

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный
аграрный университет»
Кафедра общей биологии и экологии

БИОМОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Учебное пособие
для бакалавров и магистров

Краснодар
2014

УДК 502.2: 574.2 (075.8)

ББК 20.1

Б63

Рецензенты:

Л.Я. Морева – д-р биол. наук, профессор КГУ

Коллектив авторов:

Кубанский государственный аграрный университет, Россия

И.С. Белюченко, Д.А. Славгородская, Л.Н. Ткаченко,
В.В. Корунчикова, Ю.Ю. Никифоренко, И.Ф. Высоцкая, О.В. Зеленская,
Н.Н. Мамась, О.А. Мельник, Л.Ф. Скрипка

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия

А.В. Смагин, Н.Б. Садовникова

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Украина

Е.В. Федоненко, Т.С. Шарамок, О.Н. Маренков

*Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН,
Россия, Республика Татарстан, г. Казань*

А.З. Миндубаев

Б63 Биомониторинг состояния окружающей среды: учебное пособие /
Под. ред. проф. И.С. Белюченко, проф. Е.В. Федоненко, проф. А.В.
Смагина. – Краснодар: КубГАУ, 2014. – 153 с.; илл.; приложения

В пособии изложены методы пассивного и активного биомониторинга, многие из которых успешно апробированы в различных экосистемах. Основным критерий отбора - простота выполнения. Приведены и более сложные биотесты. Сборник включает три главы по числу основных блоков природной среды: воздуха, почвы, воды. Подробная методика выполнения предваряется пояснением принципа, что позволяет правильно выбрать метод и учесть влияние других условий. В состав пособия входят приложения, которые на этапах предварительной оценки могут использоваться вместо определителей.

Пособие используется на занятиях по экологическим и биологическим дисциплинам и при выполнении студентами курсовых и дипломных работ, но будет полезно также для школьников, преподавателей различных учебных заведений и специалистов, занимающихся профессионально или интересующихся проблемами контроля и защиты природной среды.

УДК 502.2: 574.2 (075.8)

ББК 20.1

© ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный
университет», 2014

ПРЕДИСЛОВИЕ

Методы биологического контроля позволяют оценить изменения параметров среды по наличию, жизнеспособности и поведению организмов: определить качество воды в водоёме, качество почвы и атмосферы, а также установить степень их загрязнённости и состояние биоценозов. Сочетание методов химического анализа с биологическими является основой мониторинга за состоянием окружающей среды и необходимо для прогноза ее изменений.

В биологическом контроле различают биотестирование, биоиндикацию и биомониторинг.

Биотестирование – оперативный метод прямой оценки качества воды, в частности сбросных вод предприятий, почвы, кормов и др. субстратов путём экспериментального определения (обычно в лабораторных условиях) действия конкретных загрязняющих или токсических веществ на живые организмы, или так называемые тест-объекты. Тест-объекты – это организмы-биоиндикаторы, ответные реакции которых (тест-реакции) известны и предварительно градуированы по степени воздействия.

Биоиндикация – комплексная оценка интенсивности и последствий длительного загрязнения окружающей среды или др. воздействия на неё по наличию индикаторных организмов, таксономическому составу ценозов, по нарушениям в функционировании сообщества либо по др. отклонениям в нормальном развитии организмов.

Биомониторинг – это постоянный контроль, включающий как методы биоиндикации, так и биотестирования, за состоянием экосистем по биологическим параметрам согласно заранее разработанной и чётко осуществляемой программе полевых и лабораторных исследований, при которых проводится также количественное измерение показателей.

Биомониторинг (часто синоним «биоиндикации») является составной частью экологического мониторинга и в отличие от физико-химических методов не даёт точных и конкретных результатов. Основное преимущество биомониторинга – *оценка*

качества окружающей среды и степени её загрязнения по состоянию биоты на разных уровнях организации живой материи (от биомолекул и клеток, включая органоиды, до группировок организмов).

При проведении биоиндикации и биомониторинга необходимы информативные биологические объекты, называемые биоиндикаторами. *Биоиндикатор* – особи одного вида или др. таксономической группы в сообществе, по наличию, состоянию и поведению которых судят об изменениях в природной среде, о присутствии и концентрации загрязнителя.

Другими словами, биомониторинг позволяет определить *комфортность существования* в конкретной экосистеме видов и групп организмов, наиболее чувствительных к загрязнению и трансформации естественного состояния природы, а также косвенное влияние на здоровье человека. Именно данные биомониторинга придают значение и правомерность таким нормативам, как ПДК, ПДУ и т.п.

Кроме биотестирования (активный биомониторинг), большинство методов относится к пассивной биоиндикации и позволяют визуально определить комплексную реакцию живой природы в ответ на длительное воздействие различных антропогенных факторов и *при достаточно длительном наблюдении* сделать прогноз о дальнейшем направлении изменений в экосистеме.

В данном пособии изложены методы биоиндикации, которые просты в исполнении, не требуют сложного оборудования и экспериментов, но дают вполне *объективную* картину экологической ситуации и помогают выбрать наиболее подходящие для данной экосистемы точки отбора различных проб для точного химического или др. анализа и (или) пробные площадки для последующих наблюдений.

Таким образом, методы биоиндикации не заменяют, но являются всё более необходимым компонентом общего экологического мониторинга.

1 БИОИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ

Одним из важнейших объектов окружающей среды является атмосферный воздух. Устойчивость биосферы зависит от его чистоты. Воздух, которым мы дышим и пропускаем ежедневно более 13 тыс. л через свои лёгкие, представляет собой физическую смесь газов. В составе воздуха имеются постоянные составные части, а также переменные количества различных примесей природного и антропогенного происхождения. Загрязнение воздуха имеет место в том случае, если в смеси имеются посторонние вещества в таких количествах и так долго, что создают опасность для человека, животных, растений или имущества.

В качестве наиболее распространённых и опасных выделяют восемь категорий загрязнителей: 1) взвешенные вещества, они могут переносить другие загрязнители растворённые в них или адсорбированные на поверхности частиц; 2) углеводороды и другие летучие органические соединения; 3) угарный газ (CO); 4) оксиды азота (NO_x); 5) оксиды серы, в основном диоксид (SO₂); 6) свинец и другие тяжёлые металлы; 7) озон и другие фотохимические окислители; 8) кислоты, в основном серная и азотная.

От загрязнения воздуха страдают все живые организмы, но особенно растения, имеющие очень высокую интенсивность газообмена, в разы превышающую газообмен у человека. По этой причине растения, в том числе низшие, наиболее пригодны для обнаружения начального изменения состава воздуха. Количественное представление о токсическом эффекте загрязняющих воздух веществ дают соответствующие индексы.

1.1 Оценка состояния атмосферного воздуха на наличие некоторых загрязнителей по растениям–индикаторам

При ухудшении качества атмосферного воздуха и избыточном накоплении каких-либо газообразных загрязняющих веществ (ЗВ) у некоторых наиболее чувствительных растений отмечаются различные визуальные изменения: изменение окраски, отмирание тканей (некрозы) и др. (рис. 1.1), что приводит к на-

рушению процесса фотосинтеза или полному его прекращению вплоть до отмирания клеток (табл. 1.1).

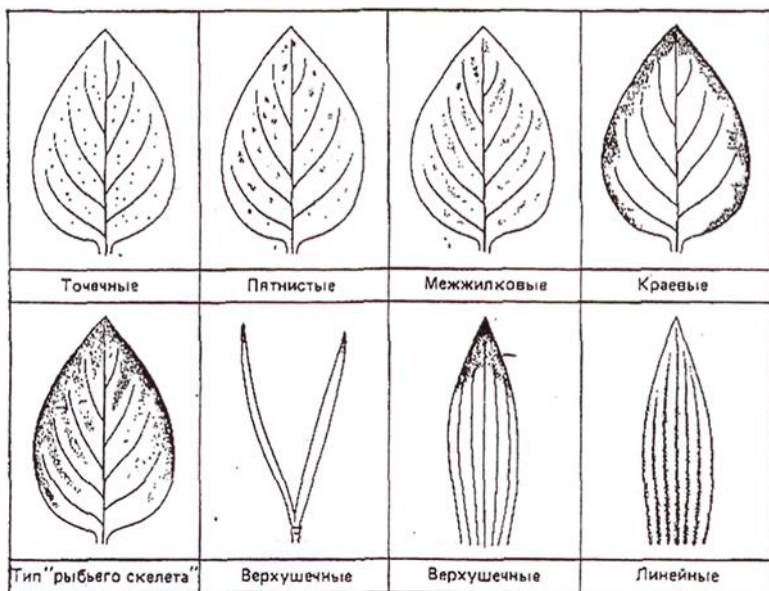


Рисунок 1.1. Формы некрозов на листьях цветковых растений и на хвое (по Шуберт, 1988)

Цель работы – Определить наличие загрязняющих веществ в атмосферном воздухе.

Материалы и оборудование:

- определители и каталоги-атласы растений;
- лупа.

Ход работы

1. Выбрать участки в разных районах города (посёлка) с наличием указанных в табл. 1.1 видов (пород).

2. Описать состояние листьев на деревьях, отмечая возраст листьев, поражённость вредителями или болезнями; расположение относительно сторон света. Результаты по каждому виду растений-индикаторов представить в табличной форме.

3. По выявленным признакам повреждения растения сделать вывод о характере избыточного накопления газообразных загрязняющих веществ.

Таблица 1.1 – Признаки повреждения некоторых древесных растений в зависимости от различных загрязняющих веществ

| Газообразный загрязнитель | Вид (порода) | Внешние признаки повреждения растения |
|---------------------------|--------------------|---|
| Диоксид серы | Сосна обыкновенная | Побурение кончиков игл (хвоинок) |
| | Ель обыкновенная | Хвоя буреет и опадает |
| | Клён американский | Обширное междужилковое обесцвечивание листьев |
| | Лишайники* | Очень малое число видов, кроме самых устойчивых, или их полное отсутствие |
| Фтористый водород | Пихта европейская | Цвет повреждённых участков хвои меняется от зелёного до красновато-бурого |
| | Абрикос | Края листьев обесцвечиваются, узкая красноватая полоса отделяет отмершую часть листа от живой |
| Озон | Сосна Веймутова | Концы игл приобретают красновато-коричневый цвет, наблюдается крапчатость хвои |
| | Клён американский | Красновато-пурпурные точки на старых листьях |

* – эпифиты, обитающие на коре деревьев

1.2 Определение загрязнения окружающей среды пылью по ее накоплению на листовых пластинках растений

Пыль вызывает нарушение работы дыхательных путей вплоть до различных заболеваний ВДП и лёгких, провоцирует простудные и аллергические заболевания, кашель, слезотечение.

Косвенным показателем количества пыли, осаждающейся из воздуха на поверхность земли и содержащей целый ряд ЗВ (выбросы керамических, цементных, кирпичных заводов, частички шин и асфальтового покрытия, просто частички почвы и различных солей), может служить степень запылённости листовых пластинок широколиственных древесно-кустарниковых пород в различных местах исследований: у дороги, возле промышленных предприятий, жилых домов, в парке, у водоёма.

Цель работы – определить степень запыленности воздуха по листьям листопадных пород различными методами.

Материалы и оборудование:

- клейкая лента (скотч);
- ножницы;
- листы белой бумаги;
- весы лабораторные;
- термостат;
- калька;
- вата;
- пинцеты;
- фильтровальная бумага;
- карта населенного пункта или его части;
- садовый секатор;
- микроскоп.

