

Ташкентский автомобильно-дорожный институт

Автотранспортный факультет

Кафедра «Автотракторные двигатели и экология»

ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

по дисциплине: «**Основы токсикологии**»

для студентов бакалавриата направления

5850100 – Защита окружающей среды (автотранспортная отрасль)

Ташкент 2010г

В сборнике представлены правила оформления лабораторных работ, порядок выполнения работ, необходимые справочные сведения, список литературы.

Цель выполнения лабораторных работ состоит в развитии практических навыков по самостоятельному проведению токсикологических исследований.

Методические указания составлены на основании учебной программы курса «Основы токсикологии».

Разработчик: к.т.н. Радкевич М.В.

Рецензент: д.б.н., проф. Тилябаев З.Т.

Рассмотрены и одобрены на заседании кафедры «АТД и Э»
Протокол заседания кафедры № ____ от « ____ » _____ 2010г.

Заведующий кафедрой проф. Базаров Б.И.

Рассмотрены и утверждены на заседании методической комиссии
Автотранспортного факультета.

Протокол заседания МК АТФ № ____ от « ____ » _____ 2010г.

Председатель МК АТФ доц. Зикриллаев Х.Ф.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ	4
Лабораторная работа № 1. Изучение основных токсикометрических параметров химических веществ и определение их пороговых концентраций	5
Лабораторная работа № 2 Изучение кумулятивного эффекта вредных веществ по состоянию хвои сосны.....	12
Лабораторная работа № 3. Биоиндикация токсичности почвы	15
Лабораторная работа № 4. Определение влияния различных доз токсичных тяжелых металлов на физиологические параметры растений	17

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Токсикологическое исследование помимо самого анализа обязано включать в себя правильное оформление исследований, а также характеристики методов контроля и загрязняющих веществ, поэтому важным моментом является научить студентов правильно составлять акт о выполненном анализе.

Лабораторные работы оформляются в виде акта химико-токсикологического исследования. Акт составляется студентом, выполняющим анализ, и должен отражать основные моменты исследования. Форма акта приведена ниже.

Форма

Акт химико-токсикологического исследования №

1. Введение.

Ф.И.О исследователя _____

Дата _____

Вид исследования (*тема работы*) _____

2. Предварительный осмотр доставленного материала.

Подробно описываются объекты исследований: тара, упаковка, надписи, печати, состояние их и характер содержимого. Далее описываются предварительные испытания

3. Биологические исследования.

Подробно излагается ход исследования, при необходимости иллюстрируется графиками и схемами.

4. Химическое исследование.

Подробно излагаются все операции. Описание должно быть ясным и точным, давая полную картину произведенного исследования. Приводятся все необходимые таблицы, графики и расчеты.

4. Заключение.

В заключении пишут: “На основании вышеописанного следует заключить, что в исследуемых объектах (следует их перечислить) не найдено” и перечисляют вещества, на которые производилось исследование с отрицательными результатами. Далее перечисляют вещества найденные при исследовании, и приводят количества их (или выражают в %).

Лабораторная работа № 1. Изучение основных токсикометрических параметров химических веществ и определение их пороговых концентраций

Цель работы: изучить основные токсикометрические параметры и методы определения пороговых концентраций по влиянию веществ на органолептические свойства воды и научиться определять предельную концентрацию вещества в воде.

Приборы и материалы: колбы стеклянные (4-5шт), цилиндры стеклянные (4-5шт), стаканы лабораторные емкостью 500мл (4-5шт), толуол (или другое химическое вещество с характерным запахом).

Теоретическая часть

Раздел токсикологии, в рамках которого совершенствуется методология и осуществляется оценка токсичности химических веществ, называется "токсикометрия".

