

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування

Навчально-науковий інститут агроекології та землеустрою
Кафедра водних біоресурсів

05-03-216М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання лабораторних, практичних та самостійних
робіт з навчальної дисципліни «**Водна токсикологія**»
для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського)
рівня за освітньо-професійною програмою
«Водні біоресурси та аквакультура» спеціальності
207 «Водні біоресурси та аквакультура»
денної та заочної форм навчання

Рекомендовано
науково-методичною радою
з якості ННІАЗ
Протокол № 12 від 04.02.2025 р.

Рівне – 2025

Методичні вказівки до виконання лабораторних, практичних та самостійних робіт з навчальної дисципліни «Водна токсикологія» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою «Водні біоресурси та аквакультура» спеціальності 207 «Водні біоресурси та аквакультура» денної та заочної форм навчання. [Електронне видання] / Гроховська Ю. Р., Кононцев С. В. – Рівне : НУВГП, 2025. – 69 с.

Укладачі: Гроховська Юлія Романівна, доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри водних біоресурсів; Кононцев Сергій Вікторович, доктор технічних наук, професор кафедри водних біоресурсів.

Відповідальний за випуск: Полтавченко Т. В., к.вет.н., доцент, завідувачка кафедри водних біоресурсів.

Керівник групи забезпечення спеціальності 207 «Водні біоресурси та аквакультура»

Петрук А. М.

Попередня версія МВ 05-03-63

© Ю. Р. Гроховська,
С. В. Кононцев, 2025
© НУВГП, 2025

Зміст

ВСТУП	4
ПРАКТИЧНІ РОБОТИ	6
1. Характеристика, поширення та токсичні властивості основних лужних і лужноземельних металів	6
2. Характеристика, поширення та токсичні властивості важких металів	10
3. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб металами в умовах аквакультури	12
4. Характеристика та токсичні властивості фенолів	20
5. Характеристика та токсичні властивості пестицидів	22
6. Природні токсини, які продукують гідробіонти	28
ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ	36
7. Характеристика, поширення та токсичні властивості нафти і нафтопродуктів	36
8. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб аміаком в умовах аквакультури	40
9. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб нітратами	46
10. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб нітратами	53
11. Використання методів біотестування у водній токсикології	57
Самостійна робота «Цікава водна токсикологія»	64
Інформаційні ресурси	67
Додаток А	69

ВСТУП

Навчальна дисципліна за вибором «Водна токсикологія» викладається для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура» у 5 семестрі.

Мета – оволодіння майбутніми фахівцями основами знань про токсичні властивості водного середовища щодо гідробіонтів. *Предметом* вивчення дисципліни є різноманіття, походження, структура, поведінка, шляхи міграції і механізми трансформації токсичних речовин у водному середовищі та токсична дія їх на гідробіонтів. *Об'єктами* дослідження водної токсикології виступають водойми, які потерпають від забруднення токсичними речовинами, джерела забруднення водного середовища, водні екосистеми та їх складові.

Завдання навчальної дисципліни:

методичні: формування вмій та навичок студентів працювати з навчальною та науковою літературою у галузі водної токсикології, застосовувати їх в навчальному процесі, науковій та практичній роботі;

пізнавальні: ознайомлення студентів з основними методами, напрямками та розділами водної токсикології; походженням, структурою і властивостями токсичних речовин; наслідками токсичного забруднення водного середовища; зі шляхами надходження та особливостями фізіолого-біохімічного відгуку на дію токсичних речовин; впливом токсикантів на біологічні, фізіологічні та біохімічні процеси в організмі риб, на активність ферментативних систем риб; видовими особливостями чутливості та стійкості риб до токсикантів;

практичні: набуття практичних навичок проведення досліджень, які дозволяють оцінити стан водного середовища та токсикологічну загрозу для гідробіоти і людини, як споживача продукції аквакультури та рибництва; аналізувати наслідки впливу токсичного забруднення на водні екосистеми та гідробіонтів; досліджувати типи і компонентний склад забруднень, характер їхнього впливу на живі організми водних екосистем; прогнозувати розвиток еколого-токсикологічної ситуації на водних об'єктах;

розробляти заходи для зменшення токсикологічної загрози для людини як споживача води і гідробіоресурсів.

Навчальна дисципліна передбачає засвоєння студентами необхідного мінімуму знань про токсичні властивості водного середовища по відношенню до представників гідробіоти та споживачів водних біоресурсів. Контроль стану водного середовища є важливим компонентом роботи рибницьких господарств, оскільки якість води визначає не лише умови існування іхтіофауни, але і якість рибної продукції. Знання і навички з водної токсикології необхідні для формування у здобувачів освіти комплексу фахових компетентностей для запровадження принципів сталої аквакультури в рамках Європейського Зеленого курсу шляхом забезпечення належної якості поверхневих вод та водних біоресурсів. В курсі практичної підготовки крім знань про основні токсичні речовини, які забруднюють водне середовище внаслідок діяльності людини, значна увага приділяється причинам виникнення і заходам щодо попередження отруєння риб важкими металами в умовах аквакультури і сполуками азоту, які потрапляють у воду внаслідок життєдіяльності риб та інших гідробіонтів.

Міждисциплінарні зв'язки: дисципліни, що передують вивченню зазначеної: Передусє вивчення таких навчальних дисциплін як «Вступ до фаху», «Гідробіологія», «Іхтіологія (загальна та спеціальна)», а також «Навчальна гідробіологічна та іхтіологічна практика» та ін. До числа дисциплін, вивчення яких у подальшому базується на матеріалі зазначеної, належать дисципліни фундаментальної та фахової підготовки: «Аквакультура штучних водойм», «Розведення та селекція риб» та ін.

На вивчення дисципліни передбачено 120 год, з яких 20 годин лекцій, 12 год практичних робіт (роботи 1-6) і 10 лабораторних робіт (роботи 7-11). Форма підсумкового контролю – залік.

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ

1. Характеристика, поширення та токсичні властивості основних лужних та лужноземельних металів

Мета: ознайомитися з характеристикою основних токсичних лужних та лужноземельних металів, які забруднюють водне середовище

Теоретична частина. За сучасною номенклатурою Міжнародного союзу фундаментальної та прикладної хімії (International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC), *лужні метали* – це хімічні елементи першої групи періодичної системи: літій (Li), натрій (Na), калій (K), рубідій (Rb), цезій (Cs) і францій (Fr). Водень (H) номінально теж є елементом цієї групи, але не є лужним металом. Всі лужні метали реагують з водою утворюючи розчинні гідроксиди, які називають їдкими *лугами* (звідси походить і назва групи), при цьому важчі лужні метали реагують енергійніше ніж легші. Лужні метали дуже поширені у природі; найпоширенішим є натрій, далі йдуть калій, літій, рубідій, цезій і, нарешті, францій, який трапляється дуже рідко через його надзвичайно високу радіоактивність. У природі лужні метали існують винятково у вигляді сполук, що містять однозарядні катіони, через високу відновлювальну активність.

Найважливіше значення для водних екосистем мають натрій і калій, вони є головними катіонами у природних водах і визначають їх клас за хімічним складом (Дудник, Євтушенко, 2013). Калій є основним катіоном всередині клітин тварин, тоді як натрій є основним позаклітинним катіоном. Різниця концентрацій цих заряджених частинок викликає різницю в електричному потенціалі між внутрішньою і зовнішньою поверхнею мембрани клітин, яка відома як мембранний потенціал.

Лужноземельні метали – це хімічні елементи другої групи періодичної системи за класифікацією IUPAC: берилій (Be), магній (Mg), кальцій (Ca), стронцій (Sr), барій (Ba) та радій (Ra). Свою назву ця група металів отримала через їхні оксиди, які мають землянистий вигляд і дають у воді лужну реакцію. Лужноземельні метали менш хімічно активні, ніж лужні, проте в природі у вільному стані теж не зустрічаються. Важчі лужноземельні метали реагують більш енергійно, ніж легші.

Кальцій є п'ятим за поширенням елементом в земній корі (3,38%). Вміст кальцію в морській воді - 400 мг / л. Дещо менше у земній корі магнію – 2,35%. Великі кількості магнію знаходяться в морській воді у вигляді розчину солей (0,12-0,13%). Широко зустрічаються барій і стронцій – відповідно 0,05 та 0,034% від маси земної кори. Берилій є рідкісним, а радій – найбільш рідкісним лужноземельним металом. Радій радіоактивний і міститься у невеликих кількостях в уранових рудах (Дудник, Євтушенко, 2013).

Завдання

1. Використовуючи рекомендовану літературу, ознайомитись з особливостями поширення лужних і лужноземельних металів, їх функціями в організмі гідробіонтів та токсичними властивостями. Заповнити узагальнюючу таблицю і зробити відповідні висновки.

Елемент	Особливості поширення у літосфері, гідросфері або у біосфері	Функції в організмі гідробіонтів	Особливості токсичної дії на організм гідробіонтів	Характерні ознаки отруєння	Антропогенні джерела	ГДК
1	2	3	4	5	6	7

2. Використовуючи відомі значення ГДК, скласти градацію зростання токсичного впливу лужних та лужноземельних металів на гідробіонтів (Елемент 1 < Елемент 2 < Елемент 3 < ...)

3. Розв'язати тестові завдання

1 рівень (одна правильна відповідь)

1. Метал, який у кістках міститься у вигляді гідроксиапатиту

К Mg Ra Ca Li

2. Які елементи, що містять однозарядні катіони, у природі існують винятково у вигляді сполук, через їх високу відновлювальну активність?

Лужноземельні метали

Лужні метали

Важкі метали

Металоїди

Луги

3. Характерною ознакою отруєння риб солями цього елемента є темне забарвлення тіла

Mg Sr Ba Na K

4. Характерною ознакою отруєння риб солями цього елемента є знебарвлення, збліднення зовнішніх покривів.

Mg Sr Ba Na K

5. Значні кількості цього елемента надходять у талі води, а звідти у ґрунтові води і далі у водойми за використання його хлориду проти обледеніння шосейних та міських доріг.

Mg Sr Ba Na K

6. Сполуки цього металу широко використовуються у харчовій (згущувачі, розпушувачі, емульгатори, підсилювачі запаху, консерванти) та у медичній (бромід, хлорид, йодид, оротат, перманганат, ацетат та ін.) промисловості.

Mg Sr Ba Na K

7. Найпоширеніший лужноземельний метал, кількість якого складає 3,38% від маси земної кори.

Sr Ba Na K Mg Ca

8. Радіоактивний елемент, який міститься у невеликих кількостях в уранових рудах.

Ba Be Ra Na K

9. Цей метал у поверхневій воді суші надходить через процеси хімічного вивітрювання і розчинення мінералів, перш за все вапняків, доломітів, гіпсу, силікатів і т.д.

Mg Ca Sr Ba Na K

10. Цей елемент у кістках міститься у вигляді гідроксиапатиту.

Na K Mg Ca Sr Ba

11. Іони цього металу беруть участь у процесах згортання крові та виступають одним з універсальних посередників у регуляції внутрішньоклітинних процесів, наприклад, екзоцитозу чи секреції гормонів та нейромедіаторів.

Mg Ca Sr Ba Na K

12. Цей елемент у поверхневій воді суші надходить у процесі хімічного вивітрювання і розчинення мергелів, магнезитів, доломітів та інших мінералів.

Sr Ba Mg Ca K

13. Цей елемент міститься у тканинах тварин і рослин, входить до складу хлорофілу, є кофактором багатьох ферментних реакцій, необхідний для синтезу АТФ. Проте підвищений вміст у воді викликає отруєння і загибель гідробіонтів від блокування діяльності нервової системи та зниження активності ферментів.

Sr Ba Mg Ca K

14. Високорадіотоксичний елемент, який накопичується у кістковій і кровотворній тканинах, викликаючи остеопороз і розвиток злоякісних пухлин.

Ba Be Ra Na K

15. Радіоактивний продукт розщеплення цього елемента – газоподібний радон – є дуже небезпечним для гідробіонтів.

Ba Be Ra Na K

2 рівень (дві правильні відповіді)

16. Metали, які обумовлюють рівень жорсткості води

K Mg Ra Ca Li

17. Ці елементи виступають головними катіонами у природних водах і визначають клас вод за хімічним складом

Mg Sr Ba Na K

18. Найважливіші біоелементи, які необхідні для мінерального обміну, беруть участь у осморегуляції, у генерації та проведенні біоелектричних імпульсів, активують ферменти тощо. Проте у високих концентраціях вони викликають локальні ураження зовнішніх покривів і внутрішніх органів.

Sr Ba Be Ra Na K

19. Всі сполуки цих металів отруйні для гідробіонтів і викликають їх загибель у низьких концентраціях.

Mg Ba Be Na K Sr

3 рівень (від 2 до 4 правильних відповідей)

20. Виберіть зі списку лужні метали

Mg Ca Sr Ba Na K

21. Виберіть зі списку метали, назва групи яких пов'язана з утворенням їдких лугів за взаємодії цих елементів з водою.

Mg Ca Li Na K Rb

22. Виберіть зі списку метали, які свою назву отримали через їхні оксиди, які мають землянистий вигляд і дають у воді лужну реакцію.

Mg Ca Sr Ba Na K

23. Виберіть зі списку лужноземельні метали

Mg Ca Sr Ba Na K

2. Характеристика, поширення та токсичні властивості важких металів

Мета: ознайомитися з характеристикою основних токсичних (неесенціальних) важких металів, які забруднюють водне середовище.

Теоретична частина. Важкі метали – нині нечітко визначена група хімічних елементів з металічними властивостями, які мають відносно високу густину (понад 5 г/см³), атомну масу або атомний номер. Використовувані критерії і те, чи включені металоїди, варіюються в залежності від автора і контексту. У металургії, наприклад, важкий метал, може бути визначений на основі густини, тоді як у фізиці основним критерієм може бути атомний номер, а у хімії – поведінка у хімічних реакціях. Незважаючи на відсутність остаточної згоди, термін «важкі метали» (множина або одна) широко застосовується в науці.

Група важких металів включає широкий спектр забруднюючих речовин – перехідні метали, деякі металоїди, лантанойди і актиноїди. У наукових роботах, присвячених проблемам забруднення навколишнього природного середовища та екологічного моніторингу, на сьогоднішній день до важких металів відносять більше 40 металів періодичної системи з атомною масою понад 50 атомних одиниць: V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Sn, Hg, Pb, Bi й ін. При цьому важливу роль у категоріюванні важких металів відіграє їх висока токсичність у відносно низьких концентраціях, а також здатність до *біоаккумуляції* (накопичення у тканинах і органах живих організмів) і *біомагніфікації* (накопичення по трофічних ланцюгах) (Дудник, Євтушенко, 2013).

Проте, майже усі метали, які потрапляють під визначення важких (за винятком свинцю, ртуті, кадмію та вісмуту, а також миш'яку), беруть активну участь у біологічних процесах, входячи до складу ферментів, гормонів, вітамінів і т.д. Тому

хімічні елементи цієї групи поділяють на есенціальні (біофільні) і неесенціальні (Дудник, Євтушенко, 2013). До першої групи нині віднесено 25 хімічних елементів, таких як Fe, Cu, Zn, Cr, Mn, Co, Mo й ін., які необхідні для нормального перебігу фізіологічних процесів у організмах, у тому числі і гідробіонтів, але за високих рівнів вмісту у воді чи інших середовищах вони мають токсичну дію, а накопичення таких елементів в тканинах і органах живих організмів спричиняє порушення біохімічних процесів і фізіологічних функцій.