Ход работы

1. При определённом точечном источнике загрязнения (автодорога, промышленное предприятие) модельные растения лучше брать через равные промежутки расстояния от него, учитывая розу ветров или направление ветра, предшествующее ис-

следованию. Лучше проводить опыт несколько раз: после дождя, во время засухи и т.п.

2. Листья следует брать не затенённые другими частями растений, с обеих сторон – со стороны источника загрязнения и с обратной, на высоте 1,5-3,0 м (высота слоя воздуха на уровне дыхательных путей человека). При выборе следует исключить поражение листьев вредителями, мучнисторосыми или ржавчинными грибами, т.к. это даст абсолютно недостоверную картину. Одновременно следует отобрать листья с деревьев, произрастающих в чистой зоне (контроль).

3. Определить количество пыли на отобранных листьях. Существует несколько методов определения (Федорова, Никольская, 2001):

3.1. *Визуальный, предварительный.* Выбранные листья можно не срывать, а просто приложить к ним клейкую ленту скотча, затем отрезать кусочек скотча и аккуратно отделить его от листа. Кусочки скотча прикрепить на лист белой бумаги типа альбомной, где заранее отметить № точки и сделать её описание. Количество образцов – не менее трёх с каждой стороны и не менее шести с каждого дерева точки-площадки. Деревья должны быть одной породы в количестве не меньше трёх. Самая подходящая порода – тополь.

3.2. *Более точный количественный.* В лабораторных условиях на лабораторных весах взвешивают кусочек влажной ваты, завернутый в кальку (до 0,001 г). Лист липы (тополя) тщательно обтирают этой ваткой с двух сторон (разворачивать кальку следует с помощью пинцета), после чего взвешивают в кальке повторно. Массу пыли (P) рассчитывают как разницу между вторым и первым взвешиванием ($P=P_2-P_1$). Площадь листа высчитывают путем обмера листовых пластинок вдоль (a) и поперек (b) и умножением на переводной коэффициент (k):

$$S = a * b * k$$

Коэффициент колеблется для различных видов тополей от 0,60 до 0,66. Конечный результат выглядит так:

$$M=P/S \text{ (мг/см}^2\text{)},$$

где: М – масса пыли на 1 см² листа.

3.3. *Более сложный количественный.* Пыль смывают с 30-50 листьев кисточкой в предварительно взвешенную испарительную чашку, воду упаривают, чашку с пылью высушивают в сушильном шкафу при температуре +105°С до постоянной массы, а затем взвешивают. Количество пыли рассчитывают в мг на см² листа. Полученные данные заносят в таблицу 1.2.

Таблица 1.2 – Результаты определения количества пыли на листьях

| Место взятия (точка) | Площадь ли- стьев, см ² | Количество пыли | |
|-------------------------|---------------------------------------|--------------------|---------------|
| | | мг/см ² | % от контроля |
| | | | |

4. Сравнить результаты определения количества пыли на листьях и сделать вывод о степени запылённости атмосферного воздуха на данной территории и его качестве.

1.3 Оценка качества воздуха по состоянию хвои сосны

Хвоя сосны – редуцированные листья со сниженной транспирацией, вследствие чего они не опадают на зиму и способны сохраняться на побегах сосны, в зависимости от чистоты воздуха и по разным данным, от трёх до семи лет (обычно до четырёх лет). Однако именно малая поверхность листьев и многолетний срок жизни («вечнозелённость») делает их уязвимыми к различным загрязнениям – химическим и механическим, которые приводят к снижению интенсивности фотосинтеза из-за разрушения хлорофилла и, как следствие, к хлорозам и некрозам.

Метод пригоден для больших и малых территорий в любое время года. При использовании многих биометрических показателей (в дополнение к указанным здесь в упрощённой методике) и переводе их в баллы возможно картирование больших территорий.

Сосновые леса в умеренной зоне являются «эталонном био-диагностики» по сравнению с другими хвойными породами (в порядке убывания чувствительности: ель обыкновенная – пихта – сосна – ель колючая – лиственница), т.к. хвоя сосны очень чувствительна к загрязнениям воздуха диоксидом серы (SO_2), хлором (Cl_2), хлористым водородом (HCl), фтористым водородом (HF), аммиаком (NH_3), диоксидом азота (NO_2) (ЗВ расположены в порядке убывания чувствительности к ним). При периодическом воздействии оксидов серы и азота, т.е. очень сильном загрязнении, хвоя сохраняется только на побегах текущего года и приобретает тёмно-красный цвет.

В сосновых лесах, окружающих крупные города или техногенные зоны, при хроническом загрязнении диоксидом серы отмечается снижение массы хвои на 30-60% в сравнении с контрольными участками, а также преждевременное её опадение. В этих условиях самый простой способ – определение массы 1000 хвоинок в нескольких повторностях и с разных участков.

Цель работы – определить качество воздуха по возрасту и степени повреждения хвои.

Материалы и оборудование:

- лупа;
- стенды с хвоей разной степени поврежденности;
- бумажные пакеты;
- линейка.

Ход работы

1. Подобрать участки сосновых насаждений в условиях урбозкосистемы: в условиях загрязнения и на сравнительно чистой территории. Деревья для изучения лучше брать на относительно открытых местах, т.к. здесь повреждения наиболее выражены и заметны. Среди сосен лучше взять молодые растения высотой 1-1,5 м или использовать боковые побеги с четвертыми от его верха мутовками (4-й год жизни), осмотреть также участок предыдущего года – второй сверху на центральном побеге (рис. 1.2).

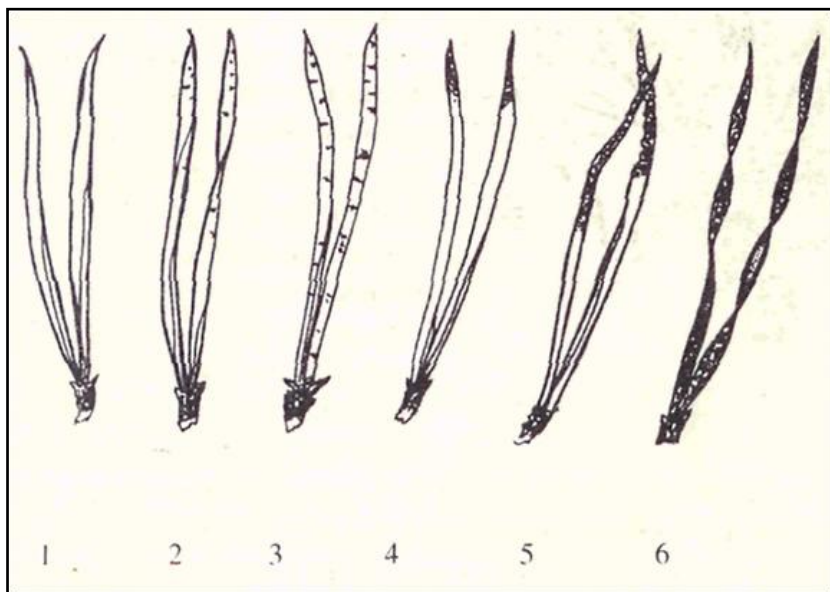


Рисунок 1.2. Повреждение и усыхание хвои сосны:

1- хвоинки без пятен, 2, 3 – с черными и желтыми пятнами,
4-6 – хвоинки с усыханием

2. Для получения достоверных результатов отобрать 200-300 хвоинок второго года жизни с каждого участка, разобрать хвою на несколько групп по степени повреждения (рис. 1.2).

Классы повреждения хвои: 1 – хвоя без пятен; 2 – небольшое число мелких пятен; 3 – большое число жёлтых и чёрных пятен.

Классы усыхания хвои: 1 – нет сухих участков; 2 – кончик усох на 2-5 мм; 3 – усохла треть хвоинки; 4 – усохло более половины длины; 5 – вся хвоя жёлтая и сухая (некрот).

Можно также провести статистическую обработку линейных размеров шишек (по 100-200 штук), собранных на разных участках или на одном участке, если мониторинг проводят в течение ряда лет с целью прогноза изменений среды.

3. Определить классы усыхания и повреждения хвои. Занести полученные данные в таблицу 1.3.

Таблица 1.3 – Состояние сосновой хвои на исследуемых участках

| Участок | Класс усыхания хвои сосны | | | | |
|---------|---------------------------|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | Количество/доля, % | | | | |
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |
| ... | | | | | |

4. Оценить продолжительность жизни хвои, зная, что каждая мутовка сверху – год жизни хвои. Считается также мутовка с небольшим количеством оставшейся хвои (доля остатка). Таким образом, полный возраст хвои равен числу участков ствола (мутовок) с полностью сохранившейся хвоей плюс доля сохранившейся хвои на плохо охвоенном участке (рис. 1.3).

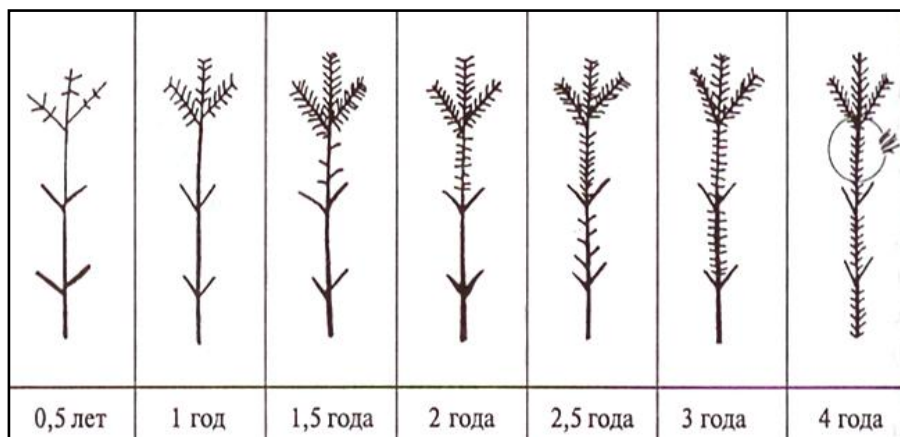


Рисунок 1.3. Участок побега, на котором проводят обследование хвои для экспресс-анализа качества воздуха

5. По продолжительности жизни хвои и баллам повреждения оценить качество воздуха по таблице 1.4 для каждого участка:

Таблица 1.4 – Оценка качества воздуха по возрасту и степени повреждения хвои

| Возраст хвои | Класс повреждения хвои 2-го года жизни | | |
|--------------|--|------|---------|
| | 1 | 2 | 3 |
| 4 | I | I-II | III |
| 3 | I | II | III- IV |
| 2 | II | III | IV |
| 2 | - | IV | IV-V |
| 1 | - | IV | V- VI |
| 1 | - | - | VI |

Примечание: I - очень чистый воздух; II – чистый; III – относительно чистый («норма»); IV – заметно загрязнённый («тревога»); V – грязный («опасно»); VI – очень грязный («вредно»); «-» - невозможное сочетание.

6. Сделать вывод о качестве воздуха.

1.4 Кресс-салат как тест-объект для оценки загрязнения воздуха и почвы

Кресс-салат – однолетнее овощное растение (сем. Капустные, используется как ранняя зелень), быстро растущее и отличающееся очень хорошей всхожестью, а также очень чувствительное к загрязнению среды ТМ и воздуха газообразными выбросами автотранспорта. Можно проводить этот опыт на балконах нижних и верхних этажей для уточнения высоты наибольшего загрязнения

Цель работы – оценить загрязнение воздуха и(или) почвы по всхожести семян и проросткам кресс-салата.