Табл. 1.1

Группа параметров	Название или обозначение параметра	Характеристика параметра	Единицы измерения
Общие	Uniac	Порог однократного (острого) действия токсического вещества – минимальная пороговая доза, вызывающая изменения показателей жизнедеятельности организма, выходящие за пределы приспособительных функций организма.	мг/кг
	DL ₅₀ (DL ₁₀₀)	Среднесмертельная (смертельная) доза, вызывающая гибель 50% (100%) подопытных животных при определенном способе введения (внутрь, на кожу и т.д., кроме ингаляции) в течение 2-х недель последующего наблюдения	мг/кг
	CL ₅₀ (CL ₁₀₀)	Концентрация (доза), вызывающая гибель 50% (100%) подопытных животных при ингаляционном воздействии	мг/м ³
	ПДК	Предельно допустимая концентрация вещества	мг/м ³
	ОБУВ	Ориентировочный безопасный уровень воздействия вещества	мг/м ³
Клинические	Условная смертельная доза	Минимальная доза, вызывающая смерть человека при однократном воздействии данного вещества	мг/кг
	Пороговая концентрация ядов в крови	Концентрация яда в крови, при которой обнаруживаются первые симптомы отравления	мг/мл
	Критическая концентрация	Концентрация яда в крови, соответствующая развернутой клинической картине отравления	мг/мл
	Смертельная концентрация	Концентрация яда в крови, при которой обычно наблюдается смертельный исход	мг/мл

Результаты токсикометрических исследований в медицинской практике используют для разработки системы нормативных и правовых актов, обеспечивающих химическую безопасность населения; оценки риска действия ксенобиотиков в условиях производства, экологических и бытовых контактов с токсикантами; сравнительной оценки эффективности средств и методов обеспечения химической безопасности населения и т.д.

Основные токсикометрические параметры приведены в табл. 1.1.

Особенность гигиенического нормирования химических веществ в воде заключается в том, что при установлении ПДК учитывается несколько признаков вредности: органолептический, токсикологический и общесанитарный. Минимальная из двух (или трех) величин рекомендуется как ПДК с указанием лимитирующего признака вредности.

Для определения оптимального объема исследований служит схема последовательного (этапного) нормирования, состоящая из следующих этапов:

1. Классификация опасности веществ, загрязняющих воду, которая осуществляется по ряду критериев (табл. 1.2)

1.1. Основной критерий - соотношение между признаками вредности. Если пороговые концентрации по органолептическому ($ПК_{орг.}$) или общесанитарному ($ПК_{сан.}$) признаку вредности существенно ниже, чем $ПК_{хр.}$ по токсикологическому признаку вредности, вещество рассматривается как мало опасное (4-й класс) или умеренно опасное (3-й класс).

1.2. Второй критерий - абсолютная величина $ПК_{хр.}$: чем ниже величина $ПК_{хр.}$, тем опаснее вещество.

1.3. Третий критерий – соотношение $DL_{50}/ПД_{хр.}$ - количественный критерий кумулятивных свойств веществ. Используется для уточнения 1—3 классов опасности, установленных согласно п. 1.1 и с учетом положения, согласно которому вещество тем более опасно, чем более выражена его способность к кумуляции.

1.4. Четвертый критерий - способность веществ вызывать отдаленные эффекты - обусловлен тем, что отдаленные эффекты следует рассматривать как более опасное, по сравнению с общетоксическим, действие. По этому критерию оцениваются вещества при уточнении 1—3 классов опасности.

1.5. Пятый критерий - стабильность вещества. С учетом стабильности, относительной токсичности и опасности вещества и продуктов его трансформации могут быть изменены класс опасности, величина норматива и рекомендации к методам контроля.

Таблица 1.2

Классификация опасности веществ при этапном обосновании ПДК веществ в воде

Последовательность оценки опасности веществ	Критерий	Класс опасности			
		Первый (чрезвычайно опасные)	Второй (высокоопасные)	Третий (умеренно опасные)	Четвертый (малоопасные)
1	$ПК_{хр.}/ПК_{орг.}$ ($ПК_{сан.}$)	-	< 10	10—100	> 100
2	$ПК_{хр.}$, мг/л	< 0,01	0,01—1,0	> 1,0—100	> 100
3	$DL_{50}/ПД_{хр.}$	> 10^5	$10^5—10^4$	< $10^4—10^3$	< 10^3
4	$ПД_{общ.}/ПД_{отд.}$	> 10	4—10	> 1-3	0,1-1
5	стабильность	> 30 суток	1—30 суток	1—24 часа	< 60 мин

2. Схема последовательного обоснования ПДК веществ состоит из шести стадий, представленных в табл. 1.3.

