборудование, инвентарь, тара, упаковка, содер-

жащие вредные химические вещества и элементы;

-несоблюдение технологических и санитарно-гигиенических правил хранения и транспортировки продовольственного сырья и продуктов питания.

Транспорт ксенобиотиков в организме. Независимо от пути проникновения в организм токсические вещества попадают в ток крови, где транспортируются в разных формах. Нереагирующие электролиты частично растворяются в жидкой части крови, частично проникают в эритроциты, где сорбируются, по-видимому, на молекулах гемоглобина. Многие чужеродные органические соединения связываются с белками плазмы, в первую очередь с альбуминами. Большинство металлов связываются вначале с альбуминами, в дальнейшем возможно их перераспределение на другие белковые фракции. В свободном состоянии в виде ионов транспортируются лишь щелочные металлы (Li, Na, K, Rb, Cs, Fr). Связывание металлов с белками осуществляется через активные группы (NH_2 , COOH и др.). Около 90 – 99 % мышьяка крови содержится в эритроцитах. Основная масса свинца также циркулирует в эритроцитах.

Распределение и депонирование. Неэлектролиты, метаболически относительно инертные и обладающие хорошей жирорастворимостью, накапливаются во всех органах и тканях. В первой фазе поступления яда определяющим будет кровоснабжение органа, в дальнейшем основным фактором, влияющим на распределение яда, станет сорбционная емкость органа. Для липидорастворимых веществ наибольшей емкостью обладают жировая ткань и органы, богатые липидами (костный мозг, семенники). Для многих липидорастворимых веществ жировая ткань является основным депо, удерживающим яд в течение более длительного времени, чем прочие органы. В прочих тканях и небогатых липидами органах летучие неэлектролиты распределяются сравнительно равномерно.

Металлы имеют тенденцию накапливаться в тех же тканях, где они нормально содержатся как микроэлементы, а также в органах с интенсивным обменом веществ (печень, почки, эндокринные железы). Свинец, бериллий, барий, уран, торий накапливаются преимущественно в костной ткани, ртуть и кадмий – в почках. Хром, марганец, кобальт, никель, мышьяк равномерно распределяются во всех органах.

Задание: исследовать распределение различных ксенобиотиков в организме рыб, заполнить таблицу и сделать выводы.

Таблица для заполнения результатов

Ксенобиотик	Рыба		
	Карась	Форель	Гуппи
Нитриты			
Свинец			
Диоксины			

Контрольные вопросы

1. Что такое ксенобиотик?
2. Дайте классификацию ксенобиотикам?
3. Опишите источники загрязнения продуктов рыбоводства.

Т е м а 4. СКРИНИНГ ТОКСИКАНТОВ

Цель: уяснить основные виды ксенобиотиков.

Материал и оборудование: таблицы, графики, схемы.

Задание:

1. Изучите теоретический материал.
2. Разработать скрининг для отдельного токсиканта.

Токсикология (от греч. *toxikon* – яд, *logos* – понятие) – наука о заболеваниях организма, вызванных воздействием вредных веществ (ядов), изучающая взаимодействие организма и яда. Яд – вещество, оказывающее на организм химическое воздействие и вызывающее в нем патологические изменения; химический компонент среды обитания, поступающий в количестве (реже качестве), не соответствующем врожденным или приобретенным свойствам организма, и поэтому оказывающий на него вредное действие или несовместимое с его жизнью. Под опасностью яда понимают возможность возникновения интоксикации при действии яда в естественных условиях. Раздел токсикологии, оперирующий понятиями токсичности и опасности веществ, называется токсикометрией.

Важнейшим параметром токсикометрии является токсичность (ядовитость) химического соединения. Опасные для человека и других живых организмов токсические химические вещества получили название токсикантов, экотоксикантов, ксенобиотиков (чужеродные для организмов, не встречавшиеся ранее в биосфере химические соединения; попадая в окружающую среду в значительных количествах, они могут вызвать гибель организмов, нарушить нормальное течение при-

родных процессов), загрязнителей, контаминантов (экологически вредные вещества, аккумулируемые в пищевых продуктах из окружающей среды в опасных количествах).

Скрининг (от англ. screening – «отбор, сортировка») – стратегия в организации здравоохранения, направленная на выявление заболеваний у клинически бессимптомных видов в популяции.

Цель скрининга – по возможности раннее выявление заболеваний, что позволяет обеспечить раннее начало лечения в расчёте на облегчение состояния и снижение смертности. Несмотря на то, что скрининг способствует ранней диагностике, не все скрининговые методы демонстрируют однозначную пользу. Среди нежелательных эффектов скрининга – возможность гипердиагностики или ошибочной диагностики, создание ложного чувства уверенности в отсутствии заболевания. По этим причинам скрининговые исследования должны обладать достаточной чувствительностью и допустимым уровнем специфичности.

Различают массовый (универсальный) скрининг, к которому привлекаются все рыбы из определённой категории (например, все рыбы одного возраста) и селективный скрининг, применяемый в группах риска (например, скрининг рыб одной породы в случае выявления наследственного заболевания).

Яды, оказывая разностороннее и сложное действие на организм, могут вызывать следующие патологические процессы: воспаление, дистрофические изменения, нарушения в развитии эмбриона рыб (тератогенез), повреждение наследственного аппарата (мутация). Последние три формы рассматривают как отдаленные последствия действия ядов. Развитие патологических процессов в значительной мере обусловлено конкурентными отношениями между чужеродными ядовитыми веществами и естественными химическими веществами организма со сходной структурой. Замещающая или вытесняющая естественные химические вещества, ксенобиотики нарушают нормальное течение биохимических реакций, что приводит к нарушениям в структуре и функциях клетки, ткани, органа, организма в целом. Подобные взаимоотношения наблюдаются как при местном действии ядов, так и при поступлении их во внутреннюю среду организма рыб.

Наиболее распространенной и хорошо заметной формой проявления патологической реакции на действие ксенобиотиков является воспаление. Хорошо растворимые в воде или жирах ксенобиотики вызывают воспаление непосредственно в точке приложения – на коже, слизистых оболочках глаз, в дыхательной системе, пищеварительном

тракте (сильные кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов, нитрогазы, хлор). Газы и пары с небольшим коэффициентом растворимости в воде накапливаются в концентрациях, достаточных для повреждения ткани, гораздо медленнее, они успевают проникнуть и вызвать воспаление в более глубоко расположенных отделах, например, дыхательной системы.

