

На правах рукописи

**МАКАЕВА АЛСУ РИНАТОВНА**

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ И ОЦЕНКА  
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ  
РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН**

06.02.05 — ветеринарная санитария, экология, зоогигиена  
и ветеринарно-санитарная экспертиза

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Казань – 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФТЦРБ-ВНИВИ») г. Казань.

**Научный руководитель:** **Асланов Рашид Михайлович**  
доктор биологических наук, профессор,  
заведующий лабораторией фармакологии  
СДЯВ и химического синтеза ФГБНУ  
«ФТЦРБ-ВНИВИ»

**Официальные оппоненты:** **Ильязов Роберт Гиниятуллович**  
доктор биологических наук, профессор,  
генеральный директор ООО «НПЦ  
Липосомальные Технологии»

**Говоркова Лада Константиновна**  
кандидат биологических наук, доцент  
кафедры «Водные биоресурсы и  
аквакультура» ФГБОУ ВО «Казанский  
государственный энергетический  
университет»

**Ведущая организация:** ФГБНУ «Всероссийский научно-  
исследовательский институт ветеринарной  
санитарии, гигиены и экологии»

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 г. в 15<sup>00</sup> ч. на заседании диссертационного совета ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана».

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 г. и размещен на сайтах <http://www.vak.ed.gov.ru> и [www.ksavm.senet.ru](http://www.ksavm.senet.ru).

Ученый секретарь диссертационного  
совета, доктор биологических наук

Г. Р. Юсупова

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Проблема загрязнения водоемов остается одной из наиболее актуальных в современном обществе, так как большинство водных экосистем вовлечено в хозяйственную деятельность человека [5, 4].

Известно, что огромную роль в миграции элементов и веществ в экосистемах принадлежит живым организмам, которые накапливают в себе микроэлементы, вовлекая их в трофический круговорот [1].

Главной пищевой продукцией, получаемой человеком из водоемов, является рыбная продукция. Известно, что рыбы являются высшими, часто конечными звеньями трофических цепей водных экосистем. Поэтому именно в них следует ожидать максимальной кумуляции токсикантов, в том числе и элементов группы тяжелых металлов, являющихся наиболее распространенной категорией высокотоксичных и долго сохраняющихся веществ [7].

Изменение качества окружающей среды в индустриально развитых странах склоняет к проведению интенсивного изучения воздействия экологических факторов на биологические объекты.

Химический состав поверхностных вод формирует совокупность природных и антропогенных факторов [4]. Согласно докладу министерства природных ресурсов Российской Федерации, общий объем загрязненных сточных вод, сброшенных без очистки в 2014 г., увеличился на 8% по сравнению с 2013 г. [2].

Во многих странах приоритетной группой экотоксикантов считаются нефтепродукты, соединения азота и тяжелые металлы, в частности цинк, медь, железо [4, 10, 9]. Загрязненность водных объектов тяжелыми металлами отмечается в ряде регионов России, в том числе в Республике Татарстан. Тяжелые металлы принадлежат к классу консервативных загрязнителей, которые не распадаются в природных водах, а только изменяют форму своего существования, сохраняются в ней продолжительное время даже после исключения источника загрязнения [4].

По информации министерства экологии и природных ресурсов Республики Татарстан, уровень загрязненности рек в регионе остается высоким. Основными загрязняющими веществами являются соединения тяжелых металлов, нефтепродукты и соединения азота [3].

В связи с изложенным остается актуальной проблемой необходимость прогнозирования последствий влияния загрязняющих веществ на организм водных и лабораторных животных.

**Степень разработанности темы.** За последние годы накоплены материалы по исследованию токсических свойств тяжелых металлов и их соединений. В литературе имеются сведения об исследованиях по изучению накопления тяжелых металлов в теле моллюсков и рыб, изъятых из конкретных водных объектов. Однако не изучено в лабораторных условиях

влияние тяжелых металлов и ионов аммония на выживаемость, поведение, рост, плодовитость прудовиков и рыб гуппи в хроническом эксперименте.

Мало изучено сочетанное влияние токсикантов на постнатальное развитие потомства белых крыс, эмбриотоксические и тератогенные свойства, патоморфологические изменения.

**Цели и задачи исследования.** Целью исследования было выявление приоритетных загрязнителей природной воды в Республике Татарстан по сезонам года, а также установление закономерностей действия наиболее распространенных в водных объектах токсических веществ (ионов аммония, железа, цинка, меди и их сочетания) на животных.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Оценить качество природной воды водных объектов в различных районах Республики Татарстан и выявить приоритетные загрязняющие вещества по сезонам года;
2. Определить параметры острой, хронической токсичности и кумулятивные свойства ионов аммония, железа, меди, цинка и их сочетания для гидробионтов и лабораторных животных;
3. Изучить влияние токсикантов на организм белых крыс;
4. Изучить патоморфологические изменения в органах и тканях при поении белых крыс водой, содержащей ионы аммония, железа, меди, цинка и их сочетания.

**Научная новизна работы.** Впервые изучено современное состояние водных объектов в различных районах Республики Татарстан, определены наиболее распространенные загрязнители. Впервые проведены исследования по изучению токсикологических параметров загрязнителей (ионов аммония, железа, меди, цинка и их сочетания) на водных и лабораторных животных: изучены острая и хроническая токсичности, плодовитость гидробионтов, кумулятивные свойства, эмбриотоксичность, тератогенность, патогистоморфологические изменения в органах и тканях лабораторных животных.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость диссертационной работы основывается на изучении современного состояния водных объектов с определением наиболее актуальных загрязнителей. Получены оригинальные научные данные, расширяющие современные сведения по токсическому влиянию водных загрязнителей на гидробионты и лабораторных животных. Определены острая токсичность и влияние при длительном поступлении в организм, плодовитость гидробионтов, кумулятивные свойства, эмбриотоксичность, тератогенность, патогистоморфологические изменения в органах и тканях лабораторных животных.

Практическая ценность работы определяется тем, что полученные результаты могут быть использованы в качестве базы данных для решения задач мониторинга водной среды, а также при разработке природоохранных

мероприятий. Данные имеют большое значение при сравнительной оценке экологической ситуации водных объектов республики Татарстан. На основе проведенных исследований разработано «Методическое пособие по токсикологической оценке качества воды с использованием гидробионтов» (приложение 1).

Полученные в работе данные могут быть использованы в диагностике токсикоза, а также для профилактики интоксикации гидробионтов и теплокровных животных изученными загрязнителями.

**Методология и методы исследований.** С целью выполнения поставленных задач применяли органолептические, фотометрические, йодометрические, химические, токсикологические, клинико-гематологические, биохимические, патогистоморфологические, атомно-абсорбционные, статистические методы. Подробное описание методологии и методов проведения исследований приведено в главе «Материалы и методы».