До групи неесенціальних хімічних елементів віднесені такі елементи як Hg, Cd, Pb, Bi і As, які відомі як високотоксичні, тобто викликають негативні зміни у життєдіяльності організмів навіть за дуже низьких концентрацій, а їх біологічна роль не визначена (Дудник, Євтушенко, 2013). Встановлено, що деякі елементи, такі як ванадій або кадмій, які зазвичай мають токсичний вплив на живі організми, можуть бути корисними для деяких видів (Lane et al, 2005).

Такі елементи, як мідь, марганець, цинк, що трапляються в водоймах у малих кількостях, відіграють значну роль у житті водних організмів (вплив на ріст, дихання, обмін, харчування, розмноження тощо). Однак, при збільшенні вмісту цих речовин у воді до певних концентрацій вони стають токсичними для гідробіонтів. При концентрації марганцю 0,001–0,002 мг/дм³ ріст водоростей прискорюється в 5–6 разів, а концентрація марганцю понад 0,02–0,01 /дм³ отруйна для більшості евтрофних організмів (Бессонов, Привезенцев, 1987).

Відповідно до даних щорічних інформаційно-аналітичних оглядів Міністерства екології та природних ресурсів України, випадки високого рівня забруднення поверхневих вод важкими металами за рибогосподарськими нормативами у басейні р. Дніпро спостерігали за вмістом заліза загального, хрому загального та цинку.

Завдання

1. Використовуючи рекомендовану літературу, ознайомитись з особливостями поширення важких металів, їх функціями в організмі гідробіонтів та токсичними властивостями. Заповнити узагальнюючу таблицю і зробити відповідні висновки.

Елемент	Особливості поширення у літосфері, гідросфері або у біосфері	Особливості токсичної дії на організм гідробіонтів	Характерні ознаки отруєння	Антропогенні джерела	ГДК для рибо-господарських водойм	Допустимий вміст у рибопродуктах
1	2	3	4	5	6	7

2. Використовуючи відомі значення ГДК, скласти градацію зростання токсичного впливу важких металів на гідробіонтів (Елемент 1 < Елемент 2 < Елемент 3 < ...)

3. Використовуючи відомі значення допустимого вмісту у рибопродуктах, скласти градацію погіршення якості рибної продукції (Елемент 1 > Елемент 2 > Елемент 3 > ...)

3. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб металами в умовах аквакультури

Мета: ознайомитися причинами виникнення, запобігання і лікування отруєння риб металами, які забруднюють водне середовище.

Теоретична частина. Риба набагато чутливіша до водних розчинів металів, ніж людина, що є однією з причин, чому вода, безпечна для споживання людиною, може бути дуже токсичною для риби. Метали найтоксичніші у воді з низькою лужністю, що дозволяє високій концентрації металу залишатися розчиненим (і, отже, токсичним).

Свинцева, мідна або оцинкована (покрита цинком) залізна сантехніка може вилугувати метали. Оскільки з часом все більше і більше металу розчинятиметься у воді, чим довше вода перебуває в трубі, тим вищою стає концентрація металу. Таким

чином, вода, яка вперше виходить із труби, має найвищий вміст металу. Грунтові води, особливо м'які і кислі, можуть містити токсичні концентрації металів. Стік дощової води також може бути джерелом отруєння металами в погано буферизованих ґрунтах, які можуть вимивати алюміній або інші з ґрунту чи шахтних відходів. Метали можуть потрапляти в акваріум через кришки акваріума або предмети, поміщені в нього; це можуть бути не лише металеві предмети, а й керамічний посуд зі свинцевою глазур'ю та певними породами. До акваріума слід поміщати лише предмети, які відомі як безпечні для використання.

Передозування міддю, яка використовується як альгіцид або для лікування ектопаразитів, може призвести до отруєння. Безрецептурні ліки для прісноводних риб, які містять мідь, можуть бути токсичними, навіть якщо використовується рекомендоване дозування, оскільки токсичність міді значно змінюється залежно від умов.

Вода з гіполімніону озер або водосховищ, що використовується на рибних заводах, може мати високий вміст міді, цинку, заліза та марганцю через мобілізацію металів з анаеробних умов (Grizzle 1981). Окислений марганець теж може бути токсичним.

Клінічні ознаки отруєння металами відрізняються залежно від елемента та певною мірою від виду риби. Як і у випадку з більшістю токсинів, ознаки здебільшого неспецифічні. Найчастішою причиною отруєння є мідь. Як і більшість важких металів, мідний токсикоз вражає переважно зябра, що призводить до осморегуляційної дисфункції. Можуть також постраждати нирки та печінка (Cardeilhac and Whitaker 1988). Мідь також є імуносупресивною і, таким чином, може потенціювати епідемії інфекційних захворювань (Knittel 1981). Sorensen (1991) детально розглядає отруєння металами.

Діагностика. Остаточний діагноз отруєння металами вимагає вимірювання їх рівня у воді. Однак визначити, чи є концентрація металу токсичною, часто складніше, ніж просто виміряти загальну кількість металу, оскільки токсичність металу в основному зумовлена його розчиненою іонною формою, а не

загальною концентрацією. Деякі метали утворюють у воді оксиди, гідроксиди та карбонати. Глина та органічні речовини адсорбують та/або утворюють хелати металів, інактивуючи (тобто детоксикуючи) їх. Кальцій і магній також знижують токсичність важких металів, конкуруючи з місцями зв'язування металів на зябрах (Pagenkopf 1983). Таким чином, важко оцінити ймовірний вплив металу, коли присутні вищезазначені ускладнення (наприклад, вода з високою жорсткістю, високою лужністю, став із значним вмістом глини та органічних речовин). Якщо є підозра на токсичність металу та якщо економічно виправдано підтвердити причину, найкраще відправити зразки до спеціалізованої лабораторії. Однак є обмеження аналізу. Атомно-абсорбційна спектроскопія найчастіше використовується для високоточного аналізу металів. Цей метод визначає загальну кількість металу в зразку. Однак використовуються також більш ошадні методи екстракції (Riggs et al. 1989) через вищезазначені міркування. Також можна поради надати уражену рибу для визначення концентрації металу в цільових тканинах (зазвичай у зябрах, печінці та нирках). Необхідно бути особливо обережним, щоб уникнути забруднення зразків тканини під час підготовки, тому зазвичай рекомендується подавати живу рибу або свіжоохоложену живу рибу, а аналітична лабораторія підготує спеціальні тканини.

Комерційні тестові набори доступні у постачальників акваріумів та інших джерел (Aquarium Systems, Inc., Chemetrics, Inc., Nach Company, LaMotte Company) для вимірювання загального вмісту міді, заліза та інших металів. Такі набори є відносно надійними для визначення рівня металів у водах з низьким вмістом органічних і зважених речовин (наприклад, типова акваріумна вода, водопровідна або ґрунтова вода).

Токсичність заліза зумовлена не прямою токсичністю металу, а скоріше випаданням оксидів заліза на зябрах, коли анаеробна вода (наприклад, з колодязя), яка містить розчинне, відновлене залізо, потрапляє на повітря (Wedemeyer et al., 1976; Ленгдон 1988). Діагноз може бути попередньо заснований на типових клінічних ознаках; однак також бажано вимірювати рівень заліза у воді. Вода з високим вмістом заліза часто

забарвлює бетон та інші конструкції в коричневий колір. Токсичність марганцю діє аналогічно.

Лікування. Лікування 1. Перемістити рибу в іншу систему 2. Замінити воду 3. Додати EDTA 4. Додати іонообмінний фільтр.

Найкращим підходом є уникнення контакту з забрудненою водою. При необхідності воду можна обробити для видалення токсичних металів. Іонообмінні фільтри адсорбують мідь, цинк, свинець та інші важкі метали. Насоси, що подають відміряну кількість EDTA, будуть хелатувати важкі метали. Іонообмінні фільтри та хелатори металів менш ефективні у воді високої жорсткості. Вони також видаляють важливі важкі метали (Ca ++, Mg ++), які, можливо, доведеться повторно додати у воду для деяких риб. Вони також дорогі, тому їх можна використовувати лише для інкубаторів, дослідницьких установ або систем рециркуляції. Токсичності заліза можна уникнути, дозволивши залізу осісти в ставку (час проходження води в ставку повинен становити 1-2 дні). Швидший спосіб полягає в тому, щоб енергійно аерувати воду, а потім пропустити її через піщаний фільтр, щоб видалити осад заліза. Потім її можна використовувати негайно (Boyd 1990).

Завдання

1. Використовуючи рекомендовану літературу, ознайомитись з найпоширенішими причинами отруєння риб металами, їх токсичними властивостями. Заповнити узагальнюючу таблицю 1 і зробити відповідні висновки.

Метал	Причини появи у воді	Клінічні ознаки отруєння	Діагностика	Лікування

2. Розв'язати тестові завдання

1 рівень (одна правильна відповідь)

1. Який із перелічених відносяться до групи неесенціальних хімічних елементів?

Na K Ca Hg Mg

2. Джерелом забруднення поверхневих вод цим важким металом є поверхневий змив із сільськогосподарських угідь, де використовуються пестициди - каломель, сулема, металоорганічні комплексні сполуки.

Na K Ca Hg Mg

3. Які організми у водному середовищі перетворюють ртуть (Hg^{2+}) у високотоксичну метилову ртуть ($\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$)?

безхребетні

водорості

риби

мікроорганізми

планктон

4. Який символ пропущено у формулі високотоксичної метилової ртуті ($\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$)?

1 2 3 4 5

5. Підвищення токсичності цього важкого металу спостерігається у низькомінералізованих водах зі зниженим рН.

Hg Ca As Pb Li

6. Значне підвищення вмісту цього важкого металу у навколишньому середовищі пов'язане зі спалюванням твердого палива, виносом зі стічними водами рудозбагачувальних комбінатів, металургійних заводів, шахт, хімічних підприємств, застосуванням на транспорті у складі антидетонатора для двигунів внутрішнього згорання.

Pb Li Hg Ca As

7. В організмі риб цей елемент виступає аналогом кальцію і включається в обмінні процеси, надходячи через зябра по кальцієвому каналу.

Hg Ca As Pb Li

8. Надходження цього елемента в організм коропових видів риб зміщує їх азотистий обмін у бік активації процесів катаболізму білків, що призводить до зниження маси тіла, виснаження.

As Pb Hg Ca Li

9. Загальний характер токсичної дії цього елемента на живе населення водойм пов'язаний з його здатністю заміщувати фосфор у біосполуках і внаслідок цього змінювати перебіг біохімічних процесів.

Hg Ca Cu Pb As

10. Комплексні сполуки цього металу не мають токсичного впливу на живі організми, іони - для прісноводних риб, як правило, більш токсичні, ніж іони всіх інших металів (за виключенням ртуті).

Mn Cu Zn Cr Co

11. Цей метал надходить у рибогосподарські водойми у результаті застосування альгоцидних препаратів для знищення водоростей

Mn Cu Zn Cr Co

12. У вільному вигляді цей метал зрідка зустрічається у вигляді самородків, інколи значних розмірів (декілька тонн).

Mn Cu Zn Cr Co

13. За наявності у воді значної кількості кальцію токсична дія цього важкого металу на гідробіонтів знижується.

Mn Cu Zn Cr Co

14. Цей метал входить до складу ферментів і бере участь у багатьох біохімічних процесах. Зокрема нині ідентифіковано більше 20 металоферментів, зокрема, карбоангідраза, лужна фосфатаза, алкогольдегідрогеназа і т.д.

Cu Zn Mn Cr Co

15. Суть токсичного впливу цього есенціального важкого металу на водні екосистеми полягає у гальмуванні фотосинтезу фітопланктону, що знижує первинну продукцію водойм і підриває кормову базу зоопланктону і риб.

Cr Mn Cu Zn Co

16. Токсичність цього важкого металу для риб у багато разів вище, ніж для теплокровних тварин.

Co Mn Cu Zn Cr

17. Токсичність сполук цього металу залежить від валентності: найтоксичніші сполуки (VI), високотоксичні сполуки (III), металічний і двовалентний (II) менш токсичні.

Mn Cu Zn Cr Co

18. Цей елемент входить до складу вітаміну B₁₂, є коферментом мутаз, які каталізують перенесення водневих іонів, бере участь у процесах метилювання.

Mn Cu Zn Cr Co

19. Цей елемент відноситься до групи металів, здатних блокувати канали надходження в організм Ca, порушуючи кальцієвий метаболізм гідробіонтів, особливо у м'якій воді. Основним шляхом надходження його до організму риб є зябра.

Mn Cu Zn Cr Co

20. Цей метал відноситься до помірно токсичних елементів і виступає антагоністом міді та алюмінію.

Mn Cu Zn Fe Co

21. Підвищений вміст цього важкого металу у вигляді комплексних сполук з солями гумінових кислот спостерігається у болотних водах.

Mn Cu Zn Fe Co

22. Цей метал завжди присутній у складі природних вод у різних формах, які визначаються рН (активною реакцією) і Eh (відновним потенціалом) водного середовища. У двовалентному вигляді знаходиться тільки за низьких рН.

Mn Cu Zn Fe Co

23. У тварин, рослин та грибів цей елемент входить до складу гемного комплексу.

Mn Cu Zn Fe Co

24. Наявність окислених форм цього елемента у водному середовищі супроводжується зв'язуванням кисню, внаслідок чого формується кисневий дефіцит і гідробіонти гинуть від задухи.

Mn Cu Zn Fe Co

25. Забруднюють середовище цим важким металом продукти корозії, викиди транспорту і т.д.

Mn Cu Zn Fe Co

26. Металоїд, який на сучасному етапі розвитку людського суспільства став одним із значимих компонентів забруднення навколишнього середовища з високим ступенем токсичності

Mn Cu Zn Se Co

2 рівень (дві правильні відповіді)

27. Виберіть хімічні елементи, які відносяться до групи неесенціальних, та відомі як високотоксичні, тобто викликають негативні зміни у життєдіяльності організмів навіть за дуже низьких концентрацій, а їх біологічна роль не визначена.

Na K Ca Cd Bi

28. Виберіть зі списку токсичні металоїди

Ртуть

Кадмій

Мідь

Свинець

Миш'як

Селен

29. Виберіть зі списку токсичні металоїди

Mn Cu Zn Se Co Cr As

30. Виберіть зі списку есенціальні елементи

Ртуть

Кадмій

Мідь

Свинець

Миш'як

Селен

31. Виберіть зі списку хімічні елементи, які відносяться до групи есенціальних (біофільних) важких металів

Zn Cr Cd Pb Bi As

3 рівень (від 2 до 4 правильних відповідей)

32. Виберіть хімічні елементи, які відносяться до групи неесенціальних, та відомі як високотоксичні і викликають негативні зміни у життєдіяльності організмів навіть за дуже низьких концентрацій, а їх біологічна роль не визначена.

Na K Ca Hg Cd Pb Bi

33. До якої групи резорбтивних отрут відносяться важкі метали?

локальні отрути

резорбтивні отрути

нервово-паралітичні отрути

наркотичні речовини

гемолітичні речовини

ензиматичні отрути

протоплазматичні отрути

мембранотоксичні речовини

4. Характеристика та токсичні властивості фенолів

Мета: ознайомитися з характеристикою та токсичними властивостями фенолів, симптомокомплексом отруєння риб фенолами.