Газы (оксиды азота, аммиак, фосген и др.) нарушают проницаемость сосудов, что приводит к повреждению дыхательной системы (жабр, плавательного пузыря). Воспаление с последующим развитием цирроза печени вызывают мышьяк, фосфор, свинец, хлорированные углеводороды. Некроз кожи и слизистых оболочек развивается при попадании на них фенола, извести, карбида кальция.

Изменения в виде различных дистрофий (белковой, углеводной, жировой) в почках, печени, миокарде, головном и спинном мозге обнаруживаются при очень многих острых и хронических интоксикациях.

В настоящее время выявлено несколько тысяч простых химических веществ и несколько сотен тысяч сложных органических соединений, способных изменять чувствительность организма. Многие химические аллергены с низкой молекулярной массой (менее 1000) конъюгируют в организме с белковым носителем и приобретают свойства антигенов (чужеродных белков).

Ароматические амины, нитро-, нитрозосоединения образуют в процессе превращения в организме сильнейшие аллергены – хиноидные и бензохиноидные соединения. Выраженными аллергенными свойствами обладают также соединения мышьяка, ртути, кобальта, никеля, хрома, платины, органические оксиды, пероксиды, формальдегид.

Как при прямом контакте с покровными тканями, так и особенно после резорбции во внутреннюю среду организма яд может действовать на любые ткани или лишь на некоторые из них. Один и тот же яд может обладать разной «избирательностью» в зависимости от пути поступления, дозы и состояния организма.

Изменения в нервной системе. Яды оказывают на нервную систему четыре типа действия: 1) неспецифическое (неэлектролитное, наркотическое) действие (органические растворители); 2) специфическое поражение нервных клеток (сероуглерод, свинец, тетраэтилсвинец, ртуть, метиловый спирт); 3) специфическое блокирование обмена (соединения фосфора, фосфорорганические пестициды); 4) вторичное действие, обусловленное местным или общим нарушением кровообра-

ращения либо состоянием гипоксии (оксид углерода, удушающие газы).

Поражения органов дыхания. Вызывают главным образом газы, пары раздражающих веществ. Хорошо растворимые в воде яды поражают верхние дыхательные пути. Кадмий, ванадий, марганец, фосген, оксиды азота вызывают токсический отек жабр.

Изменения в сердечно-сосудистой системе. Проявляются в вегетативно-сосудистой дисфункции, дистрофии миокарда, очаговых органических поражениях. Вегетативно-сосудистые изменения вызываются при отравлениях нейротропными ядами, тетраэтил-свинцом, граназаном и др.: дистрофия миокарда – соединениями фосфора, мышьяка.

Изменения в системе крови. Длительные отравления бензолом и его гомологами приводят к развитию лейкопении, тромбоцитопении, анемии; соединениями свинца – свинцовой анемии, нарушениям синтеза гемоглобина.

Изменения в системе органов пищеварения. Серебро, висмут, свинец, ртуть, сурьма способны откладываться в слизистой оболочке ротовой полости, особенно десен, и окрашивать ее в голубовато-серый цвет. Вдыхание паров органических кислот вызывает разрушение зубов и способствует развитию кариеса. Явления гастрита наблюдаются при отравлениях органическими растворителями, оксидами азота, цинком, хромом. Поражение печени происходит под действием хлорированных и бромированных углеводов, эфиров азотной кислоты, соединений фосфора, сурьмы, мышьяка.

Поражение мочевыделительной и половой системы. Поражение почек имеет место при отравлении хлорпроизводными углеводов, свинцом, сулемой, скипидаром; мочевого пузыря – производными бензола. Бензол, свинец, оксид углерода, сероуглерод, некоторые пестициды вызывают нарушение овариального цикла. Нарушение сперматогенеза наблюдается при хроническом отравлении свинцом, мышьяком.

Поражение костной системы. Происходит при отравлении солями бария, вытесняющими из костей фосфор и кальций, солями кадмия, желтым фосфором, свинцом.

Скрининг имеет как преимущества, так и недостатки, а значит, решение о необходимости скрининга принимается путём взвешивания этих факторов.

Преимущество: скрининг позволяет выявлять заболевания в их ранних, бессимптомных стадиях, на которых лечение более эффективно.

Недостатки:

- как и любые другие медицинские исследования, скрининговые методы не являются совершенными. Результаты скрининга могут быть как ложно-положительными, указывая на наличие в действительности отсутствующей болезни, так и ложно-отрицательными, не обнаруживая существующую болезнь;

- скрининг требует затрат на медицинские ресурсы на фоне того, что большинство обследованных животных (рыб) оказываются здоровыми;

- ненужные дополнительные исследования и лечение рыб с ложно-положительным результатом.

Целесообразность введения скрининга токсикантов связана с рядом вопросов, обозначенных выше. Хотя проведение некоторых скрининговых тестов невыгодно, в целом массовые скрининговые обследования обеспечивают повышение уровня здоровья популяции рыб. Существует руководство по принципам скрининга, ее основными положениями являются:

- заболевание должно представлять важную рыбоводную проблему;
- должно существовать лечение заболевания;
- возможности диагностики и лечения заболевания должны быть доступны;

- заболевание должно иметь скрытый период;
- для заболевания должен существовать метод исследования;
- метод исследования должен быть приемлем для использования в популяции рыб;
- скрининг должен осуществляться непрерывно.

Контрольные вопросы

1. Дать определение понятию «скрининг»?
2. Обозначить положительные и отрицательные стороны проведения скрининга?

Т е м а 5. ДИАГНОСТИКА АЛИМЕНТАРНЫХ ТОКСИКОЗОВ РЫБ

Цель: уяснить методику алиментарных токсикозов рыб.

Материал и оборудование: таблицы, графики, схемы.

Задание:

1. Изучить теоретический материал.
2. Определить алиментарный токсикоз на примере карася.

Алиментарные токсикозы рыб вызываются веществами различной природы, которые попадают в комбикорма с сырьем или образуются в процессе неправильного хранения корма. Токсический эффект проявляется как в гибели рыб, так и в различных патологических отклонениях в их физиологическом состоянии.

Диагностика алиментарных токсикозов состоит из трех этапов: 1) обследование рыбы (с целью выявления глубины токсикоза); 2) исследование корма и определение степени его токсичности; 3) обнаружение и количественное определение токсического агента.

Обследование рыбы. Алиментарные токсикозы рыб проявляются в зависимости от дозы и кратности поступления токсиканта в острой и хронической формах. Высокие дозы токсиканта вызывают острые токсикозы, сопровождающиеся массовой гибелью рыб. При низких дозах интоксикация сопровождается по истечении определенного срока (около 30–40 дней) нарушением обменных процессов, замедлением роста, снижением резистентности и даже гибелью наиболее ослабленных экземпляров рыб.