Материалы и оборудование:

- семена кресс-салата (можно редиса);
- чашки Петри (или другие плоские емкости, но одинакового размера: блюда, крышки полиэтиленовые и т.п.);
- фильтровальная бумага, разрезанная на кусочки по размерам чашек (емкостей), или готовые диски из нее;
- вместо бумаги запас песка (одинакового по происхождению и составу);

– емкости одинакового объема (стаканы, баночки) для получения водных вытяжек.

Ход работы

1. Предварительно проверяют семена на всхожесть (*всхожесть* – процент проросших семян от числа посеянных): норма – 90-95% проросших семян при температуре 20-25°C за 3-4 суток. Для этого размещают семена на прикрытый фильтровальной бумагой влажный и промытый речной песок (можно просто на бумагу, но она быстро высыхает), насыпанный толщиной 1 см в любые ёмкости (лучше чашки Петри).

2. Затем на увлажнённый субстрат – соответственно чистый и загрязнённый – раскладывают по 30-50 семян на примерно одинаковом расстоянии друг от друга, присыпают тем же субстратом и увлажняют. Повторность для каждого варианта опыта (и контроле тоже) – не менее трех чашек. Опыт должен длиться 10-15 суток, в случае 6-дневной практики – 4 дня, но влажность субстратов должна поддерживаться постоянно на одном уровне, а данные по числу проросших семян каждые сутки заноситься в таблицу. Следует иметь в виду, что на хорошей почве (гумусированной, хорошо аэрированной) всхожесть и качество проростков всегда лучше, чем на тяжёлой, глинистой. Поэтому субстрат лучше стандартизировать (если почва разная), используя водные вытяжки. Данные по повторностям каждого варианта усредняют, обрабатывают математически (дисперсионный анализ), чтобы определить достоверность различий данных по вариантам.

Уровни загрязнения субстрата:

– *нет загрязнения* – всхожесть 90-100%; всходы дружные, проростки крепкие, ровные;

– *слабое загрязнение* – всхожесть 60-90%; проростки почти нормальной длины, крепкие, ровные;

– *среднее загрязнение* – всхожесть 20-60%; проростки тоньше и короче, чем в контроле, некоторые могут иметь морфологические отклонения;

– *сильное загрязнение* – всхожесть очень слабая (до 20%); проростки мелкие и уродливые.

Заполнить таблицу 1.5 и сделать вывод о степени загрязнения субстрата. В таблицу вносят средние данные.

Таблица 1.5 – Скорость прорастания семян кресс-салата

| Субстрат () | Число проросших семян, % | | | | Всхожесть, % |
|-----------------|--------------------------|--------|--------|-----|--------------|
| | 1 сут. | 2 сут. | 3 сут. | ... | |
| Вариант 1 | | | | | |
| Вариант 2 | | | | | |
| ... | | | | | |

1.5 Биоиндикация загрязнения воздуха с помощью лишайников

Лишайники – особая форма жизни, представляющая симбиоз водоросли и гриба. Поскольку лишайники лишены покровных тканей и гигроскопичны за счёт мицелия, то водорослевый компонент очень чувствителен к загрязнённости воздуха, особенно диоксидом серы. Лишайники, особенно эпифитные, – самый чувствительный индикатор общего загрязнения воздуха, т.к. получают питание непосредственно из окружающей среды – в составе атмосферных осадков, росы, туманов, пыли, которые оседают на слоевищах. Средний возраст лишайников от 30 до 80 лет, у некоторых – несколько сотен лет. Растут они очень медленно – 1-8 мм в год.

Лишайники выбраны объектом глобального мониторинга благодаря своей чувствительности, незначительной изменчивости по сравнению с другими организмами и широкому распространению по всему Земному шару и самым различным местобитаниям. В настоящее время методы лишеноиндикации достаточно хорошо разработаны и широко применяются, в частности, для картирования загрязнённости атмосферного воздуха на основе изучения лишайниковых группировок и вычисления различных индексов.

Наиболее информативны методы лишеноиндикации при исследовании больших территорий и наличии мощного источника

загрязнения воздуха. Следует также помнить, что *лишайники довольно чувствительны к затенению.*

Ответные реакции проявляются в уменьшении размера и изменении цвета талломов (разрушение пигментов водоросли), формы таллома (нарушение радиальности нарастания мицелия), консистенции (потеря упругости, хрупкость); в отсутствии или малом числе плодовых тел; наконец, в резком снижении числа видов вплоть до полного исчезновения (зона «лишайниковой пустыни» при среднегодовой концентрации диоксида серы более $0,3 \text{ мг/м}^3$). По уменьшению обилия лишайников (степень покрытия коры деревьев) можно судить о величине стресса на сильно загрязнённых территориях. Летальная доза для большинства лишайников составляет примерно $52 \text{ мкг/м}^3 \text{ SO}_2$ (таблица 1.6.).

Таблица 1.6 – Встречаемость лишайников в разных частях города в зависимости от среднего количества диоксида серы в воздухе

| Зоны лишайников | Район города | Концентрация диоксида серы |
|---|---|-----------------------------|
| "Лишайниковая пустыня" (лишайники практически отсутствуют) | Центр города и промышленные районы с сильно загрязненным воздухом | свыше $0,3 \text{ мг/м}^3$ |
| "Зона угнетения" (флора бедна - фисции, леканоры, ксантории) | Районы города со средней загрязненностью | $0,05-0,3 \text{ мг/м}^3$ |
| "Зона нормальной жизнедеятельности" (максимальное видовое разнообразие; встречаются в том числе и кустистые виды – уснеи, анаптихии, алектории) | Периферийные районы и пригороды | менее $0,05 \text{ мг/м}^3$ |

Кроме того, лишайники являются хорошими аккумуляторами ЗВ, в частности ТМ, и химический анализ содержания ТМ (кроме Mn) в талломах лишайников достаточно адекватно отражает их распределение в приземном слое атмосферы.

По степени чувствительности к антропогенным факторам было выделено 10 классов полеотолерантности (табл. 1.7.): вид относится к тому классу, при антропогенных условиях которого он наиболее часто встречается, имеет наивысшие показатели покрытия и жизненности, т.е. является индикатором этих условий. Так, к 1-му классу относятся обитатели естественных местообитаний практически без антропогенного влияния: повсеместно это многие виды рода *Usnea*, а для 9-10-го классов при сильно и очень сильно изменённых местообитаниях обычен, например, космополит *Xanthoria parietina* (ксантория постенная) или *Leproaria incana* (лепрария седая).

Таблица 1.7 – Классы полеотолерантности и типы местообитаний эпифитных лишайников (по Х.Х. Трассу, 1985)

| Классы полеотолерантности | Типы местообитаний лишайников и их встречаемость | Виды |
|---------------------------|--|--|
| 1 | 2 | 3 |
| I | Естественные, без ощутимого антропогенного воздействия | <i>Lecanora abietina</i> , <i>Parmeliella</i> spp., самые чувствительные виды рода <i>Usnea</i> |
| II | Естественные (часто) и слабо антропогенно измененные (редко) | <i>Evernia divaricata</i> , <i>Lecanora coilocarpa</i> , <i>Parmeliopsis aleurites</i> , <i>Ramalina calicaris</i> |
| III | Естественные (часто) и слабо антропогенно измененные (часто) | <i>Bryoria fuscescens</i> , <i>Hypogymnia tubulosa</i> , <i>Pertusaria pertusa</i> , <i>Usnea subfloridana</i> |

Продолжение таблицы 1.7

| 1 | 2 | 3 |
|------|---|--|
| IV | Естественные (часто) и слабо (часто) и умеренно антропогенно измененные (редко) | <i>Cetraria pinastri</i> , <i>Graphis scripta</i> , <i>Armeliopsis ambigua</i> , <i>Usnea filipendula</i> |
| V | Естественные и слабо и умеренно антропогенно измененные с равной встречаемостью | <i>Caloplaca pyracea</i> , <i>Lecanora subfuscata</i> , <i>Parmelia olivacea</i> , <i>Physcia aipolia</i> |
| VI | Естественные (сравнительно редко) и умеренно антропогенно измененные (часто) | <i>Evernia prunastri</i> , <i>Hypogmnia physodes</i> , <i>Lecanora allophana</i> , <i>Usnea hirta</i> , <i>Hypocenomyce scalaris</i> , <i>Pertusaria discoidea</i> |
| VII | Умеренно (часто) и сильно (редко) антропогенно измененные | <i>Lecanora varia</i> , <i>Parmelia sulcata</i> , <i>Pertusaria amara</i> , <i>Physcia ascendens</i> |
| VIII | Умеренно и сильно антропогенно измененные (с равной встречаемостью) | <i>Caloplaca cerina</i> , <i>Physconia grisea</i> , <i>Ramalina pollinaria</i> |
| IX | Сильно антропогенно измененные (часто) | <i>Phacophyscia orbicularis</i> , <i>Xanthoria parietina</i> |
| X | Очень сильно антропогенно измененные (встречаемость и жизненность видов низкие) | <i>Lecanora conizaeoides</i> , <i>Scoliciosponim chlorococcum</i> |

Безусловно, для многих видов класс полеотолерантности зависит от конкретных природных условий и специфики лишайнофлоры региона (Приложение Б).

Цель работы – определить степень загрязнения воздуха по степени проективного покрытия лишайниками стволов деревьев.

Оборудование и материалы:

- атлас-определитель лишайников;
- коллекция лишайников;
- лупа;
- палетка из плотного прозрачного пластика в виде квадрата размером 20 см x 20 см (каждая сторона разбита на 10 частей).

Ход работы

1. Выбрать не менее двух участков (для многолетнего мониторинга гораздо больше), различающихся по условиям местобитания: опытный и контрольный.

2. На участках, если они достаточно большие, подобрать пробные площадки.

3. На площадке выбрать модельные деревья – не менее трёх (оптимально 10) – одной породы (с одинаковой структурой коры), возраста (диаметр ствола), не иметь повреждений.

4. На каждом дереве с обеих сторон (в направлении источника загрязнения и противоположно, можно с четырёх частей света) приложить прозрачную палетку к стволу на высоте 1,3 м (можно также дополнительно у основания ствола) – всего 2 (4 или 8 – см. выше) повторности. Описать виды лишайников и сделать оценку их проективного покрытия (ПП).

Оценку ПП можно делать с помощью шкалы – «на глаз» или по формуле - для каждого вида, для одного дерева, для каждой площадки (путём суммирования и усреднения).

Шкала: 1 балл – 1-3%; 2 – 3-5%; 3 – 5-10%; 4 – 10-20%; 5 – 20-30%; 6 – 30-40%; 7 – 40-60%; 8 – 60-80%; 9 – 80-100%.

Формула: $ПП (\%) = 100a + 50b / 100$, где «а» - число квадратов палетки с ПП больше 50%, «в» - число квадратов палетки с ПП меньше 50%, далее см. шкалу.

5. Заполнить таблицу (таблица 1.8.) для каждого участка.

Таблица 1.8 – Проектное покрытие (ПП) лишайников для участка № 1

| Порода дерева № | Виды лишайников | | |
|--------------------|-----------------|-------|-----|
| | Вид 1 | Вид 2 | ... |
| 1 | ПП ₁ | | |
| | ПП ₂ | | |
| | ... | | |
| 2 | | | |
| Среднее | | | |
| Балл | | | |

Примечания: ПП с индексами означает вариант измерения, например – для определённой высоты и стороны; число индексов и соответственно значений ПП будет зависеть от числа повторностей (измерений) для каждого дерева – см. выше описание работы

6. Сделать вывод.
7. Выявить степень загрязнения воздуха с помощью индексов и проанализировать результаты по их значениям.

Вычисление индексов для оценки чистоты атмосферы.