Теоретична частина. *Феноли* – це органічні сполуки ароматичного ряду, в молекулах яких гідроксильні групи -ОН зв'язані з атомами вуглецю ароматичного кільця.

За кількістю ОН-груп розрізняють:

одноатомні феноли – фенол (C_6H_5OH) та його гомологи (крезол, ксиленол, пентахлорфенол) (рис. 4.1); двоатомні феноли – гідрохінон, пірокатехін, резорцин; трьохатомні феноли – пірогалол, флороглуцин, гідроксигідрохінон і т. д.

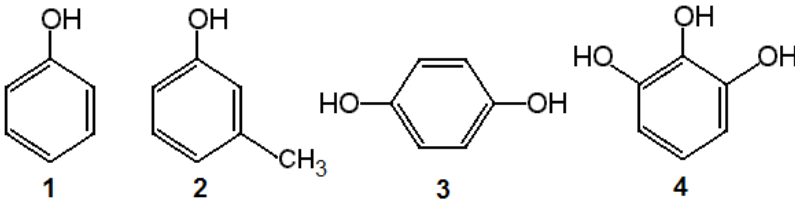


Рис. 4.1. 1 – фенол (C_6H_5OH); 2 – m-кресол ($CH_3C_6H_4OH$); 3 – гідрохінон ($C_6H_4(OH)_2$); 4 – пірогалол ($C_6H_3(OH)_3$)

Забруднена фенолами вода стає каламутною, набуває бурого кольору і вкривається плівкою, має запах карболової кислоти і гіркий присмак.

На початкових етапах забруднення водою риби здатні виявляти брудні зони за запахом і відходити у чисту воду. У місцях забруднення води фенолами знижується концентрація розчиненого кисню і зростає значення БСК₅. За тривалої дії забруднення або за високих концентрацій фенолів у воді здатність виявляти забруднені зони у риб втрачається внаслідок ушкодження рецепторного апарату. З часом у них розвивається фенольна інтоксикація та спостерігається масова загибель. Феноли відносяться до резорбтивних отрут нервово-паралітичної дії.

Симптомокомплекс отруєння риб фенолами проявляється у зміні поведінкових реакцій. Отруєння характеризується фазовим перебігом (Дудник, Євтушенко, 2013):

фаза I – занепокоєння: риба веде себе неспокійно, широко розкриває рот, розправляє плавці, підвищується дихальний ритм; довготривале занепокоєння, більше 10-20 хвилин, може бути першим показником дії отрути;

фаза II – розлад чутливості: реакція на зовнішні подразники зникає – риба безвільно переливається з водою або зноситься течією, чи навпаки спостерігається гіперреакція на подразнення у вигляді намагання вистрибнути з води; дихання поверхневе неритмічне, дрижать щелепи і плавці;

фаза III - розлад рівноваги: спостерігається перевертання на бік, сильно напружуються плавці, що викликає втрату здатності до руху (атаксію); параліч плавального міхура;

фаза IV – агонія: повна втрата рівноваги приводить до повної нерухомості, блокування дихання і смерті; змінюється забарвлення тіла – риба має тьмяне забарвлення, тіло вигнуте внаслідок одностороннього скорочення м'язів тулуба;

фаза V – трупне залякнення – повне затвердіння тіла і всіх плавців, хроматофори зникають, потім знову з'являються, утворюючи трупні плями.

Завдання

1. Записати ознаки симптомокомплексу отруєння риб фенолами.
2. Проаналізувати зміни в органах риб, загинувших від фенольного отруєння, і заповнити таблицю.

Орган, система органів	Опис змін у органах
1	2

1. Перелічіть антропогенні джерела забруднення водойм фенолами.
4. Розв'язати тестові завдання
I рівень (одна правильна відповідь)
 1. Ці токсичні речовини мають антисептичні властивості і застосовуються для дезінфекції в медичній та фармакологічній промисловості, в медичних і санаторних закладах.

Нафтопродукти

Парафіни
Олефіни
Феноли
Важкі метали

5. При надходженні яких сполук у водойми вода набуває бурого кольору, стає каламутною, покривається плівкою, набуває запаху карболової кислоти та гіркого присмаку?

Нафтопродукти
Парафіни
Олефіни
Феноли
Важкі метали

5. Характеристика та токсичні властивості пестицидів

Мета: ознайомитися з характеристикою та токсичними властивостями пестицидів для гідробіонтів.

Теретична частина. *Пестициди* – це отрутохімікати, які використовуються у сільському, лісовому, садово-парковому господарстві, а також у тваринництві, зокрема і в рибористві, для боротьби із хвороботворними мікроорганізмами, паразитами, шкідниками або небажаними рослинами і тваринами. Проте, вони згубно діють не тільки на шкідників, а й здатні викликати хворобу чи загибель і корисних видів та спричиняти отруєння людей, які ними харчуються. Джерелами отруєння можуть бути безпосередньо отрутохімікати, забруднені вода, корми чи харчові продукти (Дудник, Євтушенко, 2013).

У 50-80-і рр. XX ст. у різних країнах світу широко застосовувалися *біоциди* для боротьби з так званими шкідливими, або «смітними», гідробіонтами: личинками кровосисних комах (*інсектициди*), кліщами (*акарициди*), водними макрофітами (*гербіциди*), водоростями – збудниками «цвітіння» води (*альгіциди*), молюсками (*молюскоциди*), «смітними» рибами (*іхтіоциди*). Проте дослідження впливу біоцидів на гідробіонтів і водні екосистеми в цілому показали, що вони мають велику кількість небажаних побічних ефектів та істотно порушують екологічну рівновагу у водоймах, у зв'язку з

чим їх застосування останнім часом обмежується або повністю забороняється.

За хімічною природою діючої речовини пестициди поділяють на неорганічні (солі важких металів – ртуті, міді, цинку, кадмію і т.д.) і органічні (сполуки різного генезису органічної природи).

Найбільш різноманітною за структурою і векторами дії на водні екосистеми є група органічних пестицидів. Вони і найбільш потужні за параметрами впливу та найбільш використовувані у господарській діяльності людини. Серед органічних пестицидів виділяють такі групи:

- хлорорганічні сполуки (ХОС);
- фосфорганічні сполуки (ФОС);
- ртутьорганічні сполуки (РОС);
- нітрофенольні сполуки;
- карбамати;
- синтетичні піретроїди та ін.

Найтоксичніші для водних екосистем *хлорорганічні пестициди*, найвідомішим представником яких є ДДТ (дихлордифенілтрихлоретан) (Дудник, Євтушенко, 2013), який в побуті називали «дуст» (рис. 5.1).

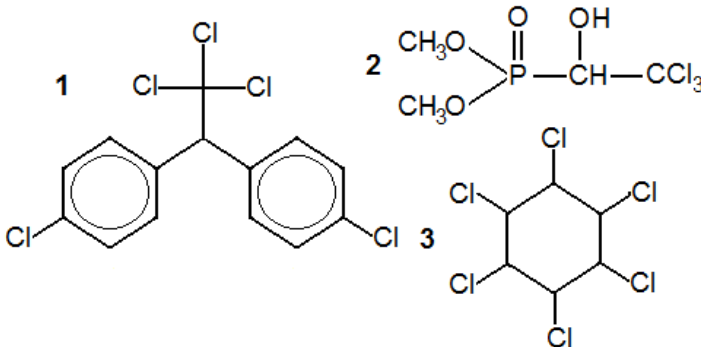


Рис. 5.1. 1 – дихлордифенілтрихлоретан (ДДТ); 2 – хлорофос;
3 – гексахлорциклогексан (ГХЦГ)

Риби і безхребетні тварини можуть тривалий час накопичувати отруту в своїх органах і тканинах. У риб токсичні речовини переважно акумулюються в печінці, селезінці,

жировій тканині, взагалі в ліпідах, в яких вони добре розчинні (зокрема, хлорорганічні пестициди – ДДТ, гексахлоран). У моллюсків токсиканти накопичуються в мантийній порожнині, в нозі (у двостулкових моллюсків) і гепатопанкреасі. Деякі токсиканти акумулюються в м'язах.

Унаслідок накопичення токсикантів у риб розвивається *кумулятивний токсикоз*. При різких перепадах температури води, дефіциті кисню, в переднерестовий період і під час нересту акумульована отрута може переходити в кров і викликати гостре отруєння. Наприклад, осетрові риби, що здійснюють далекі нерестові міграції і проходять через забруднені токсичними речовинами акваторії, гинуть майже відразу після початку виметування ікри. Хижі риби (судак, щука, жерех, окунь) можуть тривалий час накопичувати хлорорганічні пестициди, але гинуть в статевозрілому віці під час нересту, коли накопичена отрута потрапляє в кров і головний мозок.

Риби і крупні безхребетні, ослаблені унаслідок кумулятивного токсикозу, частіше стають жертвами хижаків, вражаються патогенними мікроорганізмами, а також менш здатні протидіяти екто- і ендопаразитам. У риб виникають токсикопаразитози, тобто змішані захворювання, в яких токсиканти і паразити ослабляють господаря і викликають його загибель. При масових токсикопарактозах рибне господарство зазнає значних збитків.

Кумулятивний токсикоз може виникати не лише внаслідок прямого поглинання токсикантів з води. Однією із специфічних особливостей водних екосистем є *передача токсикантів по трофічних ланцюгах*: від водоростей і найпростіших, таких, що засвоюють хімічні речовини з навколишнього середовища осмотичним шляхом, до гідробіонтів-альгофагів, від них – до мирних риб, що харчуються планктоном, і далі до хижаків, що поїдають мирних риб. Саме хижаки (щука, окунь, судак, жерех), які завершують трофічні ланцюги водних екосистем, найвразливіші, оскільки вони виступають кінцевими концентраторами токсикантів у трофічних ланцюгах.

У проміжних ланках трофічних ланцюгів також відбувається накопичення токсикантів. Наприклад, дафнії і інші гіллястовусі рачки-фільтратори акумулюють хлорорганічні пестициди до концентрацій, що перевищують їх вміст у воді в тисячі разів. Як носії токсикантів вони небезпечні для організмів, що їх поїдають. В той же час, вилучаючи токсиканти з води, фільтратори виступають як агенти самоочищення водних мас.

Негативним проявом накопичення токсикантів у трофічних ланцюгах є порушення відтворення безхребетних і риб, що веде до поступової деградації гідрофауни, скорочення видового різноманіття та зменшення біологічної продуктивності водойм. Такі зміни характерні не тільки для планктонних організмів, але і для мешканців донних відкладень, де токсиканти накопичуються разом з осідаючими завислими частинками і відмерлими зоопланктонами. З мулу токсиканти потрапляють в організм донних безхребетних, а через них – до бентосоїдних риб. Ступінь кумуляції токсичних речовин бентосними організмами може бути значно вищим, ніж планктонними, унаслідок чого бентосоїдні риби (лящ, сазан, сом, лин) із забруднених водойм загрожують здоров'ю при споживанні їх людиною.

Після вселення у водойми України рослиноїдних риб далекосхідного фауністичного комплексу (білий амур, білий і строкатий товстолобики) сформувалися нові трофічні ланцюги, по яких токсиканти поступають в організм цих риб. Так, планктофаг білий товстолобик одержує їх в основному через фітопланктон, а строкатий товстолобик — через зоопланктон. При поїданні вищих водних рослин токсиканти поступають в організм білого амура. У організм чорного амура токсиканти можуть поступати в значних кількостях через моллюсків-фільтраторів, що є його основним кормом.

Завдання

1. Заповнити таблицю

Систематична група гідробіонтів	Концентрація, при якій проявляється токсична дія	Опис відхилень у розвитку
---------------------------------	--	---------------------------

1	2	3
---	---	---

2. У чому полягає токсична дія пестицидів на водні екосистеми?

3. Розв'язати тестові завдання

1 рівень (одна правильна відповідь)

1. Вкажіть органічні забруднювачі у стічних водах

хлориди, сульфати, нітрати, нітрити
сірководень, сірчисті і сірчані сполуки
кислоти і луги
солі лужних і лужноземельних металів
солі важких металів
пестициди

2. Який з перелічених пестицидів відноситься до надвисоко стабільних забрудників – у ґрунті зберігається 12 і більше років?

Гептахлор
Хлорофос
Метафос
Карбофос
ДДТ

3. Токсичність яких речовин проявляється у пригніченні ферментативної активності ацетилхолінестерази та інших естераз, що спричиняє накопичення в синапсах нейромедіатора ацетилхоліну і блокує передачу нервових імпульсів, та супроводжується дистрофічними змінами і загибеллю нервових клітин від гіпоксії?

ДДТ і ГХЦГ
фосфорорганічних пестицидів
хлорорганічних пестицидів
синтетичних піретроїдів

4. Як називаються отруйні хімічні речовини для боротьби зі шкідливими хребетними тваринами?

інсектициди
гербіциди
фунгіциди
нематоциди
зооциди
репеленти
хемостерилізатори

дефоліанти

5. Як називаються хімічні речовини для відлякування комах, кліщів, гризунів тощо?

інсектициди

гербіциди

фунгіциди

нематоциди

зооциди

репеленти

хемостерилізатори

дефоліанти

2 рівень (дві правильні відповіді)

6. Які пестициди використовуються для боротьби з ектопаразитами риб, інші надходять у водойми з атмосферними опадами, поверхневими стоками з оброблюваних ФОС сільськогосподарських угідь, або зі стічними водами сільгосп підприємств.

Гептахлор

Хлорофос

Метафос

Карбофос

ДДТ

7. Ці речовини є складними ефірами фосфонової, фосфорної, тіофосфорної, дитіофосфорної або пірофосфорної кислот

Гептахлор

Хлорофос

Метафос

Карбофос

ДДТ

3 рівень (від 2 до 5 правильних відповідей)

8. Які з перелічених речовин відносяться до групи менш токсичних, оскільки руйнуються при термічній обробці рибної сировини і не залишають токсичних метаболітів, які можуть складати небезпеку для людини?

Гексахлорбензол

Пропанід

Гептахлор

Хлорофос

Метафос

Карбофос

9. Які фосфорорганічні сполуки є серед переліку пестицидів?

Гексахлорбензол

Пропанід

Гептахлор

Хлорофос

Метафос

Карбофос

ДДТ

ГХЦГ

10. Які хлорорганічні пестициди є у наступному переліку?

Гексахлорбензол

Пропанід

Гептахлор

Хлорофос

Метафос

Карбофос

ДДТ

ГХЦГ

6. Природні токсини, які продукують гідробіонти

Мета: ознайомитися з характеристикою основних природних токсинів, які продукують гідробіонти (водорості, вищі водні рослини, безхребетні, риби).

Теоретична частина. Токсини – це отруйні речовини, які продукуються живими організмами, а потрапляючи в інший організм, здатні викликати його хворобу або загибель (Дудник, Євтушенко, 2013). Вони мають різноманітну хімічну структуру – від простих речовин до дуже складних макромолекул, і різняться механізмами дії.

Нині відомо багато бактеріальних, грибових, рослинних і тваринних токсинів, які мають потужну отруйну дію на гідробіонтів, а через них і на людину, як споживача біоресурсів та води. Природні токсини можуть бути продуктами

метаболізму організмів, а можуть синтезуватися ними цілеспрямовано для захисту від ворогів та кормових конкурентів чи для атаквальних дій на харчові об'єкти.