Острые токсикозы вызываются дозами, значительно превышающими МДУ (максимально допустимые уровни), и приводят к быстрой гибели рыб в течение 1 – 3 суток. В зависимости от вида токсиканта клинические признаки могут быть самыми разными, но, как правило, поражаются нервная, опорно-двигательная или кроветворная системы.

Хронические токсикозы проявляются поэтапно. Их проявление сходно с симптомами, наблюдаемыми при неполноценном или несбалансированном кормлении. Болезнь имеет несколько стадий развития:

1-я стадия. Видимых клинических признаков заболевания не обнаруживается. Отмечают отклонение показателей обмена веществ от нормы, что проявляется в снижении темпа роста, а иногда в форме катарального воспаления кишечника;

2-я стадия. Длительное скармливание недоброкачественных кормов приводит к снижению естественной неспецифической резистентности рыб, изменению гематологических показателей, воспалению ануса, различным отделов кишечника и выделению слизистых тяжелей вместе с экскрементами;

3-я стадия. При длительном потреблении слаботоксичных кормов болезнь приобретает хроническую форму. При внешнем осмотре рыб выявляют дряблость мышц, симптом «острой спины», изменение окраски тела и плавников, язвы и кровоизлияния различной локализации, опухоли. При патологоанатомическом вскрытии отмечают ожи-

рение печени, гидремию почек, увеличение их объема, наличие опухолей, асцит, энтерит. Хронические токсикозы приводят к снижению воспроизводительной функции, появлению физиологически неполноценного потомства, снижению резистентности. В отдельных случаях рыбы могут сохранять нормальные показатели темпа роста.

Для диагностики алиментарных токсикозов исследованию подвергают по 10 рыб из каждой группы. Рыбы исследуемой группы считаются больными, если выявлено не менее 20 % рыб с нарушением обмена веществ. Диагноз устанавливают по среднегрупповым значениям показателей в выборке, а по индивидуальным – с учетом симптоматики заболевших рыб.

Для диагностики стадии течения токсикозов используют различные физиолого-биохимические методы. Для выявления нарушений используют не менее 5 – 10 физиолого-биохимических показателей (белок, остаточный азот, азот аминокислот, мочевины, липиды, холестерин, глюкоза, мочевая кислота, аспаратаминотрансфераза, холинэстераза сыворотки крови и др.). На этой стадии заболевание диагностируют гематологическими методами. Степень патологических отклонений определяется гистологическими методами.

Любой токсический агент, содержащийся в комбикормах, может вызывать неспецифическую реакцию организма рыб: повышение содержания глюкозы в крови, снижение содержания белка и гидремию, увеличение содержания гликогена в печени. Картина крови характеризуется микроцитарной базофильной, или полихроматофильной, анемией.

Одновременно с неспецифической реакцией каждый из алиментарных факторов вызывает заболевание рыб, отражающееся в специфическом изменении обменных процессов.

Исследование корма. Качество кормов оценивают на общую токсичность по выживаемости тест-объектов. При выявлении их токсичности специальными методами определяют наличие в них окисленных жиров, микотоксинов, тяжелых металлов, пестицидов и других загрязнителей.

Ниже приведены максимально допустимые уровни (МДУ) содержания патогенных факторов в комбикормах.

Для карпа (от сеголетков до товарной рыбы) МДУ на продукты окисленных жиров разработаны для хозяйств с низкой естественной кормовой базой.

Для всех возрастов карпа недопустимо превышение:

- кислотного числа: 50 мг КОН в 1 г жира;

- перекисного числа: 1,0 % йода;
- альдегидного числа: 1,0 Е г/100 мл/см (в единицах оптической плотности).

МДУ микотоксинов:

- Т-2-токсин: 0,05 мг/кг корма.

- ДОН-токсин: 3,33 мг/кг корма.

Суммарное содержание продуктов микробиосинтеза: паприна (БВК, дрожжи на нефтепарафинах), гаприна (БВК, дрожжи на природном газе), гиприна (гидролизные, кормовые дрожжи) – 5% массы корма.

Для лососевых рыб:

- радужная форель наиболее чувствительна к афлатоксинам;

- афлатоксин b1 (0,03 – 0,06 мг/кг корма) вызывает массовую гибель мальков;

- концентрации 0,5 – 1,0 мг/кг корма вызывают образование опухоли печени;

- афлатоксины В2, g1 и g2 встречаются в кормах реже и в меньших концентрациях, чем афлатоксин В1, они также уступают ему в токсичности и канцерогенности;

МДУ на госсипол для рыб не разработаны. Доза 0,1 г/кг вызывает изменения гематологических показателей и нарушает процесс синтеза белка; доза 0,3 г госсипола на 1 кг корма подавляет рост рыб.

Определение токсичности фуражного зерна, продуктов его переработки и комбикормов с использованием рыб (например, гуппи). При санитарной оценке концентрированных кормов их необходимо исследовать на токсичность, которая может быть обусловлена за счет наличия в кормах химических соединений и микотоксинов. Для этой цели в соответствии с ГОСТ отбирают средние пробы кормов и отправляют в лабораторию на исследование, при котором определяют общую токсичность и присутствие микотоксинов.

Определение токсичности кормов с использованием инфузории Тетрахимена пириформис. Работу проводят следующим образом. Взятые на анализ пробы кормов тщательно перемешивают и растирают в ступке. Берут ряд навесок (не меньше 3 – 5) в количествах, обратно пропорциональных предполагаемой токсичности, но не более 300 мг в наибольшей по массе навеске. Их вносят в пробирки или флаконы и заливают по 2 мл чистой кипяченой воды, закрывают резиновыми пробками с вырезкой для доступа воздуха, что предотвращает выбрасывание пробок при нагревании флаконов. Прогревают в водяной бане

(или стерилизаторе) 15 – 20 мин при температуре 80 – 90 °С. После охлаждения до комнатной температуры во флаконы вносят по 0,05 мл культуры *Тетрахимены пириформис*, разведенной перед этим водой в 10 раз, и ставят в термостат при +25 °С или обычный шкаф в затемненное место при комнатной температуре на 1 – 4 суток.

Наличие роста, его степень контролируют каждые сутки под микроскопом (МБС – микробиологический стереоскопический) при увеличении 2х8. Это позволяет просматривать пробы прямо в пробирке или флакончике, не беря их пипеткой, что является предварительным контролем, за которым следует просмотр в капле под МБИ (увеличение 7х90). Каплю берут на предметное стекло пастеровской пипеткой или стеклянной палочкой, просматривают весь объем, все слои.