Таблица 1.3

Схема обоснования ПДК веществ в воде

№ №	Название стадии	Объем исследований	Полученная информация	Класс опасности, для которого достаточна эта стадия
1	2	3	4	5
1	Принятие предварительного решения	Анализ литературы. Изучение технологии производства и/или применения. Ориентировочный расчет гигиенических параметров по физико-химическим параметрам, ПДК в других объектах и других странах	Расчетные DL_{50} . Выбор схемы разработки ПДК, степень приоритетности вещества	
2	Ускоренная оценка	Оценка влияния на органолептические свойства воды и	$ПК_{орг.}$, $ПК_{сан.}$, DL_{50} , TL_{50} ,	4

		санитарный режим водоемов, выявление способности к трансформации, острые токсикологические опыты, в т. ч. для определения видовых, половых и возрастных различий чувствительности к веществу. Расчет параметров хронической токсичности по DL_{50} , TL_{50} и смешанным математическим моделям. Определение класса опасности	расчетные $ПД_{хр.}$, класс опасности, ПДК, способность вещества к трансформации, класс опасности по трансформации $K_{кум.}$	
3	Экспресс-эксперимент	Подострый опыт. Изучение гонадоток-сичности по функциональным показателям, эмбриотоксичности, мутагенного эффекта в скрининговых опытах. Оценка кожно-резорбтивного действия. Прогноз параметров хронической токсичности и определение класса опасности вещества. Идентификация продуктов трансформации	$ПД_{пэк.}$, пороговые дозы отдаленных эффектов, расчетные МНД, класс опасности, ПДК	3
4	Хронический опыт	Хронический опыт для изучения общетоксического действия. Оценка мутагенного, гонадотоксического эффектов. Оценка опасности продуктов трансформации. Расчет коэффициентов запаса, экстраполяция данных с животных на человека	$ПД_{общ.}$, $МНД_{общ.}$, $ПД_{отд.}$, $МНД_{отд.}$, K_3 . Сравнительная токсичность продуктов трансформации. Класс опасности, ПДК	1—2
5	Специальные исследования	Углубленное изучение канцерогенного, атеросклеротического, аллергенного эффектов. Дополнительные исследования гонадо-, эмбриотоксического, мутагенного эффектов. Обоснование ПДК	$ПД_{хр.}$ по специфическим и отдаленным эффектам, ПДК	1
6	Эпидемиологические исследования	Связь состояния здоровья и условий водопользования населения с содержанием вещества и/или продуктов его трансформации в воде	Корректировка ПДК, Оценка эффективности гигиенических водоохраных мероприятий	1—4

Экспериментальная часть

Определение пороговых концентраций по влиянию веществ на органолептические свойства воды.

Органолептические свойства воды - воспринимаемая рецепторами человека совокупность показателей качества воды: запах, привкус, окраска, прозрачность (мутность), наличие пленок или пены на поверхности воды, посторонних включений, плавающих примесей, осадка. Многие вредные вещества способны изменять органолептические свойства воды, поэтому более чем для половины изученных веществ эти свойства были определяющими при установлении их ПДК в воде. Целью изучения влияния веществ на органолептические свойства воды является установление пороговых концентраций ($ПК_{орг.}$). Оценка интенсивности изменений органолептических свойств осуществляется людьми (дегустаторами), предпочтительно специалистами, имеющими опыт в данной области, нежелательно участие курящих лиц.

В эксперименте используются только безопасные для здоровья человека концентрации, которые выбираются по литературным данным.

Последовательность проведения эксперимента

При проведении исследований помещение должно быть хорошо проветрено, без посторонних запахов. Дегустаторы допускаются к оценке воды через 1,5—2 часа после приема пищи, воды.