Токсичні види трапляються серед динофітових, золотистих, синьозелених та зелених водоростей. Найважливіше екологічне і токсикологічне значення для водних екосистем мають токсини синьозелених водоростей (відділ *Cyanophyta*). У воді водойм, де спостерігається «цвітіння», накопичуються токсичні речовини (продукти життєдіяльності водоростей та супроводжуючих їх бактерій) і велика кількість органічних речовин, що виступає поживним середовищем для бактерій, у тому числі і патогенних. Нестача кисню призводить до літніх задух риби та інших гідробіонтів, а також гальмує процеси самоочищення і мінералізації органічних речовин. Все це сприяє накопиченню у воді все більшої кількості різноманітних шкідливих речовин, більшість з яких є небезпечними для людини (токсини, канцерогени, алергени). При бродінні та розкладанні водоростей у воді накопичується ацетон, масляна та оцтова кислота, бутиловий спирт, феноли, аміни.

Прижиттєві й посмертні виділення синьозелених водоростей виступають найсильнішими отрутами, які поєднуються під загальною назвою ціанотоксини. Вони добре розчинні у воді, безбарвні, не мають запаху, досить стійкі (термічно не руйнуються), що сприяє їхньому накопиченню у воді та передачі по трофічних ланцюгах. У більшості синьозелених водоростей активне утворення токсинів відбувається за рН середовища 8,5 – 10,0 і температурі води в 25 – 28°C. Токсини водоростей зберігають свою активність у водному середовищі впродовж 20-ти діб.

Вищі водні рослини утворюють отруйні речовини, переважно поліфенольної природи. Ці органічні сполуки вищі рослини виділяють для пригнічення росту, розвитку і здатності до розмноження інших організмів, переважно планктонних синьозелених водоростей. Згідно гіпотези про алопатичну взаємодію, хімічна дія вищої водяної рослинності на водорості визначається в основному не фенолами, а утвореними при їх

окисненні хінонами, які характеризуються набагато більшою біологічною активністю.

Високою здатністю до синтезу токсинів різної природи відзначаються і *кишковопорожнинні*, зокрема губки, поліпи і медузи. У губках міститься широкий спектр біологічно активних сполук з антибіотичними, цитостатичними і токсичними властивостями. За своєю хімічною природою активні сполуки губок дуже різноманітні. Серед них є *сесквітерпеноїди*, гетероциклічні сполуки, стерини, біогенні аміни і токсичні білки, у тому числі *суберитин*, виділений з пробкової губки *Suberites domuncula*. Суберитин представляє собою гомогенний білок з нейротоксичною активністю, яка залежить від наявності залишків триптофану в його молекулі. Суберитин гемолізує еритроцити, він здатний гідролізувати АТФ, має паралітичну дію на гідробіонтів, у людини викликає алергічні реакції і подразнення шкіри.

Гідроїдні і коралові поліпи та актинії синтезують токсини білкової і небілкової природи. *Еквінотоксин*, виділений із тканин актинії, має білкову структуру і характеризується гіпотензивною дією, викликає брадикардію і апное. Друга фаза його дії спричиняє порушення серцевої діяльності та гемоліз еритроцитів.

Найбільш складним за структурою і високо отруйним небілковим токсином є палітоксин, виділений із м'яких коралів *Palythoa toxica*, які поширені біля берегів Таїті та Гавайських островів. Механізм дії палітоксину не повністю встановлений. Відомо, що він зв'язується з Na^+ , K^+ - АТФазами клітин нервової тканини, серця, еритроцитів і утворює у місцях зв'язування пори в цитоплазматичних мембранах, у результаті чого клітини втрачають іони K^+ і Ca^{2+} та гинуть. Летальний ефект настає через 5-30 хв. у результаті звуження судин, аритмії, коронарних спазмів і зупинки дихання. У сублетальних дозах палітоксин має високу протипухлинну активність. У різних джерелах наукової інформації досить часто зустрічається інформація щодо вивчення можливості застосування палітоксину в ролі хімічної зброї (Дудник, Євтушенко, 2013).

Завдання

1. Використовуючи рекомендовану літературу, ознайомитись з характеристикою основних природних токсинів, які продукують гідробіонти. Заповнити узагальнюючу таблицю і зробити відповідні висновки.

Систематична група (вид, рід, родина тощо)	Назви токсинів	Механізм дії токсинів	Ознаки розвитку отруєння тварин і людини	Зафіксована летальна дія на організм людини (так/ні)
1	2	3	4	5

2. Дайте відповідь на питання

- 1) Як називають прижиттєві й посмертні виділення синьозелених водоростей, які є найсильнішими отрутами?
- 2) Як називають отруйні речовини, які продукуються живими організмами, а потрапляючи в інший організм, здатні викликати його хворобу або загибель?
- 3) Яка мета синтезу токсинів живими організмами?
- 4) Що вважається причиною сучасного збільшення чисельності отруйних медуз?
- 5) Чому виникає і які наслідки для організму риб має специфічний В₁-авітаміноз?

3. Розв'язати тестові завдання

1 рівень (одна правильна відповідь)

1. Який вид гідробіонтів продукує суберитин - гомогенний білок з нейротоксичною активністю, яка залежить від наявності залишків триптофану в його молекулі?

Anabaena flos-aquae

Aphanisomenon flos-aquae

Microcystis aeruginosa

Ptychodiscus breve

Suberites domuncula

2. Який вид гідробіонтів продукує суберитин, який гемолізує еритроцити та здатний гідролізувати АТФ, має паралітичну дію на гідробіонтів, у людини викликає алергічні реакції та подразнення шкіри?

Anabaena flos-aquae
Aphanisomenon flos-aquae
Microcystis aerugenosa
Ptychodiscus breve
Suberites domuncula

3. Який вид гідробіонтів продукує цілу групу ліпофільних бреветоксинів, з яких найбільш активним є бреветоксин-а, що викликає масову загибель риби й інтоксикацію людей на берегах Флориди і в Мексиканській затоці?

Anabaena flos-aquae
Aphanisomenon flos-aquae
Microcystis aerugenosa
Ptychodiscus breve
Suberites domuncula

4. Який вид гідробіонтів продукує складний за структурою і високо отруйний небілковий токсин – палітоксин?

Aphanisomenon flos-aquae
Microcystis aerugenosa
Ptychodiscus breve
Suberites domuncula
Palythoa toxica

5. Ці гідробіонти продукують токсини, серед яких є сесквітерпеноїди, гетероциклічні сполуки, стерини, біогенні аміни і токсичні білки, у тому числі суберитин.

Синьозелені водорості
Динофітові водорості
Пробкова губка
М'які корали
Сцифоїдні медузи
Вищі водні рослини

6. Ці гідробіонти продукують токсини поліфенольної природи.

Синьозелені водорості
Динофітові водорості
Пробкова губка
М'які корали
Сцифоїдні медузи
Вищі водні рослини

7. Ці гідробіонти виділяють токсичний пептид — ризостомін, який викликає у тварин дихальний параліч і смерть.

Синьозелені водорості

Динофітові водорості

Пробкова губка

М'які корали

Сцифоїдні медузи

Вищі водні рослини

8. У організмі цих гідробіонтів утворюється тетродотоксин – гетероциклічна сполука з гуанідиноювою групою.

Динофітові водорості

Пробкова губка

М'які корали

Сцифоїдні медузи

Вищі водні рослини

Голкочеревні риби

9. За хімічною природою ці токсини *Aphanisomenon flos-aquae* – похідні гуанідину, слабкі основи. Механізм їх дії полягає у блокуванні іонотранспортної ділянки Na⁺-каналу у мембранах клітин гуанідиноювою групою молекули.

афантотоксини

анатоксини

мікроцистини

бреветоксини

поліфеноли

10. Ці речовини ціаней *Aphanisomenon flos-aquae* є ендотоксинами, які зберігаються всередині здорових клітин і вивільняються тільки після їх лізису.

афантотоксини

анатоксини

мікроцистини

бреветоксини

гуанотоксини

11. Як називаються токсини *Ptychodiscus brevis*?

афантотоксини

анатоксини

мікроцистини

- бреветоксини
гуанотоксини
12. Як називаються токсини, які продукує *Microcystis aeruginosa*?
- афантотоксини
анатоксини
мікроцистини
еротоксини
генотоксини
13. Як називаються токсини *Anabaena flos-aquae*?
- афантотоксини
анатоксини
мікроцистини
акветоксини
флотоксини
14. Як називаються токсини, які продукує вища водна рослинність?
- афантотоксини
анатоксини
мікроцистини
бреветоксини
поліфеноли
15. Як називаються токсини, які продукують динофітові водорості?
- афантотоксини
анатоксини
мікроцистини
бреветоксини
гуано токсини
16. Впродовж якого часу токсини синьозелених водоростей зберігають свою активність у водному середовищі?
- 1 година
24 години
5-7 діб
10 діб
20 діб

2 рівень (дві правильні відповіді)

17. Вкажіть афантотоксини *Aphanisomenon flos-aquae*
Анатоксин-а
Анатоксин-а(s)
Неосакситоксин
Сакситоксин
Бреветоксин
Мікроцистин-а
18. Виберіть зі списку токсини *Anabaena flos-aquae*
Анатоксин-а
Анатоксин-а(s)
Неосакситоксин
Сакситоксин
Бреветоксин
Мікроцистин-а
19. У крові яких гідробионтів виявлено небезпечні для людини іхтіохемотоксини?
у поліхет
у вугра
у мурени
у медузи
у актиній

3 рівень (від 2 до 4 правильних відповідей)

20. Які ознаки властиві ціанотоксинам?
добре розчинні у воді
нерозчинні у воді
безбарвні
забарвлені у різні відтінки синьозеленого кольору
не мають запаху
мають різкий болотяний запах
термічно не руйнуються
руйнуються під впливом високої температури
21. Питання на співставлення терміну та його визначення
- 1) Фермент, який активується у процесі специфічного В₁-авітамінозу у риб, що розвивається під впливом токсинів синьозелених водоростей.
 - 2) Один з афантотоксинів *Aphanisomenon flos-aquae*.

- 3) Цей токсин виділений із м'яких коралів, які поширені біля берегів Таїті та Гавайських островів.
- 4) Симптомами отруєння цим токсином динофітових водоростей у людей є рясне слиновиділення, сильний нежить, в'ялий параліч м'язів, самовільна дефекація. Смерть настає у результаті зупинки дихання.
- 5) Це дуже токсичний метаболіт синьозелених водоростей для водних безхребетних – коловерток, дафній і циклопів; риби здатні накопичувати цей токсин. Він стійкий до термічної обробки і навіть здатен підвищувати свою токсичність після кип'ятіння.

мікроцистин

тіаміназа

палітоксин

бреветоксин

сакситоксин

ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ

7. Характеристика, поширення та токсичні властивості нафти і нафтопродуктів

Мета: ознайомитися з характеристикою нафти і нафтопродуктів, які забруднюють водне середовище. Оцінити нафтове забруднення за візуальною шкалою.

Теоретична частина. *Нафта* – природна масляниста горюча рідина зі специфічним запахом, що складається зі складної суміші вуглеводнів різної молекулярної маси і деяких інших хімічних сполук. Слово «petroleum», що означає «нафта» в англійській та деяких інших мовах, утворено складанням двох слів: грец. πέτρα – камінь і лат. oleum – олія (масло), тобто буквально «кам'яна олія»; інше англійське слово для позначення нафти «oil» – олія.

Нафта складається в основному із насичених аліфатичних та гідроароматичних вуглеводнів і містить гетеросполуки металів та специфічні компоненти.

Нафтове забруднення водою має багатовекторну дію на водні екосистеми і настільки згубно відбивається на їх функціонуванні та рибному господарстві, що вважається

небезпекою номер один. Надходячи у водне середовище, нафта спочатку розтікається по поверхні води у вигляді різнокольорової плівки, яка порушує газообмін на межі розділення фаз, формуючи кисневий дефіцит у водоймі та змінює склад спектру й інтенсивність проникнення світла у водну товщу. Через тонкі плівки сирової нафти проходить 1 – 10% світла з довжиною хвилі 280 нм і 60 – 70% з довжиною хвилі 400 нм. Плівка товщиною 30 – 40 мкм повністю поглинає інфрачервоне випромінювання (Дудник, Євтушенко, 2013).

За кольором плівки можна визначити її товщину, обсяги надходження нафти у водойму та оцінити в балах за візуальною шкалою рівень нафтового забруднення (табл.4.1). Забруднення, яке оцінюється в 4-5 балів є екологічною катастрофою для водойми.

Завдання

Обладнання і реактиви: скляний лабораторний посуд, піпетки, вода, нафтопродукти (бензин), олівець для скла.

Порядок роботи:

2. В десять пронумерованих олівцем чашок Петрі, або інший лабораторний посуд, налийте воду і додайте до неї по краплі нафтопродукти (в першу – 1 краплю, в другу – дві і т.д.)
3. Спостерігайте за появою нафтової плівки на поверхні води.
4. Оцініть нафтове забруднення води за таблицею 7.1 і зробіть відповідні висновки.
5. Законспекуйте таблицю.

Таблиця 7.1

Оцінка нафтового забруднення водойм за візуальною шкалою (Дудник, Євтушенко, 2013)

Колір плівки	Товщина плівки, мкм	Обсяги надходження нафти, л/км ²	Бальна оцінка забруднення
Світло-сірі плівки незначної площі	0,038	44	1 бал
Сріблясті плівки і плями	0,076	88	2 бали
Ненасичені різнокольорові (веселкові) плівки	0,152	176	3 бали

Насичені яскраві різнокольорові (веселкові) плівки	0,305	352	
Темно-сірі або чорно-коричневі плівки нафти на більшій частині водойми	1,016	1170	4 бали
Чорна суцільна плівка, яка не розмивається при утворенні хвиль	2,032	2310	5 балів

4. Дайте відповідь на запитання

- 1) За теоретичним матеріалом, з'ясуйте причини появи нафти і нафтопродуктів у воді.
- 2) Як наявність нафти впливає на якість продукції аквакультури (риб і моллюсків)?
- 3) Як відбувається очищення водойм від нафтового забруднення? Які небезпеки виникають у ході цих заходів?

4. Розв'язати тестові завдання

1 рівень (одна правильна відповідь)

1. Вкажіть органічні забруднювачі у стічних водах
хлориди, сульфати, нітрати, нітрити
сірководень, сірчисті і сірчані сполуки
кислоти і луги
солі лужних і лужноземельних металів
солі важких металів
нафта, нафтопродукти і їх компоненти
2. Який колір плівки має нафтове забруднення водойми за візуальною шкалою у 5 балів?
Світло-сірі плівки незначної площі
Сріблясті плівки і плями
Ненасичені різнокольорові (веселкові) плівки
Темно-сірі або чорно-коричневі плівки нафти на більшій частині водойми
Чорна суцільна плівка, яка не розмивається при утворенні хвиль
3. Який колір плівки має нафтове забруднення водойми за візуальною шкалою у 3 бали?
Світло-сірі плівки незначної площі

Сріблясті півки і плями
Ненасичені різнокольорові (веселкові) півки
Темно-сірі або чорно-коричневі півки нафти на більшій частині водойми
Чорна суцільна півка, яка не розмивається при утворенні хвиль

4. Який колір півки має нафтове забруднення водойми за візуальною шкалою у 1 бал?

Світло-сірі півки незначної площі
Сріблясті півки і плями
Ненасичені різнокольорові (веселкові) півки
Темно-сірі або чорно-коричневі півки нафти на більшій частині водойми
Чорна суцільна півка, яка не розмивається при утворенні хвиль

5. Вкажіть ГДК для нафти і нафтопродуктів для водойм загального використання.

