

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

С. Ю. Кузьмин

ФИЗИОЛОГИЯ РЫБ

Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных работ для
студентов, обучающихся в бакалавриате по направлению подготовки
35.03.08 Водные биоресурсы и аквакультура

Калининград

Рецензент

кандидат биологический наук, директор института рыболовства и аквакультуры
О.А. Новожилов

Кузьмин, С. Ю. Физиология рыб: учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных работ для студентов, обучающихся в бакалавриате по напр. подгот. 35.03.08 Водные биоресурсы и аквакультура / **С. Ю. Кузьмин.** – Калининград: Изд-во ФГБОУ ВО «КГТУ», 2023. – 77 с.

В учебно-методическом пособии по выполнению лабораторных работ дисциплины «Физиология рыб» представлены учебно-методические рекомендации по выполнению лабораторных работ, которые охватывают основные положения дисциплины и полностью соответствуют рабочей программе.

Табл. 28, список лит. – 6 наименований

Локальный электронный методический материал. Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных работ. Рекомендовано к использованию в учебном процессе методической комиссией института рыболовства и аквакультуры ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» 10 апреля 2023 г., протокол № 12

УДК 574.5(075)

©Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Калининградский государственный
технический университет», 2023 г.
© Кузьмин С. Ю., 2023 г.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ЗАНЯТИЯМ.....	5
ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ЗАНЯТИЙ.....	6
Лабораторная работа № 1.....	8
Лабораторная работа № 2.....	15
Лабораторная работа № 3.....	25
Лабораторная работа № 4.....	30
Лабораторная работа № 5.....	32
Лабораторная работа № 6.....	37
Лабораторная работа № 7.....	39
Лабораторная работа № 8.....	44
Лабораторная работа № 9.....	48
Лабораторная работа № 10.....	49
Лабораторная работа № 11.....	53
Лабораторная работа № 12.....	58
Лабораторная работа № 13.....	64
Лабораторная работа № 14.....	70
Лабораторная работа № 15.....	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	75
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	76

ВВЕДЕНИЕ

Учебно-методическое пособие разработано для направления подготовки 35.03.08 Водные биоресурсы и аквакультура (для очной и заочной форм обучения) по дисциплине «Физиология рыб», входящей в базовую часть образовательной программы бакалавриата.

Целью освоения дисциплины «Физиология рыб» является формирование знаний об основных законах физиологии рыб, функционировании различных клеток, тканей, органов и организма рыб в целом.

Дисциплина «Физиология рыб» важна в связи с необходимостью изучения будущими специалистами вопросов пищеварения, обмена веществ, полового созревания, стимуляции роста, особенностей работы органов и систем, обеспечивающих развитие иммунитета рыб и др. Все это имеет большое значение для искусственного воспроизводства рыб, стимулирования образования половых продуктов, товарного выращивания, рационального кормления, составления полноценных рационов, для борьбы с болезнями и токсикозами рыб.

В результате изучения дисциплины студент должен:

знать: основы физиологии рыб: специфику деятельности организма рыбы, его органов и систем (работу органов дыхания, пищеварения, кровообращения, органов осморегуляции, иммунитета); знать об обмене веществ, балансе энергии в организме рыб, действии нервных и гормональных механизмов управления жизнедеятельностью;

уметь: оценивать физиологическое состояние рыб, проводить наблюдения, измерения периодических процессов, определять количественные показатели физиологических процессов, проводить хирургический и поведенческий эксперимент на рыбах, препарировать, инъецировать, обрабатывать и анализировать экспериментальные данные, создавать рыбам оптимальные условия существования;

владеть: методами контроля и оценки физиологических параметров рыб в экспериментах.

При изучении дисциплины используются компетенции, базовые знания, умения и навыки, полученные в процессе освоения следующих дисциплин образовательной программы бакалавриата: «Экология», «Ихтиология», «Биохимия», «Гистология и эмбриология», «Микробиология» и др.

Для изучения дисциплины «Физиология рыб» студент должен знать строение рыб, их органов и тканей, жизнедеятельность рыб, их жизненный цикл (этапы развития), основы органической и биологической химии, Студент должен уметь: пользоваться лабораторным оборудованием, проводить наблюдения с использованием специальных приборов, ставить эксперимент, собирать, обрабатывать и анализировать количественные показатели. Студент должен

владеть навыками работы с лабораторным оборудованием, ведения документации о наблюдениях и экспериментах.

Дисциплина «Физиология рыб» является базой для изучения студентами дисциплин профессионального учебного цикла: биологические основы рыбоводства, искусственное воспроизводство рыб, товарное выращивание рыб, генетика и селекция рыб, промысловая ихтиология, ихтиопатология, формирует компетенции, используемые студентами при подготовке выпускной квалификационной работы бакалавра и в дальнейшей профессиональной деятельности.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ЗАНЯТИЯМ

Для успешного освоения дисциплины прежде всего необходимо уяснить предмет науки физиология. *Физиология* - наука о функциях. Предметом этой науки является изучение работы органов дыхания, пищеварения, кровообращения, осморегуляции, химического чувства. Существование физиологии рыб как отдельной науки обусловлено большим хозяйственным значением рыб, своеобразием условий обитания рыб и наличием специфических органов и функций у рыб.

Для лучшего усвоения теоретических положений курса «Физиология рыб» необходимо выполнение лабораторных работ. Основными методическими приёмами в физиологии рыб являются измерение и эксперимент. Измеряется частота периодических процессов - дыхательных актов, сердцебиения, плавательных движений и т.д. Эксперимент предполагает создание для животного, отдельного органа или тканей различных условий и определение влияния этих условий на результирующий показатель. В ходе лабораторных занятий студенты ставят эксперименты на рыбе, лягушках, а часть - на человеке. Использование указанных объектов для лабораторных опытов в курсе «Физиология рыб» объясняется тем, что многие закономерности работы органов являются общими для позвоночных животных, а опыты на самих себе всегда вызывают большой интерес у студентов, способствуют лучшему запоминанию материала.

Методические указания к каждой лабораторной работе включают название темы, цель работы, задание, краткое теоретическое обоснование работы, ход работы, контрольные вопросы.

При проведении лабораторных работ студенты должны соблюдать правила техники безопасности. Следует внимательно читать этикетку на флаконе. Недопустимо пробовать на вкус химические реактивы. Следует наполнять пипетки растворами кислот, щелочей только при помощи груши. Необходимо проявлять осторожность при работе с острыми, режущими и колющими предметами. С электрическими приборами нужно работать точно по инструкции. После

окончания работы выключить лампы, приборы. Студент записывает в свою рабочую тетрадь название темы, цель работы, результаты наблюдения и подсчётов (желательно в табличной форме), вывод. Вывод формулируется соответственно поставленной цели на основании полученных в опыте данных

Конечно же, как и при освоении других дисциплин образовательной программы, необходимо своевременно выполнять предусмотренные в семестре учебные задания. По дисциплине «Физиология рыб» к ним относятся задания по лабораторным работам и подготовка к опросу или тестированию по теме занятия (теоретические данные излагаются на предыдущей лекции). Систематическое освоение необходимого учебного материала позволяет быть готовым для тестирования и выполнения лабораторных работ.

Осваивая курс «Физиология рыб», студент должен научиться работать на лабораторных занятиях и организовывать самостоятельную работу. При подготовке к лабораторным занятиям студентам необходимо не только воспользоваться литературой, рекомендованной преподавателем, но и проявить самостоятельность в отыскании новых источников, интересных фактов, статистических данных, связанных с темой лабораторного занятия.

По дисциплине предусматриваются лабораторные занятия в лаборатории кафедры. Наименование лабораторных работ и количество часов занятий в лаборатории определены в нижерасположенной таблице для очной и заочной форм обучения.

ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ЗАНЯТИЙ

Номер ЛЗ	Наименование лабораторной работы
1	Приготовление нервно-мышечного препарата. Ознакомление с работой электростимулятора лабораторного ЭСЛ-2
2	Определение порога реагирования мышцы. Действие различных раздражителей на мышечный препарат при прямом и непрямом раздражении. Электростимуляция сокращения мышц тела рыбы. Роль сгибания тела и движения плавников в плавании рыб. Определение скорости плавания рыбы в гидродинамической установке. Оценка скорости плавания рыбы на полигоне
3	Наблюдение одиночного и тетанического сокращения мышцы. Кривая утомления мышцы рыбы. Определение теплоустойчивости мышц
4	Нарушение и восстановление проводимости нерва
5	Регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) человека и рыб
6	Биотоки. Обнаружение токов покоя и действия в биологических тканях
7	Рефлексы спинного мозга. Анализ рефлекторной дуги. Определение времени рефлекса. Рефлексы положения тела.
8	Влияние химических сигналов на пищевое поведение рыб. Определение зон вкусового восприятия на языке человека

9	Ферменты поджелудочной железы и воздействие панкреатина на белок. Фермент желудочного сока и его воздействие на белок
10	Наблюдение за работой ресничного эпителия пищевода лягушки и движения изолированного кишечника лягушки. Определение двигательного пищевого рефлекса рыб
11	Изучение механизма жаберного дыхания рыб. Изучение влияния температуры воды на дыхательные движения рыб. Исследование влияния кислородного голодания на частоту дыхания рыбы
12	Определение группы крови. Определение гемолиза эритроцитов. Определение осмотической стойкости эритроцитов. Определение степени гемолиза.
13	Измерение кровяного давления. Наблюдение автоматизма работы сердца и действия солей, гормонов на работу сердца. Определение частоты сокращения сердца в зависимости от температуры
14	Действие гормонов адреналина и питуитрина на пигментацию кожи лягушки и рыбы. Влияние половых гормонов на половые признаки гуппи
15	Зависимость окраски рыбы от цвета фона

СПОСОБЫ ОБЕЗДВИЖИВАНИЯ ЖИВОТНЫХ

Лягушки

Применение наркотических средств

а) Лягушку сажают под стеклянный колпак, туда же кладут ватку, смоченную эфиром. Если лягушка перестаёт двигаться и не переворачивается из положения на спине, значит наступил наркоз. Во время работы наркоз поддерживают прикладыванием ватки с эфиром к ноздрям или брюшку лягушки.

б) Лягушку сажают в эксикатор, наполненный 10%-м раствором спирта, и закрывают крышку. Лягушка сначала энергично двигается, затем минут через 10 впадает в состояние наркоза.

Разрушение центральной нервной системы

а) Лягушку берут в левую руку, Правой рукой вставляют браншу ножниц в рот и отрезают голову позади глаз. Препаровальную иглу вводят в спинномозговой канал и разрушают спинной мозг.

б) Если необходимо избежать кровотечения, то спинной мозг разрушают, наклоня лягушке голову, и вводят препаровальную иглу в углубление, соответствующее атланта-окципитальной мембране у основания головы, и затем в спинномозговой канал.

При необходимости сохранения центральной нервной системы лягушку обездвигивают бинтованием.

РЫБЫ

Применение наркотических средств

а) Помещают рыбу в 10%-й раствор спирта. При засыпании она перестаёт двигаться.

б) Рыбу помещают в закрытый крышкой кристаллизатор, в котором находится 0,5%-я эмульсия эфира. Рыба сначала мечется, но через 1-2 минуты перестаёт двигаться, переворачивается на бок или спину, что указывает на наступление наркоза.

Разрушение центральной нервной системы

У рыбы отрезают голову и препаровальной иглой разрушают спинной мозг. При необходимости сохранения головы препаровальную иглу вводят у основания головы вертикально вниз, затем, стараясь попасть в спинномозговой канал, переводят в горизонтальное положение и разрушают спинной мозг.

При необходимости сохранения центральной нервной системы рыбу обездвигивают бинтованием или фиксацией туловища с помощью двух пар металлических полос, закреплённых в деревянной подставке, голову фиксируют специальным кольцом, укреплённым на той же подставке. В рот вставляют стеклянную трубку, соединённую с резиновой трубкой, по которой постоянно подаётся вода.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1

Приготовление нервно-мышечного препарата и ознакомление с работой электростимулятора лабораторного ЭСЛ-2.

1. Приготовление нервно-мышечного препарата.

Цель работы: научиться изготовлению нервно-мышечного препарата и реоскопической лапки.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Многие работы по физиологии нервной и мышечной системы проводятся на нервно-мышечном препарате и реоскопической лапке лягушки. Использование этого объекта для лабораторных опытов в курсе “Физиология рыб” объясняется тем, что многие закономерности работы органов являются общими для позвоночных животных, поэтому руководствуемся удобством. Нервно-мышечный препарат представляет собой икроножную мышцу лягушки, соединённую с седалищным нервом. Реоскопическая лапка - задняя лапка лягушки с подходящим к ней седалищным нервом.

Задание: из подопытной лягушки приготовить нервно-мышечный препарат и реоскопическую лапку. Записать ход работы и зарисовать реоскопическую лапку и нервно-мышечный препарат. Ответить на вопросы для самопроверки.

Материал и оборудование: лягушка, препаровальный набор, кювета с парафиновой пластинкой, раствор Рингера.

Методические указания по выполнению работы:

1. Отрезают голову и разрушают иглой спинной мозг лягушки, как указано в разделе “Способы обездвиживания животных”.

2. Вскрывают брюшную полость, удаляют внутренности, обнажая при этом позвоночник и нервные стволы VII, VIII, IX пар спинномозговых корешков, образующих седалищное сплетение.

3. Перерезают лягушку пополам на 1-1,5 см выше места отхождения тазовых костей. Переднюю часть туловища и внутренности удаляют.

4. Захватывают кожу спины одной рукой, другой рукой берут позвоночник и снимают кожу с задних конечностей.

5. Препарат берут в руки и сгибают таким образом, чтобы позвоночник образовывал прямой угол с задними конечностями, при этом выступает уростиль, последний отрезают ножницами.

6. Производят разрез тканей точно посередине, разъединяя лапки между собой.

7. После удаления подвздошных костей получают две реоскопические лапки. Одну лапку сохраняют в растворе Рингера.

8. Из другой лапки готовят нервно-мышечный препарат. Двумя пинцетами раздвигают мышцы по задней поверхности бедра, в глубине показывается седалищный нерв.

9. Производят осторожное препарирование нерва, выделяя его на всём протяжении до коленного сустава.

10. Отсекают мышцы бедра и частично бедренную кость. Кусочек бедренной кости оставляют для укрепления нервно-мышечного препарата в зажиме.

11. Подводят браншу ножниц под ахиллово сухожилие, отсекая его возможно ниже.

12. Поднимают икроножную мышцу за ахиллово сухожилие и отсекают кости голени с лежащими на них другими мышцами.

Нервно-мышечный препарат готов (рис. 1). Он состоит из икроножной мышцы и седалищного нерва, соединенного с кусочком позвоночника.

13. Записать ход работы и зарисовать реоскопическую лапку и нервно-мышечный препарат.

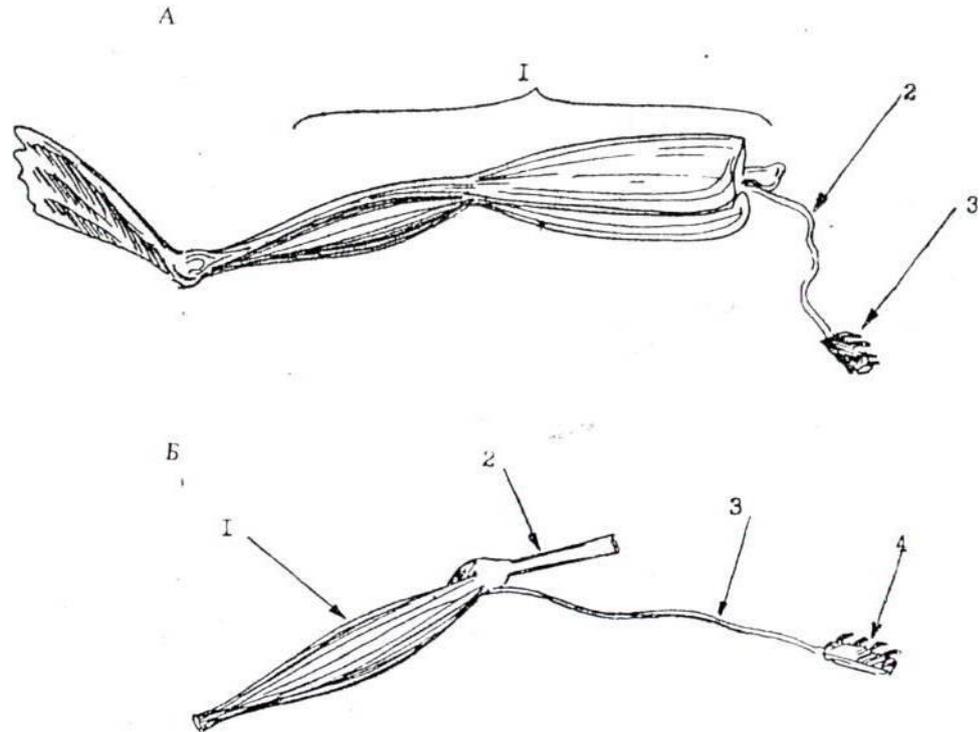


Рисунок 1. Реоскопическая лапка и нервно-мышечный препарат;
 где А- реоскопическая лапка: 1 - лапка, 2 - седалищный нерв, 3 - кусочек позвоночника;
 Б - нервно-мышечный препарат: 1 - икроножная мышца, 2 - кость бедра, 3 - седалищный нерв, 4 - кусочек позвоночника.