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- Мониторинг качества воды в водных объектах республики Татарстан;
- Оценка острой и хронической токсичности ионов аммония, железа, меди, цинка и их сочетания для водных животных, их влияние на плодовитость гидробионтов;
- Оценка острой и хронической токсичности исследуемых веществ для лабораторных животных, влияние на биохимические, гематологические показатели;
- Эмбриотоксичность, тератогенность, кумулятивные свойства загрязнителей (ионов аммония, железа, меди, цинка и их сочетания) и их влияние на постнатальное развитие потомства лабораторных животных.

**Апробация материалов диссертации.** Основные результаты научных исследований доложены на Международных конференциях: «Биотехнология: токсикологическая, радиационная и биологическая безопасность России» (г. Казань, 2010 г.), «Естественные и технические науки: опыт, проблемы, перспективы» (г. Ставрополь, 2016 г.) и Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Инновационные решения актуальных проблем в АПК» (г. Екатеринбург, 2013 г.).

**Публикация результатов исследования.** Основные положения диссертации изложены в 8 печатных работах, из которых 4 – в изданиях, одобренных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 188 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка сокращений, списка использованной литературы, списка иллюстративного материала и приложения. Работа содержит 57 таблиц и 33 рисунка. Список литературы включает 157 источников, в том числе 69 – зарубежных авторов.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполнены с 2011 по 2016 гг. в отделе токсикологии ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

Для оценки качества природной воды отбирали пробы воды в реках Кама, Волга, Меша, Казанка, озере Средний Кабан. Пробы воды отбирались вручную на расстоянии 2-5 м от берега на глубине не менее 30 см от поверхности и не менее чем на 30 см выше уровня дна в бутылки объемом 5 дм<sup>3</sup>. Проводили органолептические, фотометрические, йодометрические, атомно-абсорбционные, расчетные и другие исследования по соответствующим ГОСТам. Результаты исследований проб воды проверяли на соответствие нормативам по 29 показателям: содержание ионов аммония, нитритов, нитратов, сульфатов, хлоридов, фторидов, фосфатов, растворенного кислорода, кальция, магния, бикарбонатов, железа, кадмия, свинца, меди, кобальта, цинка, никеля, марганца, сухого остатка, остаточного активного хлора, определение жесткости, щелочности, биохимического потребления кислорода (БПК<sub>5</sub>), перманганатной окисляемости, рН, запаха, цветности и мутности. По результатам мониторинга определяли наиболее распространенные загрязнители водных объектов, которые использовались в дальнейших исследованиях.

В качестве токсичных элементов использовали хлорид аммония, х.ч. – ГОСТ 3773-72; сульфат меди – ГОСТ 4165-78; цинк гранулированный, ч.д.а. – ГОСТ 989-75; соль Мора, ч.д.а. – ГОСТ 4208-72.

Для исследований по определению стабильности веществ в водной среде использовали 8 стеклянных емкостей объемом не менее 20 дм<sup>3</sup>. Число емкостей соответствовало определенному дню исследований.

Емкости наполняли отстоянной профильтрованной природной водой из р. Казанки, в которой определяли фоновое содержание загрязняющих веществ.

Для создания в емкостях исходного исследуемого содержания вещества, соответствующие его навески вносили непосредственно в подготовленные емкости с водой и тщательно перемешивали. При наличии фонового содержания исследуемого вещества в опытном растворе учитывали суммарную концентрацию вещества при внесении в воду. Меньшая концентрация для оценки стабильности – как минимум на порядок выше чувствительности метода определения.

Опыты проводили при естественном освещении в емкостях с открытой поверхностью. Исследованию подвергали три концентрации каждого вещества в двух повторностях.

Воду в емкостях тщательно перемешивали перед каждым отбором проб для анализа. Отбор проб и их анализ проводили после приготовления раствора (исходная концентрация), затем на 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 и 30 сут. от

начала эксперимента. Анализы выполняли традиционными лабораторными методами.

Расчет стабильности осуществляли методом регрессии с учетом того, что уменьшение содержания вещества в растворах как правило имеет экспоненциальный характер и описывают следующим уравнением:

$$\lg C = \lg C_0 - \frac{t}{\tau}, \quad (1)$$

где  $C$  – концентрация вещества в момент определения ( $\text{мг/дм}^3$ );

$C_0$  – исходная концентрация ( $\text{мг/дм}^3$ );

$t$  – время (сут.);

$\tau$  – константа скорости убывания вещества в растворе (сут.).

Принимая  $\lg C = y$ ;  $\lg C_0 = a$ ;  $t = x$ ;  $-\frac{1}{\tau} = b$ , получили уравнение  $y = a + x \cdot b$ .

“ $a$ ” и “ $b$ ” вычисляли методом наименьших квадратов по уравнениям:

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}; \quad (2)$$

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}, \quad (3)$$

где  $n$  – число определений во времени;

$\sum$  – знак суммирования.

Определение параметров острой и хронической токсичности для водных животных проводили согласно [8]. Для расчета концентрации, вызывающей гибели половины особей, использовали следующие формулы [11]:

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^N x_i y_i z_i \cdot \sum_{i=1}^N z_i - \sum_{i=1}^N x_i z_i \cdot \sum_{i=1}^N y_i z_i}{\sum_{i=1}^N z_i \cdot \sum_{i=1}^N x_i^2 z_i - \left( \sum_{i=1}^N x_i z_i \right)^2}, \quad (4)$$

$$b_0 = \frac{\sum_{i=1}^N y_i z_i - b_1 \left( \sum_{i=1}^N x_i z_i \right)}{\sum_{i=1}^N z_i}, \quad (5)$$

где  $x_i$  –  $i$ -е значение концентрации вещества в  $\text{мг/дм}^3$ ;

$y_i$  –  $i$ -е значение пробита эффекта, соответствующего определенной концентрации  $x_i$ ;

$z_i$  –  $i$ -е значение весового коэффициента пробита, соответствующего  $y_i$ ;

$N$  – число опытов (количество концентраций).

$$X = \frac{Y - b_0}{b_1}, \quad (6)$$

где  $X$  – соответствующее значение летальной концентрации, например,  $LC_{16}$ ,  $LC_{50}$ ,  $LC_{84}$ ;

$Y$  – значение пробита, соответствующего этой концентрации.

$$s_{LC_{50}} = \frac{LC_{84} - LC_{16}}{\sqrt{2N}}, \quad (7)$$

где  $N$  - количество животных в группах, использованных для испытания концентраций, которые находятся в пределах значений пробитов от 3,5 до 6,5.

Для исследований на гидробионтах использовали прудовиков и рыб.

В качестве токсикантов в опытах с гидробионтами использовали широко распространенные в водных объектах Республики Татарстан токсические вещества: ионы аммония, железо, цинк и медь, а также их сочетания.