Индекс полеотолерантности (IP) соответствует определенной концентрации газообразных соединений, загрязняющих атмосферу. Вычисляется по формуле:

$$IP = \sum \frac{a_i * c_i}{c_{in}}$$

где \sum – знак суммы;
 a_i - класс полеотолерантности i-го вида (в условиях города обычно 9-10);
 c_i - ПП вида;
 c_{in} - суммарное покрытие видов.

Рассчитывают IP для каждого участка. Показатели IP колеблются от 0 до 10. Чем выше значение IP, тем более загрязнен воздух (табл. 1.9).

Таблица 1.9 – Значения IP и годовые концентрации SO₂

| Значение IP | Концентрация SO ₂ , мг/м ³ | Зона по степени загрязнения воздуха |
|----------------|---|--|
| 1-2 | – | Нормальная |
| 2-5 | 0,01-0,03 | Относительно благополучная |
| 5-7 | 0,03-0,08 | - «» - |
| 7-10 | 0,08-0,10 | Критическая |
| 10 | 0,10-0,30 | - «» - |
| 0 | более 0,3 | Лишайниковая «пустыня» |

Сложность метода IP заключается в определении видов лишайников и знании класса полеотолерантности для каждого вида в определённом регионе, без чего данные будут не совсем точные.

Индекс относительной чистоты атмосферы (ОЧА): не требует знания видов и класса полеотолерантности. Проводится учёт жизненных форм лишайников: накипные (Н), листоватые (Л) и кустистые (К). Оцениваются средние показатели встречаемости и ПП (см. выше) для каждой формы (таблица 1.10).

Таблица 1.10 – Оценка частоты встречаемости и степени ПП лишайников по 5-балльной шкале

| Частота встречаемости | Степень ПП, % | | Балл оценки |
|--------------------------|---------------|----------|----------------|
| Очень редко | Очень низкая | менее 5% | 1 |
| Редко | Низкая | 5-20% | 2 |
| Довольно редко | Средняя | 20-40% | 3 |
| Часто | Высокая | 40-60% | 4 |
| Очень часто | Очень высокая | 60-100% | 5 |

$$\text{ОЧА} = \text{Н} + 2\text{Л} + 3\text{К} / 30.$$

Чем выше значение ОЧА – ближе к 5 – тем чище воздух.

1.6 Индикация загрязнения окружающей среды по качеству пыльцы растений

Пыльца (пыльцевые зёрна) – мужские гаметофиты высших семенных растений (голосеменных и покрытосеменных), которые образуются в результате сложного процесса микроспорогенеза и при опылении образуют затем мужские половые клетки (спермии), необходимые для оплодотворения. Репродуктивные ткани, где наиболее активно идут процессы деления клеток, очень чувствительны к различным изменениям в окружающей среде – и к естественным типа погодных условий, и к искусственным типа загрязнений почвы и воздуха, повышенной радиации и другим – и очень чутко реагируют на них.

Методика анализа качества пыльцы заключается в определении процента ненормальных (абортивных) пыльцевых зерен. Высокая чувствительность к действию мутагенов (этиленамин, нитрозэтилмочевина, некоторые пестициды) проявляется у томатов, в результате чего нарушается процесс образования пыльцы томатов вплоть до полного отсутствия в пыльниках нормальных пыльцевых зерен (рис. 1.4)

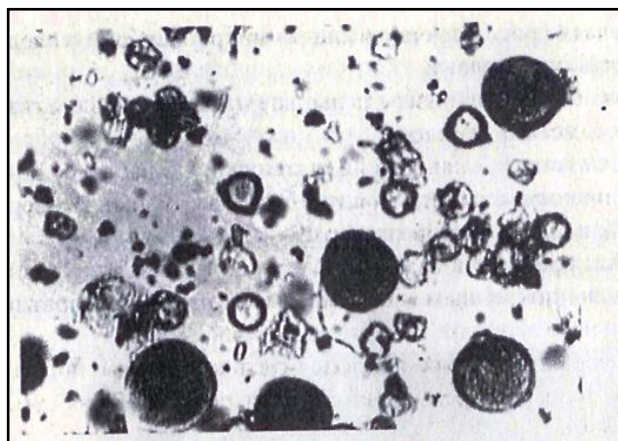


Рисунок 1.4. Нормальные (окрашенные, круглые, крупные) и abortивные (неокрашенные, меньшего размера) пыльцевые зерна томатов. Частичная abortивность после действия рогора (Ашихмина, 2000)

Обычно у растений в нормальных условиях пыльца имеет хорошее качество и процент нормальных пыльцевых зёрен бли-

зок к 100 %. Повышенное загрязнение среды произрастания может снизить этот процент до 50% и ниже.

Цель работы – определить загрязнение окружающей среды по качеству пыльцы растений.

Материалы и оборудование:

– пыльца любого (и дикорастущего, и культурного), цветущего на момент исследования растения, которую берут вместе с цветком, где она содержится в пыльниках тычинок;

– микроскопы;

– препаровальные иглы;

– предметные и покровные стёкла;

– пипетки;

– 1%-й раствор йода (аптечную настойку йода разбавляют водой в 5 раз).

Ход работы

1. Пыльца извлекается из пыльников препаровальными иглами, помещается на предметное стекло, сюда же добавляют каплю йода и перемешивают пыльцу с красителем (йод – реактив на белок и крахмал), стараясь как можно равномернее распределить пыльцу в капле по предметному стеклу.

2. Выдерживают препарат в течение 2 минут, накрывают его покровным стеклом и рассматривают под микроскопом при малом увеличении.

3. Подсчитывают количество нормальных и стерильных (абортивных) пыльцевых зёрен либо в нескольких полях зрения, либо по всему мазку, передвигая препарат методом «челнока» (зигзагом). Нормальные – интенсивно окрашены, одинаковы по размерам и форме; стерильные – не окрашены или окрашены слабо, разных размеров и неправильной формы. Подсчёт сделать для каждого цветка и определить среднее.

4. Определить процент (%) нормальных пыльцевых зёрен как отношение их числа к общему числу пыльцевых зёрен для каждого подсчёта, цветка, растения и т.д., умноженное на 100, т.е. определяется доля нормальных пыльцевых зёрен в %. Заполнить таблицу 1.11.

Таблица 1.11 – Доля нормальных пыльцевых зёрен

| Название растения | № цветка | Общее число пыльц. зёрен | Число норм. зёрен | Доля, % |
|-------------------|----------|--------------------------|-------------------|---------|
| | 1 | | | |
| | 2 | | | |
| | ... | | | |
| Среднее | | | | |

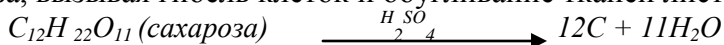
5. Сделать выводы.

1.7 Определение устойчивости клеток различных растений к обезвоживанию

В условиях жаркого сухого климата, а также городских экосистем явление обезвоживания органов (и соответственно клеток) у древесных растений встречается очень часто. Особенно это выражено на освещенных сторонах улиц, когда водообмен затруднен из-за малого проникновения в почву осадков, а полив не производится. Это явление выражается в потере тургора, тонуса листьев и молодых побегов, пожелтении, появлении некрозов.

Предлагаемая работа основана на свойствах серной кислоты обезвоживать клетки листа, что часто встречается в условиях антропогенного загрязнения, когда попавший через устьица в растение сернистый газ превращается в протоплазме клетки в серную кислоту (весьма гигроскопичное вещество), вызывая потерю листом тургора, повреждение и гибель клеток.

Серная кислота, содержащаяся в воздухе больших городов, образует туман из мельчайших капелек. Попадая на растение в больших концентрациях, она вызывает ожоги, а в малых – очень быстро проникает через устьица внутрь межклетников, энергично отнимает воду от углеводов, образующихся в процессе фотосинтеза, вызывая гибель клеток и обугливание тканей листа:



Живая клетка отличается от мертвой способностью при определённых условиях к хорошо выраженному плазмолизу (Федорова, Никольская, 2001).

Цель работы – определить устойчивость клеток различных растений к обезвоживанию.

Оборудование, реактивы и материалы:

- микроскоп;
- предметные и покровные стекла;
- эксикатор;
- бритва;
- концентрированная серная кислота (H_2SO_4), разведенная дистиллированной водой (1:1);
- 1 М раствор сахарозы;
- листья разных древесных растений.

Ход работы

1. Берут листья разных древесных растений, растущих в относительно чистой зоне, но встречающихся и в уличных посадках города. В случае отсутствия древесных растений можно использовать комнатные.

2. Из листа растения вырезают пластинки размером 2-4 см и кладут в эксикатор над серной кислотой, разбавленной в соотношении 1:1. Пластинки выдерживают в течение 2–3 часов.

3. Затем делают срезы, окрашивают «нейтральным красным» и плазмолизируют молярным раствором сахарозы, просасывая его между предметными и покровными стеклами.

4. Просматривают под микроскопом листья в разных полях зрения и подсчитывают оставшиеся живыми клетки по возникшему плазмолизу. Чем больше осталось живых клеток, тем лучше растение выносит обезвоживание.

5. Строят ряд устойчивости клеток разных растений к обезвоживанию (устойчивости к сернистому газу).

6. Сделать выводы.

1.8 Определение кислотности и токсичности осадков, выпадающих в зонах загрязнения

Кислотность и токсичность осадков в разных условиях среды сильно варьируют. Так, в зоне влияния металлургических заводов они кислые. Осадки могут быть и щелочными – в зоне влияния предприятий, выделяющих в атмосферу щелочи, а также на обширных территориях с засоленными щелочными почва-

ми (например, в районе Аральского озера) (Федорова, Никольская, 2001).

Цель работы – определить кислотность и токсичность осадков.

Оборудование, реактивы и материалы:

– осадкомер на метеоплощадке или сосуды для сбора и хранения воды;

– выпаривательные чашки;

– водяная баня;

– чашки Петри;

– фильтровальная бумага;

– пинцет;

– индикаторная бумага;

– различные мелкие семена.

Ход работы

1. Собрать осадки осадкомером (в случае наличия такового) или в широкие сосуды во время дождя в различных местах. Можно использовать свежеснег.

2. 600 мл осадков (в 3-кратной повторности) упаривают в выпаривательных чашках на водяной бане, постоянно подливая новые порции жидкости.

3. После выпаривания дождевой влаги в чашку добавляют по каплям дистиллированную воду и тщательно растирают осадок стеклянной палочкой, сливая все в пробирку. Новые капли воды (3 раза) очищают чашку полностью. Объем жидкости в пробирке должен составлять 6 мл (концентрация увеличивается в 100 раз).

4. *Определение рН осадков.* Для этого используют 1 мл жидкости из пробирки. рН определяют опусканием индикаторной бумажки в жидкость и сравнением изменившегося цвета со шкалой на коробочке индикаторной бумаги. Применяется следующая градация осадков по значению рН: сильнокислые (3–4), кислые (4–5), слабокислые (5–6), нейтральные (6–7), слабощелочные (7–8), щелочные (8–9), сильнощелочные (9–10).

5. *Определение токсичности осадков.* Чашки Петри стерилизуют (можно в сушильном шкафу при температуре 150–200

°С), на их дно укладывают кружки фильтровальной бумаги, на которую наливают по 5 мл жидкости. На фильтры рассыпают 50 штук мелких семян: салата, мака, горчицы, редиса и др. Чашки Петри закрывают крышками и помещают в термостат при температуре +25– +26 °С. Контроль – чашки с теми же семенами, фильтры в которых увлажнены 5 мл дистиллированной воды.