0,3 мг/л
1 мг/л
2 мг/л
3 мг/л
0,05 мг/л

6. Вкажіть ГДК для нафти і нафтопродуктів для рибогосподарських водних об'єктів.

0,3 мг/л
1 мг/л
2 мг/л
3 мг/л
0,05 мг/л

2 рівень (дві правильні відповіді)

7. Яке нафтове забруднення вважається екологічною катастрофою для водойми?

Світло-сірі півки незначної площі
Сріблясті півки і плями
Ненасичені різнокольорові (веселкові) півки
Темно-сірі або чорно-коричневі півки нафти на більшій частині водойми

Чорна суцільна плівка, яка не розмивається при утворенні хвиль

8. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб аміаком в умовах аквакультури

Мета: ознайомитися з причинами виникнення та ознаками отруєння риб аміаком у різних аквакультурних системах, а також заходів запобігання цьому.

Теоретична частина. Отруєння аміаком є однією з найпоширеніших проблем неналежної якості води, які діагностуються в аквакультурі (Meade, 1985). Аміак є основним азотовмісним продуктом життєдіяльності риби, ця сполука утворюється під час розщеплення складних азотистих сполук (наприклад, білків). Аміак може викликати гостру смертність, але найчастіше вплив проявляється через сублетальний стрес. ГДК амонійного нітрогену у воді водойм рибогосподарського призначення – 0,39 мг/дм³.

В акваріумі накопичення аміаку відбувається через недостатню кількість бактерій, які окислюють аміак до нітриту. Окислювачами аміаку є види родів *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* і *Nitrospira*, найчастіше це *Nitrosomonas europaea*, як у прісній, так і в морській воді (Burrell et al. 2001). У новому акваріумі цих бактерій-окислювачів аміаку мало. Отже, коли рибу поміщають у новий акваріум, вміст аміаку швидко зростає, отруюючи рибу; це часто називають «синдромом нового акваріума» (англ. new tank syndrome) (Noga, 2010).

Отруєння аміаком також може трапитися в акваріумах із застоюною водою. Концентрація аміаку може різко підвищитися, якщо додати нову рибу в акваріум, у якому вже є багато риби, або якщо перегодувати, що спричинить накопичення гнилого корму в акваріумі (рис.8.1) (Noga, 2010).

Загальна кількість амонійного нітрогену, який може перетворитися на нітрит, повністю залежить від потужності біологічної фільтрації. Вона відбувається, коли вода з акваріума проходить через поверхню, вкриту бактеріями, які окислюють аміак. Таким чином, біологічна фільтрація (і видалення аміаку) є

найбільшою там, де існує великий потік води через велику площу поверхні. Це відбувається в акваріумних фільтрах.

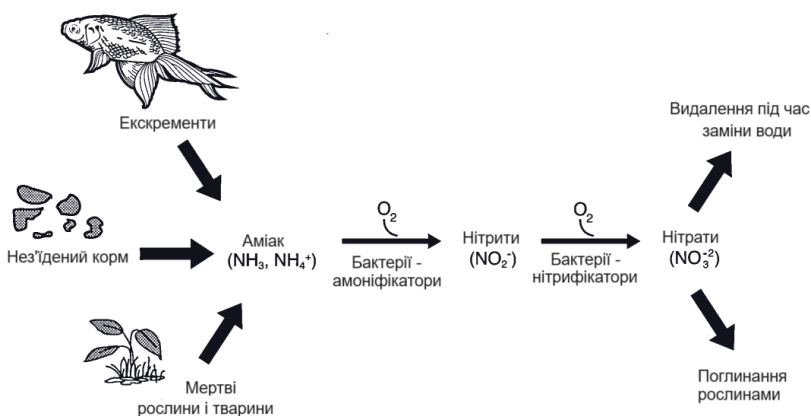


Рис. 8.1. Основні джерела надходження та видалення азоту в аквасистемі (за Noga, 2010).

Час, необхідний для встановлення фільтра, істотно збільшується при нижчих температурах і може значно відрізнятись залежно від інших умов середовища.

Якщо потужність біологічної фільтрації занадто низька для видалення всього аміаку, який виробляє риба, концентрація аміаку підвищиться. Якщо очищати фільтри надто енергійно (наприклад, надмірне перемішування гравію), це спричинить стрибок вмісту аміаку, оскільки бактерії легко витісняються з субстрату та чутливі до зміни умов водного середовища (Noga, 2010).

Зазвичай у *ставах* не виникає проблем з вмістом аміаку, якщо застосовується додаткова аерація, яка запобігає гіпоксії і забезпечує більшу щільність посадки риби (Boyd 1990). Як і в інших системах, нез'їдений корм, який гниє, та аміак, який утворюється в результаті травлення або розкладання мертвої риби, є основним джерелом аміаку в ставах. Токсичність аміаку найімовірніше виникає на заході сонця, коли рН, температура і, отже, неіонізований аміак досягають максимуму.

У більшості ставів водорості, а також бактерії *Nitrosomonas* є основними споживачами аміаку. Більшість ставів мають великі популяції водоростей.

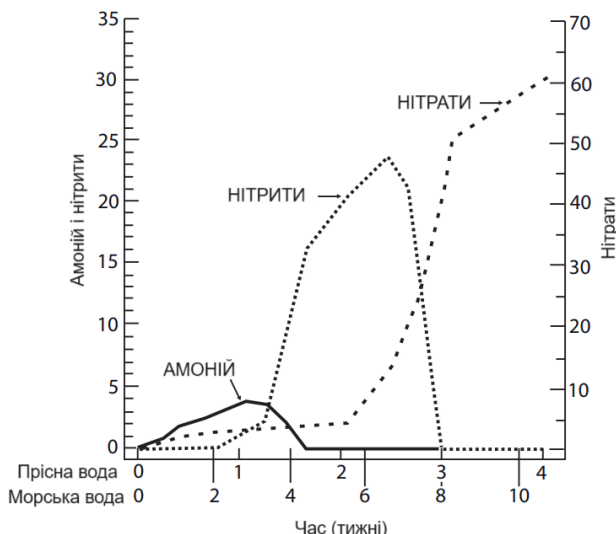


Рис. 8.2. Динаміка концентрації аміаку, нітратів та нітритів під час синдрому нового акваріума, якщо рибу додають у день 0 (за Noga, 2010)

Концентрація аміаку має тенденцію до збільшення восени та взимку через зниження швидкості метаболізму водоростей та бактерій при низьких температурах. Концентрація аміаку також може підвищуватися після масового відмирання водоростей; це не лише зменшує асиміляцію аміаку, але й збільшує накопичення аміаку, спричинене гниттям водоростей. Відмирання водоростей може відбуватися спонтанно або через використання альгіцидів.

Проточні системи. Кисень, як правило, є основним обмежуючим фактором цих систем. Однак концентрація аміаку може стати токсичною, якщо додаткова аерація збільшує максимальну щільність посадки риби, яку можна утримувати. Найменше аміаку на вході і найбільше на виході з проточної системи (Noga, 2010).

Клінічні ознаки отруєння аміаком. Гостра токсичність аміаку може спричинити аномалії поведінки, включаючи гіперзбудливість. Часто риби припиняють їсти. Хронічне отруєння аміаком асоціюється з гіперплазією та гіпертрофією зябрової тканини, хоча досі не з'ясовано, чи спричинена ця неспецифічна патологія безпосередньо отруєнням аміаком чи радше іншими аспектами поганої якості води, які часто супроводжують хронічно високий рівень аміаку (Noga, 2010; Daoust and Ferguson 1985). Точний механізм отруєння аміаком риб невідомий, але високий вміст аміаку у воді підвищує рівень аміаку в крові та тканинах, викликаючи підвищення рН крові, порушення осморегуляції, збільшення споживання кисню тканинами та зниження транспорту кисню кров'ю (Schwedler et al. 1985). Хронічне отруєння аміаком уповільнює ріст і знижує стійкість до хвороб (Noga, 2010).

Діагностика отруєння аміаком. Рівень аміаку легко визначити за допомогою наявних у продажу тестових наборів, які показують загальний азот амонію (*англ.* total ammonia nitrogen, TAN). Також для вимірювання амонію можна використовувати іоноселективний електрод.

Амоній присутній у водних екосистемах у двох формах: неіонізованій (NH_3) та іонізованій (NH_4^+). Неіонізований аміак токсичний для риб, тоді як амоній (NH_4^+) набагато менш токсичний (Meade, 1985). Їх співвідношення у воді залежить здебільшого від рН, а також від температури та солоності. *Високий рН і температура, а також низька солоність сприяють переважанню неіонізованої форми* (Meade 1985). Отже, загальний азот амонію (TAN) не є хорошим показником потенційних проблем з аміаком, оскільки токсичність в основному зумовлена неіонізованою фракцією аміаку.

Токсичність аміаку залежить від умов водного середовища (рН, температури, солоності, жорсткості води) та інших стресових факторів. Тому вимірювання загального аміаку повинні супроводжуватися вимірюваннями рН і температури води, щоб отримати оцінку концентрації неіонізованого аміаку. Необхідність одночасних вимірювань рН для отримання концентрації неіонізованого аміаку значно ускладнює проблему,

оскільки рН може швидко змінюватися в ставах і може сильно відрізнятись в різних водоймах. У ставових системах, де токсичність аміаку є поширеною проблемою, вимірювання необхідно проводити щодня або через день, оскільки умови можуть змінюватися досить швидко. Зразки слід відбирати в другій половині дня, тому що рН і, отже, концентрація неіонізованого аміаку зазвичай найвища в цей час. У культурах, де проблеми з отруєнням аміаком трапляються рідко, відбір проб за частим графіком (щодня) може бути неефективним використанням часу, однак відбір проб за більш грубим графіком (щотижня) буде недостатнім для виявлення пікових рівнів аміаку, які можуть виникнути протягом короткого періоду. Можливо, найкраще керівництво для створення програми моніторингу рівня аміаку можна отримати з досвіду або порад інших фахівців з аквакультури у регіоні.

Концентрацію токсичного аміаку визначають за стандартною діаграмою (наприклад, Додаток А, джерело: Noga, 2010, с. 93).

Вплив сублетального рівня аміаку також підвищує толерантність до токсичності аміаку. Сублетальні рівні, які впливають на ріст, особливо важко визначити, тому рекомендується підтримувати рівень аміаку якомога нижчим.

Концентрація аміаку, що перевищує ~ 1,00-2,00 мг/л, зазвичай є летальною протягом 1-4 днів (Meade 1985). Нижче цього рівня риби можуть не загинути, але вони будуть зазнавати стресу. Якщо вміст аміаку перевищує 0,05 мг/л, його слід зменшити якомога швидше.

Що робити? Рівень аміаку в *акваріумі* можна знизити частою підміною води; але в акваріумі, який давно встановлений, треба діяти обережно, щоб не спричинити екологічний шок.

Додавання цеоліту є безпечним і ефективним способом швидкого зменшення концентрації аміаку. Однак ефективність цеоліту знижується з підвищенням солоності. Зниження рівня рН зменшить відсоток аміаку, який присутній у вигляді NH_3 . На кожну 1 одиницю зниження рН відбувається десятикратне

зниження NH_3 (див. Додаток А); це слід робити обережно, оскільки швидке падіння рН може спричинити інші проблеми.

Аміак також можна хімічно контролювати шляхом додавання комерційних продуктів нейтралізації аміаку (наприклад, Ammonia Detox), які містять гідроксиметансульфонат натрію (Riche et al. 2006).

Зауважте також, що зниження рівня аміаку на ранніх стадіях створення біологічного фільтра може подовжити час, необхідний для досягнення його максимальної ефективності. Однак високий рівень аміаку також пригнічує розвиток бактерій, які окислюють нітрити (див. роботу 7). Будь-які негайні заходи контролю аміаку (наприклад, підміна води, додавання цеоліту, обробка рН, хімічна нейтралізація) корисні, але повинні бути частиною плану збільшення біологічної фільтраційної здатності акваріума.

У новому акваріумі додавання комерційного препарату нітрифікуючих бактерій може прискорити процес встановлення ефективного фільтра, але зазвичай не призведе до миттєвого ефекту. Крім того, різноманітність біологічних фільтрів та їх різна присутність у різних умовах навколишнього середовища (Rowan et al. 2003) ставить під сумнів корисність комерційних нітрифікуючих бактеріальних препаратів (Kolcott 2004).

Встановлення біофільтра часто відбувається швидше, якщо використовується фільтруючий матеріал (гравій, нитчастий біофільтр) зі здорового акваріума; однак існує ризик занесення патогенів з таким матеріалом.

У давно встановленому акваріумі отруєння аміаком виникає, коли в акваріумі знаходиться більше риби, ніж може витримати біологічна фільтрація. У цьому випадку потрібно або видалити частину риби, або покращити біологічну фільтрацію.

Багато ліків можуть бути токсичними для нітрифікуючих бактерій. Використання таких ліків може спричинити «синдром нового акваріума». При хімічному пошкодженні біологічного фільтра необхідно додати в акваріум фільтр з активованим вугіллям, щоб видалити всі сліди препарату. Потім з ним слід поводитися як з новим акваріумом і вжити відповідних заходів, як описано вище (Noga, 2010).

Завдання

Обладнання і реактиви: скляний лабораторний посуд, аналізатор води марки PCE-CP 22 з інтерфейсом Bluetooth, реактиви для вимірювання концентрації аміаку у воді.

Порядок роботи:

1. Очистити прилад відповідно до інструкції про підготовку до роботи.
2. Обнулити табло за допомогою кнопки «ZERO». Знайти у головному меню опцію вимірювання аміаку (NH_3).
3. За допомогою дозаторної піпетки налити 10 мл досліджуваної води у кювету.
4. Додати до зразку вміст саше « NH_3 » з порошкоподібною масою та ретельно перемішати за допомогою спеціальної ложки для подрібнення та перемішування реагентів.
5. Закрити шейкер та струшувати зразок приблизно 15 секунд, поки реагенти повністю не розчиняться у воді.
6. Досліджуваний зразок помістити у камеру приладу на закрити світлозахисною кришкою.
7. Натиснути «OK» для початку вимірювання та зачекати завершення зворотнього відліку на екрані аналізатора.
8. Прочитати отриманий результат, за допомогою рН-метра визначити рН досліджуваної води, та зробити висновки щодо небезпеки для риб визначеної концентрації аміаку.
9. За теоретичним матеріалом, з'ясувати причини підвищення концентрації аміаку. Заповнити таблицю 8.3:

Система аквакультури	Причини
Акваріуми	1) 2) ...
Стави	
Проточні системи	

9. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб нітритами

Мета: ознайомитися з причинами виникнення і ознаками отруєння риб нітритами, а також заходів щодо попередження цього.

Теоретична частина. Отруєння нітритами (хвороба Брауна, синдром «нового акваріума» (*англ.* new tank syndrome).

ГДК нітритного нітрогену у воді водойм рибогосподарського призначення – 0,02 мг/дм³.