Контролем является водопроводная, дехлорированная путем кипячения вода, в которую одновременно с опытом также засевают культуру инфузорий. Угнетение подвижности, наличие гибели, даже единичных особей, или их деформации свидетельствуют о токсичности или другой вредности исследуемого материала. Определенную вредность продукта характеризует замедление роста и размножения инфузорий. Для этого на 4-е сутки производят количественный учет выросших особей в счетной камере Фукс–Розенталя или Горяева, но чаще всего ограничиваются примерным учетом погибших особей путем просмотра капли среды в трехкратной повторности, наличием каких-либо отклонений в подвижности и внешнем виде инфузорий. В совокупности эти наблюдения позволяют сделать вывод о степени токсичности исследуемого корма (продукта) и охарактеризовать ее в баллах.

Контрольные вопросы

1. Дать определение алиментарный токсикоз?
2. С помощью каких организмов проводят определение токсичности кормов?
3. Назовите стадии болезни при хронических токсикозах?

Т е м а 6. ПРИМЕНЕНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ ТОЛЕРАНТНОСТИ РЫБ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Цель: уяснить методику проведения тестов на толерантность рыб к неблагоприятным факторам внешней среды.

Материал и оборудование: аквариумы, различные виды рыб.

Задание:

1. Изучить теоретический материал.
2. Провести тесты на толерантность на примере карася, тиляпии, гуппи.

В рыбохозяйственной практике принято определять выживаемость рыб и их продуктивность по результатам осеннего облова. Выращивание рыб проводится, как минимум, в трех повторностях. В связи с этим для проведения селекционных опытов требуется большое число прудов. Однако применение тест-систем позволяет экономить время проведения исследований, снизить затраты на содержание рыб и дает возможность более рационально использовать имеющиеся рыбоводные площади.

Устойчивость молоди рыб зависит от стадии онтогенеза. Наблюдается повышение чувствительности на эмбриональной стадии развития с момента начала оплодотворения икры до начала дробления 16 – 32 бластомер.

На личиночной стадии наиболее чувствительным интервалом развития является переход личинки на активное плавание и начало активного питания. При этом наблюдается параболическая зависимость между возрастом личинок в интервале 1 – 13 суток и значениями пороговой концентрации кислорода в воде.

С возрастом рыб их устойчивость к действию неблагоприятных факторов повышается.

Естественно предположить, что характеристика потомства по толерантности к стрессовым воздействиям на чувствительной личиночной стадии позволит прогнозировать ее дальнейшее развитие. При большей чувствительности рыб в неблагоприятных условиях потомство достигает очередной стадии развития при меньших линейных размерах. Негативные факторы среды препятствуют восприимчивым особям активно питаться, что будет способствовать их отставанию в росте относительно

резистентных рыб. При прудовом выращивании этот факт должен отражаться на производственных характеристиках потомства.

Тестирование личинок по толерантности к обезвоживанию. В пробирки наливают по 20 мл прудовой воды и в каждую из них помещают по 20 шт. личинок. Затем личинок с водой осторожно переносят в чашки Петри, дно которых предварительно выстилают фильтровальной бумагой. Воду удаляют. Чашки Петри с личинками на фильтровальной бумаге (без воды) закрывают крышкой. Через 15 мин в чашки снова наливают воду. Через 1 ч определяют количество погибших личинок.

Тестирование личинок по устойчивости к повышенной температуре. Исследования проводят по экспресс-методике В. Я. Катасонова и В. Н. Дементьева. Тестирование личинок по устойчивости к повышенной температуре проводят на 1 – 2-й день после появления у них плавательного пузыря. По 20 шт. личинок от каждой сравниваемой группы помещают в стаканчики (50 – 100 мл), которые устанавливают в аквариум с подогретой до 37 °С водой. При этом личинок переносят из садков в стаканчики с небольшим количеством воды, затем добавляют такое количество воды, чтобы стаканчики могли плавать в аквариуме в полупогруженном состоянии. Таким образом, температура воды в стаканчиках почти сразу устанавливается на нужном уровне (37 °С). Используемые аквариумы должны быть оснащены терморегулирующим устройством и микрокомпрессорами (для перемешивания воды с целью равномерного распределения температуры). Точность терморегуляции должна находиться в пределах $\pm 0,1$ °С. Через определенные (равные для всех исследуемых групп) промежутки времени стаканчики вынимают из аквариума. Обычно применяют экспозицию 30, 40, 50 и 60 мин. Личинки с водой переливают в чашки Петри, в которых их выдерживают в течение суток при комнатной температуре. По завершении опыта подсчитывают число погибших личинок.

Тестирование сеголетков по толерантности к хронической гипоксии. Исследования проводят по методике И. Ф. Гмыри. В инкубационные аппараты ВНИИПРХ, содержащие 200 л воды, помещают по 50 шт. сеголетков от каждой группы карпа (всего 300 рыб). В результате дыхания рыб в аппарате через определенное время (примерно 2 ч) в водной среде возникает резкий дефицит кислорода, при котором наименее устойчивые особи теряют реакцию на испуг и при постукивании по стенке емкости остаются у поверхности воды. Таких особей отлавливают, рассчитывают их долю от общего числа посаженных в аппарат рыб

и определяют относительную устойчивость исследуемых групп.

Тестирование сеголетков по толерантности к острой гипоксии. В стеклянные емкости наливают по 10 л прудовой воды с температурой 16-18°C. В каждую емкость помещают в равных количествах сеголетков, отбираемых от каждой изучаемой группы рыб. Плотность посадки при этом должна составлять не менее 20 – 25 шт. рыб на 10 л воды. На глубину до 5 см от поверхности воды в емкости помещают решетку (или рамку из сита), препятствующую контакту рыбы с верхним, насыщенным кислородом слоем воды. Через определенное время, когда гибель сеголетков достигает примерно 50 %, всех рыб (живых и мертвых) переносят в емкости с 10 л прудовой воды с нормальным содержанием кислорода (6 – 8 мг/л). Через 1 ч учитывают число погибших. Гибель рыб определяют по отсутствию у них движения жаберных крышек.

Тестирование сеголетков по токсикотолерантности. В стеклянные емкости объемом 10 л наливают раствор гексахлорцикло-гексана (ГХЦГ) (концентрация технического препарата ГХЦГ – 16,32 мг/л) с температурой 16 – 18°C. В каждую емкость помещают сеголетков, отбираемых в равных количествах от каждой сравниваемой группы (плотность посадки должна быть не менее 20 – 25 шт. на 10 л раствора). Через определенное время визуально отмечают 50 %-ную гибель рыб от токсикоза. После этого всю рыбу (живую и мертвую) переносят в емкости с 10 л прудовой воды. Через 1 ч подсчитывают число погибших рыб.