После прорастания семян в контроле на 50 % производят их подсчет. Данные по всхожести в опытных вариантах выражают в процентах к контролю, который принимается за 100 процентов. Применяют следующую градацию: 100 % – нет токсичности, 80–90 % – очень слабая токсичность, 60–80 % – слабая, 40–60 % – средняя, 20–40 % – высокая токсичность, 0–20 % – очень высокая токсичность, близкая к летальной.

6. Сделать выводы.

1.9 Флуктуирующая асимметрия древесных и травянистых форм растений как тест-система оценки качества среды

Для целей биомониторинга могут использоваться только те виды живых организмов, которые отвечают требованиям, применяемым к биоиндикаторам. Оценка воздушной среды, или интегральная оценка качества среды обитания живых организмов, проводится по состоянию высших древесных и травянистых форм растений.

Наиболее удобными для целей биоиндикации являются следующие виды растений: *травянистые* – сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria*); мать-и-мачеха обыкновенная (*Tussilago farfara*); *древесные*: тополь бальзамический (*Populus balsamifera*); клен остролистный (*Acer platanoides*) и ясенелистный (*A. negundo*); береза повислая (*Betula pendula*); *водные* – рдест пронзеннолистный (*Potamogeton perfoliatus*); рдест блестящий (*P. lucens*); рдест плавающий (*P. natans*).

Все перечисленные растения имеют четко выраженную двустороннюю симметрию, что является главным требованием метода. Кроме указанных растений часто для биомониторинга стабильности развития используют: подорожник большой (*Plantago*

major) как наиболее пластичный вид травянистых растений; манжетку обыкновенную (*Alchemilla vulgaris*) и клевер гибридный (*Trifolium hybridum*) и ползучий (*T. repens*) как луговые виды; ячмень (*Hordeum* sp.), овес (*Avena* sp.) и пшеницу (*Triticum* sp.) как сельскохозяйственные культуры для оценки состояния агроценозов.

Береза бородавчатая (повислая) *Betula pendula* и близкий к ней вид береза пушистая *B. alba* способны скрещиваться между собой, образуя межвидовые гибриды, которые обладают признаками обоих видов. Во избежание ошибок следует выбирать деревья с четко выраженными признаками одного вида (Мелехова, 2007).

Принцип метода основан на выявлении нарушений симметрии развития листовой пластины древесных и травянистых форм растений под действием антропогенных факторов.

Цель работы – определить качество среды обитания живых организмов по флуктуирующей асимметрии листовой пластины березы повислой.

Материалы и оборудование:

- карандаш;
- блокнот;
- компас;
- курвиметр или линейка;
- атласы-определители высших растений;
- пакеты для сбора листьев.

Ход работы

1. Начинать сбор материала необходимо после завершения интенсивного роста листьев. Выборку листьев древесных растений необходимо делать с нескольких близко растущих деревьев на площади 10*10 м или на аллее длиной 30–40 м, в исключительных случаях с 2—3 растений.

2. Выборка листьев травянистых растений делается с нескольких экземпляров на площади 1 м². Используются только средневозрастные растения, исключая молодые и старые. Всего надо собрать не менее 25 листьев среднего размера с одного вида растения.

3. Листья собирать из нижней части кроны, на уровне поднятой руки, с максимального количества доступных веток, направленных условно на север, запад, восток и юг. У березы использовать листья только с укороченных побегов. На каждой площадке исследуют максимальное количество видов (но не менее одного древесного и одного травянистого).

4. Весь собранный материал должен быть снабжен точной информацией о месте сбора, наличии вблизи возможного загрязнения интенсивности движения транспорта, времени сбора и исполнителе. Хранить собранный материал можно не более недели на нижней полке холодильника.

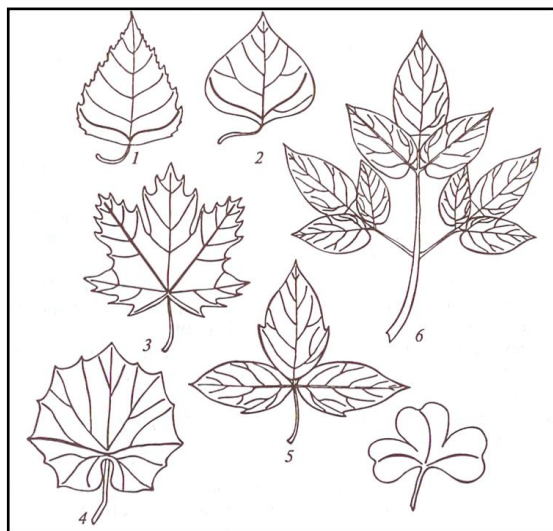


Рисунок 1.5. Измерение длин жилок на листьях травянистых и древесных пород (объяснение см. в тексте)

5. Провести измерения длин жилок на листьях справа и слева согласно рисунку 1.5, где цифрами обозначены листья следующих деревьев: 1 – березы, измеряется первая жилка от основания листа; 2 – тополя, первая жилка от основания листа; 3 – остролистного клена, средняя жилка боковых пластин справа и слева; 4 – мать-и-мачехи, вторая жилка от основания черешка; 5 – клена американского, первая жилка от основания черешка; 6 –

снети, первая жилка от основания черешка; 7 – клевера ползучего, первая жилка от основания черешка. Жилки измеряются с точностью до 1 мм с последующим определением *разницы их длины справа и слева*.

6. Провести более детальные расчеты флуктуирующей асимметрии. Для этого с одного листа снимают показатели по пяти параметрам (рис. 1.6). Отдельно фиксируют «загнутость» макушки листа (рис. 1.7). Данные измерений заносят в таблицу 1.12. Величину флуктуирующей асимметрии оценивают с помощью интегрального показателя — величины среднего относительного различия по признакам (среднее арифметическое отношение разности к сумме промеров листа справа и слева, отнесенное к числу признаков).

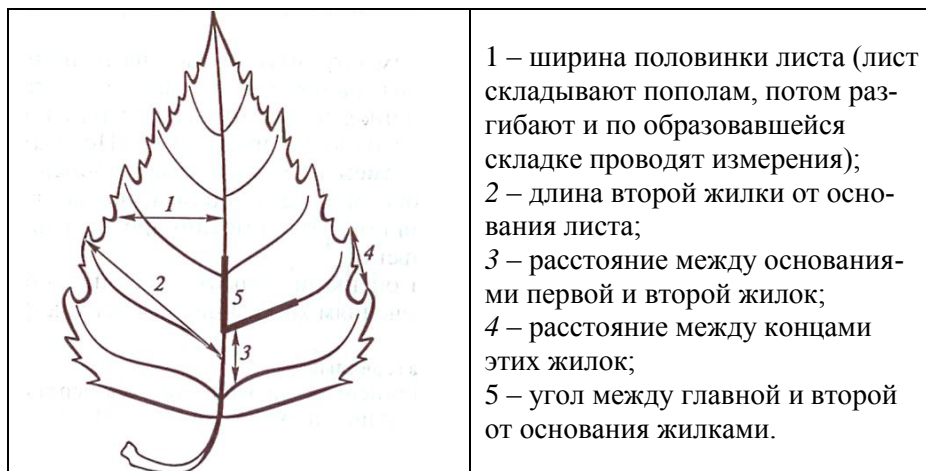


Рисунок 1.6. Параметры промеров листьев для детального расчета

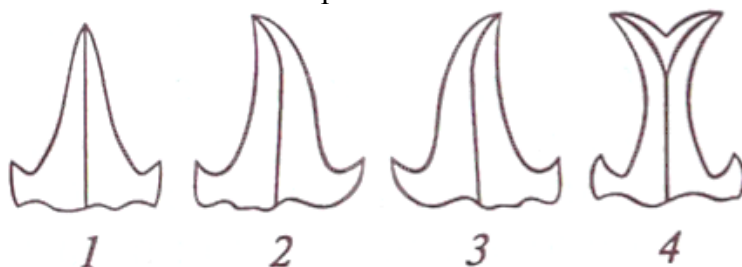


Рисунок 1.7. Примеры «загнутости» макушки листа:
 1 – не загнута; 2 – загнута влево; 3 – загнута вправо;
 4 – «ласточкин хвост»

7. Коэффициент флуктуирующей асимметрии определяют по формуле, предложенной В.М. Захаровым:

$$\delta_d^2 = \frac{\sum (d_{1-r} - M_d)^2}{n - 1},$$

где $M_d = \sum \frac{d_{1-r}}{n}$ – среднее различие между сторонами;

$d_{1-r} * \frac{2*(d_1*d_r)}{d_1+d_r}$ – различие значений признаков между левой (1) и правой (2) сторонами; n – число выборок.

8. Качественные признаки считают по проценту суммы асимметричных листьев:

$$M_A = \frac{n_a}{n_a + n_c},$$

где n_a — число асимметричных особей; n_c — число симметричных листьев.

Показатель асимметрии указывает на наличие в среде обитания живых организмов негативного фактора. Это может быть химическое загрязнение, изменение температуры, обитание биологического объекта на краю ареала и др. Показатель откликается повышением на изменение фактора и стабилен при адаптации к имеющимся условиям.

9. Сделать вывод о качестве среды обитания живых организмов в соответствии с таблицей 1.12.

Таблица 1.12 – Результаты замеров листьев травянистых и древесных пород

| Дата: _____ | | Место сбора: _____ | | | | |
|-------------|------------------|--------------------|--|--|--------------------------------------|---------------|
| № п/п | Ширина половинок | Длина 2-й жилки | Расстояние между основаниями 1 и 2-й жилки | Расстояние между концами 1 и 2-й жилками | Угол между центральной и 2-й жилками | Форма макушки |

| | | | | | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|
| | Л | П | Л | П | Л | П | Л | П | Л | П | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |

Примечание, л – левая сторона; п – правая сторона.

Баллы соответствуют следующим характеристикам среды обитания живых организмов:

- 1 — чисто;
- 2 — относительно чисто («норма»);
- 3 — загрязнено («тревога»);
- 4 — грязно («опасно»);
- 5 — очень грязно («вредно»).

При балльной оценке используют таблицу соответствия баллов качества среды значениям коэффициентов асимметрии (таблица 1.13).

Таблица 1.13 – Балльная система оценки качества среды обитания живых организмов по показателям флуктуирующей асимметрии высших растений (по А.Б. Стрельцову, 2003)

| Виды | Балл | | | | |
|---------------------|----------|---------------|--------------|-------------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Береза бородавчатая | < 0,055 | 0,056-0,060 | 0,061-0,065 | 0,065-0,070 | > 0,070 |
| Вес виды растений | < 0,0018 | 0,0019-0,0089 | 0,0090-0,022 | 0,022-0,04 | > 0,04 |

1.10 Комплексная оценка состояния природной среды по интегральным показателям состояния древесных насаждений (по Е.Г. Мозулевской и др., 1997).

В качестве надежных индикаторов состояния лесов и состояния природной среды можно использовать сумму признаков и интегральных показателей, характеризующих последовательно: 1) состояние деревьев, 2) состояние древостоев и других компонентов лесных биогеоценозов (экосистем), 3) лесных тер-

риторий и природно-территориальных комплексов разного ранга.

Цель работы - оценить состояние деревьев и насаждений.

Материалы и оборудование:

- определители и атласы-каталоги растений,
- рулетка,
- линейка,
- лупа.

Ход работы

1. Выбрать пробные площадки в древесных насаждениях в разных районах города (поселка).

2. Описать состояние листьев или хвои на деревьях, отмечая признаки, указанные в таблице 1.14. Результаты по каждому виду (породе) растений представить в табличной форме.

3. По соотношению выявленных категорий деревьев оценить состояние древостоя на изучаемой территории и выделить классы состояния насаждений.