Обработка опытных данных и оформление работы: записать ход работы и зарисовать реоскопическую лапку и нервно-мышечный препарат.

Вопросы для самопроверки

1. Что такое нервно-мышечный препарат?
2. Что такое реоскопическая лапка?
3. Почему в курсе “Физиология рыб” эксперименты проводятся на препаратах лягушки.

2. Ознакомление с работой электростимулятора лабораторного ЭСЛ-2

Цель работы: получить навыки применения ЭСЛ-2 в физиологическом эксперименте.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Большинство физиологических экспериментов проводится на нервно-мышечном препарате и реоскопической лапке. Для того чтобы вызвать возбуждение мышцы или нерва чаще всего пользуются электрическими раздражителями, т.к. их параметры - сила, длительность, продолжительность воздействия легко контролируются, дозируются. Повторное применение

электрического раздражения не оказывает вредящего действия на ткани, а сам электрический раздражитель является адекватным для организма раздражителем. Адекватный раздражитель - это раздражитель, соответствующий данному типу рецептора. В качестве источника тока в физиологических экспериментах используется электростимулятор лабораторный (ЭСЛ-2).

Общий вид прибора показан на рис. 2. В верхней части прибора имеется четыре шкалы со следующими параметрами: частота Hz от 0,07 до 1,2; задержка mS от 0,08 до 1,3; длительность mS от 0,08 до 1,3 и амплитуда V от 0,36 до 6. Под шкалами соответственно располагаются ручки плавной регулировки, под которыми находятся переключатели ступенчатой регулировки тех же параметров. На переключателях ступенчатой регулировки указаны множители ($\times 1$, $\times 10$, $\times 10^2$, $\times 10^3$ и др.). Для снятия соответствующего параметра необходимо показания шкалы умножить на множитель.

А



Рисунок 2 А - расположение органов управления на передней панели:

1 - тумблер включения сети; 2 - индикатор сети; 3 - резистор регулировки частоты; 4,6,7,9 - переключатели; 5 - резистор регулировки задержки; 8 - резистор регулировки длительности; 10 - резистор регулировки амплитуды; 11 - тумблер установки полярности; 12 - клеммы ВЫХОД для подключения электродов; 13 – тумблер переключения режимов работы.

Б



Рисунок 2 Б - расположение органов управления на задней панели:

1 - сетевой шнур; 2 - предохранитель общей сети; 3 - зажим защитного заземления; 4 - предохранитель блока питания; 5 - клемма для снятия импульса синхронизации, совпадающего во времени с запуском прибора; 6 - клемма для снятия импульса синхронизации, совпадающего во времени с фронтом выходного импульса; 7 - клемма для снятия импульса синхронизации, совпадающего во времени со срезом выходного импульса; 8 - клемма ЗАПУСК для подключения внешнего запускающего импульса; 9 - тумблер включения звуковой индикации; 10 - гнезда для подключения выносной кнопки.

Прибор генерирует импульсы прямоугольной формы с заданными параметрами (рис. 3, А). Структурная схема прибора приведена на рис. 3, Б.

Прибор работает в следующих режимах: внутренний запуск, разовый пуск. Внутренний запуск осуществляется от собственного генератора (переключатель 2 в положении 1). При этом генератор формирует импульсы для запуска формирователя задержки. Формирователь задержки определяет задержку выходного импульса относительно момента запуска и запускает формирователь длительности. Формирователь длительности определяет длительность выходного импульса. Выходной усилитель определяет амплитуду выходного импульса.

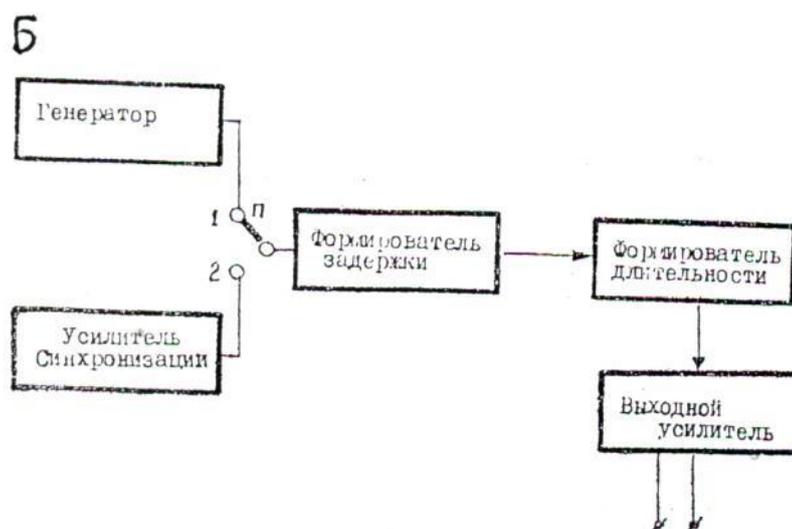
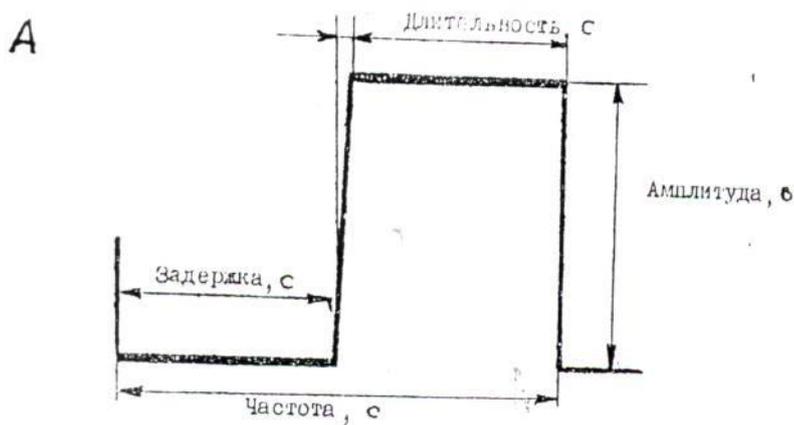


Рисунок 3 А - импульс, генерируемый ЭСЛ-2;
Б - блок-схема электростимулятора

Задание: ознакомиться с работой ЭСЛ-2.

Материал и оборудование: ЭСЛ – 2, электроды.

Методические указания по выполнению работы:

1. Рассмотреть переднюю панель прибора.
2. Установить тумблер включения сети в нижнее положение.
3. Соединить зажим защитного заземления (на задней панели прибора) с внешним заземлением.
4. Подключить электроды, подведенные к нервно-мышечному препарату к клеммам, расположенным на передней панели прибора и обозначенным "ВХОД" и "⊥".
5. Включить вилку сетевого шнура в розетку питания.
6. Перевести тумблер включения сети в положение "СЕТЬ". При этом загорается контрольная лампа на задней панели прибора.

7. Включить звуковую индикацию, поставив тумблер в верхнее положение. При этом должен быть слышен сигнал звукового индикатора: щелчки или тон с частотой выходных импульсов.
8. Подключить электроды к клеммам "ВЫХОД" и "⊥" прибора.
9. Внутренний запуск прибора применяется для получения раздражающих импульсов с большой частотой. Внутренний запуск осуществляется от внутреннего генератора следующим образом: переключатель "РОД РАБОТ" установить в положение "ВНУТР."
10. Переключателями "ЧАСТОТА", "ЗАДЕРЖКА", "ДЛИТЕЛЬНОСТЬ" и "АМПЛИТУДА", установить нужные параметры выходного импульса. В том случае, если переключатель амплитуды стоит против точки без надписи, выходной импульс на выходные гнезда не поступает, так как гнезда соединяются между собой, что соответствует выключению стимулятора.
11. Тумблером установить необходимую полярность выходного импульса.

Указания мер безопасности

ВНИМАНИЕ! Напряжение питающей сети прибора 220В является опасным для жизни. Поэтому при работе с прибором необходимо соблюдать действующие правила по технике безопасности при работе с электроустановками и электронными медицинскими приборами. **ВО ВСЕХ СЛУЧАЯХ ЗАЖИМ ЗАЩИТНОГО ЗАЗЕМЛЕНИЯ НАДЕЖНО СОЕДИНИТЬ С ВНЕШНИМ ЗАЗЕМЛЕНИЕМ!** Не допускается самостоятельный ремонт прибора и использование прибора со снятыми крышками.

Обработка опытных данных и оформление работы: записать ход работы, зарисовать переднюю и заднюю панель ЭСЛ-2, отметить на рисунках органы управления прибора, зарисовать импульс, генерируемый электростимулятором и отметить на рисунке параметры тока.

Вопросы для самопроверки

1. Каким образом ЭСЛ-2 приводится в рабочее состояние?
2. Как произвести внутренний запуск и разовый пуск?
3. Техника безопасности при работе с ЭСЛ-2.
4. Как снять показания с ЭСЛ-2?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2

Работа мышечной системы

Опыт 1 Определение порога реагирования мышцы.

Цель работ: определение порога раздражения при прямом и непрямом раздражении мышцы электрическим током.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Одним из свойств живой ткани является возбудимость, т.е. способность приходить в состояние возбуждения под действием различных раздражителей.

Раздражителем называют фактор внешней или внутренней среды организма действующий на рецепторы - чувствительные элементы и изменяющий их активность. Влияние раздражителя выражается в возбуждении, т.е. ответной реакции органов или организма в целом.

Раздражения бывают прямыми и косвенными. Прямое раздражение – это раздражение непосредственно органа-исполнителя (мышцы), косвенное раздражение – это раздражение нерва, иннервирующего орган-исполнитель.

Порогом раздражения называется та минимальная сила раздражителя, которая вызывает ответную реакцию органа-исполнителя (сокращение мышцы).

Задание по работе: с помощью электродов ЭСЛ-2 установить минимальное напряжение тока при прямом и косвенном раздражении мышцы, которое вызывает сокращение мышцы. Заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Материал и оборудование: лягушка, раствор Рингера, препаративный набор, ЭСЛ-2, электроды.

Методические указания по выполнению работы:

1. Приготавливают реоскопическую лапку.
2. Собирают схему, подключают электроды к выходу ЭСЛ.
3. Переключатель «РОД РАБОТЫ» устанавливают в положении «ПУСК».
4. Устанавливают величину задержки импульса 0,1с, величину длительности 0,1с. На шкале «АМПЛИТУДА» устанавливают минимальное значение.
5. Работу начинают с определения порога раздражения нерва. Седалищный нерв помещают на электроды. Тумблер включения сети переводят в положение «СЕТЬ» и затем отключают.
6. Постепенно увеличивают напряжение, поворачивая лимб «АМПЛИТУДА». При этом всякий раз включают и выключают тумблер «СЕТЬ». Если при 0,1В реакции (мерцания мышцы) не наблюдается, всю процедуру повторяют, переставив множитель амплитуды в положение 1,0. Таким образом, находят наименьшую силу раздражителя, которая при раздражении нерва вызывает минимальное сокращение мышцы. Это и будет пороговое напряжение тока для данного нерва (числовое значение снимается с лимба «АМПЛИТУДА» и умножается на величину множителя).

7. Для определения порога раздражения мышцы электроды переносятся непосредственно на неё. Работу проводят так же, как и при определении порога раздражения нерва. Находят минимальное напряжение, которое при прямом раздражении мышцы способно вызвать её минимальное сокращение.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 1), в который вносятся данные по величине стимула (напряжения тока), последовательно наносимого на препарат в порядке возрастания до достижения ответной реакции. Делается вывод о пороге раздражения мышцы при прямом и непрямом раздражении.

Таблица 1

Протокол опыта по определению порога реагирования мышцы

Сила раздражителя, (В)	Ответная реакция (-) или (+)	
	Непрямое раздражение	Прямое раздражение

Вопросы для самопроверки

1. Что такое раздражимость и раздражитель?
2. Что такое прямое и непрямое раздражение мышцы?
3. Что такое порог раздражения?
4. Что такое возбудимость?

Опыт 2 Электростимуляция сокращения мышц тела рыбы.

Цель работы: определить порог возбуждения мышц тела рыбы и минимальную частоту импульсов, необходимую для электрического обездвиживания рыбы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Одним из свойств живой ткани является возбудимость, т.е. способность приходить в состояние возбуждения под действием различных раздражителей.

Порогом раздражения называется та минимальная сила раздражителя, которая вызывает ответную реакцию органа-исполнителя (сокращение мышцы).

Наиболее удобным раздражителем, применяемым в физиологическом эксперименте является электрический раздражитель, т.к. его параметры - сила, длительность, продолжительность воздействия легко контролируются, дозируются. Повторное применение электрического раздражения не оказывает вредящего действия на ткани, а сам электрический раздражитель является адекватным для организма раздражителем. Адекватный раздражитель - это

раздражитель, соответствующий данному типу рецептора. Раздражения бывают прямыми и косвенными. Прямое раздражение – это раздражение непосредственно органа-исполнителя (мышцы), косвенное раздражение – это раздражение нерва, иннервирующего орган-исполнитель. Минимальное число импульсов, необходимых для обездвиживания рыбы - это произведение времени достижения утомления (в секундах) на частоту стимулирующего тока.

Задание: с помощью электродов ЭСЛ-2 при последовательном увеличении силы раздражителя установить минимальное напряжение тока, при котором начинается сокращение мышц тела рыбы. Определить время до достижения утомления мышц. Рассчитать минимальное число импульсов, необходимых для обездвиживания рыбы. Заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Материалы и оборудование: рыба, ЭСЛ, пенопластовая пластинка, секундомер.

Методические указания по выполнению работы:

1. Анестезированную рыбу фиксируют препаративными иглами за голову.
2. Стимулирующий биполярный электрод вводят под кожу в области боковой линии.
3. Устанавливают на ЭСЛ интервал 5 мс и определяют порог возбуждения, постоянно увеличивая силу импульса. Пороговым значением принимаем минимальное напряжение тока, при котором начинается сокращение мышцы.
4. Увеличивают силу тока в 2 раза относительно порога, и плавно увеличивают частоту импульса, достигая тетанического сокращения мышц (тетануса). При этом рыба изгибается в дугу и остаётся в таком положении до достижения утомления мышц (несколько десятков секунд).
5. Умножив время (в секундах) до достижения утомления на частоту стимулирования получают минимальное число импульсов, необходимых для обездвиживания рыбы.
6. Записать ход работы. Заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 2), в который вносятся данные по величине стимула (напряжения тока), последовательно наносимого на препарат в порядке возрастания до достижения ответной реакции.

Протокол опыта по электростимуляции сокращения мышц тела рыб

Сила раздражителя, (В)	Ответная реакция (-) или (+)	Время утомления (сек)	Минимальная частота импульсов для электрического обездвиживания рыбы

Вопросы для самопроверки

1. Что такое раздражитель?
2. Почему электрический раздражитель – наиболее предпочтителен в физиологическом эксперименте?
3. Что такое адекватный и неадекватный раздражитель?

Опыт 3 Действие различных раздражителей на мышечный препарат при прямом и непрямом раздражении

Цель работ: выявить действие различных раздражителей на мышцу рыбы или лягушки при прямом и непрямом раздражении.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы: Одним из свойств живой ткани является возбудимость, т.е. способность приходить в состояние возбуждения под действием различных раздражителей.

Порогом раздражения называется та минимальная сила раздражителя, которая вызывает ответную реакцию органа-исполнителя (сокращение мышцы).

Наиболее удобным раздражителем, применяемым в физиологическом эксперименте является электрический раздражитель, т.к. его параметры - сила, длительность, продолжительность воздействия легко контролируются, дозируются. Повторное применение электрического раздражения не оказывает вредящего действия на ткани, а сам электрический раздражитель является адекватным для организма раздражителем. Адекватный раздражитель - это раздражитель, соответствующий данному типу рецептора. Раздражения бывают прямыми и косвенными. Прямое раздражение – это раздражение непосредственно органа-исполнителя (мышцы), косвенное раздражение – это раздражение нерва, иннервирующего орган-исполнитель. Минимальное число импульсов, необходимых для обездвиживания рыбы - это произведение времени достижения утомления (в секундах) на частоту стимулирующего тока.

Задание: последовательно нанести различные раздражения на мышцу, а затем на нерв. Пронаблюдать ответную реакцию мышцы. Заполнить протокол опыта и записать ход работы. Сделать выводы.

Материал и оборудование: лягушка или рыба, препаровальный набор, раствор Рингера, гальванический пинцет, нитки, 10%-й раствор едкого натра, 10%-й раствор соляной кислоты, спирт, концентрированный раствор поваренной соли, спиртовка.

Методические указания по выполнению работы:

Электрическое раздражение.

1. Прикоснуться гальваническим пинцетом к мышце, а затем к нерву.
2. Отметить сокращение мышцы. Бранши гальванического пинцета состоят из разнородных металлов - меди и цинка. При прикосновении ножек пинцета к мышце или нерву образуется замкнутая цепь из двух металлов и биологической ткани, играющей роль проводника. Возникающий ток служит источником раздражения мышцы. При отсутствии гальванического пинцета к мышце и нерву прикасаются электродами от генератора электрических импульсов - прибора ЭСЛ-2.

Механическое раздражение.

1. Нанести укол иглой мышце и нерву.
2. Сдавить кончик нерва пинцетом.
3. Срезать кончик нерва ножницами.
4. Наложить лигатуру на нерв (т.е. перевязывают его ниткой).

В момент раздражения происходит сокращение мышцы.

Химическое раздражение.