Контрольные вопросы

1. Что такое толерантность?
2. Методика проведения тестов на толерантность?

Тема7. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФЕНОЛА НА ДАФНИЙ

Цель: изучить влияние фенола на различные виды рыб.

Материал и оборудование: аквариум, соединения токсиканта, секундомер.

Задание:

1. Изучить теоретический материал.
2. Определить влияние фенола на рыб примере карася, форели, гуппи.

Фенолы – группа химических веществ, отличающихся значительным разнообразием – от практически нетоксичных до весьма токсичных. Часть одноатомных фенолов – сильные нейротоксины. *Многоатомные фенолы* нарушают окислительное фосфорилирование и другие ферментативные процессы. *Галогенопроизводные фенолов* оказывают комплексное воздействие.

Одноатомные фенолы (фенол, карболовая кислота, оксибензол) используются в производстве фенолформальдегидных смол, лаков, клеев, в качестве антисептиков, дезинфицирующих средств, в кожевенной промышленности (дубитель), в производстве поверхностно-активных веществ, средств защиты растений, душистых, взрывчатых веществ и красителей.

Основные источники поступления в среду – сточные воды.

Токсическое действие: на почвенные микроорганизмы – 10 мг/100г почвы снижает количество аммонифицирующих бактерий почти в 8 раз. Очень токсичен и для нитрофицирующих бактерий (снижается процесс нитрификации).

В водоемы хлорфенолы попадают с атмосферными выбросами, из почвы, со сточными водами производств ядохимикатов, кожевенной, деревообрабатывающей и мебельной промышленности, целлюлозно-бумажных комбинатов, предприятий по производству красителей и пластификаторов, органического синтеза, а также при применении в качестве фунгицидов, гербицидов. В реки и озера весной поступает большое количество хлорфенолов вместе с талыми водами. В районах с интенсивным движением автотранспорта, бытовых свалок снег содержит огромное количество (десятки тысяч мкг/м^2) хлорфенолов. Хлорфенолы сорбируются из воды донными осадками, образуя «депо», в котором содержатся в значительно более высоких, чем в воде, концентрациях (0,1–0,5 мкг/м^2). Содержание в промышленной древесине зависит от растворителя. В верхних слоях (до 1,5 мм) отделочных плит, мебели, ковров, обоев находится до 26 мг/кг пентахлорфенола, в деревянных предметах, покрытых защитными препаратами содержится ПХФ до 4–6 г/кг. В воздухе недавно построенного дома и обставленного современными «стенками», шкафами и другой современной мебелью уровень ПХФ может достигать до 100 мг/м^3 , снижаясь через 6–12 мес до 0,6–1,7 мг/м^3 .

В атмосферном воздухе ПХФ определяется в виде паров и аэрозолей в первые часы после опрыскивания поля: его содержание в 10–50

метрах от поля (обычное расстояние до водоемов) составляет 4–1 мг/м³, на расстоянии 200–300 м препарат полностью осаждается.

Миграция и трансформация. В почвах хлорфенолы сохраняются в неизменном виде до трех месяцев. При использовании городских и промышленных отходов, а также осадков сточных вод в качестве удобрений, под влиянием почвенных организмов происходит разложение хлорфенолов и через два месяца содержание их снижается в десятки раз. Наиболее устойчивы в водной среде тетрахлорфенолы.

Проведенными исследованиями установлено, что в донных осадках при температуре около 4°C, 2-ХФ, 2,4-ДХФ и 2,4,6,-тетрахлорфенолы разлагаются за зиму на 70–90%, 3,-ХФ и ПХФ – на 10–30%, причем в зоне сброса сточных вод пентахлорфенол в осадках в анаэробных условиях превращается в тетрахлорфенол, который гораздо устойчив в воде (более 6 месяцев).

Токсическое действие. Пороговые концентрации, характеризующие состояние водоемов при попадании в них хлорфенолов (мг/л) следующие: ощущение запаха – 0,0003 (ХФ) – 0,3 (ПХФ); ощущение привкуса воды – 0,0001 (ХФ) – 0,0004 (ТХФ); изменение окраски воды – 10 мг/л.

Влияние на санитарный режим водоема: 4-ХФ, 2, 4-ДХФ и ПХФ в концентрации 0,1–1 мг/л очень сильно снижает содержание кислорода и фитопланктона в воде. Для дафний ЛК₅₀ равна 0,6–0,8 мг/л. Гибель наступает в течение 2–4 суток. 10-дневное нахождение дафний при 0,1 ЛК₅₀ вызывает замедление роста, плодовитости и нарушение эмбриогенеза.

Хлорфенолы очень сильно угнетают жизнедеятельность моллюсков: в концентрации 0,1 мг/л ПХФ снижает скорость фильтрации на 87%. Пороговой концентрацией по этому показателю считается 0,001 мг/мл ПХФ.

Токсичность. Зависит от ряда факторов: сезона, содержания кислорода, инвазионные заболевания, присутствие в воде других токсикантов (проявляется эффект синергизма). Например, токсичность ПХФ для рыб возрастает при снижении рН и уменьшении кислорода в воде.

Мясо рыб приобретает неприятный запах и привкус при концентрациях в воде ХФ 0,003 – 0,015 мг/л. В исследованиях установлена способность рыб кумулировать (накапливать) в организме ХФ. Например, при концентрации в воде чистого ПХФ 0,05 мг/л через месяц содержание его в тканях рыб было в 174 раза, а технического – в 284 раза выше, чем в воде. Пребывание в воде (с содержанием 0,025 мг/л ПХФ) форели в течение 24 часов приводит к накоплению в пече-

ни ПХФ до 16 мг/кг, а в мясе – до 1 мг/кг, т.е. скорость аккумуляции и извлечения из воды ПХФ клетками печени очень высока и равна 0,2мкг/с, т.е. абсолютное количество, содержащегося почти в 10 л воды.

При суммарной концентрации ХФ в воде 0,5 мг/л в мясе рыб находили до 0,14, а в печени до 8,2 мг/кг. Период полувыведения из крови, жировой ткани, печени, мышц равен от 6 до 24-х ч.

Токсический эффект ПХФ в значительной степени обусловлен *ди-оксинами*, которые выделяются при метаболизме хлорорганических пестицидов (линдана и гексахлорбензола). Механизм токсического действия связан с нарушением процессов окислительного фосфорилирования.