Состояние деревьев определяется по сумме биоморфологических признаков: густоте и цвету кроны, ее охвоенности (облиственности), определяемых по четырем или пяти градациям; цвету и поврежденности хвои (листвы), некрозам инфекционного и неинфекционного характера, наличию членистоногих (насекомых и клещей) и патогенов, относительным приростам побегов и ствола, возрасту сохраняющейся на побегах хвои (среднему и предельному), наличию сухих ветвей, состоянию коры и луба.

На основании всех этих и некоторых других признаков, дополняющих перечисленные показатели, устанавливается категория состояния дерева, являющаяся его интегральной характеристикой (табл. 1.14).

Таблица 1.14 – Характеристика категорий состояния деревьев

| Категория деревьев | Основные признаки | Дополнительные признаки |
|--------------------|-------------------|-------------------------|
| 1 | 2 | 3 |
| Хвойные породы | | |

| | | |
|------------------------------|--|--|
| 1 - без признаков ослабления | Хвоя зеленая блестящая, крона густая, прирост текущего года нормальный для данной породы, возраста, условий места произрастания и сезона | — |
| 2 - ослабленные | Хвоя часто светлее обычного, крона слабоажурная, прирост уменьшен не более чем наполовину по сравнению с нормальным | Возможны признаки местного повреждения ствола и корневых лап, ветвей |
| 3 - сильно ослабленные | Хвоя светло-зеленая или сероватая матовая, крона ажурная, прирост уменьшен более чем наполовину по сравнению с нормальным | Возможны признаки повреждения ствола, корневых лап, ветвей, объединения хвои, выраженные сильнее, чем у предыдущей категории деревьев; попытки поселения или удавшегося местно заселения стволовых вредителей на стволе или ветвях |

Продолжение таблицы 1.14

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

| | | |
|----------------------------|--|---|
| 4 - усыхающие | Хвоя серая, желтоватая или желто-зеленая, крона заметно изрежена, прирост текущего года еще заметен или отсутствует | Признаки повреждения ствола и других частей дерева выражены сильнее, чем у предыдущей категории, возможны признаки заселения дерева стволовыми вредителями (смоляные воронки, буровая мука, насекомые на коре, под корой и в древесине) |
| 5 - сухостой текущего года | Хвоя серая, желтая или бурая, крона часто изрежена, мелкие веточки сохраняются, кора сохранена или осыпалась лишь частично | Признаки предыдущей категории; в конце сезона возможно наличие на части дерева вылетных отверстий насекомых |
| 6 - сухостой прошлых лет | Хвоя осыпалась или сохранилась лишь частично, мелкие веточки, как правило, обломились, большая часть ветвей и коры осыпалась | На стволе и ветвях имеются вылетные отверстия насекомых, под корой - обильная буровая мука и грибница деструктивных грибов |

Продолжение таблицы 1.14

| | | |
|-------------------|---|---|
| 1 | 2 | 3 |
| Лиственные породы | | |

| | | |
|--|--|--|
| 0 – без признаков ослабления | Листва зеленая, блестящая, крона густая прирост текущего года нормальный для данной породы, возраста, условий места произрастания и сезона | – |
| 1 – ослабленные (в кроне до 25 % сухих ветвей) | Листва зеленая; крона слабоажурная, прирост может быть ослаблен по сравнению с нормальным | Могут быть местные повреждения ветвей, корневых лап и ствола, механические повреждения, единичные водяные побеги |
| 2 – ослабленные (сухих ветвей 25-50 %) | Листва мельче или светлее обычной, преждевременно опадает, крона изрежена | Признаки предыдущей категории выражены сильнее, попытки поселения или удавшиеся местные поселения стволовых вредителей, сокоотечение и водяные побеги на стволе и ветвях |
| 3 – сильно ослабленные (сухих ветвей 50-75 %) | Листва мельче или светлее обычной, преждевременно опадает, крона изрежена | Признаки предыдущей категории выражены сильнее; попытки поселения или удавшиеся местные заселения стволовых вредителей, сокоотечение и водяные побеги на стволе и ветвях |

Продолжение таблицы 1.14

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

| | | |
|---|---|--|
| <p>4 – усыхающие сухокронные (в кроне более 75% сухих ветвей)</p> | <p>Листва мельче, светлее или желтее обычной, преждевременно опадает или увядает, крона сильно изрежена</p> | <p>На стволе и ветвях возможны признаки заселения стволовыми вредителями (входные отверстия, насечки, сокотечение, буровая мука и опилки, насекомые на коре, под корой и в древесине); обильные водяные побеги, частично усохшие или усыхающие</p> |
| <p>5 – сухостой текущего года</p> | <p>Листва усохла, увяла или преждевременно опала, мелкие веточки и кора сохранились</p> | <p>На стволе, ветвях и корневых лапах часто признаки заселения стволовыми вредителями и поражения грибами</p> |
| <p>6 – сухостой прошлых лет (старый)</p> | <p>Листва и часть ветвей опали, кора разрушена или опала на большей части ствола</p> | <p>Имеются вылетные отверстия насекомых на стволе, ветвях и корневых лапах, на коре и под корой - грибница и плодовые тела грибов</p> |

При необходимости более детального изучения состояния древостоя с целью их подробной характеристики допускается введение дополнительных категорий деревьев. Так, ветровал и бурелом учитывают отдельно с указанием времени их образования (например, для хвойных деревьев 7-я категория – ветровал, 8-я – бурелом, индекс "а" – текущего года, индекс "б" – прошлых лет).

Состояние древостоя оценивается по его структуре, количественному соотношению деревьев разных категорий и их повре-

жденности вредителями, болезнями, поллютантами, огнем и другими факторами.

Состояние биогеоценоза (экосистем) определяют по составу и структуре всех его компонентов и их соответствию условиям местопрорастания и этапам развития насаждения и по нарушенности лесной среды. Оценка включает в себя показатели состояния древостоя и лесной среды в целом, в том числе данные анализа видового состава и структуры дендрофильной энтомофауны и других компонентов лесного биогеоценоза.

При оценке состояния насаждений в конкретных обстоятельствах места и времени его можно представить как мгновенную фиксацию положения насаждения на кривой перехода системы от устойчивого равновесия к утрате устойчивости и потере присущих этой системе свойств. Очевидно, что форма кривых изменения устойчивости лесов, испытывающих воздействие факторов разной природы и продолжительности, в различных ситуациях и на разных этапах развития экосистем будет индивидуальной. Однако в пределах любой из них можно выделить типологически однородные зоны: 1 – зоны устойчивого равновесия, 2 – зоны нарушенной устойчивости, 2.1 – с обратимыми и 2.2 – необратимыми изменениями свойств и 3 – зоны утраченной устойчивости, соответствующие гибели насаждений. Для каждого отрезка кривой можно выделить значения пороговых и предпороговых показателей и признаков состояния насаждений и указать участки зон риска.

Принято выделять три класса (категории) состояния насаждений: сохраняющих устойчивость или биологически устойчивых (1), с нарушенной устойчивостью (2) и утратившие устойчивость (3). Принадлежность к тому или иному классу устойчивости определяют по величине текущего отпада и его характеру, по размеру и положению в древостое отмирающих деревьев, суммарной доле сухостойных, ветровалных и буреломных деревьев, образовавшихся на последнем по отношению к периоду наблюдения временном этапе жизни насаждения, по степени ослабления живой части древостоя, поврежденности насаждений насекомыми и патогенами, по нарушенности или сохранности

лесной обстановки, о которой можно судить по снижению естественной полноты, свойственной данным условиям места произрастания, лесообразующей породе и возрастному этапу насаждения. Опосредованно свидетельствуют о снижении устойчивости насаждения структура и расположение на площади скопленных сухостоя и валежа, изменение цвета хвои и листвы у основной или значительной части деревьев, наличие на них некрозов, пятен, налетов, преждевременность их опада или увядания, возрастная структура хвои.

4. Сделать выводы о состоянии насаждений на изучаемой территории.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белюченко И.С. Введение в общую экологию / И.С. Белюченко. – Краснодар, 1997. – 543 с.

2. Белюченко И.С. Введение в экологический мониторинг / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2011. – 297 с.

3. Белюченко И.С. Роль биотестирования в комплексной оценке состояния окружающей среды / И.С. Белюченко, Г.В. Волошина, А.Ю. Костюк, Ю.В. Пономарева // Экологические проблемы Кубани. – № 30. – 2005. – С. 156-158.

4. Белюченко И.С. Эволюционная экология / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2001. – 504 с.

5. Белюченко И.С. Экологические проблемы степной зоны Кубани, причины их возникновения и пути решения / И.С. Белюченко // Экол. Вестник Сев. Кавказа. – 2011. – Т.7. – № 3. – С. 47-64.

6. Белюченко И.С. Экология Краснодарского края (региональная экология) / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2010. – 354 с.

9. Жизнь растений. Т.3. Водоросли, лишайники. – М.: Просвещение, 1977. – 487 с.

10. Муравьев Е.И. Бенз(а)пирен и оценка его негативного воздействия на окружающую среду / Е.И. Муравьев, И.С. Белюченко, Н.В. Ермилова, М.С. Масько, А.Г. Фалин // Экологические проблемы Кубани. – 2006. – № 32. – С. 135-138.

11. Муравьев Е.И. Влияние диоксинов на окружающую среду и методы их определения / Е.И. Муравьев, И.С. Белюченко, Н.В. Ермилова, А.Г. Фалин // Экологические проблемы Кубани. – 2006. – № 32. – С. 139-143.

12. Муравьев Е.И. Источники поступления бифенолов в окружающую среду / Е.И. Муравьев, И.С. Белюченко, Н.В. Ермилова, М.С. Масько // Экологические проблемы Кубани. – 2006. – № 32. – С. 144-148.

2 БИОИНДИКАЦИЯ ПОЧВЫ

Для биологической диагностики почв широкое распространение получили ботанические методы, или методы фитоиндикации. Так, путём анализа состава и структуры растительных сообществ, распространения растений-индикаторов или определённых индикационных признаков у отдельных видов растений можно установить тип почвы, степень её гидроморфизма, развития процессов заболачивания, соленакопления и т.д. Среди растений обнаружены индикаторы на тот или иной механический и химический состав почв, степень обогащённости питательными элементами, на кислотность или щёлочность, глубину протаивания мерзлотных почв или уровень грунтовых вод.

Почвенно-зоологический метод (определение и учет почвенных животных) для целей диагностики почв основывается на том, что каждый вид в пределах своего ареала встречается только в тех местообитаниях, которые обеспечивают полный комплекс необходимых для проявления жизнедеятельности условий. Хорошими индикаторами определённых условий среды и свойств субстрата служат *стенобионты* (организмы с узкой экологической нишей, поэтому очень чувствительные к изменениям среды). Использовать лучше всего комплекс организмов, из которых одни могут быть индикаторами на влажность, другие на температуру, третьи - на химический или механический состав почвы. Чем больше общих видов почвенных животных встречается на сравниваемых участках, тем с большей долей вероятности можно судить о сходстве их режимов, а следовательно, о единстве почвообразовательного процесса.

Из микроартропод наиболее широко изучены индикаторные свойства панцирных клещей. Их перспективно использовать для индикации повреждающих воздействий на почву. Особенно удобны для индикационных работ сообщества крупных беспозвоночных (дождевые черви, многоножки, личинки насекомых). Так, стафилиниды рода *Bledius* и чернотелки рода *Velopus* показательны для солончаково-солонцовых почв, многоножки-кивсяки, некоторые мокрицы, лёгочные моллюски служат индикаторами содержания в почве извести. Дождевые черви *Octola-*

sium lacteum и некоторые виды проволочников являются показателями высокого содержания кальция в грунтовых водах.