1. Нанести на нерв каплю 10%-го раствора едкого натра, пронаблюдать сокращение мышцы.

2. Промыть нерв раствором Рингера. Нанести на него каплю 10%-го раствора соляной кислоты, наблюдать сокращение мышцы.

3. Промыть нерв раствором Рингера. Нанести каплю спирта.

Наблюдать сокращение мышцы.

Теми же раздражителями воздействовать на мышцу.

Осмотическое раздражение.

1. В чашку Петри налить концентрированный раствор поваренной соли.

2. Опустить туда нерв, наблюдать сокращение мышцы.

3. Промыть нерв. Погрузить мышцу в раствор соли, наблюдать сокращение мышцы.

Термическое раздражение. Нагреть в пламени спиртовки кончик препаровальной иглы и приложить его: а) к нерву, б) к мышце. Проверяют, сокращается ли мышца при таком же прикосновении не подогретой иглой.

Раздражение вследствие высыхания. Располагают нерв так, чтобы он свободно свисал. Смачивают мышцу раствором Рингера, оставляя нерв сухим. Дожидаются появления сокращения мышцы. Смачивают нерв раствором Рингера, после этого сокращения мышцы обычно исчезают.

Записать ход работы, заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 3), в который вносятся знаки (+), отражающие субъективную оценку силы сокращения мышцы.

Таблица 3

Протокол опыта

Наименование раздражителя	Наблюдаемый эффект	
	Непрямое раздражение	Прямое раздражение
Электрический	+++	+++
Механический	+	+
Химический	и т.д.	и т.д.
Осмотический		
Термический		
Высыхание		

Вопросы для самопроверки

1. Что такое возбуждение?
2. Что такое раздражитель?
3. Какие бывают раздражители?
4. Почему электрический раздражитель – наиболее предпочтителен в физиологическом эксперименте?
5. Что такое адекватные и неадекватные раздражения?
6. Что такое прямое и непрямое раздражение?

Опыт 4 Роль сгибания тела и движения плавников в плавании рыб

Цель работы: изучить значение для плавания рыбы движения плавников и изгибания тела рыбы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Плавание рыб происходит благодаря работе поперечнополосатой мускулатуре, которая приводит в движение движители. Рыбы отталкиваются от среды, обладающей некоторой плотностью, вязкостью, и податливостью.

Гребное плавание у рыб осуществляется с помощью грудных плавников. Коэффициент полезного действия мускулатуры при таком плавании довольно высок. При этом туловищно-хвостовая мускулатура не бездействует. Она находится в напряжении и поддерживает обтекаемую позу.

Ограниченные массы мускулатуры вовлекаются в работу при плавании с помощью непарных плавников, например, спинного, анального, когда эффективный упор создают поперечные складки плавников.

Наибольшие скорости достигаются рыбами при периодическом волнообразном изгибании всего тела (ундуляции). Движителем в этом случае служит почти вся поверхность тела, за исключением негибкой головы. Упор создаётся искривлением тела и движением локомоторной волны от головы к хвосту. За один цикл движения рыба могла бы продвинуться на длину тела до теоретического финиша, но в результате наличия КПД движителя 0,7 возникает пробуксовка и она проплывает расстояние до фактического финиша.

Задание: произвести ампутацию у рыб различных локомоторных органов в разной комбинации и пронаблюдать нарушения в характере плавания рыб в аквариуме. Заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Материалы и оборудование: карась, набор инструментов для вскрытия и бинт.

Методические указания по выполнению работы:

1. У одной рыбы обрезать хвост и спинные плавники, у другой – грудные и брюшные плавники.
2. Кровотечение останавливают, прижав рану пальцем, на котором предварительно надо набрать как можно больше слизи рыбы.
3. У третьей рыбы, обездвиживание производят, плотно забинтовав её между узкими досточками так, чтобы плавники оставались свободными.
4. Выпускают всех рыб в аквариум и наблюдают нарушения в характере плавания, вызванные ампутацией плавников и обездвиживанием тела.
5. Описывают изменения поступательных движений, поворотов в стороны, а также движения вверх и вниз, которые наступили после операции.
6. Сравнивают эти изменения с нарушением плавания в случае обездвиживания рыбы.
7. Записать ход работы. Заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 4), в который записывают нарушения в характере плавания, вызванные ампутацией плавников и обездвиживанием тела (изменения поступательных движений, поворотов в стороны, а также движения вверх и вниз).

Протокол опыта по изучению роли сгибания тела и движения плавников в плавании рыб

Характер повреждения движителей рыб	Описание нарушений в характере плавания рыб
Обрезанный хвост и спинные плавники	
Обрезанные грудные и брюшные плавники.	
Обездвиживание перебинтовкой тела между узкими досточками	

Вопросы для самопроверки

1. Какие известны способы плавания рыб?
2. Какой способ плавания рыбы обеспечивает максимальную скорость её передвижения?
3. Какой тип мускулатуры обуславливает плавание рыб?

Опыт 5 Определение скорости плавания рыбы в гидродинамической установке

Цель работы: овладеть методиками определения скорости движения рыбы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Наибольшие скорости достигаются рыбами при периодическом волнообразном изгибании всего тела (ундуляции). Движителем в этом случае служит почти вся поверхность тела, за исключением негибкой головы. Упор создаётся искривлением тела и движением локомоторной волны от головы к хвосту. За один цикл движения рыба могла бы продвинуться на длину тела до теоретического финиша, но в результате наличия КПД движителя 0,7 возникает пробуксовка и она проплывает расстояние до фактического финиша.

В области средних и высоких скоростей формула скорости плавания рыб $V = 0,7FL$ /за несколько секунд. Скорость движения рыбы относительно воды, вычисляется по частоте плавательных движений (частота ударов хвоста – F за несколько секунд) и длины тела рыбы (L).

Задание: подсчитать количество плавательных движений рыбы за несколько секунд (F), измерить длину тела рыбы (L), вычислить скорость плавания рыбы.

Материалы и оборудование: рыба и гидродинамическая установка. Самой простой гидродинамической установкой, является круглая посуда, в которой на вертикальной оси с помощью электромотора проворачивается кусочек пенопласта и захватывает за собой воду. Рыба вследствие оптомоторной реакции старается удержаться на одном месте относительно зрительных ориентиров, сопротивляясь потоку.

Методические указания по выполнению работы:

1. Измерить длину тела рыбы.
2. Понаблюдать за рыбой в гидродинамической установке и, включив секундомер, записать на бумаге волнистую линию соответственно частоте плавательных движений рыбы.
3. Подсчитать число плавательных движений рыбы F за несколько секунд.
4. Вычислить скорость движения рыбы как функцию длины тела и частоты движения её.

$$V = 0,7FL,$$

где V – скорость движения рыбы, см/с;

L – длина тела рыбы, см;

F – частота движения рыбы за несколько секунд, отнесенная ко времени эксперимента.

5. Записать ход работы. Заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 5), в который записывают измеряемые величины и вычисляемая скорость плавания рыбы.

Таблица 5

Протокол опыта по определению скорости плавания рыбы

Измеряемые показатели	Скорость плавания рыбы
F - частота движения рыбы, отнесённая ко времени эксперимента	
L - длина тела рыбы (см)	

Вопросы для самопроверки

1. Каков КПД плавания рыб?
2. Какой движитель способствует максимальной скорости плавания рыб?
3. Как вычислить скорость плавания рыб?
4. Что такое частота плавательных движений рыб?

Опыт 6 Оценка скорости плавания рыбы на полигоне

Цель работы: овладеть методикой оценки скорости плавания рыбы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Наибольшие скорости достигаются рыбами при периодическом волнообразном изгибании всего тела (ундуляции). Движителем в этом случае служит почти вся поверхность тела, за исключением негибкой головы. Упор создаётся искривлением тела и движением локомоторной волны от головы к хвосту. За один цикл движения рыба могла бы продвинуться на длину тела до теоретического финиша, но в результате наличия КПД движителя 0,7 возникает пробуксовка и она проплывает расстояние до фактического финиша.

Задание: замерить длину траектории движения рыбы на полигоне, замерить время движения рыбы, вычислить среднюю скорость движения рыбы.

Материалы и оборудование: гуппи, данио, секундомер, полигон для определения скорости рыбы. Полигон - это прямоугольная кювета, расчерченная по дну квадратами со стороной, соизмеримой с длиной тела рыбы (например, 5 см). Квадраты желательно пронумеровать для облегчения наблюдения за траекторией движения рыбы. Глубина воды в кювете - 4–6 см.

Методические указания по выполнению работы:

1. Наблюдатель следит за рыбами и громко объявляет номера квадратов, посещаемых рыбой на полигоне.
2. Траекторию движения рыбы рекомендуется нанести на планшет, расчертив там квадраты так же, как на полигоне.
3. Считают количество квадратов, которое проплывает рыба, за определенное время. Измеряют длину траектории движения рыбы.
4. Хронометрируют длительность движения рыбы.
5. Среднюю скорость движения рыбы определяют как соотношение:
общий путь / время наблюдения.
6. Записать ход работы. Заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 6), в который записывают длину траектории и время движения рыбы.

Таблица 6

Протокол опыта по определению скорости плавания рыбы на полигоне

Измеряемые показатели	
Длина траектории движения рыбы	
Время движения рыбы	
Скорость плавания рыбы	

Вопросы для самопроверки

1. Назовите способы плавания рыб.
2. Какой способ плавания рыбы обеспечивает максимальную скорость её передвижения?
3. Как вычислить скорость плавания рыб?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3

Наблюдение одиночного и тетанического сокращения мышцы. Запись кривой утомления мышцы рыбы. Определение теплоустойчивости мышц.

Опыт 1 Наблюдение одиночного и тетанического сокращения мышцы

Цель работ: наблюдение одиночных и тетанических сокращений мышцы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

В условиях целого организма одиночное сокращение имеет место только у миокарда, а скелетные мышцы сокращаются под влиянием ритмических импульсов, поступающих из центральной нервной системы. Эти импульсы следуют друг за другом с большой частотой, происходит суммированное сокращение - тетанус. Различают зубчатый (несовершенный, несплошной) и гладкий (совершенный, сплошной) тетанус. Если раздражение наносится с такой частотой, что каждое последующее приходится на период расслабления мышцы, возникает зубчатый тетанус. Если раздражения наносятся несколько чаще, и каждое последующее раздражение приходится на период сокращения, возникает гладкий тетанус, который характеризуется сплошным длительным укорочением мышцы.

Н.Е. Введенский (1885) показал, что эффект следующих друг за другом раздражений не является простой арифметической суммой одиночных раздражений, он может быть больше или меньше этой суммы. При тетанусе каждое предыдущее раздражение оказывает влияние на последующее, которое в свою очередь зависит от предыдущего. При развитии тетанического сокращения имеет значение сила раздражений и частота, с которой наносится раздражение.

Мышца сердца имеет большую абсолютную рефракторную фазу, т.е. период невозбудимости велик. Так, для сердца угря он составляет 0,15 секунды, тогда как для икроножной мышцы лягушки всего 0,0025 секунды. Таким образом, сердечная мышца невозбудима в период сокращения и расслабления, следовательно, сердце не способно к тетаническим сокращениям. Это имеет большое биологическое значение. Если бы мышца сердца могла сокращаться тетанически, она утратила бы основную свою функцию – функцию нагнетательного насоса.

Задание: на нервно-мышечный препарат нанести одиночное электрическое раздражение и серию электрических импульсов разной частоты. Пронаблюдать соответственно одиночное сокращение мышцы, зубчатый и гладкий тетанус.

Материал и оборудование: электростимулятор, кимограф, миограф, вилочковые электроды, препаровальный набор, раствор Рингера, пипетка, лягушка.

Методические указания по выполнению работы:

1. Обездвижить лягушку.
2. Приготовить нервно-мышечный препарат.
3. Переключатель "РОД РАБОТ" установить в положении "ПУСК". Установить величину задержки импульса -1с, величину длительности сигнала от 10 мс до 1с, амплитуду импульса 3-5 В.
4. Нанести одиночное электрическое раздражение нервно-мышечного препарата.
5. Пронаблюдать одиночные сокращения мышцы.
6. Переключатель "РОД РАБОТ" установить в положение "ВНУТРЬ". Положение переключателей ЭСЛ-2 в этом случае следующее: частота следования импульса 1-2 Гц, длительность импульса 0,1 с, величина задержки 0,01с., амплитуда -5В. При этом последующее раздражение падает на период расслабления. Пронаблюдать зубчатый тетанус.
7. Увеличив частоту следования импульсов до 10-15 Гц и выше, пронаблюдать гладкий тетанус. При этой частоте каждое последующие раздражение падает на момент сокращения мышцы.
8. Записать ход работы. Заполнить протокол. Сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 7), в который записывают параметры электрических стимулов, вызывающих одиночное сокращение мышцы, зубчатый тетанус и гладкий тетанус.

Таблица 7

Протокол опыта по наблюдению одиночного сокращения мышцы, зубчатого тетануса и гладкого тетануса

Параметры электрического стимула	Характер мышечного сокращения
Одиночные импульсы. Задержка 1с, длительность сигнала от 10 мс до 1с, амплитуду импульса 3-5 В.	Одиночное сокращение и расслабление и расслабление мышцы
Частота импульсов – Длительность 0,1 с, задержка 0,01 с, амплитуда 5 В	Зубчатый тетанус
Частота импульсов – Длительность 0,1 с, амплитуда 5 В	Гладкий тетанус

Вопросы для самопроверки

1. Что такое тетанус?
2. Какие известны виды тетануса?
3. Подвержен ли миокард тетаническому сокращению?

Опыт 2 Запись кривой утомления мышцы

Цель работы: наблюдение за развитием утомления в мышце.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Утомление – это функциональное состояние, возникающее под влиянием продолжительной или интенсивной работы и приводящей к снижению её эффективности. Критериями утомляемости являются изменения количественных и качественных показателей работы. Утомление проявляется в уменьшении силы и выносливости мышц.

Утомление изолированной мышцы можно вызвать ее ритмическим раздражением. В результате этого сила сокращений прогрессирующе уменьшается. Чем выше частота, сила раздражения, величина нагрузки тем быстрее развивается утомление. При утомлении значительно изменяется кривая одиночного сокращения. Увеличивается продолжительность латентного периода, периода укорочения и особенно периода расслабления, но снижается амплитуда. Чем сильнее утомление мышцы, тем больше продолжительность этих периодов. В некоторых случаях полного расслабления не наступает. Развивается контрактура. Это состояние длительного непроизвольного сокращения мышцы.

На основании опытов с изолированными мышцами, было предложено три теории мышечного утомления.

1. Теория Шиффа: утомление является следствием истощения энергетических запасов в мышце.

2. Теория Пфлюгера: утомление обусловлено накоплением в мышце продуктов обмена.

3. Теория Ферворна: утомление объясняется недостатком кислорода в мышце.

Действительно эти факторы способствуют утомлению в экспериментах на изолированных мышцах. В них нарушается ресинтез АТФ, накапливается молочная и пировиноградная кислоты, недостаточно содержание кислорода. Однако в организме интенсивно работающие мышцы получают необходимый кислород, питательные вещества, освобождаются от метаболитов за счет усиления общего и регионального кровообращения. Поэтому были предложены другие теории утомления. В частности, определенную роль в утомлении принадлежит нервно-мышечным синапсам. Утомление в синапсе развивается из-за истощения

запасов нейромедиатора. При непрямом раздражении утомление развивается раньше, чем при прямом раздражении мышцы.

Задание: изготовить нервно-мышечный препарат, нагрузить мышцу грузом, стимулировать нерв, а потом мышцу одиночными разрядами до утомления мышцы, определить время развития утомления мышцы.

Материал и оборудование: лягушка, препаровальный набор, ЭСЛ-2, провода, штатив, кимограф, раствор Рингера, электроды.

Методические указания по выполнению работы:

1. Изготовить нервно-мышечный препарат.
2. Собрать схему для раздражения одиночными ударами электрического тока.
3. Установить следующие параметры выходных импульсов: частота следования 1Гц, длительность задержки - 0,1 с, длительность импульса – 0,1 - 0,5 с, амплитуда сигнала - 5В.
4. Укрепить препарат в штативе к рычажку Эгельмана.
5. Подвесить на миограф небольшой груз для растяжения мышцы.
6. Электроды поместить на нерв.
7. Запустить барабан с малой скоростью.
8. Включить отметчик времени.
9. Включить ток.
10. Записать сокращение мышцы до значительного уменьшения их амплитуды.
11. Определить, за какое время развивается утомление мышцы.
12. Переместить электроды на мышцу. Повторить эксперимент.
13. Записать ход работы. Зарисовать и описать кривую утомления мышцы.

Заполнить протокол. Сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 8), в который записывают время наступления утомления мышцы при раздражении нерва и самой мышцы.

Таблица 8

Протокол опыта по развитию утомления мышцы

Время развития утомления мышцы (сек)	
При раздражении нерва (Непрямое раздражение)	При раздражении мышцы (Прямое раздражение)

Вопросы для самопроверки

1. Что такое утомление мышцы?
2. Каковы причины утомления мышцы?
2. При каком раздражении (прямом или косвенном) быстрее наступает утомление?

Опыт 3 Определение теплоустойчивости мышц

Цель работы: изучить теплоустойчивость мышц и практическое применение исследований теплоустойчивости мышечной ткани рыб.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

По данным многих авторов, теплоустойчивость мышечной ткани для холоднокровных животных является видовым признаком (критерием вида) и не зависит от пола, возраста и окружающих условий. Где бы ни обитало животное, в северных или в южных широтах, в тёплых или холодных водах, теплоустойчивость его мышечных тканей гомологична.