Більшість обставин, які викликають отруєння аміаком, також може призвести до отруєння нітритами. У новоствореному акваріумі накопичення нітритів зазвичай відбувається після того, як аміак досягає піку (див. рис. 5.2). Це пояснюється тим, що бактерії, які окиснюють нітрити (нітрифікатори або бактерії, що окиснюють нітрити [NOB]), які перетворюють нітрит (NO₂⁻) на нітрат (NO₃⁻²), потребують часу, щоб стати активними, як і бактерії, які перетворюють аміак на нітрит. Існує ряд NOB як у прісноводних, так і в морських середовищах, включаючи види *Nitrobacter* і *Nitrospira*. Іноді присутні *Nitrospira*, але не *Nitrobacter* (Hovanec and DeLong 1996). Нітрифікатори також інгібуються аміаком. Висока концентрація амонію в лужній воді (наприклад, морській воді) є токсичною для NOB, що призводить до популяції виключно АОВ у новому акваріумі (Hovanec et al. 1998).

Додавання навіть однієї риби в акваріум може призвести до тимчасового дисбалансу та подальшого різкого підвищення вмісту аміаку, який згодом пригнічує нітрифікаторів, спричиняючи сплеск нітритів (Noga, 2010).

І АОВ, і NOB також, пригнічуються сильним світлом (Мое 1992, Noga, 2010). Деякі хімічні речовини вибірково пригнічують NOB (як еритроміцин у прісній воді і неоміцину сульфат у морській воді), викликаючи стрибок концентрації нітритів (Noga, 2010).

У ставах отруєння нітритами є поширеним явищем восени, оскільки температурні оптимуми АОВ і NOB різні, що призводить до накопичення нітритів.

Нітрит не є проблемою в проточних системах, оскільки не відбувається значного перетворення аміаку в нітрит протягом короткого часу, протягом якого вода присутня в системі.

Клінічні ознаки отруєння нітритами

Нітрит активно транспортується через зябра і потрапляє в кров (Lewis and Morriss 1986) і окислює гемоглобін (Hb) до метгемоглобіну (MetHb). Метгемоглобін не може ефективно транспортувати кисень, тому тканини організму не отримують кисню. Гемоглобін і метгемоглобін відрізняються кольором: насичений киснем Hb червоний, MetHb – коричневий. Тому риба, отруєна нітритами, часто має блідо-коричневі або коричневі зябра. Концентрація метгемоглобіну 25–30% зазвичай надає крові злегка коричнюватого кольору, а близько 40% спричинює помітну зміну кольору крові на шоколадно-коричневу і блідо-коричневі зябра. Риби також можуть мати бліді зябра при отруєнні нітритами, для них характерні гіпоксія, млявість і скупчення біля поверхні води. Рибу з отруєнням нітритами слід якомога менше турбувати, оскільки навіть незначне навантаження може викликати швидко загибель.

Метод діагностики

1. Хімічне вимірювання високого вмісту нітритів у воді.
2. Вимірювання високого рівня metHb у крові.

Остаточний діагноз про отруєння нітритами вимагає вимірювання концентрації MetHb у крові (рівні MetHb у стані спокою значно відрізняються, але >25% вважається ненормальним), у поєднанні з вимірюванням концентрації нітритів у воді. Однак рутинна клінічна діагностика нітритного токсикозу базується виключно на вимірюванні рівня нітритів. Це має свої обмеження, оскільки риба сильно відрізняється за вразливістю до отруєння нітритами. Для підтвердження діагнозу слід шукати принаймні грубі докази метгемоглобінемії (Noga, 2010).

Для вимірювання нітритів можна використовувати колориметричні набори. Під час аналізу вимірюють азот нітритний, який можна перетворити на загальний нітрит, використовуючи коефіцієнт перетворення 3,3. Наприклад, якщо концентрація азоту нітритного ($\text{NO}_2\text{-N}$) становить 0,10 мг/л, кількість нітритів становить 0,33 мг/л (Noga, 2010).

Отруєння нітритами було найдетальніше вивчено для каналного сома з чіткими рекомендаціями щодо рівня

токсичності. Існують також дані щодо інших видів, особливо для лососевих, але для більшості видів немає даних про токсичність. Вразливість до отруєння нітритами дуже різниться залежно від виду, і деякі риби є стійкими. Для каналного сома в чистій прісній воді нітрит не повинен виявлятися комерційними тестовими наборами ($<0,10$ мг/л нітритного азоту).

На відміну від них, наприклад, риба-місяць переносить високий рівень (96-годинний LC_{50} часто > 50 мг/л), оскільки не поглинає активно нітритами з води (Noga, 2010).

Рекомендований рівень для лососевих $< 0,50$ мг/л.

Значення LC_{50} за 96 годин для прісноводної риби коливаються від 0,60 до 200 мг/л. Хоча морська риба вразлива до отруєння нітритами, але витримує надзвичайно високу концентрацію. Наприклад, 24-годинна LC_{50} для плямистої морської форелі (*Cynoscion nebulosus*) при солоності 14 ‰ становить 980 мг/л NO_2-N (Daniels and Boyd 1987). Для лаврака (морського окуня європейського) при солоності 36 ‰ 96-годинна LC_{50} становить 90–100 мг/л NO_2-N , а індукція метгемоглобінемії вимагає впливу понад 25 мг/л NO_2-N протягом 96 годин (Scarano et al. 1984).

Дослідження на інших рибах не продемонстрували гострої токсичності навіть на рівні 1750 мг/л (Brownell 1981). Такий високий рівень нітритів ніколи не зустрічається в системах аквакультури. Однак 48-годинна середня смертельна концентрація нітриту для червоного горбиля (*Sciaenops ocellatus*) становила 87,5 мг/л при солоності 36 ‰ і лише 2,8 мг/л при 0,6 ‰ (Wise and Tomasso 1989). Отже, у цьому випадку хлорид не був таким ефективним у запобіганні токсичності нітритів, як у інших видів риб, що вказує на те, що нітритами можуть бути проблемою для деяких риб, навіть якщо їх культивують у водах з високою солоністю.

Вразливість тропічних акваріумних риб до нітритів невідома; однак найкраще підтримувати низький рівень ($<0,10$ мг/л), щоб уникнути будь-якої можливої токсичності. Відомо, що тривалий (понад 6 місяців) вплив навіть дуже низьких концентрацій нітритів (0,015 – 0,060 мг/л NO_2-N) може

привести до легкої метгемоглобінемії у деяких риб (Wedemeyer and Yasutake, 1978; Noga, 2010).

Якщо вода має природний високий вміст хлоридів (наприклад, у прибережних водоносних горизонтах) або хлорид був доданий, діагностика отруєння нітритами також вимагає вимірювання Cl^- . Використовують колориметричні тести та електронні зонди (Noga, 2010).

На токсичність нітритів впливає також багато інших факторів, включаючи рН, розмір риби, попередній вплив, стан харчування та рівень розчиненого кисню. Отже, найкраще підтримувати вміст нітритів якомога нижчим, особливо для видів із невідомою чутливістю. Зауважте також, що сильно коричневі зябра або кров не завжди помітні при отруєнні нітритами. Отруєна нітритами риба може померти з рожевими зябрами та кров'ю (Scarano et al. 1984). Це може бути пов'язано з тим, що риба може загинути від нітрит-індукованої гемолітичної анемії, а не від токсичності нітритів, і тому, що нітрит може пошкодити не лише гемоглобін, але й інші життєво важливі білки, що містять порфірин, наприклад цитохроми. Вплив на рибу дуже високих концентрацій нітритів також пов'язаний з накопиченням у селезінці вогнищ залізовмісних макрофагів, викликаних посиленням руйнуванням еритроцитів (Scarano et al. 1984).

Що робити?

Акваріуми.

1. 25-50% заміна води (щодня або щотижня, залежно від концентрації нітритів).

2. Додати нітрифікуючі бактерії.

3. Додати хлорид.

4. Посилити біологічну фільтрацію.

5. Зменшити щільність посадки риби.

6. Знизити температуру.

7. Зменшити годування.

Стави. 1. Додати хлорид. 2. Підтримувати найвищий можливий рівень розчиненого кисню.

Лікування отруєння нітритами. Нітрити набагато менш токсичні, коли у воді присутні хлориди, можливо, через те, що

Cl⁻ конкурентно пригнічує поглинання нітриту через зябра (Bowser et al. 1983). У каналного сома іон хлориду запобігає смертності, викликаній токсичністю нітритів, пов'язаних з метгемоглобіном, якщо він присутній у співвідношенні (маса:маса) щонайменше 3 мг хлориду до 1 мг нітриту (Bowser et al. 1983). Таким чином, зразок води з 1,2 мг/л хлориду та 0,30 мг/л нітриту (= 4 мг Cl:1 мг NO₂ співвідношення) не буде гостро смертельним для каналного сома. Однак це співвідношення не запобігає хронічному пошкодженню еритроцитів, яке може призвести до анемії. Цей несприятливий ефект не спостерігається, коли співвідношення хлорид:нітрит становить 6:1 (Tucker et al. 1989; Noga, 2010).

Молярне співвідношення від 6 (райдужна форель) до 16 (каналний сом) повністю пригнічує токсичність нітритів (Wise and Tomasso 1989). Подібні рекомендації можуть бути для лікування нітритного токсикозу в інших риб, хоча, як згадувалося раніше, більшість видів риб не були досліджені.

Хлорид натрію є найдешевшою і найдоступнішою формою хлориду, але хлорид кальцію однаково ефективний (Tomasso et al. 1979). Низький рівень солі, який необхідний для лікування нітритного токсикозу (зазвичай < 50 мг/л), нетоксичний для прісноводних риб. Після початку лікування знижений рівень гемоглобіну зазвичай повертається до норми протягом 12-24 годин, і риба починає їсти. Однак наслідком сублетального впливу нітритів можуть бути вторинні інфекції, а анемія, яка викликана низьким рівнем гемоглобіну, може тривати кілька днів, до повернення до нормального стану (Scarano and Saroglia, 1984).

Профілактика отруєння нітритами. Профілактика краще лікування. У руслових ставах для сомів завжди має бути принаймні 20 мг/л хлориду, щоб запобігти токсичності нітритів (Noga, 2010). Багато природних вод мають такий вміст хлориду, що часто відсутня необхідність профілактичного його додавання. Навіть розбавлена солонувата вода, ймовірно, містить достатньо хлоридів, щоб запобігти нітритному токсикозу в більшості евригаліних видів. Клінічно виявлені рівні нітритів ніколи не були токсичними для риб у морській

воді, ймовірно, через високий вміст хлоридів. Однак мало досліджень впливу нітритів на тропічних морських рифових риб, тому бажано підтримувати низький рівень нітритів у морських акваріумах (Noga, 2010).

Бікарбонат також захищає від нітритів, але значно менше, ніж хлорид. Високий рівень аскорбату в кормі також захищає від нітрит-індукованого утворення MetHb (Wise et al 1989).

Найпростішою процедурою протидії токсичності нітритів є обробка води хлоридом натрію або хлоридом кальцію для зменшення молярного співвідношення нітриту до хлориду. Bowser et al. (1983) і Schwedler et al. (1985) рекомендували співвідношення хлоридів до нітратів і азоту 10:1 для запобігання метгемоглобінемії. Tucker et al. (1989) припустили, що співвідношення хлоридів до нітритного азоту 20:1 необхідне для запобігання впливу високої концентрації нітритів на каналного сома. Кухонна сіль, яка містить близько 60% хлориду, є звичайним джерелом хлориду для протидії токсичності нітритів у ставах. Сіль зазвичай розсипають по поверхні ставу перед аератором для розчинення та змішування. Водообмін або заміна води також можуть бути ефективними для зниження концентрації нітритів у невеликих водоймах.

Завдання

Обладнання і реактиви: скляний лабораторний посуд, аналізатор води марки PCE-CP 22 з інтерфейсом Bluetooth, реактиви для вимірювання концентрації нітрит-йону у воді.

Порядок роботи:

1. Очистити прилад відповідно до інструкції про підготовку до роботи.
2. Обнулити табло за допомогою кнопки «ZERO». Знайти у головному меню опцію вимірювання нітритів (NO_2^-).
3. За допомогою дозаторної піпетки налити 10 мл досліджуваної води у кювету.
4. Додати до зразку вміст саше « NO_2 » з порошкоподібною масою та ретельно перемішати за допомогою спеціальної ложки для подрібнення та перемішування реагентів.
5. Закрити шейкер та струшувати зразок приблизно 15 секунд, поки реагенти повністю не розчиняться у воді.

6. Досліджуваний зразок помістити у камеру приладу на закрити світлозахисною кришкою.
7. Натиснути «ОК» для початку вимірювання та зачекати завершення зворотнього відліку на екрані аналізатора.
8. Прочитати отриманий результат та зробити висновки щодо небезпеки для риб визначеної концентрації нітритів.
9. На основі теоретичного матеріалу, пояснити причини підвищення концентрації нітритів (коротка відповідь 1-2 речення). Заповнити таблицю 9.1:

Причини	Пояснення
1) перенаселеність	
2) недавно додані ліки або інші хімічні речовини;	
3) новостворений акваріум;	
4) недавно промитий акваріумний гравій або недавно очищені фільтри;	
5) вихід з ладу біологічних фільтрів;	
6) осінній сезон у водоймі;	
7) низьке співвідношення $Cl:NO_2^-$	

10. Описати наслідки отруєння нітритами для здоров'я риб.

10. Причини виникнення і заходи щодо попередження отруєння риб нітратами

Мета: ознайомитися з причинами виникнення і ознаками отруєння риб нітратами, а також заходів щодо попередження цього.

Теоретична частина. Отруєння нітратами (синдром «старого акваріума»). ГДК нітратного нітрогену у воді водойм рибогосподарського призначення – 9,1 мг/дм³.

Причини накопичення нітратів. Кінцевим продуктом окиснення нітриту є нітрат. У нещодавно створеному акваріумі накопичення нітратів відбувається після того, як нітрит досягає піку (див. рис. 8.2). Якщо не видаляти активно (через підміну води або денітрифікацію), вміст нітратів продовжуватиме збільшуватися з часом. Наскільки швидко він зростає, переважно залежить від кількості аміаку, що надходить у

систему, яка, у свою чергу, в першу чергу залежить від біомаси риби та швидкості годування. Отже, отруєння аміаком і нітритами часто виникає в новому акваріумі, на відміну від збільшення вмісту нітратів (і ризику інтоксикації), які зазвичай відбувається значно пізніше – після запуску і функціонування аквакультурної системи певний час («старий акваріум»).

Зростання концентрації нітратів у поверхневих водах є глобальною проблемою. Нітрати, як і аміак і нітрити, можуть потрапляти у водні екосистеми внаслідок господарської діяльності: тваринництва, міські та сільськогосподарські стоки, промислові відходи та стічні води (очисні споруди, які не здійснюють третинну очистку). Зростання концентрації неорганічного азоту після атмосферних опадів може бути результатом використання азотних добрив та спалювання вихопного палива (Noga, 2010).

Клінічні ознаки отруєння нітратами. Як і у випадку з нітритами, основним механізмом токсичності нітратів у водних тварин є перетворення пігментів, які переносять кисень (наприклад, гемоглобіну), у форми, які не здатні переносити кисень (metHb). Але через низьку проникність зябер для нітратів, вони менше поглинаються організмом риб, порівняно з аміаком або нітритами, що призводить до його відносно нижчої токсичності (Stormer et al. 1996). Припускають, що токсичність нітратів може бути меншою для більшої за розміром риби, при вищій солоності (прісноводна риба виявляється більш чутливою, ніж морська) і з адаптацією до середовища (Camargo et al. 2005). Однак інші дослідники спостерігали більшу вразливість у більших особин (Hamlin, 2006). Майже не вивчено клінічний вплив нітратів на рибу (за винятком рівня смертності), але встановлено пошкодження гемоглобіну (Noga, 2010).