Брюхоногие моллюски играют важную роль в круговороте органического вещества в водных экосистемах. Прудовик обыкновенный (озерный) *Lymnaea stagnalis* является представителем эписентоса, широко распространен в прибрежной зоне медленно текущих и стоячих водных объектов. Для исследований отбирали половозрелых моллюсков, активно передвигающихся и потребляющих корм. Для адаптации прудовиков в течение двух недель к лабораторным условиям, в каждую емкость помещали по 3-5 особей, кормили листьями одуванчика, капусты, салата, в изобилии. Для каждого опыта выбирали моллюсков одного цвета раковины, размера и веса.

Острый опыт проводился при нескольких концентрациях в трех повторностях каждая. Продолжительность исследования составляла 96 часов. Моллюсков в опыте не кормили. В каждую емкость на 1,5-2,5 дм<sup>3</sup> раствора помещали 4 моллюсков. Учитывали влияние исследуемого вещества на выживаемость и поведение моллюсков.

Продолжительность хронического опыта составляла 30 суток. Исходным содержанием для длительных исследований служила наибольшая безвредная концентрация, которую определяли в остром опыте. Число повторностей и плотность посадки были такими же, как и в остром опыте. В течение опыта моллюсков подкармливали.

Токсическое действие веществ оценивали по выживаемости, поведению особей, интенсивности потребления корма, изучали энергетический обмен у прудовиков.

Выживаемость регистрировали по реакции на механическое раздражение. Если она отсутствовала, а тело легко высвобождалось из раковины, прудовики считались погибшими.

Для определения суточного рациона прудовиков находили разность между начальным количеством корма и его остатком. Задаваемую порцию корма взвешивали, а остаток изымали, обсушивали и вновь взвешивали. Кормовой коэффициент вычисляли по формуле:

$$K = \frac{P}{\Delta P}, \quad (8)$$

где  $P$  – масса съеденного корма, г,  
 $\Delta P$  – прирост массы моллюска, г.

Исследование энергетического обмена у прудовиков состоит в определении интенсивности потребления кислорода с применением метода Винклера.

Для этого в банки с плотными крышками заливали воду, помещали по 3 особи прудовиков, у которых предварительно определяли массу и объем тела, и закрывали крышками таким образом, чтобы в банках не было воздушных пузырьков. Банки с водой, но без прудовиков являлись контрольными. Банки при стабильной температуре выдерживали 2 часа, затем из них отбирали пробы воды, в которых определяли содержание растворенного кислорода. Количество кислорода, потребленное моллюсками (в мг кислорода на 1 дм<sup>3</sup> за 1 час), определяли по формуле:

$$M = \frac{(m_0 - m)(V_1 - V_2)}{P \cdot t}, \quad (9)$$

где  $m_0$  – содержание кислорода, растворенного в воде банки без прудовиков, мгО<sub>2</sub> на 1 см<sup>3</sup>;

$m$  – содержание кислорода в воде банки с прудовиками;

$V_1$  – объем банки в см<sup>3</sup>;

$V_2$  – общий объем тел моллюсков, в см<sup>3</sup>;

$P$  – общая масса тел прудовиков в мг;

$t$  – продолжительность экспозиции в ч.

Еще одним наиболее удобным и весьма чувствительным тест-объектом для исследований на гидробионтах является хорошо изученная в токсикологическом плане культивируемая в искусственных условиях рыба – гуппи *Bebistes reticulatus* (L.) – широко распространенная аквариумная живородящая рыбка. Гуппи – мелкие рыбы с ярко проявляемым половым диморфизмом. Самцы (3-4 см) по размеру как правило мельче самок и окрашены в более яркие цвета. В их окраске преобладают серовато-коричневые тона с очень яркими красными, голубыми, зелеными и черными точками и вкраплениями. Самки достигают 6 см в длину, имеют желтовато-зеленый цвет.

Гуппи могут выдерживать многократные близкородственные скрещивания, что облегчает получение чистых линий.

Перед началом экспериментов рыб-производителей адаптировали к лабораторным условиям.

Исследования в остром эксперименте на особях гуппи в возрасте 1-2 суток можно условно рассматривать, как отклик личинок рыб на токсическое действие. В течение первых 4 суток сохраняется высокая чувствительность гуппи, затем их чувствительность к химическим веществам немного снижается, но остается на уровне для достоверных отклонений.

Для проведения исследований в аквариум наливали по 10 дм<sup>3</sup> контрольной или тестируемой воды. Повторность исследования — трехкратная. В каждый аквариум помещали по 6 рыб. Ежедневно подсчитывали количество выживших рыб в каждом аквариуме и удаляли погибших. Погибшими считали гуппи, которые в течение 5 минут не подавали признаков движения и дыхания после прикосновения к ним стеклянной палочкой или сачком.

Для определения наличия острого токсического действия раствора вещества опыт проводили в течение 96 часов. При кратковременном исследовании рыб не кормили.

Для проведения исследования по определению хронического токсического действия раствора вещества опыт проводили в течение 30 суток в трехкратной повторности. Регистрировали выживаемость, поведение рыб, характер питания. Определяли массу рыб, сачковую пробу на 1, 10, 30, 60, 90 сут. с момента начала экспериментов. По времени трепетания рыбки на сачке в сачковой пробе оценивали резервную силу организма, регистрировали время прекращения трепетания. Смену воды в контрольных и опытных аквариумах при длительном исследовании проводили через 5 суток, один раз в сут. рыб кормили.

В экспериментах по изучению влияния токсикантов на животных были использованы белые крысы. На протяжении всего периода исследования опытные и контрольные группы животных находились в одинаковых условиях. Кормление животных осуществлялось в соответствии с зоотехническими требованиями.

Для экспериментального исследования использовали воду с содержанием ионов аммония, железа, меди, цинка. Водные растворы помещали в поилки.

Определение параметров острой токсичности ионов аммония, железа, меди, цинка и их сочетания производили по методу Кербера (1931). Дозу, вызывающую гибель половины животных рассчитывали по формуле:

$$LD_{50} = D \frac{\sum z \cdot d}{n}, \quad (10)$$

где  $D$  — доза, вызывающая гибель всех животных ( $LD_{100}$ );

$\sum$  — знак суммирования;

$z$  — половина суммы числа животных, погибших от двух последующих

доз;

$d$  – разница значений доз, стоящих рядом;

$n$  – число животных в каждой группе.

При определении параметров острой токсичности токсических веществ за опытными животными вели наблюдение в течение 14 суток. Токсическое действие оценивали по выживаемости и поведенческим реакциям животных.

При определении параметров хронической токсичности токсических веществ за опытными животными вели наблюдение в течение 30 суток. Токсическое действие веществ оценивали по клинико-гематологическим показателям животных и по результатам определения содержания токсических элементов в органах контрольных и опытных животных (кумулятивные свойства токсикантов).

Изменение гематологических показателей: содержание гемоглобина, общее количество эритроцитов и лейкоцитов, скорость оседания эритроцитов и лейкоцитарную формулу определяли общепринятыми методами [6].

Определение содержания общего белка в сыворотке крови проводили на рефрактометре, а белковых фракций – методом Олла и Маккарда в модификации Карпюка С.А.