Природоохранные мероприятия – соблюдение рекомендаций по охране водоемов от загрязнения сточными водами предприятий и охрана атмосферного воздуха при применении пестицидов в сельском хозяйстве. *Присутствие даже минимальных количеств фенолов в воде рыбохозяйственных водоемах не допускается.*

Задание: исследовать смертельную концентрацию фенола для различных рыб, сделать выводы.

Таблица для заполнения результатов

Ксенобиотик	Рыба		
	Карась	Форель	Гуппи
ХФ – 10			
ТХФ – 20 – 50			
ПХФ – 0,2 – 1			

Контрольные вопросы

1. Что представляют собой фенол и его соединения?
2. Назовите летальные дозы соединений фенола для различных видов рыб?

Тема8. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ ФОСФОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ НА ПРОТОКОККОВЫЕ ВОДОРОСЛИ

Цель: изучить влияние фосфорорганических пестицидов на различные виды рыб.

Материал и оборудование: аквариум, колбы 5 шт., маточный раствор диурона концентрацией 20мг/л, колба со средой Кнопа, мерный цилиндр, дистиллированная вода, культура протококковых водорослей, соединения, секундомер.

Задание:

1. Изучить теоретический материал.
2. Определить влияние фосфорорганических пестицидов на водоросли.

Основным лабораторным методом первичной оценки токсичности любых веществ для водных организмов является метод биологических тестов.

Под биологическим тестом в водной токсикологии понимают опыт, в котором используется чистая культура какого-либо вида (тест-объект) и изучается его реакция на добавление токсиканта по изменениям какого-либо характерного, хорошо измеримого показателя, который интегрально отражает нарушения важных жизненных функций водорослей, например, выделения или поглощения кислорода, ассимиляции или поглощения углекислоты, темпа роста, изменения формы клеток, нитей, колоний, распад колониальных структур. Достоверные изменения этих показателей по сравнению с контролем, принимаемым за 100%, является свидетельством токсического действия веществ на гидробионтов.

Поскольку водоросли являются первичным звеном трофических цепей, создающим материальную основу для всей дальнейшей трансформации вещества и энергии в водных экосистемах, исследование токсических эффектов, производимых пестицидами, следует начинать именно с водорослей.

Ввиду морфологического и функционального многообразия водорослей для токсикологических исследований необходим набор тест-объектов, относящихся к разным экологическим и морфосистематическим группам и различным по своим эколого-физиологическим особенностям.

Для данной лабораторной работы используется культура протококковых водорослей *Chlorella* и *Scenedesmus*, которые выращивались на среде Кнопа.

Основной целью работы является изучение альгицидной активности пестицида диурона, отличительной чертой которого является способность в достаточно короткие сроки (5-7 дней) полностью разру-

шить (лизис) клетки водорослей.

Токсические вещества обладают многогранным биологическим действием и могут не только убивать, а наоборот, активизируют жизнедеятельность водорослевой клетки. Одно и тоже вещество, относящееся к числу препаратов избирательного действия, может выступать то как стимулятор, то как ингибитор жизнедеятельности водорослей, то как альгицид в собственном смысле этого слова. Границы между этими действиями веществ условны и определяются концентрациями, условиями применения и физиологической специфичностью различных видов, родов, семейств и классов самих водорослей, а также различных сочетаний факторов среды.

Диурон в дозе 5-12 кг/га АДВ оказывает следующие симптомы токсичного действия на макрофитов: развивается хлороз, окраска листьев и стеблей последовательно переходит сначала в желтую, а затем в бурю и черную, листья увядают и осыпаются. Специфически для отдельных видов симптомы отравления могут выражаться в размягчении стеблей, рыхлости корней, которые легко отрываются от субстрата, в размягчении корневищ, почернении и опадании цветов и плодов.

Особенно быстро, в течение 12-15 дней разрушаются растения с нежными мягкими листьями, как элодея, уруть, водяная гречиха, частуха, рдесты. Одноразовая обработка диуроном (12-20кг/га АДВ) водоемов и мелиоративных каналов, заросших погруженными макрофитами, приводит к полному устранению их в течение 1-2 месяцев и восстановлению чистого зеркала воды. Последствие обработки длится не менее двух лет.

Полупогруженные растения – тростник, рогоз широколистный и узколистный – отличаются высокой устойчивостью к диурону.

Задание: исследовать влияние различных доз диурона на протококковые водоросли. Дозы: 20мг/л, 10мг/л, 5мг/л, 2,5мг/л.

Таблица для заполнения результатов

Концентрация диурона, мг/л	Вид водорослей		
2,5			
5,0			
10,0			
20,0			

Контрольные вопросы

1. В чем опасность фосфорорганических пестицидов для водоема?
2. Назовите летальные дозы фосфорорганических пестицидов для различных водорослей?

Тема9. МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ВОДОЕМОВ И ЭКОНОМИЧЕСКОГО УЩЕРБА ПРИЧИНЕННОГО ТОКСИКАНТАМИ

Цель: уяснить методику оценки ущерба причиняемого токсикантами.

Материал и оборудование: моделирование ситуации с загрязнением водоема.

Задание:

1. Изучить теоретический материал.
2. Определить размер экономического ущерба.

Подрыв рыбных запасов может происходить как при регулярном систематическом отрицательном воздействии загрязнителей, так и при разовом их поступлении в водоем, причем разовое отрицательное воздействие может быть не менее вредным, чем систематическое. Все зависит от количества и качества поступивших в водоем загрязнений, от условий их сброса и ряда других факторов. Поэтому ущерб должен оцениваться в каждом конкретном случае с учетом всех факторов. При обнаружении гибели рыбы, ухудшения гидрохимического режима или других случаев отрицательных изменений в водоеме необходимо на основе объективного анализа имеющихся материалов установить причину этих явлений. Если они являются результатом загрязнения или отрицательных воздействий каких-то факторов, связанных с хозяйственной деятельностью человека, то определяют ущерб, нанесенный рыбному хозяйству этими действиями в последовательности, приведенной ниже.

1. Устанавливают акваторию водоема, которая подвергалась отрицательному воздействию, с указанием ее категории и рыбохозяйственной характеристики (места нагула и нереста, миграционные пути, зимовальные ямы, неводные участки).
2. Определяют количество погибших и поврежденных рыб, молоди, икры, кормовых организмов, причем молодь учитывают как взрослую

рыбу, полуснулую и поврежденную рыбу за погибшую, так как в дальнейшем она обычно погибает.

Личинки и икру также принимают за половозрелую рыбу с учетом отхода их при естественном развитии до взрослых особей.