Вплив на мальків райдужної форелі 5-6 мг NO₃-N/л протягом кількох днів викликав підвищення ферогемоглобіну, зміни в периферичній крові та кровотворних центрах і пошкодження печінки (Grabda et al. 1974).

Методи діагностики 1. Хімічне вимірювання високого рівня нітратів у воді 2. Вимірювання високого рівня metHb у крові.

Діагностика отруєння нітратами. Звичайна клінічна діагностика нітратного токсикозу базується виключно на вимірюванні рівня нітратів. Це має свої обмеження, оскільки риба сильно відрізняється за вразливістю до отруєння нітратами, і наслідки, ймовірно, набагато менш помітні.

Для вимірювання концентрації нітратів можна використовувати колориметричні набори. Аналізи вимірюють нітратний азот, який можна перетворити на загальний нітрат за допомогою коефіцієнта перетворення 4,4. Наприклад, якщо вимірювання азоту нітратів ($\text{NO}_3\text{-N}$) у наборі становить 5,0 мг/л, кількість нітратів становить 22,0 мг/л (Noga, 2010).

Незважаючи на те, що нітрати, зазвичай, набагато менш токсичні, ніж аміак або нітрити, деякі риби дуже чутливі до відносно низьких концентрацій нітратів. Отруєння нітратами найдетальніше досліджувалося у лососевих, де спостерігався широкий діапазон токсичних рівнів у різних видів і на різних життєвих стадіях. Ікра та молодь райдужної форелі та кумжі зазнають несприятливого впливу, а в деяких випадках можуть загинути, після 30-денного впливу лише 1,1–7,6 мг $\text{NO}_3\text{-N}/\text{л}$ (Kincheloe та ін. 1979). Це значно нижчий рівень, ніж зазвичай вважається токсичним для риб, оскільки рівень нітратів у 50 мг/л зазвичай вважається безпечним. Більшість видів риб переносять дуже високі його концентрації; рівні токсичності для сонячного окуня синьозябрового, гуппі та каналного сома коливаються від 200 до 2000 мг $\text{NO}_3\text{-N}/\text{л}$. Однак майже всі дослідження вивчали лише гостру токсичність (24–96-годинна експозиція), тоді як нітрати є переважно хронічною проблемою.

Як і у випадку з нітритами, вразливість до отруєння нітратами дуже різниться залежно від виду, і деякі риби є стійкими. Однак найкраще підтримувати концентрацію якомога нижчою, особливо для видів із невідомою чутливістю (Noga, 2010).

Рифові корали (і, можливо, морські рифові риби) дуже чутливі; рекомендований вміст < 20 мг $\text{NO}_3\text{-}^2/\text{л}$ в морських рифових акваріумах (Frakes and Hoff 1982; Мое 1992). Концентрація нітратів також є опосередкованим показником загальної якості води в системі. Накопичення нітратів

відбувається одночасно з накопиченням інших шкідливих сполук (наприклад, збільшення органічного навантаження), які важче виміряти, таким чином підтримання низького рівня нітритів за допомогою підміни води також знижує концентрацію цих сполук (Noga, 2010).

Лікування та профілактика отруєнь нітратами.

Найпоширенішим засобом зниження/контролю рівня нітратів є підміна води через проміжки часу та в таких кількостях, щоб підтримувати концентрацію нітратів у прийнятних межах. Хоча це неможливо робити в ставах, але у типових ситуаціях ставової аквакультури нітрати переважно не досягають токсичних рівнів. Наприклад, встановлено, що концентрація 90 мг/л азоту нітратного протягом майже 6 місяців не впливає на здоров'я чи ріст каналного сома (Samargo et al. 2005). Клінічно виявлені рівні нітратів ніколи не демонстрували прямої токсичності для морських риб. Однак, враховуючи високу чутливість деяких прісноводних видів, доцільно підтримувати низький рівень нітратів у тропічних морських акваріумах, оскільки природне рифове середовище має дуже низький рівень нітратів. Крім того, є докази того, що підвищений рівень нітратів може перешкоджати поглинанню морською рибою йоду, що негативно впливає на функцію щитоподібної залози (Crow et al. 1998).

Завдання

Обладнання і реактиви: скляний лабораторний посуд, аналізатор води марки PCE-CP 22 з інтерфейсом Bluetooth, реактиви для вимірювання концентрації нітратів у воді.

Порядок роботи:

1. Очистити прилад відповідно до інструкції про підготовку до роботи.
2. Обнулити табло за допомогою кнопки «ZERO». Знайти у головному меню опцію вимірювання нітритів (NO_3^-).
3. За допомогою дозаторної піпетки налити 10 мл досліджуваної води у кювету.
4. Додати до зразку вміст саше « NO_3 » з порошкоподібною масою та ретельно перемішати за допомогою спеціальної ложки для подрібнення та перемішування реагентів.

5. Закрити шейкер та струшувати зразок приблизно 15 секунд, поки реагенти повністю не розчиняться у воді.
6. Досліджуваний зразок помістити у камеру приладу на закрити світлозахисною кришкою.
7. Натиснути «ОК» для початку вимірювання та зачекати завершення зворотнього відліку на екрані аналізатора.
8. Прочитати отриманий результат та зробити висновки щодо небезпеки для риб визначеної концентрації нітратів.
9. За теоретичним матеріалом, з'ясувати причини підвищення концентрації нітратів. Заповнити таблицю 10.1.

Система аквакультури	Причини
Акваріуми	1) ...
Поверхневі води	

10. Коротко опишіть зміст заходів щодо зниження вмісту нітратів:
 - підміна води;
 - апарат для денітрифікації;
 - зменшення щільності посадки риби.

11. Використання методів біотестування у водній токсикології

Мета: ознайомитися зможливостями використання методів біотестування у водній токсикології, основними поняттями теорії біотестування.

Теоретична частина. Історично склалося так, що токсичний вплив на гідросферу почали вивчати не на екосистемному рівні, а на рівні окремого організму. Це відповідало як станові гідробіології в першій половині ХХ ст., так і загальнотоксикологічному (медико-ветеринарному) підходу до вивчення дії хімічних речовин на живий організм (Олексів та ін., 1995).

Тому спочатку з'явилась «токсикологія водних організмів», а пізніше — інші підходи і відповідно інша термінологія (водна токсикологія, іхтіотоксикологія, порівняльна токсикологія, рибогосподарська токсикологія, екологічна токсикологія тощо).

При оцінці дії токсикантів на живий організм вихідною альтернативою є протиставлення двох біологічних феноменів: «життя-смерть» і «норма-патологія». Це означає, що реакцією на отруйні речовини є або смерть організму, або порушення життєво важливих функцій (обміну речовин, живлення, газообміну, росту, розмноження, нервово-рефлекторної діяльності, поведінки тощо). Перехід у хворобливий, патологічний стан має три варіанти:

- повернення до норми;
- смерть;
- перехід у тривалий (хронічний) патологічний стан, який врешті призводить до смерті.

Таким чином, першим і основним критерієм токсичності є смерть отруєного організму (Олексів та ін., 1995).

Диференціація «живого» і «мертвого» нескладна стосовно високоорганізованих форм життя, є непростою щодо нижчих організмів (одноклітинні і колоніальні водорості, мікроорганізми) і вимагає використання спеціальних методик (забарвлення спеціальними барвниками, люмінесцентна мікроскопія, флуориметрія, вибіркоче, або селективне забарвлення тощо).

Смерть як така є тільки якісним критерієм. Для кількісної оцінки дії токсикантів за критерієм смертельної дії на популяційному рівні розроблені статистичні підходи, які становлять спеціальний розділ токсикології – токсиметрію. Основним токсиметричним поняттям є смертність (або обернена до неї величина – виживання). Вона характеризується статистично вірогідним відсотком загибелі особин із певної кількісно обґрунтованої вибірки представників одного виду, однакових за віком, розмірами і масою тіла (Олексів та ін., 1995).

Смертність (або виживання) залежить від дози токсичної речовини, тобто її маси, яка припадає на одиницю маси живого організму (індивідуума), і від тривалості дії, тому залежність смертності від дози виражається кривою "доза-ефект", що однозначно (за стабільних умов) характеризує токсичність певної речовини для даного організму.

Концентрація (доза) токсиканта та токсичність.

Розрізняють мінімально допустиму концентрацію або дозу МДК, МДД (LC_0 або LD_0), летальну (LC_{100} або LD_{100}), при якій гине 100% піддослідних об'єктів. Ці концентрації (або дози) встановлюють в одно-, дво-, три- і чотиридобових дослідах і позначають відповідно LC_{100}^{24} , LC_{100}^{48} , LC_{100}^{72} , LC_{100}^{96} .

Основним показником токсичності визнана медіанна летальна концентрація (доза) – LC_{50} (LD_{50}), переважно за 48 годин LC_{50}^{48} розрахована статистично за спеціальними методами, які розроблені в загальній токсикології.

Величина, обернена LC_{50}^{48} , тобто $1/LC_{50}^{48}$ називається токсичністю. Вона виражається в мг/л, мкг/л, мг.екв або в молях (мікро-, мілімолях). Якщо маса об'єкта дослідження відома, то оперують поняттям медіанна летальна доза (LD_{50}).

Основні поняття теорії біотестування. Найчастіше під час біотестування використовують наступні поняття: біотест, тест-об'єкт, тест-функція, тест-реакція, тест-система.

Біотест – дослід, в якому зіставляються реакції певного організму в умовах токсичного забруднення і в чистому середовищі (контроль). Токсичну дію виявляють за певними показниками (критерієм токсичності), якими є або смертність піддослідних об'єктів, або вірогідні порушення життєво важливих функцій (обміну речовин, фотосинтезу рослин, дихання, поведінки тощо).

Вірогідна (статистично обґрунтована) різниця між кількісними показниками досліду і контролю (в %) свідчить про глибину ушкодження, якого завдає живим організмам тестована субстанція.

Щоб отримати вірогідні дані, придатні для статистичного опрацювання, біотест виконують у кількох повтореннях, кількість яких визначають за принципом необхідної достатності.

Тест-об'єкт – організм або тест-культура (наприклад культура водоростей або інфузорій), які використовуються для проведення біотесту. Розрізняють тест-об'єкти індикаторні, що мають загальне застосування (наприклад *Daphnia magna*), та представницькі, які є характерними для біоценозів певного

регіону або водного об'єкта і можуть бути найефективніше застосовані саме в даному регіоні (наприклад деякі молюски і ракоподібні). Тест-об'єкти, що є певною лабораторною популяцією, культивованою за стандартними прописами (наприклад, інфузорії або протококові водорості), називають **тест-культурами**.

Тест-функція – функціональний показник, що реагує на токсичний вплив і може бути вимірний кількісно за допомогою певного методу. Найчастіше виражена тест-функція – це повне припинення життєдіяльності тест-об'єктів, тобто смерть, яка характеризує гостру токсичність. Як тест-функції, що свідчать про пригнічення життєдіяльності, використовують численні фізіологічні, біохімічні і біофізичні показники, які надійно характеризують зміну інтенсивності життєдіяльності гідробіонтів.

Тест-реакція – кількісний вираз зміни тест-функції.

Для вивчення токсичності складних стоків використовують тест-системи, тобто набір біотестів, що характеризує впливи багатокомпонентних забруднювачів на різні функції гідробіонтів різних трофічних рівнів (водорості, мікроорганізми, безхребетні, риби).

Процедура виконання біотестів за певними методичними рекомендаціями називається **біотестуванням**.

Біотести характеризуються основними показниками:

- а) час відгуку, або експресність;
- б) чутливість, тобто мінімальна концентрація токсиканта, яка може викликати тест-реакцію;
- в) відтворюваність, тобто можливість отримання однозначних наслідків при стабільних умовах біотестування;
- г) точність;
- д) інструменталізованість;
- є) економічність, доступність для масового використання.

Гострі біотести застосовують для виявлення гострої токсичності досліджуваної води або речовини за розглянутими таксиметричними критеріями. Вони тривають 24, 48 або 96 годин, переважно 48. Хронічні дослідження проводять на гідробіонтах з коротким життєвим циклом для визначення

впливу токсиканта на відтворювальну здатність (репродукцію) гідробіонтів у ряді поколінь (не менше трьох), тобто виходять на популяційний рівень. Тривалість дослідів – до місяця і більше.

Вказані принципи токсиметрії покладені в основу біотестування.

Стандартні тест-об'єкти. Переваги біотестування.

Оцінку реальної біологічної небезпеки дії окремих речовин ускладнює багатоманітність видового складу флори і фауни природних вод. Кожен вид має свою специфічну чутливість або резистентність до кожної окремої речовини. Тому коливання летальної дози у гідробіонтів різного систематичного положення надзвичайно широкі.

Загальноприйнятим стандартним тест-об'єктом є *Daphnia magna*. Він запропонований у 1934 р. шведським вченим Е. Науманном як універсальний тест-об'єкт і успішно апробований у багатьох країнах. У США, Франції, Німеччині і деяких інших країнах розроблені стандарти на лабораторні культури цього рачка і техніку виконання біотестів з ними.

Переваги біотестування:

1. Можливості біотестів багатогранні, оскільки їх використовують:

а) як базу для визначення рибогосподарських ГДК;
б) для попереднього відсіву (скринінгу) найбільш небезпечних і високотоксичних речовин, що пропонуються для впровадження;

в) для оцінки токсичності стічних вод;

г) для оцінки токсичності природних вод, забруднених стічними водами або сільськогосподарськими стоками;

д) для іхтіологічної експертизи у випадках отруєння і масової загибелі риб, а також для судово-медичної експертизи;

є) для оцінки токсичності ґрунтових і мулових витяжок.

2. Біотести доступні і дешеві (при використанні спеціально опрацьованих для практичних потреб модифікацій), не вимагають спеціальної підготовки виконавців.

3. Біотестування здійснюють, здебільшого, без будь-якого спеціального коштовного обладнання і реактивів.

4. Деякі біотести можна автоматизувати і використовувати як об'єктивні контролери на підприємствах, які скидають токсичні стічні води.

5. Біотестування дає змогу запровадити єдину стратегію контролю по всьому шляху стічних та інших токсичних вод – від місця зародження до осадження в донних відкладеннях і міграцій по водних шляхах і трофічних ланцюгах.

6. За допомогою хронічних біотестів можна виявити залишкову токсичність водних мас, яка не проявляється видимо у короткі строки, але є не менш небезпечною як фактор повільного вимирання гідробіонтів і генетичних порушень. Водночас багато тестів на гостру токсичність експресні, дають змогу оцінити токсичність води за лічені секунди або хвилини.

Завдання

Обладнання і реактиви: культура дафній, вода питна відстояна, термометр, колби з притертою пробкою, об'єм $0,25 \text{ дм}^3$ – 5 шт., з розчинами двохромовоокислого калію у концентраціях від 1 до 10 мг/дм^3 , колби з притертою пробкою, об'єм $0,25 \text{ дм}^3$ – 5 шт., з розчинами оцтової або іншої кислоти з рН від 2 до 6, колби з притертою пробкою, об'єм $0,25 \text{ дм}^3$ – 5 шт., з пробами стічної води, або води з річки Устя різного розведення, годинник, мірний циліндр - $0,1 \text{ дм}^3$, посуд скляний для біотестування об'ємом $100\text{-}150 \text{ см}^3$, сачок для пересаджування дафній, трубки скляні для відлову дафній, діаметром від 5 до 7 мм, олівець для скла.