Предварительно они должны быть ознакомлены с характером запаха и привкуса исследуемой воды. Характер запаха определяется при температуре 20 и 60 °С, привкуса - при 20 и 40 °С.

1. Для проведения эксперимента готовится исходный истинный раствор вещества, обладающий отчетливым запахом или привкусом. Ряд исследуемых образцов готовится путем последовательного разведения каждой пробы в 2 раза. Определение ведут в направлении от меньшей концентрации к наибольшей в ряду исследуемых проб, сопоставляя каждый образец с контрольной пробой. Опыты проводят в несколько серий с различными концентрациями вещества. Группа дегустаторов должна состоять не менее, чем из пяти-семи человек.

2. Для определения запаха воды используются широкогорлые с притертыми пробками колбы объемом 500 мл, в которые наливают по 200 мл исследуемого образца. В качестве контрольной используется колодезная, ключевая или хлорированная водопроводная вода, не имеющая не свойственного ей запаха (привкуса).

Колбу с 200 мл исследуемого образца закрывают пробкой и перемешивают ее содержимое вращательными движениями, после чего колба открывается и дегустатор делает несколько глубоких вдохов, определяя характер и интенсивность запаха. Запах характеризуется качественно в зависимости от его вида, например, ароматический, нефтепродуктов, гнилостный, землистый и др.

Оценка запаха при 60 °С проводится следующим образом: горлышко колбы закрывается стеклом и колба подогревается на водяной бане до нужной температуры, после чего анализируется интенсивность запаха.

3. Для определения привкуса воды 10—15 мл исследуемой воды набирается в рот и задерживается на 3—5 сек (как, например, при дегустации вина), затем воду удаляют из полости рта. Качественно характеризуется вкус воды: соленый, кислый, горький, сладкий, или привкус: щелочной, терпкий, затхлый, металлический и т.д.

Интенсивность запаха (или привкуса) оценивается по соответствующей шкале (табл. 1.4).

Таблица 1.4.

Шкала интенсивности запаха (привкуса)

Характер проявления	Оценка интенсивности, баллов
Не ощущается	0
Не ощущается населением, но обнаруживается опытным дегустатором	1
Замечается населением, если обратить на это его внимание	2
Легко обнаруживается и вызывает неодобрительный отзыв о воде	3
Обращает на себя внимание и заставляет воздерживаться от питья	4
Настолько сильный, что делает воду непригодной для употребления	5

Результаты обобщаются в виде сводной таблицы (пример – табл. 1.5). *На основании исходных данных рассчитывают среднегеометрические концентрации, соответствующие 1 и 2 баллам. За пороговую концентрацию рекомендуется принимать нижнюю доверительную границу средней величины, которая обеспечивает 95 %-ную достоверность.*

Аналогичные расчеты применимы и для оценки влияния веществ на привкус воды.

Критерием гигиенического нормирования веществ является порог восприятия запаха (привкуса), соответствующий 1 баллу.

Пример определения интенсивности запаха воды с различным содержанием в ней полихлорпинена

Концентрация вещества, мг/л	Интенсивность запаха, баллов									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	M ¹
0,25	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0,22
0,5	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0,55
1	1	2—3	2—3	1	2	2	1	1	1	1,57
2	2	3	3	2	3	3	2	2	3	2,55
4	3—4	3—4	3—4	3	4	4	2	2	5	3,85
8	5	4	4—5	4	5	5	4	4	5	4,94

M¹ - среднеарифметическое значение.

4. **Определение пороговых концентраций по влиянию на окраску, мутность** воды проводится в столбе раствора высотой 10 и 20 см. Используются 4—5 цилиндров Генера, которые устанавливаются на белой бумаге при равномерном освещении.