Активность аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови определяли энзиматическим кинетическим методом, щелочной фосфатазы – оптимизированным кинетическим методом с аминометилпропаноловым буфером. Содержание глюкозы в сыворотке крови определяли энзиматическим колориметрическим методом без депротеинизации.

Определение содержания железа, меди, цинка в органах животных проводили на пламенном атомно-абсорбционном спектрофотометре ААС-3.

При токсикологическом изучении проводили исследования эмбриотоксичности, тератогенности веществ, а также их влияния на развитие потомства крыс в постнатальный период, на скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания и эмоционально-двигательное поведение.

Эмбриотоксическое и тератогенное действие оценивали в соответствии с «Методическими указаниями по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию» (1986).

Для обнаружения тератогенного эффекта животных опытной группы умерщвляли в конце беременности. Плоды взвешивали, измеряли длину. Затем плоды разбивались на 2 группы: одну в течение недели фиксировали в жидкости Буэна и использовали для послойной оценки макроструктуры внутренних органов по методу Вильсона, а вторую – использовали для изучения развития скелета методом Доусона. Для этого плоды фиксировали в 96 %-ом спирте в течение 7 суток, затем для просветления тканей эмбрионов погружали их в 1% раствор гидроокиси калия с последующим помещением их на 3 сут. в раствор ализарина для окрашивания скелета в красно-фиолетовый цвет.

О постнатальном развитии потомства крысят судили по динамике массы тела и принятым показателям физиологического развития: времени отлипания ушной раковины, открытия глаз, появления первичного волосяного покрова, а также по некоторым поведенческим реакциям крысят (по тестам «Открытое поле», «Открытое поле-2»).

У павших и умерщвленных животных отбирали органы и ткани для проведения гистологических исследований. Материал фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина. Далее проводили обезвоживание и уплотнение отобранного материала погружением в серию спиртов возрастающей крепости, затем заливали в парафин и приготовили блоки для изготовления гистологических срезов толщиной 5-7 мкм. Окрашивали гематоксилином и эозином. Исследования проводились совместно с к.м.н. Губеевой Е.Г., за что выражаем ей искреннюю благодарность.

Обработку экспериментально полученного цифрового материала производили методом вариационной статистики с применением программы Microsoft Excel.

### **3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1 Мониторинг качества воды в водных объектах республики Татарстан**

Был проведен анализ проб воды из крупных рек Республики Татарстан (как в черте города Казани, так и в района республики), а также из озера Средний Кабан, по сезонам: зимой, весной, летом и осенью. Пробы воды отбирались в следующих пунктах:

- Р. Казанка – Советский район г. Казани,
- Р. Казанка – Кировский район г. Казани,
- Р. Казанка – г. Арск Арского района Республики Татарстан,
- Озеро Средний Кабан,
- Р. Мёша – с. Нармонка Лаишевского района Республики Татарстан,
- Р. Кама – г. Чистополь,
- Р. Кама – с. Сорочьи Горы Рыбно-Слободского района Республики Татарстан,
- Р. Волга – с. Шеланга Верхнеуслонского района Республики Татарстан.

Во все сезоны года широко распространенными загрязнителями водных объектов Республики Татарстан являются тяжелые металлы (железо, медь, цинк) и азотсодержащие соединения (ионы аммония, нитриты). Содержание железа, меди и цинка в водных объектах превышало нормативы не зависимо от времени года. Концентрация никеля увеличивалась зимой, весной и летом. Превышение нормативов по содержанию кобальта, марганца, ионов аммония происходило спорадически.

## 3.2 Определение стабильности веществ в водной среде

Стабильность веществ исследовали по трем концентрациям, растворив необходимые количества веществ в природной отстоянной воде. Отбор проб и их анализ проводили после приготовления раствора (исходная концентрация), затем на 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 и 30 сутки от начала эксперимента. На основании полученных данных по содержанию исследуемых веществ в соответствующей емкости провели расчет стабильности методом регрессии.

Оценка стабильности веществ в водной среде показала, что ионы аммония обладали умеренной, железа — средней, меди и цинка — высокой стабильностью.

## 3.3 Исследования на гидробионтах

### 3.3.1.1 Определение острой токсичности загрязняющих веществ на прудовиках

Для острого опыта использовали одноразмерных прудовиков, которых по 4 особи помещали в емкости 1,5-2,5 дм<sup>3</sup> с раствором исследуемого вещества. Острый опыт проводился при нескольких концентрациях в трех повторностях каждая. Продолжительность исследования составляла 96 часов. Моллюсков в опыте не кормили. Учитывали влияние исследуемого вещества на выживаемость и поведение моллюсков.

В качестве токсических элементов использовали ионы аммония, железа, цинка, меди, а также их сочетания.

Во всех опытных группах с высоким содержанием загрязняющих веществ прудовики были сильно угнетены, становились неподвижными, лежали на дне емкости, наблюдалась отечность головы.

По результатам исследований установили следующие значения острой токсичности для прудовиков:

- ионы аммония: ЛК<sub>16</sub>= 80,88 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 150,95±24,77 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 221,02 мг/дм<sup>3</sup>;

- ионы железа: ЛК<sub>16</sub>= 110,96 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 150,00±13,8 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 189,04 мг/дм<sup>3</sup>;

- ионы меди: ЛК<sub>16</sub>= 0,08 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 0,28±0,09 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 0,47 мг/дм<sup>3</sup>;

- ионы цинка: ЛК<sub>16</sub>= 3,24 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 6,04±1,14 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 8,84 мг/дм<sup>3</sup>.

Наибольшие безвредные концентрации, определенные по результатам острых опытов, использовали для острых опытов в сочетанных растворах. Установлено, что этот сочетанный раствор вызывал гибель всех особей в течение 24 часов. Путем испытания различных комбинаций загрязняющих веществ, определили следующие их концентрации, не вызывающие гибели

прудовиков: 0,05 мг/дм<sup>3</sup> меди, 1,0 мг/дм<sup>3</sup> цинка, 25 мг/дм<sup>3</sup> ионов аммония, 50,0 мг/дм<sup>3</sup> железа.

### **3.3.1.2 Определение хронической токсичности загрязняющих веществ на прудовиках**

Для хронического опыта использовали одноразмерных прудовиков, которых по 4 особи помещали в емкости 1,5-2,5 дм<sup>3</sup> с раствором загрязняющего вещества. Хронический опыт проводился при наибольшей недействующей концентрации, определенной в остром опыте, в двух повторностях. Продолжительность исследования составляла 30 суток. Моллюсков в опыте кормили. Учитывали влияние исследуемого вещества на выживаемость и поведение моллюсков. Оценивали потребление кислорода прудовиками на 1, 10, 30 сутки исследования.