Задание: сравнить теплоустойчивость икроножной мышцы лягушки и подъязычной мышцы рыбы.

Материал и оборудование: лягушка, рыба, препаровальный набор, электроды, ЭСЛ-2, чашка Петри, раствор Рингера, спирт, 4 термоса, термометр, стеклянная палочка с резиновым кольцом, нитки.

Методические указания по выполнению работы:

1. Приготовить препарат икроножной мышцы лягушки и подъязычной мышцы рыбы.

2. Прикрепить мышцы к резиновым кольцам на стеклянной палочке.

3. На 3-5 мин препараты опустить в чашку Петри с холодным раствором Рингера.

4. Раздражать мышцу током. Отметить характер возбуждения (сильное, слабое).

5. Подготовить в четырёх термосах воду с температурами соответственно в каждом 33°C, 34°C, 35°C, 36°C.

6. Мышцу опустить в раствор Рингера, нагретый до температуры 33°C, 34°C, 35°C, 36°C. Температуру поддерживать с точностью до 0,2°C путём подливания нагретого раствора.

7. Как только мышца опустится в раствор, отмечать время.

8. Через 2 мин мышцу вынуть из раствора и раздражать током. Затем её снова поместить в термос.

9. Наблюдения ведутся через 2 мин. Отметить последнее сокращение мышцы - "последний блик" (еле заметное колебание волокон мышцы).

Время от начала опыта и до конца его будет характеризовать теплоустойчивость мышцы для данной температуры.

10. Провести серию опытов для каждой стандартной температуры и методом статистической обработки материала найти среднее значение теплоустойчивости.
12. Сравнить теплоустойчивость икроножной мышцы лягушки и подъязычной мышцы рыбы.
13. Записать ход работы. Заполнить протокол. Сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 9), в который записывают стандартные температуры проведения опыта, время проведения опыта до «последнего блика» мышцы, знаками (+) отмечают сокращение мышцы, знаками (-) – прекращение сокращений мышцы.

Таблица 9

Протокол опыта по определению теплоустойчивости мышц

Температура, °С	Время, мин.									
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	
33										
34										
35										
36										

Вопросы для самопроверки

1. Что такое теплоустойчивость мышц?
2. Критерием чего является теплоустойчивость мышц?
3. С какой целью исследуется теплоустойчивость мышц рыбы?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4

Нарушение и восстановление проводимости нерва

Цель работы: изучить явление нарушения проводимости нерва при действии на него спирта.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

При действии на нерв наркотиков или осмотически активных веществ можно наблюдать нарушение проводимости по нерву электрического тока. После прекращения действия раздражителя проводимость нерва восстанавливается В 1902 г. Н.Е. Введенский установил, что если на нерв подействовать каким-либо химическим или физическим агентом: хлороформом, кокаином, фенолом, хлористым калием, сильным электрическим током и др., то в этом участке нерва возникает состояние пониженной лабильности. Это состояние Введенский назвал парабиозом (para - около, bios - жизнь), то есть состояние около жизни. В

парабиотическом участке нарушена нормальная жизнедеятельность, но парабиоз – это обратимое явление. На нерв, идущий к мышце, Введенский действовал различными агентами. Затем он наносил раздражение током на отравленный участок или выше его, с тем, чтобы импульсы проходили парабиотический участок. Наблюдаются следующие фазы парабиоза:

1. Уравнительная фаза – раздражение малой и большой силы дают почти одинаковый эффект – мышца сокращается одинаково. В нормальном нерве увеличение силы раздражителя (до определенного предела) вызывает усиление сокращения мышцы.

2. Парадоксальная фаза – сильные раздражения вызывают слабый эффект, и, наоборот, слабые раздражения – сильное сокращение мышцы.

3. Тормозящая фаза – ткань утрачивает возбудимость и проводимость. Эффекта от раздражения не будет наблюдаться.

Введенский рассматривал парабиоз как переход возбуждения в торможение.

Задание: исследовать нарушение проводимости нерва при действии на него спирта и восстановление проводимости нерва после прекращения действия раздражителя.

Материал и оборудование: электростимулятор, кимограф, миограф, вилочковые электроды, препаровальный набор, раствор Рингера, пипетка, спирт, лягушка.

Методические указания по выполнению работы:

1. Приготовить нервно-мышечный препарат.
2. Закрепить его в миографе.
3. Подключают электроды к выходу ЭСЛ-2.
4. Переключатель " РОД РАБОТЫ " установить в положении «ПУСК», установить величину задержки импульса 1 с, величину длительности сигнала от 10 мс до 1 с, амплитуду импульса 3-5 В.
5. Нерв раздражать одиночными разрядами тока.
6. На барабане кимографа регистрировать одиночные сокращения мышцы.
7. На нерв положить кусочек ватки, смоченной спиртом.
8. Продолжить наносить электрические раздражения на нерв.
9. Пронаблюдать постепенное уменьшение силы сокращения мышцы, а затем и полное прекращение сокращений.
10. После удаления ватки со спиртом и промывания нерва раствором Рингера наблюдать восстановление проводимости нерва.
11. Обработать опытные данные и оформить работу.
12. Записать ход опыта, зарисовать полученные кривые, заполнить

протокол опыта. Сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 10), в который записывают характер и параметры раздражителя, объект воздействия электрическим током, миограммы при стимуляции интактного и парализованного спиртом нерва.

Таблица 10

Протокол опыта по нарушению и восстановлению проводимости нерва

Раздражитель	Ответная реакция мышцы	
Характер раздражителя – одиночные электрические импульсы. Параметры электрического тока: задержка импульса 1 с, длительность сигнала от 10 мс до 1 с, амплитуда импульса 3-5 В	Миограмма при стимуляции интактного нерва	Миограмма при стимуляции нерва с нанесением на него спирта
Объект воздействия электрическим током – седалищный нерв		

Вопрос для самопроверки

1. Какова причина нарушения проводимости нерва при действии на него наркотических и осмотически активных веществ?
2. Нарушение проводимости нерва при действии на него наркотических и осмотически активных веществ обратимо?
3. Что называется парабиозом?
4. Назовите фазы парабиоза.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 5

Регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) человека и рыб

Цель работы: изучение работы сердца человека и рыбы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

В 1856 г. Келикер и Мюллер с помощью реоскопической лапки показали наличие биопотенциалов в сердечной мышце. Впервые электрокардиограмма в неискаженном виде была зарегистрирована с помощью струнного гальванометра в 1903-1904 гг. Эйнтговеном.

Электрокардиограмму можно зарегистрировать, располагая электроды на разных областях тела. Это объясняется тем, что сердце представляет собой своеобразный генератор электрических потенциалов, являясь биополем, имеющим разность потенциалов на противоположных концах.

Эйнтговеном было предложено регистрировать ЭКГ в трех отведениях (их называют стандартными). Им предложено рассматривать тело человека, как среду с одинаковой проводимостью (одинаковым сопротивлением) во всех участках, а левую руку, правую ногу и левую ногу считать равноудаленными друг от друга и равноудаленными от центра треугольника точками. В центре этого треугольника находится сердце - источник потенциалов. Вектор электродвижущей силы рассматривается как отрезок прямой, лежащей во фронтальной плоскости. Он может смещаться только в этой плоскости вокруг сагиттальной оси. Углы этого треугольника (кисти рук и левую стопу) по предложению Эйнтговена используют в качестве основных точек отведения ЭКГ (рис.4).

Задание: зарегистрировать ЭКГ человека и рыбы, провести анализ полученных кривых: просчитать амплитуду и длительность зубцов ЭКГ, длительность интервалов.

Материал и оборудование: рыба, электрокардиограф,

Методические указания по выполнению работы:

Электрокардиограмму человека записывают с отведениями:

А. Стандартные отведения: I правая рука - левая рука; II правая рука - левая нога; III левая рука - левая нога.

Б. Обычные отведения от грудной клетки (грудные отведения). Один электрод (активный) помещают последовательно в 6 точках грудной клетки, начиная с правого края грудины четвертого межреберья до пятого межреберья по левой среднемышечной линии. Другой электрод (индифферентный) располагают на одной из конечностей (левая рука, правая рука, нога).

Регистрация и анализ электрокардиограммы человека.

1. Познакомиться с инструкцией по эксплуатации электрокардиографа.
2. Прибор заземлить.
3. Включить прибор в сеть, при нулевом положении переключателя отведений прогреть прибор 10-15 мин.
4. Отрегулировать усиление таким образом, чтобы калибровочному сигналу в 1 мВ соответствовало отклонение пистика на 1 см.

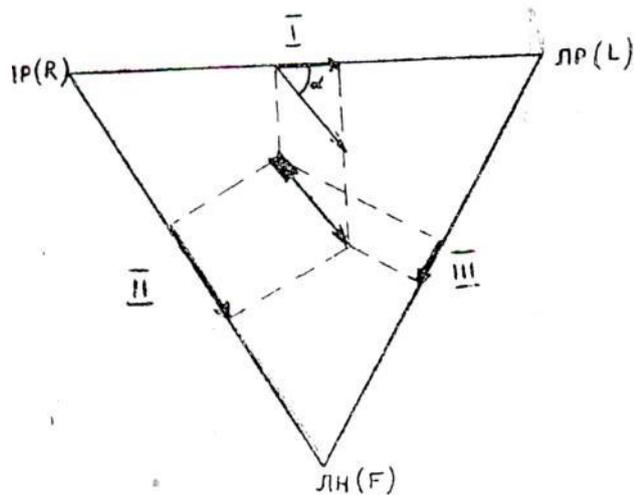


Рисунок 4 Схематическое изображение точек трех стандартных отведений по Эйнтговену:

1P(R) - правая рука; ЛР(L) - левая рука, ЛН(F) - левая нога, I, II, III - стандартные отведения ЭКГ от конечностей

5. Подготовить испытуемого к исследованию. Для этого предплечья и голени в местах наложения электродов освободить от одежды и обработать эфиром. Марлевые бинты смочить физиологическим раствором, подложить под отводящие электроды, а последние закрепить на руках и ногах с помощью резинового бинта.

6. Подключать к отводящим электродам провода "шланга пациента" в следующей последовательности: красный - внутренняя поверхность правого предплечья, желтый - внутренняя поверхность левого предплечья, зеленый - внутренняя поверхность левой голени, черный - внутренняя поверхность правой голени.

7. Предложить испытуемому лечь и максимально расслабиться.

8. Установить переключатель отведений в положение I, затем нажать кнопку успокоителя и проконтролировать работу по колебаниям писчика.

9. Включить лентопротяжный механизм и записать калибровочный импульс (сигналу в 1 мВ должно соответствовать отклонение писчика на 1 см) и ЭКГ.

10. Переключатель положений перевести в положение II и III и аналогичным образом сделать записи во втором и третьем отведениях.

11. Посадить испытуемого на стул и зарегистрировать ЭКГ в трех стандартных отведениях.

12. Зарегистрировать ЭКГ в трех стандартных отведениях в положение стоя.

13. Предложить испытуемому сделать 8-10 приседаний, после этого зарегистрировать ЭКГ в трех стандартных отведениях в положении лежа.

14. После отдыха испытуемого в положении лежа зарегистрировать ЭКГ в трех отведениях при задержке дыхания на вдохе, на выдохе, при редком глубоком дыхании и при напряжении мышц брюшного пресса.

15. При анализе ЭКГ определяют амплитуду и продолжительность отдельных зубцов и длительность интервалов (табл.11).

16. Сравнить полученные кривые с имеющимися в литературе нормативами.

17. Проследить зависимость изменения формы кривых ЭКГ от положения тела испытуемого.

18. Проследить изменения ЭКГ после физической нагрузки, при задержке дыхания, при напряжении мышц брюшного пресса.

Электрокардиограмма человека имеет следующий вид (рис.5).

Часть зубцов направлена вверх (положительные зубцы) от нулевой изопотенциальной линии, а часть вниз (отрицательные зубцы).

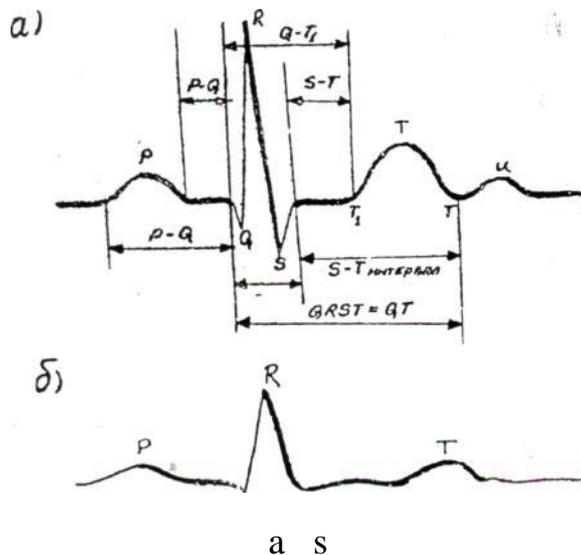


Рисунок 5

а - электрограмма человека; б - электрограмма рыбы.

Регистрация ЭКГ рыбы

В настоящее время известны два метода записи ЭКГ у рыб, неподвижно закрепленных в камере или на специальном станке. Первый способ заключается

в закреплении электродов у головного отдела спинки и брюшка. При этом способе отведений разность потенциалов регистрируется между двумя электродами.

При втором методе к вышеописанным двум электродам добавляется еще один электрод в область хвостового отдела, что несколько повышает информативность метода.

1. Для записи ЭКГ в тело рыбы вводят электроды, функцию которых выполняют мелкие рыболовные крючки. Один из электродов закрепляют между головой и спинным плавником, другой - между грудными плавниками, третий - в районе анального отверстия.

2. Место соединения крючков с телом изолируют клеем БФ.

3. Рыбу с закрепленными в ней электродами помещают в аквариум с экранированной камерой и фиксируют в станке.

4. При снятии ЭКГ, пользуясь коммутатором, можно получать различные отведения.

5. Обработку полученных кривых вести по описанному выше способу.

Электрокардиограмма рыбы напоминает ЭКГ человека (рис.5, б).

Оформление работы: описать ход работы, записать ЭКГ, заполнить протокол опыта, сделать вывод.

Таблица 11

ПОКАЗАТЕЛИ НОРМАЛЬНОЙ ЭКГ ЧЕЛОВЕКА

Зубцы, ЭКГ									
А-амплитуда, мВ				Д-длительность, с					
P		Q		R		S		T	
А	Д	А	Д	А	Д	А	Д	А	Д
0,05-0,25	0-0,1	0-0,2	Макс. 0,03	0,3-1,6	Макс 0,03	0-0,3	Макс с 0,03	0,25-0,6	Макс 0,25

Интервалы				
PQ	QRS	QRST	S - T	R - R
0,12-0,20	0,06-0,09	0,30-0,49	0,00-0,15	0,7-1 (зависит от частоты пульса)

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 12), в который записывают амплитуду, продолжительность отдельных зубцов и длительность интервалов.

Таблица 12

Протокол опыта по изучению электрокардиограммы

Зубцы, ЭКГ									
А-амплитуда, мВ					Д-длительность, с				
P		Q		R		S		T	
А	Д	А	Д	А	Д	А	Д	А	Д
Интервалы									
PQ		QRS		QRST		S - T		R - R	

Вопросы для самопроверки

1. Что такое электрокардиограмма?
2. Какой прибор применяют для регистрации ЭКГ?
3. В чём разница ЭКГ человека и рыбы?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 6

Биотоки. Обнаружение токов покоя и действия в биологических тканях

Цель работы: изучить биотоки в живых тканях.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Любая живая ткань может явиться источником электрических потенциалов (биотоков), которые представляют собой отражение процессов обмена, постоянно протекающих в живой клетке. Различают токи покоя, токи повреждения и токи действия. Впервые биотоки были обнаружены в XVII в. Луиджи Гальвани. Им было поставлено опыты для доказательства наличия электричества в живой ткани.

Задание: обнаружить токи покоя и действия в живой ткани.

Материал и оборудование: лягушка, зеркальный или стрелочный гальванометр, гальванический пинцет, коммутатор, препаровальный набор, стеклянная пластинка, ЭСЛ-2, провода, неполяризующиеся электроды, раствор Рингера.

Методические указания по выполнению работы:

Вторичные сокращения под влиянием токов действия сердца.

1. Лягушку обезглавить и поместить на дощечку брюшком кверху.
2. Обнажить сердце.
3. Седалищный нерв набросить на работающее сердце таким образом, чтобы он касался одновременно предсердия и желудочка. При каждой систоле

желудочка возникает сокращение реоскопической лапки, которое появляется под влиянием тока действия сердца. Сокращение мышц реоскопической лапки опережает во времени сокращение желудочка сердца, так как латентный период сокращения у скелетной мышцы меньше, чем у сердечной.

Второй опыт Гальвани.

1. Из реоскопической лапки готовят нервно-мышечный препарат, кладут его на стеклянную пластинку, отрезают кусочек мышцы.
2. С помощью стеклянного крючка набросить нерв реоскопической лапки на нервно-мышечный препарат таким образом, чтобы нерв касался поврежденного и неповрежденного участков. Лапка сокращается.

Обнаружение токов покоя при помощи гальванометра.