5. **Пороговая концентрация по пенообразованию** определяется с помощью градуированных цилиндров емкостью 1000 мл с притертыми пробками. В них наливается по 500 мл исследуемого раствора и контрольная вода. В течение 15 секунд производится 15 умеренно резких опрокидываний цилиндров - сначала контрольных, а затем опытного - и отмечается интенсивность пенообразования. За пороговую принимается концентрация, при которой отсутствует стабильная крупнопузырчатая пена, а высота мелкопузырчатой у стенок цилиндра не превышает 1 мм.

6. **Определение пороговых концентраций по посторонним включениям или плавающим примесям** проводится в стакане объемом 500 мл, в который наливается 250 мл раствора, а в 4 других стакана - аналогичные растворы сравнения. Пороговой считается количество вещества, при котором не обнаруживается визуально ни одной видимой частицы в толще, на поверхности или на дне.

Наименьшая из пороговых концентраций по тому или иному органолептическому показателю принимается за пороговую по органолептическому признаку вредности.

Контрольные вопросы

1. Что изучает токсикометрия?
2. Назовите основные токсикометрические параметры химических веществ?
3. По каким признакам вредности устанавливают ПДК химических веществ?
4. Критерии для классификации вредных веществ.

5. Этапы определения ПДК.
6. Что относится к органолептическим свойствам воды?
7. Как должны проводиться эксперименты по оценке органолептических показателей?
8. Как оцениваются пороговые концентрации вредных веществ: а) по запаху, б) по привкусу; в) по окраске и мутности; г) по пенообразованию; д) по посторонним включениям?
9. Как устанавливается пороговая концентрация по органолептическому признаку вредности?

Лабораторная работа № 2. Изучение кумулятивного эффекта вредных веществ по состоянию хвои сосны

Цель работы: изучить кумулятивный эффект вредных веществ, содержащихся в выхлопных газах автотранспорта, по состоянию хвои сосны

Приборы и материалы: лупа, миллиметровая бумага

Теоретическая часть

Кумулятивным эффектом называют эффект воздействия вредных веществ при постепенном накоплении их в живом организме за счет постоянного воздействия. Различают *материальную кумуляцию*, при которой отравления развиваются вследствие *накопления массы вредного вещества* в организме и *функциональную кумуляцию*, при которой развитие отравлений *связано с нарушениями в организме*, вызванными вредными веществами.

Хронические отравления возникают постепенно, при длительном поступлении яда в организм в относительно небольших количествах. Хронические отравления могут быть следствием перенесенной однократной или нескольких повторных острых интоксикаций. К ядам, вызывающим хронические отравления в результате только функциональной кумуляции, относятся хлорированные углеводороды, бензол, бензины и др.

При повторном воздействии одного и того же яда в субтоксической дозе может измениться течение отравления и кроме явления кумуляции развиваться сенсibilизация и привыкание.

Кумулятивный эффект ярко проявляется в городах, где человек и все живые организмы постоянно подвергаются воздействию многочисленных вредных веществ, содержащихся в выбросах промышленных предприятий и в особенности автотранспорта.

Визуально легко оценить кумулятивный эффект вредных выбросов автотранспорта, и, соответственно, приближенно оценить степень загрязнения атмосферы, по состоянию хвойных деревьев, произрастающих в придорожной полосе.

Хвойные деревья наиболее восприимчивы к воздействию вредных веществ: хвоя меняет цвет и отмирает, частично отмирают и кончики нижних ветвей, обращенных к проезжей части.

Экспериментальная часть

Работа проводится в группах.