Хронические опыты проводили в следующих растворах:

- ионов аммония - 50 мг/дм<sup>3</sup>;
- ионов железа 100 мг/дм<sup>3</sup>;
- ионов меди - 0,1 мг/дм<sup>3</sup>;
- ионов цинка - 2,0 мг/дм<sup>3</sup>;
- сочетанный раствор с концентрацией ионов аммония 25,0 мг/дм<sup>3</sup>, железа — 50,0 мг/дм<sup>3</sup>, меди — 0,05 мг/дм<sup>3</sup>, цинка — 1,0 мг/дм<sup>3</sup>.

Установлено, что прудовики во всех опытных группах выделяли больше слизи, чем в контрольной. Выделение слизи является защитной функцией организма прудовиков. Слой слизи затрудняет контакт токсикантов с кожным покровом. Токсиканты уменьшали интенсивность потребления корма и кислорода, что свидетельствует о снижении энергетического обмена у прудовиков.

### **3.3.2.1 Определение острой токсичности загрязняющих веществ на рыбах**

Для острых опытов использовали мальков гуппи в возрасте 1-2 суток. Рыб по 6 особей помещали в емкости с раствором загрязняющего вещества. Острый опыт проводился при нескольких концентрациях в трех повторностях каждая. Продолжительность исследования составляла 96 часов. Животных в опыте не кормили. Учитывали влияние исследуемого вещества на выживаемость и поведение рыб.

Во всех опытных группах с высоким содержанием загрязняющих веществ рыбы были сильно угнетены, становились неподвижными, слабо реагировали на раздражители

По результатам исследований установили следующие значения острой токсичности для рыб:

- ионы аммония: ЛК<sub>16</sub>= 14,46 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 20,0±1,85 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 25,54 мг/дм<sup>3</sup>;
- ионы железа: ЛК<sub>16</sub>= 71,59 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 125,99±12,82 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 180,38 мг/дм<sup>3</sup>;

- ионы меди: ЛК<sub>16</sub>= 0,47 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 0,55±0,02 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 0,62 мг/дм<sup>3</sup>;

- ионы цинка: ЛК<sub>16</sub>= 8,42 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>50</sub>= 13,18±1,23 мг/дм<sup>3</sup>, ЛК<sub>84</sub>= 17,93 мг/дм<sup>3</sup>.

Наибольшие безвредные концентрации, определенные по результатам острых опытов использовали для острых опытов в сочетанных растворах. Установлено, что сочетанный раствор вызывал гибель всех особей в течение 72 часов. Путем испытания различных комбинаций загрязняющих веществ, определили следующие их концентрации, не вызывающие гибели рыб: 0,2 мг/дм<sup>3</sup> меди, 1,0 мг/дм<sup>3</sup> цинка, 40,0 мг/дм<sup>3</sup> железа, 5,0 мг/дм<sup>3</sup> ионов аммония.

### 3.3.2.2 Определение хронической токсичности загрязняющих веществ на рыбах

Хронические опыты на рыбах проводили в трех повторностях при концентрациях, равных  $\frac{1}{2}$  ЛК<sub>50</sub> и  $\frac{1}{4}$  ЛК<sub>50</sub>, определенных в острых опытах. В экспериментах использовали по 10 односуточных гуппи, которые в течение 90 суток находились в воде, содержащей токсические вещества. В качестве токсичных веществ использовали те же вещества, что и в острых опытах. Три ёмкости с отстоянной водопроводной водой служили контролем. Регистрировали поведение, выживаемость, а также изменение массы тела и сачковую пробу на 1, 10, 30, 60, 90 сутки от начала опытов.

Хронические опыты проводили в следующих растворах:

- ионов аммония - 5,0 мг/дм<sup>3</sup> и 10,0 мг/дм<sup>3</sup>;
- ионов железа - 25,0 и 50,0 мг/дм<sup>3</sup>;
- ионов меди - 0,14 и 0,28 мг/дм<sup>3</sup>;
- ионов цинка — 3,3 и 6,5 мг/дм<sup>3</sup>;
- сочетанный раствор №1: меди - 0,2 мг/дм<sup>3</sup>, цинка - 1,0 мг/дм<sup>3</sup>, железа - 40,0 мг/дм<sup>3</sup>, ионов аммония - 5,0 мг/дм<sup>3</sup>; раствор №2: меди - 0,1 мг/дм<sup>3</sup>, цинка - 0,5 мг/дм<sup>3</sup>, железа - 20,0 мг/дм<sup>3</sup>, ионов аммония - 2,5 мг/дм<sup>3</sup>.

В хроническом опыте в группе аммония рыбы активно плавали по всей толще воды, потребляли корм, значение сачковой пробы снижалось к 10 суткам, затем возрастало. Активность рыб группы железа снижалась к концу опыта, плавали по всей толще воды, потребляли корм, на теле рыб появлялся бурый налет. В группе меди активность рыб к концу опыта снижалась, они чаще плавали у уреза воды, некоторое время оставались неподвижными, при прикосновении сачком отплывали. Активность рыб группы цинка также снижалась к концу опыта, плавали вертикально вниз головой, при прикосновении к телу сачком приходили в нормальное положение. В сочетанной группе рыбы были вялые, корм потребляли не активно, заглатывали либо в толще воды, либо на дне, принимали боковое или вертикальное положение, реагировали на раздражение, сачковая проба в течение опыта уменьшалась.

### **3.3.3 Оценка влияния загрязняющих веществ на плодовитость гидробионтов**

Для оценки влияния загрязняющих веществ на процессы размножения прудовиков, в емкости с раствором загрязняющего вещества поместили по 3 взрослых особи. Прудовиков содержали в растворах с той же концентрацией загрязняющих веществ, что и в хронических опытах. Опыты проводили в трех повторностях. Ежедневно учитывали появление кладок, их число и количество яиц в каждой кладке.

Установлено, что количество кладок, приходящееся на одного прудовика, во всех группах, кроме меди, было больше, чем в контрольной группе. Потенциальная плодовитость также во всех группах достоверно была больше контрольной. Реальная же плодовитость была наибольшей в контрольной группе.

Для изучения влияния загрязняющих веществ на плодовитость рыб группы использовали особей, полученных от производителей, и выращивали в лабораторных условиях. После появления первых половых признаков, самцов отсадили от самок и продолжали выращивать в отдельных аквариумах в течение 6 месяцев. По истечении 6 месяцев, к каждой самке подсаживали по два самца на 4 суток для спаривания. Затем по 6 самок вплоть до вымета помещали в раствор загрязняющего вещества в той же концентрации, что и в хроническом опыте. Опыт проводили в трех повторностях. Учитывали выживаемость самок, количество молоди как жизнеспособной, так и мертворожденной. Жизнеспособную молодь проверяли по показателю ЛК<sub>50</sub> для эталонного вещества (бихромата калия).