1. Мышцу нервно-мышечного препарата положить на стеклянную пластинку. Перерезать её около сухожильного конца.
2. Один неполяризуемый электрод установить на поверхности мышцы, другой - в области разреза.
3. Электроды соединить через коммутатор с зеркальным или стрелочным гальванометром, который накоротко замкнуть ключом.
4. Разомкнуть цепь. Наблюдать за стрелкой гальванометра (или светового луча). Она отклонится от нуля на длительное время (возникает ток покоя). Силу тока покоя определяют по делениям шкалы, на которые смещается стрелка (или луч).
5. Замкнуть цепь. Перекинуть качалку коммутатора, таким образом, меняется направление тока к гальванометру. При размыкании цепи стрелка гальванометра (или луч) отклонится в противоположную сторону.

Опыт со вторичным сокращением Маттеучи.

1. Для нанесения раздражения использовать ЭСЛ-2 (напряжение 3-5 В, частота 5 Гц).
2. Приготовить два нервно-мышечных препарата.
3. Седалищный нерв первого препарата поместить на электроды, а на мышцу этого препарата наложить нерв второго препарата.
4. Седалищный нерв первого препарата подвергнуть ритмическому раздражению током в течение нескольких секунд. При этом возникают тетанические сокращения обеих лапок: той, нерв которой непосредственно раздражается током, и той, нерв которой лежит на мышце первого препарата. Это объясняется тем, что в мышце первой лапки возникают биотоки, которые раздражают вторую лапку.
5. Для контроля перевязать седалищный нерв второго препарата и повторить раздражение индукционным током. Вторичного сокращения мышц не будет.

Записать ход работы, зарисовать схемы опытов, заполнить протокол опыта, сделайте выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 13), в который записывают названия опытов, подтверждающих наличие биотоков в биологических тканях, и соответственно вид биотоков.

Таблица 13

Протокол опыта по обнаружению биотоков в биологических тканях

№ п/п	Название опыта (эксперимента)	Вид обнаруженного биотока
1	<i>Вторичные сокращения под влиянием токов действия сердца</i>	Ток действия
2	<i>Второй опыт Гальвани</i>	Ток повреждения
3	<i>Обнаружение токов покоя при помощи гальванометра</i>	Ток покоя
4	<i>Опыт со вторичным сокращением Маттеучи</i>	Ток действия

Вопросы для самопроверки

1. Что такое биотоки?
2. Какие виды биотоков известны?
3. Теории возникновения биотоков.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 7

Рефлексы спинного мозга. Анализ рефлекторной дуги. Определение времени рефлекса. Рефлексы положения тела.

Опыт 1 Рефлексы спинного мозга. Анализ рефлекторной дуги

Цель работы: изучить спинномозговые рефлексы у лягушки и рыбы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Рефлекс - ответная реакция организма на воздействие различных раздражителей при участии центральной нервной системы.

Рефлексы могут осуществляться лишь при целостности рефлекторной дуги, в состав которой входят центростремительный и центробежный нейроны и нервный центр. При нарушении одной из этих частей рефлекторной дуги рефлекторная реакция не осуществляется.

Задание: ознакомиться с особенностями спинномозговых рефлексов у лягушки и рыбы при раздражении различных рецепторных полей. Установить

значение различных частей рефлекторной дуги (рецепторы, центростремительные волокна, нервный центр, центробежные волокна) в осуществлении рефлекторного акта.

Материал и оборудование: лягушка, рыба, препаровальный набор, вата, штатив с зажимом и пробкой, 0,5 %-й раствор серной кислоты, стакан с водой, 1 %-й раствор новокаина, фильтровальная бумага.

Методические указания по выполнению работы:

Рефлекс кваканья. У самца лягушки надавливают на боковую поверхность туловища. При каждом прикосновении лягушка квакает.

Рефлекс сгибания задних конечностей.

1. У лягушки отрезать верхнюю челюсть вместе с головным мозгом и подвесить на штатив за нижнюю челюсть.

2. Выждать 10-15 мин, пока пройдут явления шока, затем приступить к опыту.

3. Нанести раздражение на кожу стопы или голени, прикладывая к ней бумажку, смоченную 0,5 %-м раствором серной кислоты. Конечность сгибается, притягивается к туловищу. То же самое происходит при раздражении стопы и голени механическим раздражителем, например, при сдавливании их пинцетом.

Рефлекс разгибания задних конечностей.

1. Нанести раздражение давлением на тыльную поверхность стопы. Пальцы разгибаются. При сильном давлении наступает общее разгибание конечностей.

Рефлекс потирания:

1. Кусочек фильтровальной бумажки, смоченной 0,5 %-м раствором серной кислоты, наложить на наружную поверхность бедра; лягушка той же лапкой сбрасывает бумажку;

2. Приложить бумажку с 0,5 %-м раствором серной кислоты на боковую поверхность туловища, а затем на спину; лягушка сбрасывает бумажку, потирая этот участок туловища;

3. Нанести такое же раздражение коже над ахилловым сухожилием слева.

Обе задние конечности вытягиваются, правая лапка потирает голеностопным суставом раздражаемый участок;

4. Нанести раздражение кожи на груди ближе к одной из передних лапок.

Передняя конечность раздражаемой стороны потирает это место, а другая конечность вытягивается вперёд, раздвинув пальцы, или производит потирание, но менее энергично.

Далее произвести анализ рефлекторной дуги.

1. Удалить кожные рецепторы на той же лапке.

2. Сделать круговой разрез кожи в области голени, снять кожу с голени и стопы, как чулок.

3. На эту лапку снова нанести раздражение кислотой. Ответной реакции не будет, так как рецепторы мышцы, в отличие от кожных рецепторов, не реагируют на слабый раствор кислоты.

4. Если же приложить раздражитель к другой лапке, то первая лапка будет участвовать в общей двигательной реакции, так как двигательный нерв у неё сохранён.

5. Лягушку обмыть холодной водой. Обнажить седалищный нерв неповреждённой стороны и подвести под него лигатуру. Вызвать рефлекс этой лапки.

6. Затем под нерв кладут ватку, смоченную 1%-м раствором новокаина. Седалищный нерв - смешанный: в нём имеются чувствительные и двигательные волокна. При воздействии новокаина на нервный ствол сначала прекращается проведение по чувствительным волокнам, а затем - по двигательным.

7. Через 1-2 мин действия новокаина производится раздражение лапки 0,5 %-м раствором серной кислоты. Рефлекс отсутствует, так как наступил паралич центростремительных волокон.

8. Если положить фильтровальную бумажку с кислотой на спину лягушки, то лапка будет принимать участие в общей двигательной реакции. Следовательно, проведение по центробежным волокнам ещё сохранилось.

9. Через 4-5 мин действия новокаина наступает паралич центробежных волокон, и на раздражение кожи спины ответной реакции не наблюдается, что говорит о нарушении проводимости по нерву.

10. Разрушить спинной мозг - выключить нервные центры. Исчезают все рефлекторные реакции.

Рефлексы спинного мозга рыбы.

1. Обезглавливают рыбу или перерезают у неё спинной мозг под продолговатым мозгом.

2. Рыбу с перерезанным спинным мозгом пустить в аквариум и наблюдать за её движениями. Рыба плавает в том же положении, какое ей придадут (на спине или на боку), самостоятельно перевернуться она не может.

3. Подвешивая рыбу на штативе, произвести раздражение хвоста пощипыванием и 0,5%-м раствором серной кислоты. Рыба отдергивает хвост.

Обработка опытных данных и оформление работы: запишите ход работы, анализируя эксперимент, приведите доказательства участия в рефлекторной реакции каждого звена рефлекторной дуги (рецептора,

афферентного волокна, центральной нервной системы, эфферентного волокна), заполните протокол опыта, сделайте выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 14 и 15), в который записывают раздражаемые рецепторные поля и соответственно характер рефлексов, а также звенья рефлекторной дуги, последовательно выключаемые с целью анализа рефлекторной дуги.

Таблица 14

Протокол опыта по изучению спинномозговых рефлексов у лягушки и рыбы

Название опыта	Раздражаемое рецепторное поле	Выражение спинного рефлекса
<i>Рефлекс кваканья</i>	Надавливание на боковую поверхность туловища.	Лягушка квакает
<i>Рефлекс сгибания задних конечностей</i>	Кожа стопы или голени	Конечность сгибается, притягивается к туловищу
<i>Рефлекс разгибания задних конечностей</i>	Тыльная поверхность стопы	Пальцы разгибаются. При сильном давлении наступает общее разгибание конечностей.
<i>Рефлекс потирания</i>	Наружная поверхность бедра. Боковая поверхность туловища. Спина. Кожа над ахилловым сухожилием. Грудь	Лягушка той же лапкой сбрасывает бумажку. Лягушка сбрасывает бумажку, потирая этот участок туловища. Задние конечности вытягиваются, правая лапка потирает голеностопным суставом раздражаемый участок. Передняя конечность потирает грудь, а другая конечность вытягивается вперёд, раздвинув пальцы, или производит потирание, но менее энергично.
<i>Рефлексы спинного мозга рыбы</i>	Хвост	Рыба отдергивает хвост.

Протокол опыта по анализу рефлекторной дуги

№ п/п	Удаление звеньев рефлекторной дуги	Рефлекс
1	Удаление кожных рецепторов посредством снятия кожи на лапке	Отсутствует
2	Паралич центростремительных волокон седалищного нерва через 1-2 мин после нанесения на него новокаина	Отсутствует, но лапка будет принимать участие в общей двигательной реакции при раздражении спины т.к. проведение по центробежным волокнам ещё сохранилось
3	Паралич центробежных волокон седалищного нерва через 4-5 мин после нанесения на него новокаина	Отсутствует
4	Разрушают спинной мозг - выключают нервные центры	Отсутствует

Вопросы для самопроверки

1. Что такое рефлекс?
2. Что такое рецепторное поле?
3. Что такое рефлекторная дуга?
4. Из каких частей состоит рефлекторная дуга?

Опыт 2 Определение времени рефлекса.

Цель работы: освоить методику определения времени рефлекса.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Время рефлекса - это время от момента нанесения раздражения до появления рефлекторной реакции. При увеличении силы раздражения время рефлекса уменьшается.

Задание: определить время рефлекса и зависимость его от раздражителя.

Материал и оборудование: лягушка, метроном, штатив с зажимом, пробка, стакан с водой, препаративный набор, 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; и 1,0 %-е растворы серной кислоты.

Методические указания по выполнению работы:

1. Приготовить спинальную лягушку.
2. Подвесить ее к штативу. Включить секундомер.
3. Опустить заднюю лапку в химический стаканчик с 0,1 %-м раствором серной кислоты.

4. Зафиксировать время от момента погружения лапки в раствор до того момента, когда лягушка выдёргивает лапку из раствора. Это время характеризует время рефлекса.

5. Лягушку обмывают водой.

6. С интервалом в 3 мин. последовательно погружают лапку в растворы 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 и 1,0%-й серной кислоты, а затем определяют время рефлекса. После каждого раздражения промывают физиологическим раствором.

Оформление работы: записать ход работы, заполнить протокол опыта, сделать вывод.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 16), в который записывают параметры раздражителя и время рефлекса.

Таблица 16

Протокол опыта по определению времени рефлекса в зависимости от силы раздражителя

Раздражитель (раствор серной кислоты) %	Время (сек.)
0,1	
0,2	
0,3	
0,4	
0,5	
1,0	

Сравнить полученные данные и сделать вывод.

Вопросы для самопроверки

1. Что такое время рефлекса?
2. Какая имеется зависимость между силой раздражения и временем рефлекса?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 8

Влияние химических сигналов на пищевое поведение рыб. Определение зон вкусовосприятия на языке человека.

Опыт 1 Влияние химических сигналов на пищевое поведение рыб

Цель работы: оценить привлекательность для рыб различных экстрактов и растворов веществ в поведенческом эксперименте.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Хеморецепция - способность воспринимать и распознавать химические раздражители, определять их концентрацию и локализовать источник.

Хеморецепция рыб представлена органами обоняния, вкуса и общего химического чувства (свободными окончаниями блуждающего, тройничного и некоторых спинномозговых нервов, а также одиночными хеморецепторными клетками в различных областях кожи). Хеморецепция рыб чрезвычайно высоко развита. Например, обонятельный анализатор рыб в сотни раз более чувствителен, чем у человека.

Химическое чувство рыб имеет важное значение во всех проявлениях жизнедеятельности рыб: в стайном, миграционном, защитном, репродуктивном, родительском поведении. Особенно велика роль химического чувства большинства рыб в пищевом поведении, лежащего в основе важнейшей жизненной функции рыб - питание.

Задание: Пронаблюдать контактное пищевое поведение (реакцию) рыб на химические раздражители.

Материал и оборудование: аквариумы, рыба (до 10 экз.), различные экстракты, экспериментальная установка «Удочки».

Методические указания по выполнению работы:

Реакцию рыб на химические раздражители наблюдают с помощью экспериментальной установки, позволяющей количественно оценить контактное пищевое поведение. Регистрирующее устройство представляет собой планку с расположенными на ней 4-мя датчиками - контактами. Каждый датчик снабжён одним тонким металлическим маятником, к концу которого на специальном зажиме крепится кусочек поролон.

1. Поролон на двух маятниках установки смачивается раствором испытуемого вещества.

2. Поролон на двух других маятниках смачивается водой (контроль).

3. Планку с маятниками устанавливают на аквариум, при этом маятники опускаются в воду.

Если вещество не безразлично рыбе, она начинает хватать поролон ртом, тянуть его вниз и в стороны (т.е. клевать), что приводит к замыканию контактов в датчике. Электрические импульсы при замыкании датчиков в отдельности фиксируются специальным электронным счётчиком.

4. По числу поклёвок опытных (X) и контрольных (Y) удочек в шести-восьми опытах оценивают привлекательность для рыб испытуемых растворов.

5. Эксперимент состоит, как правило, из восьми последовательных опытов. Продолжительность опыта 1,5 мин.

6. При каждом последующем опыте меняют местами опытные и контрольные маятники с поролоном.

7. Данные по количеству поклёвок заносят в таблицу протокола проведения эксперимента (таблица 17).

8. Производится статистическая обработка данных по количеству поклёвок для оценки достоверности различий между поклёвками опытных и контрольных маятников. Оценка достоверности различий производится по статистическому критерию Стьюдента (t_{st}).

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 17), в который записывают количество поклёвок рыбой опытных и контрольных «удочек».

Таблица 17

Протокол опыта по изучению влияния веществ на пищевое поведение рыб

Опыт (X)									n	$\sum X$
Контроль (Y)									n	$\sum Y$
$d^2 = (X - Y)^2$									n	$\sum d^2 =$

$$\bar{X} = \sum X / n; \quad \bar{Y} = \sum Y / n;$$

$$\bar{X} - \bar{Y} = d \quad n - \text{число опытов} - 8$$

$$d^2 = (X - Y)^2; \quad \bar{d} = \sum(d / n) = \bar{X} - \bar{Y};$$

$$t_{\text{фактич.}} = \bar{d} / m_d; \text{ где } m_d - \text{ошибка средней; } m_d = \sqrt{(1/(n-1)) (\sum d^2 / n - d_{\text{ср}}^2)}$$

Если $t_{\text{фактич.}} \geq t_{st}$, то разность достоверна, следовательно, вещество привлекает рыбу

Табличные данные: для 6 опытов $t_{st} = 2,57$; для 8 опытов $t_{st} = 2,36$

Вопросы для самопроверки

1. Что называется хеморецепцией?
2. Назовите органы химического чувства рыб.
3. Значение хеморецепции в жизни рыб?
4. Кто такие рыбы макросматики и микросматики?

Опыт 2 Определение зон вкусовосприятия на языке человека

Цель работы: изучение вкусового анализатора.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Вкусовые рецепторы человека воспринимают сладкое, горькое, кислое и солёное. Раздражающим действием для вкусовых рецепторов обладают только вещества, растворимые в воде. Поверхность языка имеет неодинаковую чувствительность к разным видам вкусовых раздражителей, так как для каждого из четырёх видов первичных ощущений вкуса имеются свои рецепторы. Кончик языка более чувствителен к сладкому, боковые части - к кислому, корень - к солённому и горькому.

Задание: исследовать вкусовой рецептор у человека, определить зоны вкусовосприятия кислого, горького, сладкого и солёного на языке.

Материал и оборудование: четыре пипетки, четыре химических стаканчика, дистиллированная вода, цветные карандаши, 50%-й раствор сахара, 20%-й - поваренной соли, 1%-й - лимонной кислоты, 1%-й солянокислого хинина.

Методические указания по выполнению работы:

1. Ассистенту стеклянной палочкой нанести капельки 50%-го раствора сахара на кончик языка, края, среднюю часть, корень языка испытуемому.

2. Спросить об ощущениях.

3. После каждой пробы прополоскать рот дистиллированной водой. То же проделать с другими растворами: 1%-м солянокислым хитином, 20%-м поваренной соли, 1%-м лимонной кислоты.

4. Делать промежутки между исследованиями - 2 мин.

Оформление работы: зарисовать схему языка, на которой цветными карандашами или разной штриховкой отметить полученные данные, заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 18), в который записывают область нанесения вкусовых веществ на язык и ощущения испытуемого.