1. Выбрать район, в котором будет проводиться обследование хвойных растений.
2. Составить карту района, отметить на ней близлежащие предприятия, дороги с интенсивным транспортным движением, а также точки обследования. При высокой антропогенной нагрузке они должны быть расположены на расстоянии 1, 5–3 км, в малозагрязненных районах — на расстоянии до 10 км.
3. Составить перечень вредных веществ, характерных для данного района (содержащихся в выхлопных газах транспорта или выбросах промышленных предприятий)
4. В районе намеченной точки найти молодые хвойные деревья высотой 1–1,5 м.
5. Оцените степень вытоптанности участка: 1 — вытаптывания нет; 2 — вытоптаны тропы; 3 — ни травы, ни кустарников нет; 4 — осталось немного травы вокруг деревьев. При высокой вытоптанности территории (3–4) экспресс-оценка воздушного загрязнения невозможна.
6. Выберите 5 молодых деревьев, растущих на открытом месте, с 8–15 мутовками боковых побегов на главном стволе, отстоящих друг от друга на расстоянии 10–20 м.
7. У каждого деревца осмотрите хвоинки участка центрального побега предыдущего года (второго сверху). Если деревья очень большие, то обследование проведите на боковом побеге в четвертой сверху мутовке.
8. Определите класс повреждений и усыханий хвои. Иметь в виду, что шипик на конце хвоинки всегда более светлый, поэтому его окраска не включается в оценку. Для осмотра хвои необходимо пользоваться лупой.

Классы повреждения хвои	1	2	3			
Классы усыхания хвои	1	1	1	2	3	4

Классы повреждения хвои: 1 — хвоинки без пятен; 2 — хвоинки с небольшим числом мелких пятен; 3 — хвоинки с большим числом черных и желтых пятен, некоторые из них крупные, во всю ширину хвоинки.

Классы усыхания хвои: 1 — нет сухих участков; 2 — усох кончик 2–5 мм; 3 — усохла треть хвоинки; 4 — вся хвоинка жесткая или более половины ее длины сухая.

9. Определите продолжительность жизни хвои. Для этого обследуйте верхушечную часть ствола за последние годы: каждая мутовка, считая сверху — это год жизни. Определите, сколько лет сохраняется хвоя (ее максимальный возраст), причем, если на самом нижнем из освоенных участков часть хвоинок опала, то оценивают примерную

долю сохранившихся. Таким образом, полный возраст хвои определяется числом участков ствола с полностью сохраненной хвоей плюс доля сохраненной хвои на следующем за ним участке. Например, если верхушечная часть и два участка между мутовками полностью сохранили хвою, а на следующем участке сохранилась половина хвои, то показатель продолжительности жизни хвои составляет: $3 + 0,5 = 3,5$.

Табл. 2.1

Экспресс-оценка загрязнения воздуха

Максимальный возраст хвои	Класс повреждения хвои на побегах второго года жизни		
	1	2	3
4	I	I-II	III
3	I	II	III-IV
2	II	III	IV
2	-	IV	IV-V
1	-	IV	IV-VI
1	-	-	VI

Условные обозначения степени загрязнения воздуха:

I — идеально чистый; II — чистый; III — относительно чистый («норма»); IV — загрязненный («тревога»); V — грязный («опасно»); VI — очень грязный («вредно»); прочерком обозначены невозможные сочетания.

Обработка результатов и выводы

Основываясь на данных таблицы 2.1, сделайте вывод о степени загрязненности воздуха и эффекте кумуляции вредных веществ.

По результатам проведенных экспериментов сделайте вывод о состоянии воздушной среды в изученном районе.

Обоснуйте возможные причины полученных результатов.

Сделайте практические предложения по улучшению экологической ситуации в районе.

Контрольные вопросы

1. Что такое кумулятивный эффект?
2. Виды кумуляции.
3. Как проявляется эффект кумуляции на хвойных растениях?
4. Как проводится экспресс-оценка загрязнения воздуха по состоянию хвои?

Лабораторная работа № 3. Биоиндикация токсичности почвы

Цель работы: изучить метод биоиндикации токсичности почвы.

Приборы и материалы: лопатка садовая, пинцет, шпатель, вода дистиллированная, стаканчики стеклянные или металлические, семена растений.

Теоретическая часть

Почвенные микроорганизмы способны образовывать вещества различной химической природы, подавляющие рост растений — фитотоксины. Кроме этого, токсичность почвы может очень сильно увеличиваться при поступлении в почву различных веществ из воздуха или с водой вследствие хозяйственной деятельности человека. Накопление в почве токсинов, имеющих различную природу и происхождение, обуславливает токсические свойства почвы, определяемые методом биоиндикации.