Из полученных результатов следует, что в большинстве групп количество мальков, приходящихся на одну самку, было меньше, чем в контрольной, в некоторых группах мальки не рождались вовсе. Помимо уменьшения количества мальков на одну самку, загрязняющие вещества снижали выживаемость в эталонном веществе. 50% мальков контрольной группы выживали при концентрации бихромата калия 60 мг/дм<sup>3</sup>, а в опытных группах — при 45 мг/дм<sup>3</sup>, что свидетельствует о том, что мальки контрольной группы были более устойчивы к воздействию эталонного веществ.

### **3.3.4 Определение кумулятивных свойств загрязняющих веществ на гидробионтах**

Оценку накопления веществ в гидробионтах проводили при тех же концентрациях, что и в хроническом опыте. Гидробионтов контрольной группы содержали в отстоянной водопроводной воде. Длительность исследования составляла 30 суток. На 10 и 30 сутки исследований гидробионтов умерщвляли и проводили определение содержания загрязняющих веществ.

Установлено, что в течение опыта количество аккумулируемого вещества как в теле, раковине, так и в цельном моллюске, возрастало. Так, к

30 суткам содержание ионов аммония в цельном моллюске увеличилось в 1,3 раза, железа в 4,5 раза, меди в 6,9 раз, цинка в 6,6 раз по сравнению с фоном. Количество исследуемых веществ в рыбах также возрастало и к концу опыта составляло: ионов аммония 5,82 мг/кг, железа — 10,35 мг/кг, меди — 2,07 мг/кг, цинка — 1,57 мг/кг.

### 3.4 Исследования на лабораторных животных

#### 3.4.1 Определение острой токсичности загрязняющих веществ

В экспериментах были использованы белые крысы. На протяжении всего периода исследования опытные и контрольные группы животных находились в одинаковых условиях. Кормление животных осуществлялось в соответствии с зоотехническими требованиями.

Для экспериментального исследования использовали растворы ионов аммония, железа, меди, цинка, а также их сочетания. Растворы вводили крысам внутривенно. Токсическое действие оценивали по выживаемости и поведенческим реакциям животных.

Ионы аммония в дозе 750 мг/кг вызывали у белых крыс проявление клинических признаков — беспокойство, отказ от корма, малоподвижность. Все животные погибали при поступлении в дозе 1000 мг/кг. У крыс, получивших ионы железа 300 мг/кг, не наблюдали клинических признаков. Поступление ионов железа в дозах 400-500 мг/кг сопровождалось редким дыханием, склонением головы на бок, отказом от корма, смертью. Не отмечали клинических признаков при поступлении ионов цинка в дозе 150 мг/кг. Крысы, получившие дозу 250 мг/кг, были угнетены, а доза 300 мг/кг являлась смертельной. Ионы меди в дозе 325 мг/кг вызывали у крыс беспокойство, учащенное дыхание. Крысы, получившие дозу 375 мг/кг склоняли голову на бок, не потребляли корм. Гибель всех особей наступала при дозе 400 мг/кг.

При введении крысам раствора ионов аммония в дозе 350 мг/кг клинических признаков не наблюдали. Крысы, получившие дозу 550 мг/кг, проявляли беспокойство, искали угол, отказом от корма и гибелью животных на 6 сутки. Клинические признаки проявлялись у крыс при введении им дозы 750 мг/кг и характеризовались беспокойством, отказом от корма. Затем крысы успокаивались, становились малоподвижными, большую часть времени лежали. Увеличение дозы до 1000 мг/кг приводило к тому, что первые животные погибали на 22 минуте после введения раствора.

По результатам исследований установили следующие значения острой токсичности для крыс:

- ионы аммония:  $LD_{16} = 401,89$  мг/кг,  $LD_{50} = 625,00 \pm 94,78$  мг/кг,  $LD_{84} = 866,21$  мг/кг;

- ионы железа:  $LD_{16} = 338,67$  мг/кг,  $LD_{50} = 408,33 \pm 22,67$  мг/кг,  $LD_{84} = 474,67$  мг/кг;

- ионы меди:  $LD_{16} = 318,13$  мг/кг,  $LD_{50} = 350,0 \pm 10,63$  мг/кг,  $LD_{84} = 381,88$  мг/кг;

- ионы цинка:  $LD_{16} = 161,50$  мг/кг,  $LD_{50} = 208,33 \pm 20,82$  мг/кг,  $LD_{84} = 263,50$  мг/кг.

Наибольшие безвредные дозы, определенные по результатам острых опытов, использовали для острых опытов с сочетанным раствором.

Раствор с сочетанным содержанием исследуемых веществ в наибольшей безвредной дозе вызывал гибель всех особей. Путем испытания различных комбинаций загрязняющих веществ, определили следующие дозы, не вызывающие гибели крыс: 250 мг/кг ионов аммония, 75 мг/кг железа, 50 мг/кг цинка и 100 мг/кг меди.

### **3.4.2 Определение хронической токсичности загрязняющих веществ на лабораторных животных**

При определении параметров хронической токсичности токсических веществ за опытными животными вели наблюдение в течение 30 дней.

Для опытов использовали белых крыс и сформировали 5 опытных и контрольную группы. Животных поили водой с добавлением загрязняющих веществ. Токсическое действие веществ оценивали по поведению, выживаемости особей, клинико-гематологическим показателям животных и по результатам определения содержания токсических элементов в органах опытных и контрольных животных.

В хронических опытах крыс поили следующими растворами:

- ионов аммония —  $190,0$  мг/дм<sup>3</sup>;

- ионов железа —  $80,0$  мг/дм<sup>3</sup>;

- ионов меди —  $64,0$  мг/дм<sup>3</sup>;

- ионов цинка —  $40,0$  мг/дм<sup>3</sup>;

- сочетанный раствор:  $150$  мг/дм<sup>3</sup> аммония,  $40$  мг/дм<sup>3</sup> железа,  $25$  мг/дм<sup>3</sup> цинка,  $60$  мг/дм<sup>3</sup> меди.

Крыс контрольной группы поили водопроводной водой.

В хронических исследованиях на белых крысах установлено, что загрязняющие вещества вызывали угнетение общего состояния, что выражалось в потере аппетита, малоподвижности, беспокойстве, учащенном или прерывистом дыхании.

До начала опытов, а затем на 10-ые и 30-ые сутки экспериментов производили отбор проб для исследований крови, гистологических исследований внутренних органов и определения содержания в них токсикантов.

### **3.4.3 Определение влияния загрязняющих веществ на биохимические показатели крови животных**

Оценка влияния загрязняющих веществ на гематологические показатели является одним из стандартных методов определения его безвредности для организма. Длительность исследований составляла 30

суток. Исследование крови проводили до начала опытов (фон) и на 10, 30 сутки.