Таблица 18

Протокол опыта по изучению вкусовых ощущений

Область нанесения растворов на язык	Ощущения
Кончик языка	Сладкое
Боковые края языка	Кислое
Средняя часть языка	Солёное
Корень языка	Солёное и горькое

Вопросы для самопроверки

1. Каково значение вкусового анализатора?
2. Как устроены вкусовые почки?
3. Какие зоны языка ответственны за восприятие кислого, сладкого, горького, солёного?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 9

Ферменты поджелудочной железы. Воздействие панкреатина на белок. Фермент желудочного сока. Воздействие желудочного сока на белок

Цель работы: изучение состава и свойств желудочного сока. Наблюдение действия ферментов поджелудочной железы и желудочного сока на составные части пищи.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Основным желудочным ферментом является пепсин, который переваривает белки до составных частей альбумоз и пептонов. В составе желудочного сока выделяется неактивная форма – пепсиноген. В дальнейшем под воздействием HCl пепсиноген переходит в активную форму - пепсин.

В кишечник поступают ферменты поджелудочной железы, благодаря чему в переднем отделе кишечника идут наиболее активно процессы пищеварения. Сок поджелудочной железы имеет щелочную реакцию и содержит ферменты, расщепляющие белки, жиры и углеводы.

Задание: пронаблюдать действие желудочного сока и панкреатина на белок куриного яйца.

Материал и оборудование: желудочный сок (из аптеки), 0,2%-ая соляная кислота, сок поджелудочной железы или 2%-й раствор панкреатина, белок, водяная баня, термометр, электроплитка, два стаканчика.

Методические указания по выполнению работы:

1. Наливают в стаканчики по 10 мл. желудочного сока и панкреатина.
2. В каждый стаканчик добавляем по 2 ч.л. белка куриного яйца.
3. В стаканчик с желудочным соком можно добавить 1-2 капли HCl.
4. Оба стаканчика помещаем в водяную баню с температурой 40⁰ С.
5. Через полчаса стаканчики вынимают и наблюдают степень переваривания белка пепсином и панкреатином.

Оформление работы: записать ход работы, заполнить протокол опыта, сравнить действие пищеварительных секретов на белок, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 19), в который записывают действующие на белок куриного яйца пищеварительные секреты и степень переваривания ими белка.

Протокол опыта по наблюдению действия ферментов желудочного сока и панкреатина на белок куриного яйца

Пищеварительный секрет	Наблюдаемая степень переваримости
Желудочный сок (пепсин)	Крупные хлопья пептидов
Панкреатин	Гомогенная масса мономеров белка

Вопросы для самопроверки

1. Какие ферменты содержатся в желудочном соке, и на какие составные части пищи они действуют?
2. Какое значение имеет соляная кислота желудочного сока?
3. Каково строение поджелудочной железы у рыб?
4. Какие ферменты содержатся в соке поджелудочной железы?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 10

Наблюдение за работой ресничного эпителия пищевода лягушки.

Движение изолированного кишечника лягушки.

Определение двигательного пищевого рефлекса рыб.

Опыт 1 Наблюдение за работой ресничного эпителия пищевода лягушки

Цель работы: изучить работу мерцательного эпителия.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Передвижение пищи по пищеварительным путям происходит благодаря перистальтическим движениям. У некоторых низших позвоночных в этом участвуют также мерцательный эпителий.

Задание: пронаблюдать работу мерцательного эпителия пищевода лягушки.

Материал и оборудование: лягушка, препаровальный набор, физраствор, чашка Петри, косметические блески.

Методические указания по выполнению работы:

1. У лягушки вскрывают брюшную и грудную полость и удаляют внутренности, закрывающие доступ к кишечнику.
2. Вырезают пищевод и вскрывают его продольным разрезом.
3. Концы пищевода прикрепляют булавками к парафиновой пластинке слизистой оболочкой вверх.
4. Увлажняют слизистую физиологическим раствором.
5. Насыпают на верхний отдел пищевода блёстки.

Через некоторое время все блёстки собираются на конце пищевода у желудка.

Оформление работы: записать ход работы, сделать зарисовки, сделать вывод.

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведения наблюдений за перемещением косметических блёсток по слизистой пищевода делается соответствующий вывод и проводится зарисовка препарата (схемы эксперимента с указанием направления перемещения блёсток).

Вопросы для самопроверки

1. Что называют ресничным (мерцательным) эпителием?
2. Где находится у различных животных мерцательный эпителий?
3. Каковы функции мерцательного эпителия?

Опыт 2 Движение изолированного кишечника лягушки

Цель работы: наблюдение за работой изолированного кишечника у лягушки.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Передвижение пищи по пищеварительным путям происходит благодаря перистальтическим движениям кишечника. Эти движения обусловлены сокращением гладкой мускулатуры стенок кишечника. Сокращения гладких мышечных волокон стенки кишечника обеспечивает моторную функцию кишечника, которая способствует перемешиванию пищевого химуса, пропитке его кишечными соками и желчью, продвижению пищевого химуса по кишечнику. Регулируются сокращения мышц рефлекторно при растяжении стенок кишечника во время заполнения его пищевым химусом.

Задание: отпрепарировать кишечник лягушки и рассмотреть его перистальтические движения в физиологическом растворе.

Материал и оборудование: лягушка, препаровальный набор, физиологический раствор, чашка или стакан.

Методические указания по выполнению работы:

1. Обездвиживают лягушку.
2. Кишечник лягушки вырезают на всём его протяжении, начиная от желудка и вплоть до анального отверстия.
3. Кишечник заполняют водой и перевязывают его с обеих сторон ниткой.
4. Кишечник помещают в чашечку с физиологическим раствором и наблюдают движения.

Можно видеть медленное изменение формы петель, образование сужений и медленные движения перистальтического типа.

Оформление работы: записать ход работы, сделать зарисовки, сделать вывод.

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведённых наблюдений за движениями кишечника в чашке с физиологическим раствором делаются соответствующие выводы. Проводится зарисовка схемы опыта.

Вопросы для самопроверки

1. Что такое процесс пищеварения?
2. В чем заключается моторная функция желудочно-кишечного тракта?
3. Какой тип ткани обуславливает перистальтику кишечника?
4. Как регулируется перистальтика кишечника?

Опыт 3 Определение двигательного пищевого рефлекса рыб

Цель работы: овладеть методикой выработки двигательного пищевого рефлекса рыб.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Условные рефлексы - это реакции, приобретаемые организмом в процессе индивидуального развития на основе "жизненного опыта", они являются индивидуальными: у одних представителей одного и того же вида они могут быть, а у других отсутствуют, непостоянны и в зависимости от определенных условий они могут выработаться, закрепиться или исчезнуть. Для образования условного рефлекса необходимо сочетание времени какого-либо изменения внешней среды и внутреннего состояния организма с осуществлением того или иного безусловного рефлекса. Только при этом условии изменение внешней среды или внутреннего состояния организма становится раздражителем условного рефлекса - условным раздражителем, или сигналом. Раздражение, вызывающее безусловный рефлекс, - безусловное раздражение - должно при образовании условного рефлекса сопутствовать условному раздражению, подкреплять его.

Первостепенную роль в жизни животных, в том числе и рыб, играет пищевой рефлекс. Пищевые реакции рыб очень разнообразны. При наблюдении поведения рыб было замечено, что они часто схватывают ртом находящиеся в воде несъедобные частицы. Когда в аквариум опускали на нитке бусину, рыба тотчас схватывала ее. Если эту реакцию начать подкреплять дачей пищи, а в дальнейшем связать с действием условного сигнала, она быстро становится условнорефлекторной.

Задание: выработать у рыбы условный пищевой рефлекс дёргания бусины в ответ на световой сигнал.

Материалы и оборудование: карась и устройство для выработки условного рефлекса.

Методические указания по выполнению работы:

1. Поместить рыбу в аквариум, в одном углу которого устроена кормушка (2) (рис. 6) в виде воронки, откуда пища бесшумно сливается с проточной водой по трубке (3) из напорной емкости.

2. Повесить перед кормушкой на нитке бусину (1). Рыба начинает ее дергать.

3. Это движение подкрепить подачей корма.

Нитка бусины прикреплена к концу коромысла (4), другой конец которого, закреплен к электроконтакту электронных лампочек за аквариумом. Включение условных раздражителей регистрируется на ленте кимографа электромагнитным отметчиком, включенным параллельно сетевой цепи раздражителей. Длительность действия условных раздражителей 3–5 сек. Интервалы между раздражителями 2–3 мин. Сначала рыба часто дергает бусинку и без действия условных раздражителей, но по мере выработки условного рефлекса количество хаотичных дерганий бусинки уменьшается и со временем исчезают вовсе.

4. Отметить, на каком этапе появился условный пищевой рефлекс дергания бусинки в ответ на световой сигнал.

5. Отметить сокращение латентного периода условного рефлекса в процессе его выработки.

Оформление работы: записать ход работы, зарисовать устройство для выработки двигательного пищевого рефлекса, сделать выводы.

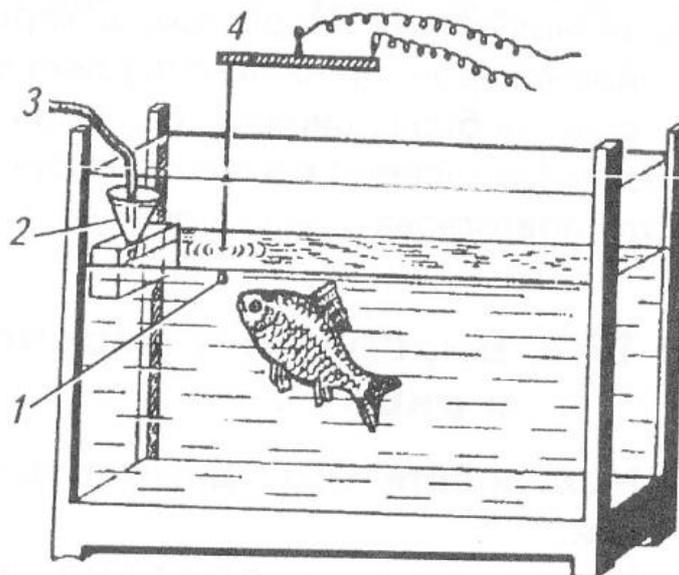


Рисунок 6 Устройство для выработки двигательного пищевого рефлекса у рыбы

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведённых наблюдений за выработкой двигательного пищевого рефлекса делается соответствующий вывод о времени выработки условного пищевого рефлекса дергания бусинки в ответ на световой сигнал, сокращении латентного периода условного рефлекса в процессе его выработки. Зарисовывается устройство для выработки двигательного пищевого рефлекса.

Вопросы для самопроверки

1. Что называется рефлексом?
2. Какие бывают рефлексы по биологическому значению?
3. Что такое условный рефлекс?
4. В чём выражается двигательный пищевой рефлекс?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 11

Изучение механизма жаберного дыхания рыб. Изучение влияния температуры воды на дыхательные движения рыбы. Исследование влияния кислородного голодания на частоту дыхания рыбы.

Опыт 1 Изучение механизма жаберного дыхания рыб

Цель работы: изучить механизм жаберного дыхания.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Жаберный газообмен может быть эффективным только при постоянном токе воды через жаберный аппарат. Вода орошает жаберные лепестки постоянно. Нагнетание воды с омыванием жабр обеспечивают два насоса - ротовой и жаберный.

При вдохе открывается ротовое отверстие, жаберные дуги отходят в стороны, жаберные крышки наружным давлением плотно прижимаются к голове и закрывают жаберные щели.

Из-за разницы в давлении вода всасывается в жаберную полость, омывая жаберные лепестки. При выдохе ротовое отверстие рыбы закрывается, жаберные дуги и жаберные крышки двигаются навстречу друг другу: давление в жаберной полости увеличивается, жаберные щели открываются, и вода выжимается через них наружу. При плавании, рыба может создавать ток воды, двигаясь с открытым ртом.

Задание: пронаблюдать за движением рта и жаберных крышек, потоком суспензии при вдохе и выдохе.

Материалы и оборудование: карась, ванна, пипетка, резиновая груша, пружинки (распорки).

Методические указания по выполнению работы:

1. Небольшую рыбу помещают в стеклянную ванну.
 2. Длинной пипеткой с резиновой грушей, подводят к ней суспензию (например, толченый древесный уголь).
 3. Следят за движением рта и жаберных крышек. Отмечают прохождение суспензии во время вдоха в рот и выведение ее в форме облачков из - под жаберных крышек.
 4. Вставив в рот отрезок резиновой трубки или распорку, не дают рыбе возможность закрыть рот. Наблюдаем за движением суспензии во время дыхания рыбы и убеждаемся в том, что во время выдоха ритмический выброс воды из-под жаберных крышек сохранился и не отмечается ни одного обратного выброса через открытый рот.
 5. У мертвой рыбы вырезают жаберные дуги с одной стороны так, чтобы дуги не разъединились.
 6. Передвигая этот препарат в воде туда и обратно, наблюдают опадание и расправление лепестков, а также фиксируют неодинаковые сопротивления воды в разных движениях. Тем самым показывают клапанную роль жаберных лепестков в дыхательном потоке воды.
- Оформление работы: записать ход работы, зарисовать схему акта вдоха и выдоха с указанием потоков воды. Сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведенных наблюдений за механизмом жаберного дыхания рыб делаются соответствующие выводы о работе ротового и жаберного насосов. Зарисовывается схема акта вдоха и выдоха с указанием потоков воды.

Вопросы для самопроверки

1. Что такое жаберный насос?
2. Где больше падение давления – в ротовой полости рыбы или в жаберной полости?

Опыт 2 Изучение влияния температуры воды на дыхательные движения рыбы

Цель работы: установить зависимость дыхательных движений рыб от температуры.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Одним из существенных экологических факторов, влияющих на дыхательные движения рыбы, является температура окружающей среды. С повышением температуры частота дыхания увеличивается, с уменьшением - снижается. У некоторых рыб при пониженной температуре наблюдается аритмия

дыхания, когда периоды учащения чередуются с периодами отсутствия дыхательных движений. При крайне высокой температуре наступает остановка дыхания и тепловая смерть. Частоту дыхания нельзя рассматривать в рамках простых физико-химических закономерностей уменьшения растворимости кислорода в воде с повышением ее температуры. Здесь также играют роль температурные данные колебания кислородной емкости крови и интенсивность обмена веществ.

Задание: проследить, как влияет повышение температуры среды на частоту и амплитуду дыхания рыбы.

Материалы и оборудование: карась, устройство для фиксации рыбы, ванна, миограф, кимограф, термометр, секундомер.

Методические указания по выполнению работы:

1 вариант:

1. Небольшую рыбу фиксируют на боку в устройство для фиксации и помещают в ванну с водой.

2. К заднему краю жаберной крышки хирургической иглой пришивают нитку, свободный конец, который выводят из воды и прикрепляют к рычагу самописца.

3. При записи дыхания регистрируют время.

4. В ванну помещают термометр. Опыт проводят при температуре 5–10 °С.

5. На барабане записывается количество дыхательных движений.

6. Повышают температуру доливанием теплой воды и повторяют запись дыхания, через каждые 5 °С до достижения температуры 25 – 30°С. Остановка дыхания в интервале этих температур свидетельствует о чрезмерно быстром нагревании.

7. Отмечают, что по мере возрастания температуры возрастает амплитуда дыхательных движений и частота дыхательных движений.

8. По записям частоты дыхания при разных температурах подсчитывают эти показатели и сопоставляют их с содержанием в воде кислорода.

2 вариант:

1. В колбу, объемом 500 мл наливают воду комнатной температуры и помещают рыбу массой 5 – 10 г.

2. Опускают в колбу термометр и закрепляют его в горлышке колбы с помощью поролоновой пробки.

3. Дают рыбе успокоиться и с помощью секундомера определяют частоту дыхательных движений.

4. Колбу с рыбами, помещают в емкость со снегом, а затем в горячую воду. По мере изменения температуры воды в колбе измеряют частоту дыхательных движений рыбы за 1 минуту.

5. Строят кривую температурной зависимости частоты дыхательных движений.

6. При обсуждении результатов опыта следует иметь в виду, что полученные данные характеризуют неадаптированную рыбу, поскольку при быстром изменении температуры (1 -2°C в мин) рыба не успевает полностью адаптироваться к новым условиям.

7. Проанализируйте влияние температуры на дыхательную активность рыбы.

Оформление работы: записать ход работы, заполнить протокол опыта, построить кривую температурной зависимости частоты дыхательных движений, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 20), в который записывают температуры проведения опытов, частоту и амплитуду дыхательных движений рыбы.

Таблица 20

Протокол опыта по изучению влияния температуры воды на дыхательные движения рыбы

Т°С	Частота дыхательных движений в минуту	Амплитуда дыхательных движений (мм)
10		
15		
20		
25		
30		

Вопрос для самопроверки

Как влияет температура воды на амплитуду и частоту дыхания рыбы?

Опыт 3 Исследование влияния кислородного голодания на частоту дыхания рыбы

Цель работы: изучить влияние кислородного голодания на частоту дыхания рыбы.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Рыбы, как и другие животные, не могут существовать без кислорода, который поступает в организм через органы дыхания с кровью. Большинство рыб приспособились дышать растворённым в воде кислородом, поступающим через жабры. Частота дыхания зависит от видовой принадлежности рыбы и от содержания кислорода в воде. Чем оно меньше, тем чаще приходится дышать рыбе.

Рот и жаберные крышки рыб действуют как меха: ротовая полость всасывает воду, которая затем выбрасывается через жаберные щели. Частота дыхательных движений у разных рыб различна. У подвижных жаберные крышки двигаются замедленно: двигаясь в воде, рыбы тем самым создают дополнительный ток воды. У донных рыб частота движения обычно выше. По частоте движения можно определить состояние рыб.