Внешние, регистрируемые признаки токсического процесса называются его проявлениями. В токсикологии просматривается представление, согласно которому единственной формой проявления токсического процесса является интоксикация (отравление). Интоксикация действительно основная и наиболее изученная, однако далеко не единственная форма.

Проявления токсического процесса определяются уровнем организации биологического объекта, на котором токсичность вещества изучается:

- клеточном;
- органном;
- организменном;
- популяционном.

Токсический процесс на уровне целостного организма проявляется:

- болезнями химической этиологии (интоксикации, отравления);
- аллобиозом - стойкими изменениями реактивности организма на воздействие физических, химических, биологических факторов окружающей среды и т.д.

Обычно исследования токсических процессов проводятся на лабораторных животных, однако можно использовать и растения.

Степень токсичности почвы определяют по разнице в скорости прорастания, в количестве проросших семян, в длине проростков и их корней, в количестве объемной и весовой продукции в опыте и контроле. Токсичными считают почвы, вызывающие угнетение прорастания семян на 20–30 % и более. Определение токсичности почвы рекомендуется проводить на свежих образцах почвы, так как после длительного хранения образцов токсичность их может значительно изменяться

Экспериментальная часть

Для анализа отбирают образцы почвы из верхнего горизонта, подверженного разной степени антропогенной нагрузке. Испытуемую нестерильную почву в

воздушно-сухом состоянии с помощью пинцета освобождают от крупных корневых остатков, растирают в ступке и просеивают через сито с ячейками в 1 мм.

Навеску 100–200 г помещают в стаканчики (опыт проводят нестерильно) и увлажняют дистиллированной водой до 60 % от полной влагоемкости и тщательно перемешивают, затем с помощью шпателя уплотняют так, чтобы образовалась ровная поверхность. На поверхности почвенной пластинки шпателем делают бороздки глубиной около 0,5 см и раскладывают в них от 5 до 10 семян испытуемого растения (в зависимости от их размера), замоченных в водопроводной воде в течение суток. Обычно используют семена культур, возделываемых в данном регионе. Контрольные семена раскладывают на увлажненной вате, покрытой фильтровальной бумагой. Приготовленные образцы инкубируют в термостате при 25°C в течение 2–3 дней до полного прорастания, фиксируя каждый день количество проросших семян. Затем стаканчики выдерживают в течение 4–5 дней до полного развития проростков. По результатам эксперимента заполните таблицу. Полученные результаты обработать статистически и сделать вывод.

Табл. 3.1

Наименование культуры	Общее число семян	Число проросших семян						Число непроросших семян
		на 2-й день	на 3-й день	на 4-й день	на 5-й день	на 6-й день	на 7-й день	
Доля от общего числа, %								

Контрольные вопросы

1. Как проявляется процесс накопления в почве токсинов?
2. Как проявляются токсические процессы на уровне целостного организма?
3. В чем заключается метод биоиндикации токсичности почвы?
4. Какие почвы считаются токсичными?

Лабораторная работа № 4. Определение влияния различных доз токсичных тяжелых металлов на физиологические параметры растений

Цель работы: определить степень влияния различных доз тяжелых металлов на физиологические параметры растений.

Материалы и оборудование: Чашки Петри, растворы, содержащие ионы Pb, Cu, Zn, Mo, Co, Mn в количествах 0,1; 1; 10 ПДК; семена ячменя, гороха, редиса.

Теоретическая часть

Выяснение механизмов проникновения токсикантов в организм, закономерностей их распределения, метаболизма и выведения. Совокупность методических приемов, используемых для решения задачи, и накопленных сведений формируют раздел токсикологии - "токсикокинетика". Знания токсикокинетики ксенобиотиков необходимы для разработки надежной системы профилактики токсических воздействий; диагностики интоксикаций, выявления профессиональной патологии, проведения судебно-медицинской экспертизы; они широко используются в процессе создания новых противоядий и схем их оптимального использования; совершенствования методов форсированной детоксикации организма и т.д.