Исследования показывают, что отравление аммонием, железом, цинком, медью и их сочетанием оказывало воздействие на многие гематологические и биохимические показатели. К концу опыта ионы аммония вызывали увеличение СОЭ, содержания лейкоцитов, лимфоцитов, общего белка, понижение активности АЛТ и АСТ. Ионы железа вызывали увеличение СОЭ, количества лейкоцитов, лимфоцитов, глюкозы, кальция, железа и железа сывороточного, общего белка, активности АСТ, снижение ОЖСС и активности АЛТ. Воздействие ионов меди сопровождалось увеличением СОЭ, содержания лейкоцитов, общего белка, меди, снижением активности АЛТ. Ионы цинка вызывали увеличение СОЭ, содержания кальция, цинка, общего белка, альбуминов,  $\alpha$ -глобулинов, снижение активности АЛТ и АСТ. Сочетанное воздействие загрязняющих веществ вызывало увеличение СОЭ, содержания лимфоцитов, железа, меди, цинка, кальция, общего белка, активности щелочной фосфатазы, снижение активности АЛТ и АСТ.

#### **3.4.4 Определение кумулятивных свойств загрязняющих веществ на лабораторных животных**

В экспериментах по оценке кумулятивных свойств загрязняющих веществ использовали по 6 белых крысы в каждой группе. Длительность исследований составляла 30 суток. На 10-ые и 30-ые сутки опыта животных умерщвляли и производили определение содержания токсических веществ в органах крыс.

По полученным результатам установлено, что в течение опыта содержание изучаемых веществ в органах крыс увеличивалось по сравнению с фоновым содержанием. Наибольшее количество аммония обнаружено в печени и легких — 10,73 и 10,71 мг/кг, соответственно. Максимальное содержание железа, равное 225,117 мг/кг, выявлено в печени крыс, немного меньше в селезенке. Наибольшее количество цинка аккумулировалось в печени и легких и превышало фоновое в 2,5 и 1,9 раз, соответственно. Медь также преимущественно накапливалась в печени и составляла 15,794 мг/кг. Такое распределение загрязняющих веществ в организме крыс зависит от вовлеченности органов в обмен веществ.

#### **3.4.5 Оценка эмбриотоксических и тератогенных свойств загрязняющих веществ**

Для определения эмбриотоксического действия загрязняющих веществ использовали 36 беременных самок белых крыс. Были подобраны 5 групп оплодотворенных самок по 6 голов в каждой. Для данных опытов производили перерасчет концентраций загрязняющих веществ, чтобы получаемая крысами доза соответствовала дозе в хроническом опыте. Крыс первой группы в течение всей беременности поили водой, содержащей ионы

аммония в концентрации 270 мг/дм<sup>3</sup>, второй группы — железа 100 мг/дм<sup>3</sup>, третьей — цинка 60 мг/дм<sup>3</sup>, четвертой — меди 90 мг/дм<sup>3</sup>, пятой — сочетанным содержанием загрязняющих веществ в концентрации аммония 200 мг/дм<sup>3</sup>, железа 60 мг/дм<sup>3</sup>, цинка 40 мг/дм<sup>3</sup>, меди 90 мг/дм<sup>3</sup>. Крыс контрольной группы в течение всего срока беременности поили водопроводной водой без добавления загрязняющих веществ.

В течение всего эксперимента вели наблюдение за состоянием и поведением беременных самок, периодически проводили контрольное взвешивание, а также вели учет количества выпитой ими воды.

Результаты исследований по выявлению эмбриотоксического и тератогенного эффектов показали следующие изменения по сравнению с интактными животными. Количество желтых тел в яичниках уменьшилось почти во всех группах: в группе аммония на 4,46%, в группе железа на 22,19%, в группе цинка на 12,95%, в сочетанной группе на 0,96%, только в группе меди отмечалось незначительное увеличение (на 0,85 %). Количество мест имплантации во всех группах было меньше, чем в контрольной группе. Наблюдалось увеличение значений предимплантационной смертности по сравнению с контролем во всех группах, кроме железа. Постимплантационная и общая эмбриональная смертности во всех группах, кроме сочетанной, были больше, чем в контрольной группе.

При изучении тератогенного эффекта, вызываемого исследуемыми веществами, выявили постнатальную смертность в группе меди.

В результате проведенного исследования эмбрионов было установлено, что топография костных и хрящевых закладок в скелете не нарушены. Количество позвонков шейных, спинных, поясничных отделов в контрольной и опытных группах соответствует норме. У плодов всех групп нарушений в оссификации костей черепа, плечевого, тазового пояса и конечностей, а также количественных отклонений в строении скелета не выявлено.

Пороки развития и функциональная неполноценность различных органов и систем часто выявляются после рождения, поэтому вели наблюдения за постнатальным развитием потомства у животных. Проводили наблюдения за физическим развитием потомства и скоростью созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания.

### **3.4.6 Гистологические исследования органов**

Для проведения опытов использовали 30 белых крыс, которые были разделены на 5 опытных и контрольную группы по 5 животных в каждой. Животных контрольной группы поили водопроводной водой. Крыс опытных групп поили водой с содержанием загрязняющих веществ. Длительность исследования составляла 30 суток.

При исследовании гистологических препаратов крыс контрольной группы никаких изменений не отмечалось. Патологоанатомические изменения при хроническом отравлении исследуемыми веществами у лабораторных животных характеризуются следующими отклонениями. Ионы

аммония вызывали изменения в почках в виде признаков гематурии, глубокой десквамации эпителия, ионы цинка - в виде деформации клубочков по типу гипертрофии.

Ионы железа оказывали влияние на печень, вызывая очаговые некробиозы гепатоцитов, ионы меди - дистрофию с некрозами.

Сочетанное же действие ионов аммония, железа, цинка и меди вызывало дистрофию почек с гипертрофией клубочков, дистрофия печени с очаговыми некрозами.

#### 4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Во все сезоны года широко распространенными загрязнителями водных объектов Республики Татарстан являются тяжелые металлы (железо, медь, цинк) и азотсодержащие соединения (ионы аммония, нитриты). Содержание железа, меди и цинка в водных объектах превышало нормативы не зависимо от времени года. Концентрация никеля увеличивалась зимой, весной и летом. Превышение нормативов по содержанию кобальта, марганца, ионов аммония происходило спорадически. При этом ионы аммония обладали средней, железа — умеренной, меди и цинка — высокой стабильностью.

2. В водной среде рек и озер Республики Татарстан среднесмертельная концентрация ионов аммония, железа, меди и цинка для прудовиков составляет  $150,95 \pm 24,77$ ;  $150,00 \pm 13,80$ ;  $0,278 \pm 0,09$  и  $6,04 \pm 1,14$  мг/дм<sup>3</sup> соответственно, а для рыб соответственно  $20,00 \pm 1,85$ ;  $125,99 \pm 12,82$ ;  $0,55 \pm 0,02$  и  $13,18 \pm 1,23$  мг/дм<sup>3</sup>.

Все белые крысы погибали при поступлении с питьевой водой ионов аммония в дозе 1000 мг/кг; железа – 500 мг/кг; цинка – 300 мг/кг, а меди – 400 мг/кг.