Микроорганизмы – очень чуткие индикаторы, резко реагирующие на различные изменения в среде. Так как почва характеризуется составом и численностью разных групп *микробиоты* (бактерии, водоросли, грибы), их суммарной активностью, активностью биохимических процессов, то показателями биологической активности почв, применяемых в биоиндикации, могут служить количественные характеристики численности и биомассы разных групп почвенной микробиоты, их общая продуктивность, некоторые данные их энергетики, активность основных процессов, связанных с круговоротом элементов, ферментативная активность почв, а также количество и скорость накопления некоторых продуктов жизнедеятельности почвообитающих микроорганизмов (Мелехова, 2007).

Организация наблюдений за загрязнением почв. Для определения загрязнений промышленного происхождения отбор проб почвы производится один раз в год в летний период. Для контроля выбираются почвы, занятые дикорастущими растениями (в ненарушенных естественных местообитаниях). Для определения точек отбора применяется азимутальный метод. Каждый год пробы отбираются вокруг промышленных центров по четырём румбам на расстоянии 1; 2; 3; 5; 10 км. Один раз в пять лет обследование почвы проводят более подробно по всем 16 румбам и на расстоянии 0; 0,2; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 8; 10; 20; 30; 50 км. Положение точек отбора проб отмечается на карте.

2.1 Индикация кислотности почв по видам растений

Кислотность почвы влияет на усвояемость различных элементов минерального питания. Каждый организм существует при определенной величине рН среды, поэтому некоторые растения могут быть индикаторами почв. Зная эти растения, можно определить рН почвы.

По отношению к кислотности почвы различают три основные группы растений (см. Экологию растений, Л.Г. Раменский, 1956 г.): 1) ацидофилы – растения кислых почв; 2) нейтрофилы –

обитатели нейтральных почв; 3) базофилы – характерны для щелочных почв. При обнаружении нескольких видов или при высоком обилии в фитоценозе какого-либо вида из определённой группы можно примерно оценить кислотность почвы (табл. 2.1).

Таблица 2.1 – Растения-индикаторы кислотности почв

| Группа растений | Виды-индикаторы | Кислотность почвы, ед. рН |
|-----------------------|--|---------------------------|
| Крайние ацидофилы | Сфагнум (белый мох), зелёные мхи (гилокомиум, дикранум), плауны, пушица, ожика волосистая, подбел многолистный, кошачья лапка, белоус, щучка дернистая, хвощ полевой, щавелёк малый, лишайник цетрария | 3,0-4,5 |
| Умеренные ацидофилы | Черника, брусника, багульник, калужница болотная, сушеница, толокнянка, седмичник европейский, белозор болотный, фиалка собачья, сердечник луговой, вейник наземный | 4,5-6,0 |
| Слабые ацидофилы | Папоротники орляк и мужской, ветреница лютичная, медуница неясная, зеленчук непарный, колокольчики крапиволистный и широколистный, бор развесистый, осоки волосистая и ранняя, малина, смородина чёрная, вероника длиннолистная, горец змеинный, иван-да-марья, кисличка | 5,0-6,7 |
| Ацидофило-нейтральные | Ива козья, мох плеврозиум Шребера | 4,5-7,0 |
| Нейтрофилы | Сныть европейская, лисохвост луговой, клевер горный и луговой, мыльнянка лекарственная, аистник цикутный, борщевик сибирский, мятлик луговой | 6,0-7,3 |
| Базофило-нейтральные | Мать-и-мачеха, пупавка красильная, люцерна серповидная, келерия, осока мохнатая, лядвенец рогатый, лапчатка гусиная | 6,7-7,8 |
| Базофилы | Бузина сибирская, вяз шершавый, бересклет бородавчатый | 7,8-9,0 |

Цель работы – охарактеризовать реакцию почвенной среды по видовому составу и обилию видов фитоценоза на выбранном участке.

Материалы и оборудование:

- определители и атласы растений;
- гербарий растений;
- универсальная индикаторная бумага с цветовой шкалой;
- ёмкости для приготовления водных вытяжек из почвы.

Ход работы

1. На выбранном участке с помощью определителей и атласов, используя гербарный материал, дать название всем растениям.

2. Указать растения-индикаторы и выявить, к какой группе растений по отношению к кислотности почвы относятся данные виды растений (табл. 2.1).

3. Проверить правильность предположения о кислотности почвы с помощью универсальной индикаторной бумаги, приготовив водную вытяжку из почвы, и определить рН.

4. Сделать вывод на основе полученных результатов.

Задание: сделать предварительную оценку кислотности почвы по видовому составу и обилию видов фитоценоза на выбранном участке; проверить правильность предположения с помощью универсальной индикаторной бумаги, приготовив почвенную вытяжку на основе воды с известной рН. Сделать вывод на основе полученных результатов.

2.2 Определение плодородия почвы по ее цвету и продуктивности растений

Одним из главных признаков плодородной почвы является наличие в ней гумусовых веществ, которые обуславливают черную, темно-серую и серую окраски. Помимо этих цветов соединения окислов железа придают почве красноватый и бурый оттенок, от закисей железа формируются голубовато-зеленоватые тона; кремнезем, углекислый кальций, каолинит придают белую

и белесую окраску. Эти же тона формируются при наличии в почве гипса и некоторых легкорастворимых солей.

Почву по содержанию гумуса и цвету можно условно разделить на следующие категории по плодородию (табл. 2.2).

Таблица 2.2 – Окраска почв в зависимости от содержания гумуса

| Окраска почв | Содержание гумуса, % | Категории плодородия |
|--------------|----------------------|---|
| Очень черная | 10–15 | Высокогумусная, очень плодородная |
| Черная | 7–10 | Гумусная, плодородная |
| Темно-серая | 4–7 | Среднегумусная, среднеплодородная |
| Серая | 2–4 | Малогумусная, среднеплодородная |
| Светло-серая | 1–2 | Малогумусная, малоплодородная |
| Белесая | 0,5–1 | Очень малогумусная, очень малоплодородная |

Плодородие почвы можно также определить по продуктивности растений (методом биотестов). Для объективной оценки плодородия почвы надо использовать тесты с разными растениями (не менее трех). Каждый тест проводится в трехкратной повторности. Тестовые объекты – семена пшеницы, овса, ячменя, гороха, вики, редиса и др. (Федорова, Никольская, 2001).

Цель работы – определить плодородие почвы по ее цвету и продуктивности растений

Оборудование и материалы:

- таблицы или набор стандартных цветовых эталонов почвенных разностей;
- пластмассовые или стеклянные стаканчики объемом 100–150 мл;
- стеклянные трубочки диаметром 0,8 см;
- фольга;

- образцы почвы, взятые в разных местах и сильно различающиеся по цвету;
- семена различных растений;
- чистый промытый и прокаленный песок;
- образец высокогумусной почвы с известным процентным содержанием гумуса (например, 10 %).

Ход работы

1. Образцы почв с разным содержанием гумуса рассматривают при разном освещении, сравнивают с эталонным образцом, определяют их категорию согласно вышеприведенной таблице. Затем почвенные образцы массой 100–150 г помещают в пластмассовые или стеклянные стаканчики в трехкратной повторности. Контроль – чистый промытый и прокаленный речной песок. Предварительно перпендикулярно дну каждого стаканчика вставляют стеклянную или пластмассовую трубочку, через которую производят полив почвы одинаковым для опытов и контроля количеством воды.

2. Отобранные одинаковые проростки высаживают в стаканчики с почвой по 12–13 штук на одинаковую глубину, предварительно сделав палочкой небольшие углубления. Через несколько дней, после приживания проростков, их отбраковывают и оставляют 10 штук в стаканчике. Почву поливают одинаковым количеством отстоянной водопроводной воды через трубочки. Воронки для налива воды делают из фольги.

3. После того как проростки достигнут размера 8–12 см, их осторожно выкапывают из почвы, отмывают водой и обсушивают фильтровальной бумагой. Затем измеряют длину трубчатого листа и корневой системы отдельно; можно их взвесить.

Плодородие почвы определяют по высоте или массе проростков (по отношению к контролю, который принимается за 100 %). Для этого составляется шкала оценок. Почва по плодородию делится на 5 условных категорий:

- 1) очень бедная, малопродуктивная – песок (условная оценка –100 %);
- 2) почва бедная, малогумусная, малопродуктивная;
- 3) среднегумусная, среднепродуктивная;

4) гумусная, плодородная;

5) очень плодородная для данной местности (например, высокогумусный типичный чернозем, горизонт «А»).

4. Описание результатов опыта. Например, средняя величина проростков на песке – 5 см (100 %), а на очень плодородной почве – 10 см (200 %). Промежуточные градации: 1) величина проростков 6 см (125 %), 2) – 7,5 см (150 %), 3) около 9 см (175 %).

5. Сделать выводы.

2.3 Оценка солевого загрязнения почвы по листьям липы

В городах очень часто для борьбы с гололёдом вместе с песком используют поваренную соль, т.к. она вызывает таяние льда. Накопление соли в почве сказывается на состоянии листьев липы, очень чувствительной к засолению почвы. Это проявляется в определённых типах хлорозов, которые можно оценить по следующей шкале:

- на крае листовой пластинки узкая жёлтая полоса: I стадия – следы;

- широкая краевая полоса: II стадия – среднее засоление;

- обширный краевой некроз с жёлтой пограничной полосой: III стадия – сильное засоление;

- большая часть листовой пластинки отмирает: IV стадия – количество соли в почве газонов граничит с пределами выносимости вида.

Цель работы – определить степень солевого загрязнения почвы по листьям липы.

Материалы и оборудование:

– бумажные пакеты;

– лупа.

Ход работы

1. Выделить исследуемые участки в различных районах или частях микрорайона города.

2. Вести учет всех лип, фиксируя все повреждения в наружной части кроны со всех сторон.
3. Заполнить таблицу 2.3.
4. По результатам исследований сделать вывод о степени солевого загрязнения почвы на участках по преобладающей стадии засоления.
5. На карте-схеме города выделить участки, загрязненные солью.

Таблица 2.3 – Степень засоления почвы для участка № ...

| Место исследования | № дерева | Преобладающий тип некроза | Стадия засоления |
|---|----------|---------------------------|------------------|
| | | | |
| Итог (по преобладающей стадии засоления): | | | ... |

2.4 Определение степени увлажнения почвы по морфологии корневой системы одуванчика

Одуванчик обыкновенный, или лекарственный, – широко распространённое на газонах, вдоль дорог, на лугах и пастбищах растение, многолетний розеточный корнеотпрысковый сорняк, имеющий так же, как и все растения из сем. Астровые, высокую семенную продуктивность. У одуванчика хорошо выраженная стержневая корневая система. Однако в зависимости от уровня залегания грунтовых вод внешний вид корневой системы может значительно различаться вследствие изменения направления и формы роста корней (главного и боковых) и в целом ветвления (рис. 2.1).

Так, на сухих местах (глубокое залегание грунтовых вод, водное питание в основном за счёт атмосферных осадков) корневая система более экстенсивного типа с хорошо выраженным, длинным и относительно тонким главным корнем и более тонкими, почти равномерно расположенными короткими боковыми. На свежем лугу – главный корень утолщённый, боковые почти равны по длине и толщине главному. На сыром и заболоченном

лугах (близкое залегание грунтовых вод) главный корень укорочен и нередко искривлен, корневая система довольно компактна.