Задание: провести подсчёт частоты дыхания рыбы, находящейся в условиях достаточного содержания кислорода и в условиях дефицита кислорода.

Материалы и оборудование: рыба массой 10–20 г., секундомер, аквариум, сачок.

Методические указания по выполнению работы:

1. Определяем частоту дыхания рыбы в состоянии покоя.
2. Вынимаем рыбу на 5 мин из воды и снова возвращаем в воду.
3. Подсчитываем частоту дыхания, сразу по возвращении рыбы в воду и через 10 мин.
4. По полученным данным строим график.

Оформление работы: записать ход работы, заполнить протокол опыта, построить кривую зависимости частоты дыхания рыбы от кислородного голодания.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 21), в который вносятся данные по измерению частоты дыхательного ритма рыбы. Делается вывод о воздействии на рыб пониженного содержания кислорода в воде.

Таблица 21

Протокол опыта по изучению влияния на рыб пониженного содержания кислорода

Сроки измерений дыхательных движений рыбы (мин)	Частота дыхания
0	
5	
10	

Вопросы для самопроверки

1. Как воздействует на частоту дыхания рыб повышенное содержание кислорода в среде?
2. Как влияет кислородное голодание на частоту дыхания рыб?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 12

Измерение кровяного давления. Наблюдение автоматизма работы сердца и действия солей, гормонов на работу сердца. Определение частоты сокращения сердца в зависимости от температуры.

Опыт 1 Определение группы крови

Цель работы: Освоить методику определения группы крови

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

На основании реакции агглютинации эритроцитов установлено, что кровь человека может быть одной из 4-х групп. Кровь различных групп отличается содержанием агглютининов и агглютиногенов. Агглютинины - склеивающие вещества, которые находятся в плазме. Агглютиногены - вещества, способные склеиваться, находятся в эритроцитах.

Имеются 2 вида агглютиногенов - А и В и соответственно 2 вида агглютининов - α и β . Реакция агглютинации, т.е. склеивание эритроцитов в комочки, наступает лишь при смешении одноименных агглютиногенов и агглютининов, например А и α или В и β (агглютинация - это не свертывание крови - выпадения фибрина в виде нерастворимых нитей).

При переливании крови учитывают, прежде всего, свойства эритроцитов донора, т.к. плазма вводится в малом количестве и, разводясь в крови реципиента, теряет свои агглютинирующие свойства. Но при переливании большого количества крови учитывают и агглютинины донора.

Группы крови определяют по свойствам эритроцитов, которые устанавливают с помощью стандартных сывороток, содержащих известные агглютинины.

Задание: определить группу крови.

Материал и оборудование: предметное стекло, стеклянные палочки, стандартные сыворотки I, II, III гр., игла франка, спирт, вата, йодная настойка.

Методические указания по выполнению работы:

1. Предметное стекло поместить на белую бумагу и нанести на него (не смешивая) по 1 капле стандартных сывороток I, II и III гр., содержащих соответственно агглютинины: I - α и β ; II - β ; III - α

2. Получив каплю крови из пальца, стеклянной палочкой перенести её в каплю сыворотки I гр.

3. Вторым чистым концом этой же палочки такое же количество крови переносят в сыворотку II гр.

4. При помощи другой стеклянной палочки 3-ю каплю переносят в сыворотку III гр.

5. Тщательно перемешивают кровь в капле сыворотки палочкой до тех пор, пока смесь не примет равномерно розовый цвет. Реакция агглютинации наступает через 1-5 минут. При наличии агглютинации капля становится прозрачной, а эритроциты склеиваются в виде комочков.

Группа крови устанавливается в зависимости от агглютинации.

А. Отсутствие агглютинации во всех 3-х каплях говорит об отсутствии агглютиногенов в эритроцитах исследуемой крови, и, следовательно, она принадлежит I-ой (0) группе.

Б. Если агглютинация произошла с сыворотками I и III гр., содержащими соответственно агглютинины α и β и β , то эритроциты крови содержат агглютиноген A и эта кровь принадлежит ко II (A) гр.

В. Если агглютинация произошла с сыворотками I и II гр., содержащими агглютинины α и β и β , то эритроциты крови содержат агглютиноген B и эта кровь принадлежит к III (B) гр.

Г. Наличие агглютинации во всех 3-х каплях говорит о присутствии в эритроцитах крови агглютиногенов как A, так и B и, следовательно, она принадлежит к IV (AB) гр.

Оформление работы: записать ход работы, зарисовать схему опыта, в которой отразить штриховкой реакцию агглютинации, сделать вывод о принадлежности крови к той или иной группе.

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведённых наблюдений за реакцией агглютинации эритроцитов в сыворотках делаются соответствующие выводы о принадлежности крови к той или иной группе.

Вопросы для самопроверки

1. К какой группе принадлежит исследуемая вами кровь?
2. Каким реципиентам может быть перелита кровь этой группы?
3. Кровь какого донора можно перелить вам?
4. На каком принципе основана методика определения группы крови?
5. Если кровь донора I группы может быть перелита реципиенту с III группой крови, то почему нельзя сделать наоборот? (т.е. кровь III гр. перелить человеку с I гр.).

Опыт 2 Определение гемолиза эритроцитов

Цель работы: научиться определять такие изменения эритроцитов, которые сопровождаются выходом гемоглобина в окружающую среду.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Гемолиз – это разрушение эритроцитов с выходом гемоглобина в окружающую эритроциты среду. Гемоглобин эритроцитов, выходя в плазму крови, окрашивает ее в красный цвет, и кровь становится прозрачной - "лаковая

кровь". *Осмотический гемолиз* может возникнуть в гипотонической среде (содержание солей в ней меньше 0,85 %). Если эритроцит поместить в гипотонический раствор плазмы, то согласно закону осмоса, часть жидкости плазмы проникает в него, эритроциты разбухают и разрываются. Концентрация раствора NaCl, при которой начинается гемолиз, носит название минимальной осмотической резистентностью эритроцитов. В норме она колеблется между 0,48-0,46 %. Концентрация раствора NaCl, при которой наступает полный гемолиз, называется максимальной резистентностью эритроцитов. Она равна 0,34-0,32 %. Осмотический гемолиз возможен только *in vitro*, т.к. в целостном организме кровь ни при каких условиях не может достигнуть столь выраженной гипотоничности.

Задание: пронаблюдать разрушение эритроцитов в гипотонической среде (содержание солей в растворе меньше 0,85 %).

Материалы и оборудование: дефибриллированная кровь, штатив с пробирками, цилиндр на 10 мл, пастеровская пипетка, мерная пипетка на 5 мл. Растворы NaCl 0,1 %, 0,9 %, 2 %, 0,1% HCl, 0,1% NaOH, нашатырный спирт и дистиллированная вода.

Методические указания по выполнению работы:

1. Пронумеровать 6 пробирок.
2. В первую пробирку внести 2 мл 0,9 %, физиологического раствора, во вторую – 2 мл 0,1 % раствора NaCl, в третью – 2 мл 2 % NaCl, в четвертую – 1 мл физ. раствора и 1 мл 0,1 % NaOH, в пятую – 1 мл 0,1 % раствора HCl, в шестую – 1 мл физ. раствора (0,9 %) и 1 мл нашатырного спирта.
3. Во все пробирки добавить по 2 капли крови.
4. Закрывать пробирку пальцем, взболтать трижды и поставить в штатив на 15 – 20 минут, отметить, в каких пробирках наступает гемолиз.

Оформление работы: заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 22), в который вносятся результаты наблюдений за гемолизом эритроцитов в различных осмотически активных средах, делаются соответствующие выводы.

Таблица 22

Протокол опыта по определению гемолиза эритроцитов

№ п/п	Растворы	(-) – отсутствие гемолиза, (+) – наличие гемолиза
1	2 мл физ. раствор (0,9 % NaCl)	
2	2 мл 0,1 % NaCl	
3	2 мл 2% NaCl	
4	1 мл 0,9 % NaCl + 1 мл 0,1 % NaOH	
5	1 мл 0,1 % HCl	
6	1 мл 0,9 % NaCl + 1 мл нашатырного спирта	

Вопросы для самопроверки

1. Что называют гемолизом эритроцитов?
2. Что такое осмотический гемолиз?
3. Что называют минимальной и максимальной осмотической резистентностью эритроцитов?

Опыт 3 Определение осмотической стойкости эритроцитов

Цель работы: научиться определять осмотическую стойкость (резистентность) эритроцитов, внесенных в растворы NaCl различных концентраций.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

В гипотонической среде (содержание солей в растворе меньше 0,85 %) может возникнуть *осмотический гемолиз*, то есть разрушение эритроцитов. Если эритроцит поместить в гипотонический раствор, то согласно закону осмоса, часть жидкости раствора проникает в него, эритроциты разбухают и разрываются. Концентрация раствора NaCl, при которой начинается гемолиз, носит название минимальной *осмотической резистентностью* (стойкостью) эритроцитов. В норме она колеблется между 0,48-0,46 %. Концентрация раствора NaCl, при которой наступает полный гемолиз, называется максимальной резистентностью эритроцитов. Она равна 0,34-0,32 %. Осмотический гемолиз возможен только *in vitro*, т.к. в целостном организме кровь ни при каких условиях не может достигнуть столь выраженной гипотоничности.

Задание: определить осмотическую стойкость (резистентность) эритроцитов.

Материалы и оборудование: стабилизированная кровь, штатив с пробирками, цилиндр на 10 мл, 1 % раствор NaCl, дистиллированная вода.

Методические указания по выполнению работы:

1. Готовят растворы NaCl (таблица 23).
2. Во все пробирки добавляют по 2 капли крови.
3. Закрывают пробирки пальцем, взбалтывают трижды и помещают в штатив на 15 – 20 минут.
4. Определяют осмотическую стойкость эритроцитов и результаты записывают в таблицу (табл. 23).

Оформление работы: заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 23), в который вносятся результаты наблюдений за гемолизом эритроцитов в различных осмотически активных средах, делаются соответствующие выводы.

Протокол опыта по определению резистентности эритроцитов

Показания	Номер пробирки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1% NaCl, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Дистиллиро- ванная вода, мл	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Всего, мл	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Концентрация NaCl, %	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Результаты опыта									

Вопросы для самопроверки

1. Что называется осмотической резистентностью эритроцитов?
2. Что такое осмотический гемолиз?
3. Что называют минимальной и максимальной осмотической резистентностью эритроцитов?

Опыт 4 Определение степени гемолиза

Цель работы: провести объективный анализ степени гемолиза крови.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

В гипотонической среде (содержание солей в растворе меньше 0,85 %) может возникнуть *осмотический гемолиз*, то есть разрушение эритроцитов. Если эритроцит поместить в гипотонический раствор, то согласно закону осмоса, часть жидкости раствора проникает в него, эритроциты разбухают и разрываются. Концентрация раствора NaCl, при которой начинается гемолиз, носит название минимальной *осмотической резистентностью* (стойкостью) эритроцитов. В норме она колеблется между 0,48-0,46 %. Концентрация раствора NaCl, при которой наступает полный гемолиз, называется максимальной резистентностью эритроцитов. Она равна 0,34-0,32 %. Осмотический гемолиз возможен только in

vitro, т.к. в целостном организме кровь ни при каких условиях не может достигнуть столь выраженной гипотоничности.

Задание: определить степень гемолиза в последовательных разведениях гемолизированной жидкости.

Материалы и оборудования: кровь, с содержанием гемоглобина 80–100 г/л, дистиллированная вода, пробирки.

Методические указания по выполнению работы:

1. Кровь здоровой рыбы с содержанием гемоглобина 80 – 100 г/л смешивают с дистиллированной водой в соотношении 1:4 для получения гемолизированной жидкости.

2. Готовят цветной стандарт: гемолизированную жидкость разводят в пробирках в соотношениях, приведенных в таблице (табл. 24).

3. Сыворотку, полученную центрифугированием, осторожно отсасывают пипеткой и помещают в пробирки такого же диаметра, как и пробирки с цветным стандартом.

4. Сравнивают столбики с сывороткой в исследуемых пробирках параллельно с каждым цветным стандартом на просвет на фоне белой бумаги и устанавливают степень гемолиза в процентах.

Оформление работы: заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 24), в который вносятся результаты сравнения степени гемолиза в последовательных разведениях гемолизированной жидкости.

Таблица 24

Протокол опыта по оценке гемолиза по цветному стандарту

Растворы	Номер пробирки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Объем гемолизированной жидкости в мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Объем воды в мл	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Содержание гемоглобина в цветном стандарте, г/л	1,8	3,6	5,4	7,2	9,0	10,8	12,6	14,4	16,2
Цвет	Светло –розовый			Розовый		Розовато – красный		Красный	
Степень гемолиза	Слабая		Выразительная			Сильная		Очень сильная	
Обозначение, + или -	+	+	+	++	+++–	+++–	+++	+++	+++
Степень гемолиза, %	10	20	30	40	50	60	70	80	90

Степень гемолиза выражена числом + с обозначением цвета по стандарту или в абсолютных единицах содержания гемоглобина в цветном стандарте, приготовленном из крови, содержащей 90 г/л гемоглобина.

Вопросы для самопроверки

1. Что называется гемолизом крови?
2. Что называется осмотической резистентностью эритроцитов?
3. Что такое осмотический гемолиз?
4. Что называют минимальной и максимальной осмотической резистентностью эритроцитов?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 13

Измерение кровяного давления. Наблюдение автоматизма работы сердца и действия солей, гормонов на работу сердца. Определение частоты сокращения сердца в зависимости от температуры.

Опыт 1 Измерение кровяного давления

Цель работы: изучение артериального давления.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Величина кровяного давления является одной из важнейших пластических констант, характеризующих состояние внутренней среды организма. Она определяется работой сердца и тонусом сосудов. В нормальном состоянии давление колеблется в зависимости от фаз сердечного цикла (систола и диастола). Различают систолическое или максимальное давление, создаваемое сердечной мышцей при сокращении, и диастолическое, создаваемое за счёт тонуса сосудов. Разница между систолическим и диастолическим давлением составляет среднее или пульсовое давление. Эта величина является тонким показателем общего физиологического состояния организма. У здорового человека уровень артериального давления колеблется в покое в пределах от 110/70 до 120/80 мм рт. ст. Повышение артериального давления называется гипертонией, понижение - гипотонией.

Существуют два способа измерения давления: пальпаторный, основанный на исчезновении и появлении пульса на одной из крупных артерий ниже наложенной манжетки тонометра (метод Рива-Роччи), и аускультативный, основанный на прослушивании и фиксировании моментов появления и исчезновения тонов на локтевой артерии (метод Короткова).

Задание: ознакомиться с методикой определения артериального давления по способу Рива-Роччи и Короткова. Измерить артериальное давление по методу Короткова и сравнить его уровень с нормальным.

Материал и оборудование: тонометр, фонендоскоп.

Методические указания по выполнению работы:

1. Сидя на стуле, испытуемый кладёт левую руку на стол.
2. На обнажённое плечо наложить манжетку так, чтобы она плотно охватывала плечо, но не давила на ткани.
3. Установить фонендоскоп в области локтевой ямки. Прослушать пульс в области лучевой артерии.
4. Другой рукой с помощью резинового баллона нагнетать воздух в манжетку до исчезновения пульса.
5. Осторожно понизить давление в манжетке, открывая винтовой клапан.
6. Момент появления шумов при выпускании воздуха из манжетки соответствует систолическому давлению, момент их исчезновения - диастолическому.
7. Измерения провести три раза и взять за основу средние показатели.

Оформление работы: записать ход работы, заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 25), в который вносятся результаты измерения артериального давления.

Таблица 25

Протокол опыта по измерению артериального давления

Артериальное давление	Показатели (мм рт.ст.)
Систолическое давление	
Диастолическое давление	
Пульсовое давление	

Вопросы для самопроверки

1. Что такое гипертония и гипотония?
2. Как измерить артериальное давление у человека?
3. Что такое систолическое и диастолическое артериальные давления?

Опыт 2 Автоматизм работы сердца

Цель работы: изучение свойства сердечной мышцы – автоматизма работы сердца и значения центров автоматизма на примере сердца лягушки.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Сердце лягушки, выделенное из организма, продолжает биться. Способность органов сокращаться под влиянием импульсов, возникающих в них самих, носит название *автоматизма*. У лягушки имеется два центра автоматизма: синусный (узел Ремака), который находится в венозном синусе, и атриовентрикулярный

(узел Биддера), расположенный на перегородке между предсердиями и желудочком. Синусный узел является ведущим центром автоматии. В центрах автоматизма имеются особые клетки, в которых периодически возникает возбуждение, передающееся на мышечные стенки, поэтому отделы сердца сокращаются. Автоматия обеспечивает относительно независимую от нервной системы работу сердца.

Впервые Станиус, накладывая лигатуру (перевязка нитью) на сердце, показал способность различных отделов сердца лягушки к автоматическим сокращениям.

Задание: на изолированном из организма сердце лягушки пронаблюдать автоматизм его работы.

Материал и оборудование: лягушка, препаровальный набор, парафиновая пластинка, булавки, нитки, глазной пинцет.