Экспериментальная часть

1. Поместить в 4 чашки Петри по 13 семян исследуемого растения.

2. Прибавить в три чашки по 10 мл растворов с различными концентрациями тяжелых металлов (0,1; 1; 10 ПДК). Значение ПДК определить по табл. 4.1. В четвертую чашку добавить 10 мл дистиллированной воды, она будет служить контролем.

Табл. 4.1.

Предельно допустимые концентрации некоторых металлов в водных объектах (мг/л).

№№ п/п	Вещество	Лимитирующий показатель вредности (ЛПВ)	ПДК, мг/л
1	2	3	4
1.	Ванадий	токсикологический	0,001
2.	Вольфрам ион (VI)	токсикологический	0,0008
3.	Железо ион (II)	токсикологический	0,005
4.	Железо ион (III)	токсикологический	0,05
5.	Магний ион (II)	токсикологический	50,0
6.	Марганец ион (II)	токсикологический	0,01
7.	Медь ион (II)	токсикологический	0,001 *
8.	Молибден ион (VI)	токсикологический	0,0012 *
9.	Никель ион (II)	токсикологический	0,01
10.	Олово двухлористое	токсикологический	1,25
11.	Олово четырехлористое	токсикологический	0,02

12.	Ртуть ион (II)	токсикологический	отсутствие
13.	Свинец ион (II)	санитарно токсикологический	0,03
14.	Селен ион	токсикологический	0,0016 *
15.	Стронций	токсикологический	10,0
16.	Теллур ион	токсикологический	0,0026 *
17.	Хром шестивалентный	санитарно токсикологический	0,001
18.	Цинк ион (II)	токсикологический	0,01

** Примечание: к природному фоновому содержанию.*

3. Опыт заложить в трехкратной повторности.

4. Оставьте чашки на 6 дней для прорастания семян.

5. Учтите длину корней в проросших семенах в мм. Учитывать необходимо самые длинные корни каждого из семян. По три проростка в каждой чашке с максимальными отклонениями не учитываются как случайные.

6. Определить средние значения длины корней. Сравнить полученные значения в опытных чашках с контрольными. Постройте график зависимости угнетения растения от концентрации ионов тяжелых металлов.

7. Выводы об устойчивости растения к действию токсиканта оформите в виде таблицы. Для оценки устойчивости растения к токсиканту вводится индекс устойчивости ($I_{уст}$):

$$(I_{уст})_{0,1 \text{ ПДК}} = (L_1/L_k) \cdot 100 \%,$$

$$(I_{уст})_{1 \text{ ПДК}} = (L_1/L_k) \cdot 100 \%,$$

$$(I_{уст})_{10 \text{ ПДК}} = (L_1/L_k) \cdot 100 \%,$$

где L_1 , L_k — длина корня проростка при воздействии токсиканта и в контрольном опыте, соответственно.

Контрольные вопросы

1. Какие тяжелые металлы используются для проведения эксперимента?
2. Как влияют тяжелые металлы на рост растений?
3. Как оценивается устойчивость растения к токсиканту?

Литература:

1. Келина Н.Ю., Безручко Н.В. Токсикология в таблицах и схемах. Ростов-на-Дону: «Феникс». 2006. – 144с.
2. Кремлев Е.П. и др. Лабораторный практикум по курсу «Экология». Гродно: ГрГУ. 2002. – 159с.
3. Куценко С. А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург. 2002
4. Потапова Е.В. Стандартизация и нормирование природопользования. Методическое указание и программа дисциплины. Иркутск: Иркутского государственного университета. 2008. – 42с
5. Сперанский В.В, Бубеева Н.Б., Мангутова Е.В. Лабораторный практикум по дисциплине «Основы токсикологии». Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2004. – 22 с.
6. Маматов И.И. Харбий токсикология ва табиат мухофозаси. Т.:Ибн Сино. 1997
7. Отабоев Ш.Т., Шомахмудов А.Л. Пестицидлар гигиенаси ва токсикология. Т.: 1997