3. Если гибель рыбы, ее молоди и икры, нарушение условий их обитания и другие неблагоприятные изменения в водоеме произошли вследствие одновременного отрицательного воздействия (аварийный, залповый сброс стоков, взрывы и т.д.) или в результате несогласованности с органами рыбоохраны увеличения систематического сброса сточных вод или изменения технологии производства, то ущерб исчисляют по стоимости погибшей и испорченной рыбы и молоди и стоимости потомства, которое могло быть получено от этой рыбы.

4. Когда причиненный ущерб является результатом систематического регулярного сброса в водоемы сточных вод, воздействия лесосплава или других отрицательных факторов хозяйственной деятельности, то при определении его может быть несколько случаев:

а) если акватория водоема, подвергаясь отрицательному воздействию, является местом обитания и нагула рыб, величину потерь, стоимость которых подлежит возмещению, определяют для нетекучих водоемов из средней продуктивности на 1га площади, а для рек – на 1км в пересчете на всю пораженную площадь;

б) если данная акватория является местом нереста одного или нескольких видов рыб, ущерб определяют по стоимости всего воспроизводившегося здесь запаса этих рыб согласно данным научно-исследовательских учреждений или органов рыбоохраны;

в) если нарушаются миграционные пути проходных рыб вследствие их засорения, загрязнения и по другим причинам или оказывается губительное действие на скатывающуюся молодь и икру этих рыб в водоеме, так как в результате воздействия указанных факторов полностью подрываются их запасы;

г) если данная акватория одновременно является местом обитания, нагула и воспроизводства рыб, ущерб исчисляют так, как описано в пунктах а, б, в.

5. В случае загрязнения источников, питающих рыбоводные заводы, нерестово-выростные и прудовые хозяйства, в результате чего гибнет или портится рыбоводная продукция, ущерб исчисляют по стоимости погибшей икры, личинок, молоди, товарной рыбы, производителей с учетом затрат на восполнение потерь согласно бухгалтерскому учету предприятия.

Пораженную акваторию можно определить путем проведения санитарно-биологических исследований или визуально по различным внешним признакам (изменение цвета, прозрачности, вкуса, запаха воды, появление на поверхности водоема пены, пленок, струйности, загрязнения берегов, засорение орудий лова, образование отложений на дне водоемов, уход рыбы или ее гибель).

В некоторых случаях дальность распределения загрязнений можно определить расчетным путем, исходя из расходов сбрасываемых стоков и водоема и условий смешения вод.

Количество погибшей рыбы и ее молоди в зависимости от конкретных условий определяют следующим способом: непосредственным подсчетом погибших особей на единицу площади водоема и берега с последующим пересчетом на всю пораженную акваторию; расчетом по средней рыбопродуктивности (например, зимой, когда водоем покрыт льдом) контрольным обловом определенного участка и пересчетом на всю загрязненную площадь; опросом населения и актами, составленными авторитетной комиссией.

При пересчете пловущей и выброшенной на берег погибшей и поврежденной рыбы учитывают не только общее ее количество, но и видовой, размерный, возрастной состав и описывают признаки поражения, а также поведение полуснулых рыб. Если это возможно, фотографируют пловущую и выброшенную на берег рыбу. В случае необходимости некоторое количество полуснулой рыбы или только что погибшей отбирают для отправки в лабораторию на анализ с указанием на этикетке предполагаемой причины гибели рыбы и ее поведения после поражения.

Количество рыбы, выброшенной на берег, подсчитывают на нескольких контрольных площадках размером 1 м^2 , а затем пересчитывают на всю площадь, предварительно установив ширину и длину береговой полосы, на которой обнаружена выброшенная рыба. При этом также определяют половой состав погибших и поврежденных рыб. Половой состав пловущих рыб определяют путем контрольного облова, а если это невозможно, используют данные, полученные при учете рыбы, выброшенной на берег.

В общем количестве рыб, подсчитанных на берегу, могут быть экземпляры, ранее учтенные в водоеме, а затем выброшенные на берег. Может наблюдаться и обратное явление, так как часть рыб смывается с берега волной. Эти два процесса взаимно уравнивают друг друга и на точность расчетов почти не влияют.

Погибшая и полуснулая рыба сносится не только поверхностными, но и более глубокими слоями воды, частично опускается на дно. Количество ее не менее 20% от общего числа плывущей по поверхности. Это следует учитывать при общем подсчете.

На основании проведенного учета определяют количество погибшей и поврежденной рыбы по видам и исходя из средней массы рыбы разных видов, подсчитывают общие потери в центнерах. Оценка ущерба в денежном выражении производится по прейскуранту розничных цен.

Зимой, во всех случаях, когда погибшую рыбу подсчитать невозможно, количество ее определяют исходя из средней рыбопродуктивности данного водоема. Если на данный период таких сведений по тем или иным причинам нет, расчет производится по прошлой рыбопродуктивности этого водоема или рыбопродуктивности аналогичных водоемов (можно брать литературные данные). Зная рыбопродуктивность и пораженную акваторию, легко вычислить количество погибшей рыбы в единицах массы, а по соотношению отдельных видов рыб в уловах оценить эти потери в денежном выражении.

Например, средняя рыбопродуктивность на пораженной акватории, равной 2000 га составляет 15 кг/га. Тогда общая рыбопродуктивность этого участка составит $15 \times 2000 = 30000$ кг. Соотношение рыб в уловах будет следующим: лещ—48%; жерех—3; плотва—16; щука—0,2; налим—0,4; окунь—1,2; ерш—5,2; мелочь второй группы—26%. При этом условии в составе 30000 кг рыбы будет находиться: леща—14400 кг; жереха—900; плотвы—4800; щуки—60; налима—120; окуня—360; ерша—1560; мелочи второй группы—7800 кг. Подсчитать ущерб в денежном отношении для каждого вида рыб и в целом, без учета воспроизводства.

Зная среднюю массу взрослой рыбы каждого вида, можно подсчитать количество погибшей рыбы в штуках. Такой подсчет необходим для выяснения ущерба, нанесенного естественному воспроизводству рыбных запасов. Его можно определить учитывая количество погибших самок отдельных видов рыб. Зная их плодовитость, промысловый возврат от икры и среднюю массу промысловых рыб, рассчитывают ущерб в кг, причиненный запасам рыб вследствие гибели потомства при однократном нересте:

$$\text{Весовой ущерб} = \frac{n \cdot m \cdot a \cdot b}{100},$$

где p – количество погибших самок данного вида рыб;

m – средняя плодовитость самок, в тыс. штук икринок;

a – промысловый возврат от икры, %;

w – средняя промысловая масса рыбы, кг.

Если в формулу не вводить среднюю массу, то ущерб будет выражен в количестве экземпляров рыб.