Среднесмертельная доза ионов аммония для белых крыс составляет  $625,00 \pm 94,78$ ; железа –  $408,33 \pm 22,67$ ; меди –  $350,00 \pm 10,63$ ; цинка –  $208,33 \pm 20,82$  мг/кг.

3. Тестируемые загрязнители снижали реальную плодовитость прудовиков, вызывая гибель яиц в кладках и оказывали негативное влияние на плодовитость рыб, уменьшая количество мальков на одну самку, снижали жизнеспособность мальков. При поступлении загрязнителей в организм белых крыс количество желтых тел в яичниках уменьшилось на 4,46% при введении ионов аммония, железа – на 22,19%, цинка – на 12,95%, а у животных, которые получали ионы меди, количество желтых тел увеличилось на 0,85 % по сравнению с контрольной группой. В группе животных, которых поили водой с сочетанным содержанием загрязнителей количество желтых тел уменьшилось только на 0,96%. Наблюдалось увеличение значений предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности.

4. Все исследованные загрязнители обладали кумулятивным свойствами, накапливались в теле рыб и прудовиков. У белых крыс

наибольшее количество аммония обнаружено в печени и легких, железа – в печени и селезенке, цинка – в печени, легких. Медь преимущественно накапливалась в печени.

5. Хроническое поступление исследуемых веществ способствовало увеличению СОЭ, количества лейкоцитов, лимфоцитов, кальция, общего белка, активности щелочной фосфатазы, содержания цинка, меди, железа, изменению активности АЛТ, АСТ.

6. Ионы аммония в дозе 305,1 мг/кг, полученной в хроническом опыте при поении содержащей ионы аммония водой, вызывали гематурию, некробиозы в почках, печени. Ионы железа в дозе 172,0 мг/кг оказывали влияние на печень, вызывая очаговые некробиозы гепатоцитов, приводили к отложениям бурого пигмента в почках. Ионы цинка в дозе 121,4 мг/кг вызывали деформацию клубочков в почках, некробиозы эпителия извитых канальцев в печени. Ионы меди в дозе 150 мг/кг приводили к гипертрофии и дистрофии клубочков в почках, вызывали дистрофию печени с некрозами. Употребление крысами воды с сочетанным содержанием загрязняющих веществ вызывало дистрофию почек с гипертрофией клубочков, дистрофия печени с очаговыми некрозами.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

Результаты, полученные в ходе исследований, необходимы при диагностике отравлений животных ионами аммония, железа, меди, цинка и их сочетаниями.

Полученные результаты рекомендуется использовать научными сотрудниками, аспирантами и студентами ВУЗов, специалистами в области токсикологии, биологии, экологии, ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы.

## **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Вернадский, В.И. Химический состав животного вещества в связи с химией земной коры / В.И. Вернадский. – Петроград, 1922. — С. 48-71.
2. Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2014 году / Министерство природных ресурсов Российской Федерации. – М.: АНО Центр международных проектов, 2015. – 502 с.
3. Государственный доклад о состоянии природных ресурсов и об охране окружающей среды республики Татарстан в 2014 году / Министерство экологии и природных ресурсов Республики Татарстан. – Казань, 2015. – 531 с.
4. Давыдова, О.А. Влияние физико-химических факторов на содержание тяжелых металлов в водных экосистемах / О.А. Давыдова, Е.С.

Климов, Е.С. Ваганова, А.С. Ваганов. – Ульяновск: УлГТУ, 2014. — 167 с.

5. Канбетов, А.Ш. Оценка влияния загрязнения на моллюсков реки Урал: автореф. дис... канд. биол. наук / А.Ш. Канбетов. – Махачкала, 2004. – 22 с.

6. Кудрявцев, А.А. Клиническая гематология животных / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева. – М.: Колос, 1974. – 399 с.

7. Метелев, В.В., Водная токсикология / В.В. Метелев, А. Н. Канаев, Н. Г. Дзасохова. – М., 1971. – 247 с.

8. Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения: приказ Росрыболовства от 04 августа 2009 № 695

9. Jaji M.O., Bamgbose O., Odukoya O.O., Arowolo T.A. Water quality assessment of Ogun river, South West Nigeria // Environ. Monit. Assess. -2007. Vol. 133, N 1-3. - P. 473 - 482.

10. Unamuno V.I., Meers E., Tack F.M. The solid-solution partitioning of heavy metals (Cd and Zn) in soil and dredged sediments for environmental management purposes // Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 2006. - Vol. 71, N1.-P. 245-247.

11. Бабич, П.Н. Применение пробит-анализа в токсикологии и фармакологии с использованием программы Microsoft Excel для оценки фармакологической активности при альтернативной форме учета реакций / П.Н. Бабич, А.В. Чубенко, С.Н. Лапач // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – №4. – С. 81-89

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ Издания, входящие в перечень ВАК:**

1. Макаева, В.И. О причине гибели рыб в водных объектах республики Татарстан / В.И. Макаева, Г.Ф. Ахметзянова, **А.Р. Макаева** // Ветеринарный врач. – 2012. – N 6. – С. 34-36.

2. Тремасов, М.Я. Сезонный мониторинг водных объектов Республики Татарстан / М.Я. Тремасов, Р.М. Асланов, Э.К. Папуниди, **А.Р. Макаева**, В.А.Конюхова, В.И.Макаева // Ветеринарный врач. – 2014. – N 3. – С.3-8.

3. **Макаева, А.Р.** Результаты исследования качества воды в р. Казанке и оз. Средний Кабан по сезонам / А.Р. Макаева, Э.К. Папуниди, М.Я. Тремасов, Р.М. Асланов, В.А. Конюхова, В.И. Макаева // Учен. Зап. КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2014. – Т. 220 (4). – С. 159-162.

4. **Макаева, А.Р.** Оценка токсичности меди для гидробионтов / А.Р. Макаева // Ветеринарный врач. – 2015. – N 6. – С. 32-36.

### **Прочие издания:**

**5.** Макаева, В.И. Оценка влияния качества природной воды на организм рыб / В.И. Макаева, Г.Ф. Ахметзянова, **А.Р. Макаева** // Сборник материалов международной конференции, посвящ. 50-летию ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» «Биотехнология: токсикологическая, радиационная и биологическая безопасность». – Казань. – 2010. – С. 95-97.

**6. Макаева, А.Р.** Экологические биотехнологии, как способ снижения нагрузки на окружающую среду / А.Р. Макаева // Материалы международной науч.-практ. конференции молодых ученых и специалистов «Биотехнологии в решении экологических проблем природы, общества и человека в Евразии: взгляд молодых ученых и специалистов». – Казань. – 2013. – С. 99-102.

**7. Макаева, А.Р.** Экологические и рыбохозяйственные последствия загрязнения водных объектов / А.Р. Макаева, Р.М. Асланов, В.И. Макаева, Г.Ф. Ахметзянова // Материалы Всероссийской науч.-практ. конференции молодых ученых и специалистов «Инновационные решения актуальных проблем в АПК». – Екатеринбург. – 2013. – С. 309-312.