Порядок роботи

1. Розчини речовин і проби стічної води або з річки налити у посудини (дослід) по 100 см^3 і підписати олівцем.
2. Відстояну питну воду використовують як контроль.
3. Повторюваність у досліді і контролі трикратна.
4. За допомогою скляної трубки і сачка в кожен посудину помістити по 10 екз. дафній.
5. Зафіксувати у зошиті температуру води і час початку біотестування.
6. Тривалість досліду – 1 год.

7. Через годину у кожній посудині підрахувати кількість живих дафній (вільно рухаються у товщі води або спливають з дна посудини після її легкого струшування не пізніше ніж за 15 с). Результати записати до табл.

Посудини	Концентрація (розбавлення)	Повтори	Кількість живих дафній, шт	Середнє арифметичне	Індекс токсичності
Контрольні		1			
		2			
		3			
Дослідні		1			
		2			
		3			

Опрацювати результати так:

- розрахувати середнє арифметичне кількості живих дафній з трьох повторів у контролі й досліді;
- розрахувати індекс токсичності за формулою (11.1):

$$A = (X_k - X_d / X_k) \times 100, \quad (11.1)$$

де А – кількість загиблих дафній, %;

X_к – середнє арифметичне кількості живих дафній у контролі, екземпляри;

X_д – середнє арифметичне кількості живих дафній у досліді,

Екземпляри (Методичні вказівки..., 2020).

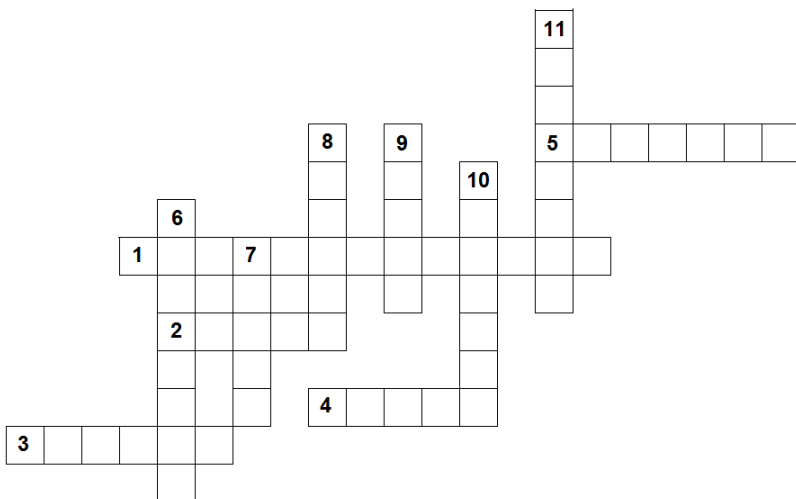
Токсичність розчинів оцінюють за індексом А – якщо він становить 50 і більше відсотків, вважають, що розчин речовини (розбавлення води) виявляє гостру летальну токсичність (Методичні вказівки..., 2020).. Висновки занести до таблиць.

Підготуйте відповіді на наступні питання:

- 1) У чому полягають особливості біотестування як методу біомоніторингу?
- 2) Що розуміють під термінами «біотест», «тест-об'єкт», «тест-функція», «тест-реакція»?
- 3) Як визначають мінімально допустиму, медіанну і летальну концентрацію або дозу?
- 4) Які є переваги біотестування для визначення якості води?

Самостійна робота «Цікава водна токсикологія»

Кросворд 1. Характеристика, поширення та токсичні властивості металів та металоїдів



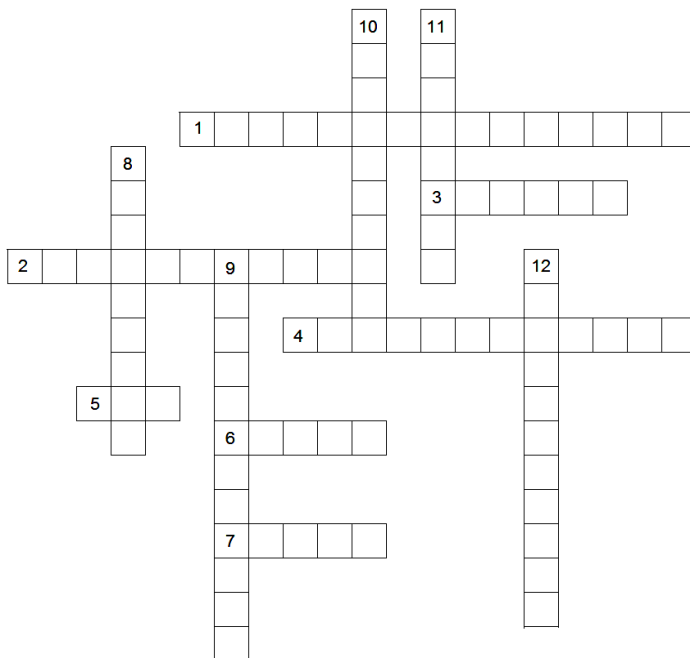
По-горизонталі: 1. Група з хімічних елементів (Hg, Cd, Pb, Bi і As), які відомі як високотоксичні, тобто викликають негативні зміни у життєдіяльності організмів навіть за дуже низьких концентрацій, а їх біологічна роль не визначена. 2. Характерною і відмінною ознакою отруєння риб солями цього лужного металу є знебарвлення, збліднення зовнішніх покривів. 3. Важкий метал, який викликає отруєння безхребетних та риб, маючи гемолітичну, ензиматичну, канцерогенну та тератогенну дію. Підвищення його токсичності спостерігається у низько мінералізованих водах зі зниженим рН. 4. Лужний метал, який накопичується у солоній воді озер і навіть основні промислові його запаси зосереджені у ропі соляних озер. 5. Значне підвищення вмісту цього важкого металу у навколишньому середовищі пов'язане зі спалюванням твердого палива, виносом зі стічними водами рудозбагачувальних комбінатів, металургійних заводів, шахт, хімічних підприємств, застосуванням на транспорті у складі антидетонатора для двигунів внутрішнього згорання.

По-вертикалі: 6. Потужними джерелами забруднення водой солями цього важкого металу виступають поверхневий змив із сільськогосподарських угідь, де використовуються ртутні пестициди (каломель $HgCl$, сулема $HgCl_2$, ртутьорганічні комплексні сполуки), і стічні води хімічної та медичної промисловості. 7. Металоїд, який на сучасному етапі розвитку людського суспільства став одним із значимих компонентів забруднення навколишнього середовища з високим ступенем токсичності, та має три рівні біологічної активності. 8. Лужноземельний метал, який у поверхневі води суші надходить у процесі хімічного вивітрювання і розчинення мергелів, магнетитів, доломітів та інших мінералів. 9. Лужноземельний високорадіотоксичний елемент, який накопичується у кістковій і кровотворній тканинах, викликаючи остеопороз і розвиток злоякісних пухлин. 10. Цей елемент формує зовнішній та внутрішній скелет тварин, але у підвищених концентраціях у воді токсичний для безхребетних та риб, викликаючи порушення процесів регенерації та відтворення. 11. Отруйні речовини.

Кросворд 2. Характеристика та токсичні властивості стійких органічних сполук.

По-горизонталі: 1. Група пестицидів, які є складними ефірами фосфорової, фосфорної, тіофосфорної, дитіофосфорної і пірофосфорної кислот. 2. Нейромедіатор, який накопичується в синапсах під впливом фосфорорганічних пестицидів, який проявляється у пригніченні ферментативної активності ацетилхолінерастери та інших естераз. 3. Органічні сполуки ароматичного ряду, в молекулах яких гідроксильні групи зв'язані з атомами вуглецю ароматичного кільця. 4. Дія нафти і нафтопродуктів, яка проявляється у блокуванні синтезу РНК і ДНК та хромосомних аберациях в організмах гідробіонтів різних рівнів організації – від найпростіших до риб та водних ссавців. 5. Найвідоміший хлорорганічний пестицид, на використання якого з 2001 року діє міжнародна заборона від ООН. 6. Складна суміш вуглеводнів з широким діапазоном молекулярних мас і структур, які формують в'язку маслянисту рідину темно-коричневого кольору зі слабо вираженою флюоресценцією. 7.

Це стійкі до нафтового забруднення гідробіонти, які фільтруючи морську воду, звільняють її від емульсованої нафти, переводячи її у псевдофекалії, які осідають на дно і адсорбуються донними мулами.



По-вертикалі: 8. Отрутохімікати, які використовуються для боротьби із хвороботворними мікроорганізмами, паразитами, шкідниками або небажаними рослинами і тваринами. 9. Кислота з інсектицидною активністю, похідними якої є синтетичні піретроїди. 10. Двоатомний фенол. 11. Фосфорорганічний пестицид. 12. Пестициди, які застосовують для боротьби з шкідливими комахами.

Інформаційні ресурси

Рекомендована література

1. Беспалова Л.Е., Оліфіренко В.В., Рачковський А.В. Водна токсикологія: навчальний посібник. Херсон: ВЦ «Колос», 2011. 131 с.
2. Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація забруднень (теорія, методи, практика використання) / Олексів І. Т., Ялинська Н.С., Брагінський Л. П. та ін. / За ред. Олексіва І.Т., Брагінського Л. П. Львів: Світ, 1995. 440 с.
3. Гроховська Ю. Р., Кононцев С. В., Колесник Т. М. Біологічний моніторинг водного середовища : навч. посіб. Рівне : НУВГП, 2010. 161 с.
4. Дудник С.В., Євтушенко М.Ю. Водна токсикологія: основні теоретичні положення та їхнє практичне застосування [Монографія]. К.: Вид-во Українського фітосоціологічного центру, 2013. 297 с.
5. Клименко М.О. Гідроекологія : підруч. для студ. вищ. навч. закл. / М. О. Клименко, Ю. В. Пилипенко, Ю. Р. Гроховська, О. В. Ляньзберг, О. О. Бедункова. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2015. 379 с. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://ep3.nuwm.edu.ua/id/eprint/7515>.
6. Мацнев А. І., Проценко С. Б., Саблій Л. А. Моніторинг та інженерні методи охорони довкілля. Рівне : ВАТ «Рівненська друкарня», 2000. 504 с.
7. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / О.М. Арсан та ін. ; за ред. В. Д. Романенка. К.: Логос, 2006. 408 с.
8. Методичні вказівки до лабораторної роботи «Визначення токсичності води» з дисципліни «Екологія» для студентів усіх спеціальностей денної та заочної форм навчання / уклад. Л.А. Васьковець, В. В. Березуцький, О. А. Максименко. Харків: НТУ «ХП», 2020. 28 с.
9. Романенко В.Д. Основи гідроекології. К.: Обереги, 2001. 726 с.
10. Lane T. W., Saito M. A., George G. N. Biochemistry: A cadmium enzyme from a marine diatom. *Nature*, 2005. Vol. 435, No 7038. P. 42.

11. Noga E.J. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Second Edition. Wiley-Blackwell, 2010. 538 p.

Електронні ресурси

1. Сайт журналу «Гідробіологічний журнал», рубрика «Водна токсикологія» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://hydrobiolog.com.ua/2010/2010_4.htm
2. Сайт журналу «Aquatic Toxicology». – Режим доступу: <https://www.sciencedirect.com/journal/aquatic-toxicology>
3. Сайт журналу “Hydrobiologia”. The International Journal of Aquatic Sciences - Режим доступу: <https://www.springer.com/journal/10750>.

Методичне забезпечення

4. Лінк теми на MOODLE (конспект лекцій та завдання до самостійної роботи): <https://exam.nuwm.edu.ua/course/view.php?id=817>
5. 05-03-216М. Методичні вказівки до виконання лабораторних, практичних та самостійних робіт з навчальної дисципліни «Водна токсикологія» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура» денної і заочної форм навчання / Гроховська Ю.Р., Кононцев С.В. Рівне: НУВГП, 2025. – Режим доступу: <http://ep3.nuwm.edu.ua/>.
6. 05-03-136М. Методичні вказівки до виконання практичних робіт з навчальної дисципліни «Якість води та здоров'я риб» для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня за освітньо-професійною програмою «Охорона, відтворення та раціональне використання гідробіоресурсів» спеціальності 207 «Водні біоресурси та аквакультура» денної та заочної форми навчання. [Електронне видання] / Гроховська Ю.Р. Рівне: НУВГП, 2024. – Режим доступу: <http://ep3.nuwm.edu.ua/>.

Додаток А

Частка загального аміачного азоту, який присутній у вигляді неіонізованого аміаку при різних комбінаціях температури та рН (Noga, 2010, змінено за Emerson et al.1975)

Temp		pH								
(°C)	(°F)	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0
0	32	.0001	.0003	.0008	.0026	.0082	.0255	.0764	.207	.453
1	34	.0001	.0003	.0009	.0028	.0089	.0277	.0825	.221	.473
2	36	.0001	.0003	.0010	.0031	.0097	.0300	.0890	.236	.494
3	37	.0001	.0003	.0011	.0034	.0105	.0325	.0960	.251	.515
4	39	.0001	.0004	.0012	.0036	.0114	.0352	.103	.267	.535
5	41	.0001	.0004	.0013	.0040	.0123	.0380	.111	.283	.556
6	43	.0001	.0004	.0014	.0043	.0134	.0411	.119	.300	.576
7	45	.0001	.0005	.0015	.0046	.0145	.0444	.128	.317	.595
8	46	.0002	.0005	.0016	.0050	.0157	.0479	.137	.335	.614
9	48	.0002	.0005	.0017	.0054	.0169	.0516	.147	.353	.633
10	50	.0002	.0006	.0019	.0059	.0183	.0556	.157	.371	.651
11	52	.0002	.0006	.0020	.0063	.0197	.0599	.168	.389	.668
12	54	.0002	.0007	.0022	.0068	.0213	.0644	.179	.408	.685
13	55	.0002	.0007	.0024	.0074	.0230	.0692	.190	.426	.702
14	57	.0003	.0008	.0025	.0080	.0248	.0743	.202	.445	.717
15	59	.0003	.0009	.0027	.0086	.0267	.0797	.215	.464	.733
16	61	.0003	.0009	.0029	.0093	.0287	.0854	.228	.483	.747
17	63	.0003	.0010	.0032	.0100	.0308	.0914	.241	.502	.761
18	64	.0003	.0011	.0034	.0107	.0331	.0978	.255	.520	.774
19	66	.0004	.0012	.0037	.0115	.0356	.105	.270	.539	.787
20	68	.0004	.0013	.0040	.0124	.0382	.112	.284	.557	.799
21	70	.0004	.0014	.0043	.0133	.0410	.119	.299	.575	.810
22	72	.0005	.0015	.0046	.0143	.0439	.127	.315	.592	.821
23	73	.0005	.0016	.0049	.0154	.0470	.135	.330	.609	.832
24	75	.0005	.0017	.0053	.0165	.0503	.144	.346	.626	.841
25	77	.0006	.0018	.0057	.0177	.0538	.153	.363	.643	.851
26	79	.0006	.0019	.0061	.0189	.0575	.162	.379	.659	.859
27	81	.0007	.0021	.0065	.0203	.0615	.172	.396	.674	.868
28	82	.0007	.0022	.0070	.0217	.0656	.182	.412	.689	.875
29	84	.0008	.0024	.0075	.0232	.0700	.192	.429	.704	.883
30	86	.0008	.0025	.0080	.0248	.0746	.203	.446	.718	.890