Суммируя ущерб, нанесенный воспроизводству отдельных видов рыб, получаем общий ущерб, вследствие гибели учтенного количества рыб.

В тех случаях, когда погибшая рыба в естественных условиях могла бы нереститься не один, а несколько раз, численность потомства рассчитывают с учетом этого, учитывая ежегодный естественный отход (коэффициент естественного отхода), производителей, возвращающихся на нерест и изъятие рыб промыслом.

При разовом отрицательном воздействии загрязнений или других факторов на нерестилища погибшую на них икру учитывают путем подсчета на контрольных площадках (1м^2) и пересчета на всю пораженную площадь, а для пелагической икры – путем облова определенного объема воды и установления процента гибели. Ущерб определяют по приведенной выше формуле.

Количество рыбы, потерявшей пищевую ценность определяют по процентному содержанию ее в общих потерях или в уловах, а также согласно актам рыбохозяйственных и других организаций, фиксирующих подобные случаи. При полной потере пищевых и товарных качеств (при списании) ущерб определяют как в случае гибели рыбы, по всем показателям с учетом воспроизводства. Если по разрешению санитарных органов рыбу можно использовать как пищевой продукт при снижении лишь ее сортности, ущерб определяют потерями на сортности.

Отрицательное воздействие загрязнений и других факторов на водоемы вызывает не только гибель рыбы и ее потомства, но и гибель кормовых организмов, за счет которых происходит прирост ихтиофауны. Потери прироста рыб, вызванные гибелью кормовых организмов, могут быть учтены только в результате проведения (или на основе ранее проводившихся) гидробиологических исследований. Это дает возможность выявить количественное уменьшение биомассы кормовых организмов (планктон, бентос) в водоеме. Зная общее количество погибших бентосных и планктонных организмов и их кормовые коэффициенты, можно установить потери прироста рыб, вызванные загрязне-

нием. Например, общее количество погибших личинок насекомых и червей составило 52,5 кг/га, пораженная акватория равнялась 200 га. Общее количество погибших организмов выразилось величиной $52,5 \times 200 = 10500$ кг или 105 ц. Кормовой коэффициент – 10, следовательно, потери прироста рыб (в основном леща), вызванные только гибелью донных кормовых организмов, составляют 10,5 ц. Эти потери можно представить и в денежном выражении, если известно процентное соотношение в уловах рыб разных видов, производя расчеты по формуле (1). Если учесть, что средняя товарная стоимость 1ц рыбы составляет 200000 руб., то при таком расчете ущерб в денежном выражении составит $200000 \times 10,5 = 2,1$ млн. рублей. Таким же образом рассчитывают потери прироста массы рыбы, вызванные гибелью планктона.

Обобщив потери в результате гибели рыбы (1) и ее потомства (2) и потери на приросте рыб (3), вызванные гибелью кормовых организмов, а также потери от порчи товарных качеств (4), получим общий ущерб, причиненный рыбному хозяйству данного водоема в результате его загрязнения или других отрицательных воздействий.

В настоящей методике ущерб, наносимый рыбному хозяйству оценивается только с учетом биологических показателей и совершенно не затрагивает вопросы экономики рыбного хозяйства в целом. В тоже время загрязнение оказывает влияние на все стороны его ведения. Нередки случаи, когда под влиянием загрязнения вследствие гибели рыбы или изменения ее видового, размерного состава и ее размножения в водоеме приходится прекращать промысел, изменять конструкцию орудий лова или заменить их другими, заменять суда и т.д. Иногда приходится полностью перестраивать всю организацию промысла вплоть до закрытия и переноса рыбозаводов, тоневого участка, изменения рыболовных бригад. Все эти потери должны включаться в общую методику определения ущерба.

Контрольные вопросы

1. Назовите последовательность определения и оценки ущерба нанесенного токсикантами в водоеме.
2. Назовите формулу расчета весового ущерба.

Литература

О с н о в н а я

1. К е л и н, Н.Ю. Токсикология в таблицах и схемах / Н.Ю. Келин, Н.В. Безручко. – Ростов н/Д : Феникс, 2006. – 144 с.
2. Н е с т е р о в а, Е.Н. Основы токсикологии: учебное пособие для студентов / Е.Н. Нестерова. – Брянск, 2006. – 51 с.
3. Т а р а с о в, А.В. Основы токсикологии / А.В. Тарасов, Т.В. Смирнова. – М. : Маршрут, 2006. – 160 с.
4. Ф и л е н к о, О.Ф. Основы водной токсикологии / О.Ф. Филенко, И.В. Михеева. – М.: Колос, 2007. – 144 с.
5. Л у к ь я н е н к, В.И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии / В.И. Лукьяненко. – М.: Агропромиздат, 1987. – 240 с.
6. К о з л о в а, Т.В. Экология и токсикология рыб / Т.В. Козлова, П.Н. Котуранов. – Горки, 2005. – 124 с.

Д о п о л н и т е л ь н а я

7. К у ц е н к о, А.С. Основы токсикологии / А.С. Куценко. – СПб., 2002. – 720 с.
8. Л у ж н и к о в, Е.А. Клиническая токсикология / Е.А. Лужников. – М., 1994. – 256 с.
9. Б а ж е н о в, С.В. Ветеринарная токсикология / С.В. Баженов. – Л. : Колос, 1964. – 375 с.
10. Б а р б ь е, М. Введение в химическую экологию / М. Барбье – М.: Мир, 1978. – 229 с.
11. К а г а н, Ю.С. Общая токсикология пестицидов / Ю.С. Каган – Киев : Здоровье, 1981. – 174 с.
12. Орлов, Б.Н. Зоотоксинология (ядовитые животные и их яды) / Б.Н. Орлов, Д.Б. Гелашвили. - М.: Высш. Шк., 1985. – 280 с.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
Тема 1. Основные принципы построения методик токсикологических исследований: воды, водоемов, различных видов гидробионтов.....	3
Тема 2. Методика определения качества воды.....	9
Тема 3. Методика определения ксенобиотиков в органах и тканях. экспериментальное определение красителей в органах и тканях рыб.....	15
Тема 4. Скрининг токсикантов.....	18
Тема 5. Диагностика алиментарных токсикозов.....	22
Тема 6. Применение тест-системы оценки толерантности рыб к неблагоприятным факторам водной среды.....	27
Тема 7. Изучение токсических концентраций фенола на дафний.....	29
Тема 8. Изучение токсического влияния фосфорорганических пестицидов на протококковые водоросли.....	32
Тема 9. Методика оценки загрязнений водоемов и экономического ущерба причиненного токсикантами.....	35
Литература.....	41