Методические указания по выполнению работы:

1. У лягушки удалить головной и разрушить спинной мозг.
2. Вскрыть грудную клетку и обнажить сердце.
3. Подсчитать количество сокращений сердца в 1 мин.
4. При помощи глазного пинцета расправить аорту и завязать её на границе между венозным синусом и правым предсердием. Венозный синус продолжает биться в прежнем ритме, предсердия и желудочек останавливаются в фазе диастолы, так как импульсы от синусного узла не поступают.

5. Через 10-15 мин происходит самостоятельное восстановление сокращений желудочка и предсердий за счёт импульсов, возникающих в атриовентрикулярном узле, но эти сокращения будут происходить в более медленном ритме.

6. Не дожидаясь восстановления самостоятельных сердцебиений, наложить вторую лигатуру Станиуса (перевязка нитью) на границе между предсердиями и желудочком, эта лигатура вызывает раздражение атриовентрикулярного узла. Сердце начинает сокращаться.

В зависимости от того, как пройдет лигатура (куда отойдет центр автоматизма), будут сокращаться предсердия или желудочек; если она пройдет посередине узла, то будут сокращаться и предсердия и желудочек. Эти сокращения будут происходить в меньшем ритме по сравнению с сокращением синуса. Автоматизм атриовентрикулярного узла обычно меньше автоматизма синусного узла. Это явление носит название градиента сердца.

7. Третью лигатуру наложить на желудочек сердца, отделяя его верхушку. Убедитесь, что желудочек автоматизмом не обладает. Желудочек продолжает сокращаться в прежнем ритме, а верхушка его не сокращается.

Оформление работы: записать ход работы, зарисовать схему опыта, заполнить протокол опыта, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 26), в который вносятся результаты наблюдений сокращений миокарда изолированного сердца при наложении лигатуры на различные участки сердца.

Таблица 26

Протокол опыта по изучению автоматизма работы сердца и значения центров автоматизма

Место нанесения лигатуры на сердце	Наблюдаемая деятельность сердца
1. На границе между венозным синусом и правым предсердием.	Венозный синус продолжает биться в прежнем ритме, предсердия и желудочек останавливаются в фазе диастолы, так как импульсы от синусного узла не поступают.
2. На границе между предсердиями и желудочком.	Сердце начинает сокращаться, т.к. эта лигатура вызывает раздражение атриовентрикулярного узла.
3. На желудочек сердца, отделяя его верхушку.	Желудочек сокращается в прежнем ритме, верхушка его не сокращается, т.к. желудочек автоматизмом не обладает.

Вопросы для самопроверки

1. Что такое автоматизм сердечной мышцы? Чем обусловлен автоматизм?
2. Где расположены центры автоматизма в сердце лягушки и рыб?
3. Какой центр является ведущим центром автоматизма?

Опыт 3 Действие солей, гормонов на работу сердца

Цель работы: изучить гуморальную регуляцию деятельности сердца.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Частота и сила сокращений сердца зависят от условий внешней и внутренней среды организма. Наряду с рефлекторной регуляцией деятельности сердца имеется и гуморальная, т.е. регуляция с помощью веществ, переносимых кровью (гормонов, электролитов и др.). Адреналин, соли кальция и другие вещества усиливают и учащают сердечные сокращения. Противоположное действие на работу сердца оказывают соли калия и некоторые биологически активные вещества.

Задание: выяснить влияние на сердце некоторых гормонов и электролитов.

Материал и оборудование: лягушка, препаровальный набор, раствор Рингера, пипетка, 1%-й раствор хлористого калия и хлористого кальция, раствор адреналина 1:1000, раствор атропина 1:5000, раствор пилокарпина 1:1000, парафиновая пластинка, булавки, нитки, чашка Петри.

Методические указания по выполнению работы:

1. Лягушку обездвигить отрезанием головы и разрушением спинного мозга.
2. Обнажить сердце. Удалить его из организма. Поместить в чашку Петри в раствор Рингера.
3. Подсчитать число ударов за 1 мин.
4. Капать на сердце две-три капли раствора адреналина 1:1000. Амплитуда и частота сердцебиений увеличивается.
5. Промыть раствором Рингера.
6. Капать две-три капли пилокарпина 1:1000 на сердце. Амплитуда и частота сердца уменьшается, так как пилокарпин вызывает раздражение блуждающего нерва.
7. Промыть рингеровским раствором, добавить несколько капель атропина 1:5000. Последний, парализуя окончания блуждающего нерва, вызывает прекращение деятельности пилокарпина и восстановление деятельности сердца.
8. Подсчитать число сердцебиений.
9. Капать на сердце две капли 1%-го раствора хлористого кальция. Отметить увеличение амплитуды и числа биений сердца.
10. Промыть сердце раствором Рингера.
11. Капать две-три капли хлористого калия. Наблюдать уменьшение амплитуды и числа биений сердца.
12. Вновь промыть сердце.
13. Капать на сердце желчью (в ней содержатся холиновые производные, которые действуют подобно блуждающему нерву). Число сердцебиений уменьшается.

Оформление работы: записать ход работы, заполнить протокол опыта и сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

Составляется протокол опыта (таблица 27), в который вносятся результаты измерений частоты сердцебиения в зависимости от воздействия на сердце различных биологически активных веществ.

Таблица 27

Протокол опыта по изучению действия некоторых биологически активных веществ на работу сердца

Биологически активное вещество	Частота сокращения сердца в мин.
Без воздействия на сердце	
Адреналин	
Пилокарпин	
Атропин	
CaCl	
KCl	

Вопросы для самопроверки

1. Как осуществляется гуморальная регуляция работы сердца?
2. Какое влияние оказывает на сердце адреналин, пилокарпин и атропин?
3. Какое влияние на сердце оказывает калий, кальций и ацетилхолин?

Опыт 4 Определение частоты сокращения сердца в зависимости от температуры

Цель работы: изучить влияние внешних условий на работу сердца.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Частота сердечных сокращений (ЧСС) зависит от многих факторов, включая возраст, пол, условия окружающей среды, функциональное состояние. Температура окружающей среды также оказывает влияние на ЧСС, которая увеличивается в линейной зависимости от нее.

Задание: выяснить влияние различных температур на количество сокращений сердца лягушки за 1 мин.

Материалы и оборудование: лягушка, набор инструментов для препарирования, физиологический раствор, вата, марля, салфетки, кимограф, кардиограф, посуда со льдом, вода разной температуры, термометр.

Методические указания по выполнению работы:

Опыт проводят на интактном или на изолированном сердце.

Вариант А:

1. Сердце оросить физиологическим раствором с температурой 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 °С и подсчитать число сердечных сокращений.
2. С помощью кардиографа записать на барабане кимографа кривые сердечных сокращений.
3. Полученные данные занести в таблицу.

Вариант Б:

1. Опыт проводят на изолированном сердце. Для этого провести лигатуру под аорту и перевязать ее.
2. Другими лигатурами перевязать полые вены.
3. После перевязки отделить сердце, поместить его поочередно в физиологический раствор с разными температурами и подсчитать частоту сердечных сокращений. Данные занести в таблицу.

Оформление работы: записать ход работы, заполнить протокол опыта, построить график зависимости ЧСС от температуры и сделать вывод.

Форма заполнения протокола опытов:

Оформление работы: составляется протокол опыта (таблица 28), в который вносятся частоты сокращения сердца при различной температуре. Строится график зависимости ЧСС от температуры. Делается вывод.

Протокол опыта по определению частоты сокращения сердца в зависимости от температуры

Температура (° C)	Частота сокращения сердца за минуту
0	
5	
10	
15	
20	
25	
30	
35	
40	

Вопросы для самопроверки

1. От чего зависит частота сокращения сердца?
2. Как влияет температура на работу сердца?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 14

Действие гормонов адреналина и питуитрина на пигментацию кожи лягушки и рыбы. Влияние половых гормонов на половые признаки у гуппи.

Опыт 1 Действие гормонов адреналина и питуитрина на пигментацию кожи лягушки и рыбы

Цель работы: изучить значение адреналина и питуитрина в изменении окраски кожи.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Хроматофоры (пигментные клетки) лягушек лишены иннервации, и их функциональное состояние регулируется гормонами. Гуморальная регуляция - наиболее древняя форма регуляции. Химические вещества, образующиеся в организме в процессе его жизнедеятельности, поступают в кровь и тканевую жидкость. Переносясь жидкостями организма, химические вещества действуют на деятельность его органов.

Гормон адреналин вызывает концентрацию зерен пигмента в центральной части хроматофоров (контракцию) и, следовательно, посветление кожи. Его антагонист питуитрин – гормон задней доли гипофиза – вызывает перемещение зерен пигмента (экспансию) из центральной части меланофора в его отростки, что ведет к значительному потемнению кожи животного.

Задание: пронаблюдать за действием адреналина и питуитрина на меланофоры в коже рыбы и лягушки.

Материалы и оборудование: рыба, лягушка, микроскоп, стеклянная банка с водой, белая бумага, раствор питуитрина Р 1:1000, раствор адреналина 1: 1000, раствор поваренной соли 0,6%-ный, ЭСЛ-2, препаровальный набор, нитки, шприц.

Методические указания по выполнению работы:

1. Лягушку за 6 часов до опыта поместить в стеклянную банку, закрытую белой бумагой со всех сторон, за исключением стороны, обращённой к свету, и поставить банку на окно. Под банку положить белый лист бумаги. Кожа лягушки светлеет. Меланофоры в плавательной перепонке под микроскопом выглядят чёрными точками. Ввести лягушке 0,2 мл раствора питуитрина 1:1000. Через 30 мин, вновь рассмотреть плавательную перепонку под микроскопом, рассмотреть отходящие от хромофоров отростки – происходит экспансия пигмента. Кожа лягушки темнеет.
2. Рассмотреть под микроскопом меланофоры лягушки из аквариума. Ввести 1 г раствора адреналина 1:1000. Через 30 мин лягушка становится светлее контрольной, меланофоры её сокращаются и приобретают вид чёрных точек.
3. Одной из двух рыб ввести раствор адреналина. Помещают обеих в затемнённый аквариум. Через 30 мин становится видным, что кожа рыбы, которой вводили раствор адреналина, посветлела. Чешуйку из спинной части рыбы помещают на предметное стекло. Снова рассмотреть меланофоры, обратить внимание на то, что они сократились.
4. Обездвижить лягушку разрушением спинного мозга. Рассмотреть под микроскопом меланофоры плавательной перепонки. Выделить седалищный нерв, взять его на лигатуру и произвести раздражение током. Происходит экспансия меланофоров.

Оформление работы: записать ход работы, зарисовать меланофоры. Сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведённых наблюдений за пигментными клетками при действии гормонов делаются соответствующие выводы и зарисовки меланофоров.

Вопросы для самопроверки

1. Что такое экспансия и контракция меланофоров?
2. Каким образом действуют на меланофоры адреналин и питуитрин?

Опыт 2 Влияние половых гормонов на половые признаки у гуппи

Цель работы: исследовать влияние половых гормонов на установление пола рыб.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Андрогены — половые гормоны самца (тестостерон и андростерон). Эстрогены — женские половые гормоны. Воздействием мужского полового гормона на неполовозрелых гуппи (Eversole, 1939; Clemens et al., 1966) и меченосцев *X. helteri* (Baldwin, Goldin, 1939) у генетических самок удается вызвать более или менее полное развитие гоноподия и вторичных половых признаков самца. С другой стороны, недоразвитие или расстройство функции семенников может привести к нарушению в формировании копулятивного органа у самцов.

Задание: определить количество самцов и самок гуппи, выращенных в аквариумах с добавкой туда половых гормонов.

Материалы и оборудование: мальки гуппи, два аквариума, эстроген, тестостерон, либо их синтетические аналоги.

Методические указания по выполнению работы:

1. Одинаковых мальков гуппи рассадить в два аквариума.
2. В один из них добавить тестостерон, а в другой – эстроген.
3. Мальков выращивать до появления половых признаков.
4. В каждом аквариуме подсчитать количество самцов и самок и сравнить результаты.

Методика приготовления половых гормонов:

1. Готовят 0,01 % раствор метилтестостерона. Для этого, 2 таблетки препарата по 0,005 г растирают в порошок и растворяют в 10 мл 70 % спирта. Доводят смесь до объема 100 мл. Перемешивают и профильтровывают.
2. Приготовленный раствор выливают в аквариум через день из расчета 10 капель на 15 л воды в аквариуме.
3. Растворы женских половых гормонов или их синтетических аналогов готовят также.

Половые гормоны можно добавлять с кормом.

Оформление работы: записать ход работы, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведённых наблюдений за формированием половых признаков гуппи при выращивании их в аквариумах с добавками туда половых гормонов делаются соответствующие выводы.

Вопросы для самопроверки

1. Какие гормоны обуславливают мужской и женский пол у рыб?
2. Можно ли изменить половые признаки рыб при выращивании рыб в условиях аквакультуры?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 15

Зависимость окраски рыбы от цвета фона

Цель работы: изучить зависимость окраски рыбы от цвета фона.

Теоретический материал, необходимый для выполнения работы:

Окраска рыб связана с наличием в коже пигментных клеток – хроматофоров, которые содержат пигменты. Окраска рыб зависит от различного сочетания пигментных клеток и от распределения пигмента в этих клетках. Зёрна пигмента могут собираться в центре клетки (контракция пигмента), при этом рыба становится более светлой, или наоборот зёрна пигмента могут распространяться по отросткам клетки (экспансия пигмента) – рыба темнеет. Рыбы могут менять окраску в зависимости от цвета грунта, воды, температуры окружающей среды, солёности, характера пищи, условий освещения и др. факторов.

Многие рыбы меняют окраску в зависимости от фона. Изменение окраски рыбы зависит от того, какие лучи света поступают ей в глаза. Адаптация рыб к окраске внешней среды находится под действием центральных нервных механизмов, связанных со зрением. Кроме нервной системы, вызывающей изменение окраски, на пигментные клетки действует ряд гормонов.

Задание: убедиться в том, что рыбы меняют окраску в зависимости от фона под контролем центральных нервных механизмов, связанных со зрением.

Материалы и оборудование: рыба, 2 аквариума, белый и тёмный лист бумаги.

Методические указания по выполнению работы:

1. Поместить несколько карпов в два аквариума, один из которых стоит на светлом, другой – на тёмном листе бумаги.
2. Через 30 минут пронаблюдать, что в первом аквариуме окраска рыб становится более светлой, чем во втором.
3. Аквариум разделить перегородкой с отверстием посередине на две части.
4. В отверстии укрепить рыбу таким образом, чтобы голова рыбы была в одной половине аквариума, а туловище и хвост – в другой.
5. Под одну половину аквариума подложить белый лист бумаги, под другую – чёрный.

Если под головой был белый лист, то рыба становится светлоокрашенной; если под головой был тёмный лист, то рыба становится тёмноокрашенной.

Оформление работы: записать ход работы, зарисовать схему эксперимента, сделать выводы.

Форма заполнения протокола опытов:

В результате проведённых наблюдений за изменением интенсивности цвета рыб в зависимости от фона делаются соответствующие выводы, зарисовывается схема эксперимента.

Вопросы для самопроверки

1. С чем связана окраска рыб?
2. От чего зависит изменение окраски рыб?
3. Что такое экспансия и контракция меланофоров?
4. Как регулируется изменение окраски рыб?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатом освоения дисциплины «Физиология рыб» должно быть формирование у студента профессиональных компетенций, представлений об основах физиологии рыб: специфики деятельности организма рыбы, его органов и систем (работу органов дыхания, пищеварения, кровообращения, органов осморегуляции, иммунитета); об обмене веществ, балансе энергии в организме рыб, действии нервных и гормональных механизмов управления жизнедеятельностью; уметь оценивать физиологическое состояние рыб, проводить наблюдения, измерения периодических процессов, определять количественные показатели физиологических процессов, проводить хирургический и поведенческий эксперимент на рыбах, препарировать, инъектировать, обрабатывать и анализировать экспериментальные данные, создавать рыбам оптимальные условия существования; а также владеть методами контроля и оценки физиологических параметров рыб в экспериментах.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

Основная литература:

1. Кузьмин С.Ю. Физиология рыб: учебно-метод. Пособие по лаб. работам для студентов бакалавриата по направлению подготовки – «Водные биоресурсы и аквакультура» / С.Ю. Кузьмин. - Калининград: Издательство ФГБОУ ВО «КГТУ», 2016. – 71 с.

2. Физиология рыб: Методические указания с контрольными заданиями для студентов-заочников высших учебных заведений по направлению 561100 - Водные биоресурсы и аквакультура / В.А. Аминева, С.Ю. Кузьмин – Калининград: КГТУ, 2003. - 31 с.

Дополнительная литература:

1. Яржомбек А.А. Физиология рыб: учеб. пособие – Москва: Колос, 2007. – 156 с.

2. Аминева В.А., Яржомбек А.А. Физиология рыб: учеб. - Москва: Легкая и пищевая пром-сть, 1984. - 200 с.

3. Иванов А.А. Физиология рыб: учеб. пособие. – Москва: Мир, 2003. – 280 с.

4. Головина Н.А., Романова Н.Н. Физиология рыб. Лабораторный практикум: уч. пособие. – Москва: Колос, 2010. - 135 с.

Локальный электронный методический материал

С. Ю. Кузьмин

ФИЗИОЛОГИЯ РЫБ

Редактор И. Голубева

Уч.-изд. л. 5,0. Печ. л. 4,8.

Издательство федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Калининградский государственный технический университет».
236022, Калининград, Советский проспект, 1