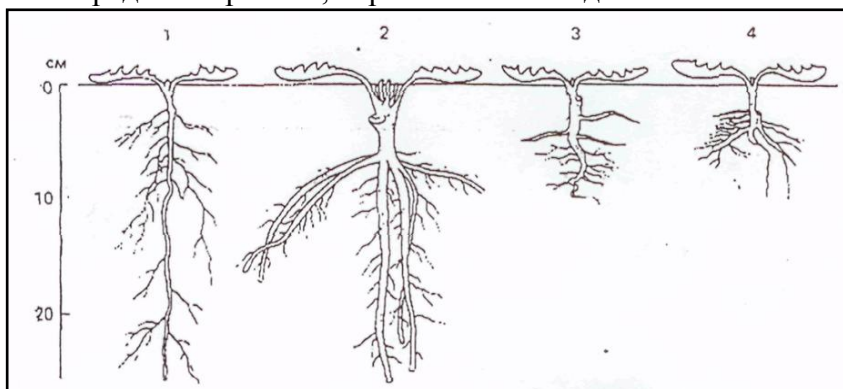


Рисунок 2.1. Изменение направления роста корней у одуванчика (*Taraxacum*) в зависимости от уровня грунтовых вод (по Шуберт, 1988): 1 – сухой луг; 2 – свежий; 3 – сырой луг; 4 – заболоченная территория.

Цель работы – определить уровень залегания грунтовых вод по внешнему виду корневой системы одуванчика.

Материалы и оборудование:

- лопата;
- гербарий выкопанных растений одуванчика;
- линейка.

Ход работы

1. Для выполнения работы необходимо выбрать несколько участков (как минимум – два), различающихся по увлажнению – например, в низине и на более высоком месте. Необходимо учесть лимитирующий в данном случае фактор – степень уплотнения почвы, чтобы почва на участках была примерно одинаковой по этому показателю.

2. На выбранных участках аккуратно (без повреждения корневой системы) выкопать несколько растений одуванчика (как минимум три, но лучше 5) с одинаковыми по величине и степени развития прикорневыми розетками.

3. Корневые системы отряхнуть от почвы или промыть водой, зарисовать, описать и заложить в гербарий.

4. Измерить и занести в таблицу 2.4 некоторые метрические показатели растений по участкам: 1) длина главного корня; 2) толщина главного корня; 3) число боковых корней первого порядка; 4) длина и толщина боковых корней; 5) наличие боковых корней второго порядка и их выраженность.

5. Сравнить с рисунком и сделать выводы.

Таблица 2.4 – Развитие корневой системы у растений одуванчика на участке № ...

| № растения | Метрические показатели, см | | | | | Примечания |
|------------|----------------------------|---|---|---|---|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| | | | | | | |
| Среднее | | | | | | |

2.5 Индикация состояния окружающей среды по частотам встречаемости различных фенотипов клевера белого

Фен – вариант признака, заложенный в генотипе и проявляющийся при изменении условий окружающей среды тем чаще и разнообразнее, чем сильнее воздействие фактора и его амплитуда. Антропогенное воздействие, в частности загрязнение, зачастую и является таким фактором, отражаясь на вариабельности признаков и фенотипической структуре популяции. Поэтому частота встречаемости некоторых фенотипов может являться биоиндикатором степени загрязнения среды (Ашихмина, 2000).

У белого клевера (ползучего – *Triforium repens*), который довольно широко распространён в травянистых фитоценозах и урбо-, и агроэкосистем (хорошо переносит вытаптывание и вегетативно подвижен), таким признаком является форма беловатого рисунка на листьях.

Наблюдения осуществляются путем подсчета форм с различным рисунком и без него (рис. 2.2) и последующего расчета частоты их встречаемости в процентах. Диагностику желательно проводить на разных пробных площадках, различающихся антропогенной нагрузкой и положением в ландшафте.

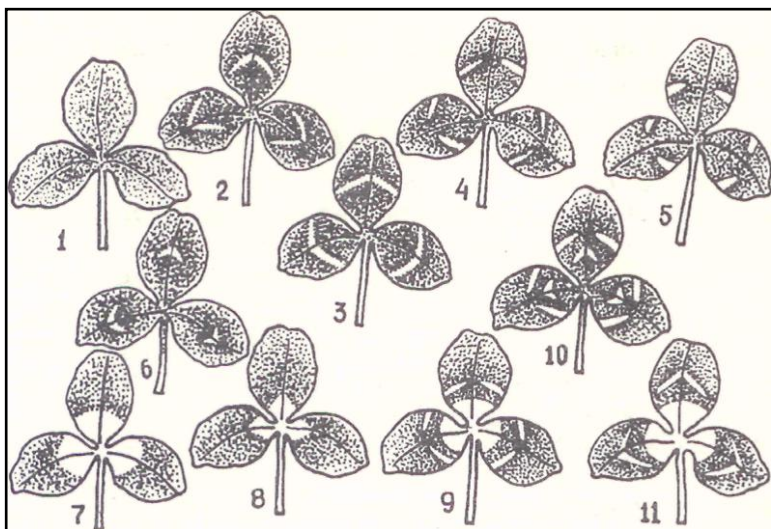


Рисунок 2.2. Фенотипы белого клевера

Цель работы – определить состояние окружающей среды, в частности почвы, по частотам встречаемости различных фенов клевера белого.

Материалы и оборудование:

- гербарий или готовый атлас фенотипов белого клевера (рис. 2.2);
- лупа;
- ручка,
- блокнот.

Ход работы

1. Для работы необходимо выбрать участок (-и), который испытывает влияние какого-либо источника загрязнения (авто-трасса, промышленное предприятие) и где встречается клевер белый. На этом участке, двигаясь по направлению от источника загрязнения согласно розе ветров, фиксировать примерно через 2-3 шага все куртинки клевера и их фенотип, составляя атлас рисунков разных фенов. Подсчет фенов вести в заданном направлении до конца участка.

2. Поменять направление движения и подсчет продолжать до тех пор, пока не будет сделано не менее 200 отсчетов. Если на

какой-либо точке площадки обнаруживаются два разных фена, то данный результат не учитывается ввиду переплетения куртинок. Учитывать также степень повреждения листовых пластинок, отклонение от обычной формы листьев и т.д. Данные по каждому фену для каждого участка заносятся в таблицу 2.5:

Таблица 2.5 – Индекс соотношения фенов для пробной площадки № ...

| № фена | Число растений (побегов) | Всего | Частота фенотипа, % | Примечания | ИСФ |
|--------|--------------------------|-------|---------------------|------------|-----|
| | | | | | |

3. На каждой пробной площадке рассчитать частоты встречаемости отдельных фенов P_i . Частота встречаемости равна отношению числа растений (можно учитывать побеги, т.к. при вегетативном размножении иногда бывает трудно выделить отдельное растение) с определённым феном (фен № 1 – отсутствие рисунка) к общему числу учтённых растений, это отношение умножают на 100, чтобы выразить его в процентах, т.е.

$$P_2 = (p_2 / N) \times 100\% \text{ и т.д.}$$

4. Рассчитать индекс соотношения фенов (ИСФ) - суммарную частоту встречаемости всех форм для каждого участка. Для этого сумму всех растений только с рисунками на листьях делят на общее число учтённых растений и умножают на 100, т.е.

$$\text{ИСФ}_1 = [(p_2 + p_3 + \dots) / N] \times 100\%.$$

5. По величине ИСФ выделить антропогенно нагруженные участки. На чистых участках ИСФ не превышает 30%, а на загрязняемых может повышаться до 70-80%.

6. Сделать вывод.

2.6 Оценка состояния древостоя смешанного леса

Биоиндикация в этом случае неспецифичная, косвенная и оценивает влияние многих факторов в результате длительного действия на экосистему в целом. Эти методы могут использоваться в дополнение к методам лишеноиндикации, общей инвентаризации древесно-кустарниковых насаждений в урбоэкосистемах и др. методам общей оценки качества среды в самых различных экосистемах.

Оценка состояния древостоя производится для установления вредного влияния антропогенных факторов и прогнозирования судьбы исследуемой лесной экосистемы.

Цель работы – оценить состояние древостоя смешанного леса.

Оборудование и материалы:

– гербарий и определители растений;

– рулетка.

Ход работы

1. Выбрать ключевой (наиболее представительный) участок и заложить пробную площадку размером 100 м^2 ($10 * 10 \text{ м}$).

2. Определить все виды деревьев, здесь произрастающих.

3. Составить формулу древостоя, например, 5ЛЗТ1К – на площадке произрастают 5 лип, 3 тополя и один клён (всего 9 деревьев).

4. По внешним признакам (см. шкалу визуальной оценки ниже – таблица 2.6) определить балл состояния каждого отдельного дерева на площадке (C_1 , C_2 и т.д.);

5. Вычислить средний балл состояния каждой породы по формуле: $C_{\text{л}}$ равно сумме C_1 , C_2 и т.д. для всех лип, делённое на общее число лип на площадке: $C_{\text{л}} = C_1 + C_2 \dots + C_5 / 5$;

6. Определить коэффициент состояния древостоя: K в целом – как среднее арифметическое средних баллов состояния различных деревьев на пробной площадке; K равно сумме средних C для каждой породы, делённое на общее число пород (N) на площадке, т. е.

$$K = C_1 + C_2 \dots + C_i / N.$$

8. Дать общую и более детальную характеристику (табл. 2.6) древостоя.

Таблица 2.6 – Шкала визуальной оценки состояния деревьев по внешним признакам

| Характеристика состояния древостоя | Балл |
|--|------|
| Деревья здоровые, без внешних признаков повреждения, величина прироста соответствует норме | I |
| Ослабленные деревья. Крона слабожурная, отдельные ветви усохли. Листья или хвоя часто с жёлтым оттенком. У хвойных на стволе сильное смолотечение и отмирание коры на отдельных участках | II |
| Сильно ослабленные деревья. Крона изрежена, со значительным усыханием ветвей. Вершина сухая. Листья обычно мелкие, иногда увеличены, светло-зелёные; хвоя с бурым оттенком, держится на ветвях 1-2 года. Прирост снижен или отсутствует вовсе. Сильное смолотечение. Значительные участки коры отмерли | III |
| Деревья усыхающие, наблюдается усыхание ветвей по всей кроне. Листья мелкие, недоразвитые, бледно-зелёные с жёлтым оттенком. Отмечается ранний листопад. Хвоя повреждена на 60% от общего количества. Прирост отсутствует. На стволах отмечаются признаки заселения короедами и другими вредителями | IV |
| Деревья и крона сухие. Листьев нет; хвоя жёлтая или бурая, осыпается или уже осыпалась. Кора на стволах отслаивается или отпала. Стволы заселены ксилофагами (потребителями древесины) | V |

Таблица 2.7 – Критерии оценки состояния древостоя

| Коэффициент состояния | Балл | Общая характеристика древостоя |
|-----------------------|------|--------------------------------|
| < 1,5 | I | Здоровый |
| 1,6-2,5 | II | Ослабленный |
| 2,6-3,5 | III | Сильно ослабленный |
| 3,6-4,5 | IV | Усыхающий |
| > 4,6 | V | Погибший |

8. Сделать выводы.

2.7 Индикация пастбищной дигрессии растительного покрова (по Л.Г. Раменскому)

Вследствие периодического стравливания растений при выпасе скота почва оголяется, сильнее прогревается и иссушается, уплотняется. При близком залегании грунтовых вод уплотнение почвы приводит к её переизбыточному увлажнению.

В результате выпаса на лугах формируются вторичные группировки: уменьшается обилие хорошо поедаемых видов, в частности мезофильных видов, и увеличивается доля пастбищных ксерофитов (например, типчак) и выгонных растений (спырьш, рогач, мятлик), которые имеют низкую кормовую ценность. Из года в год увеличивается доля непоедаемых и плохо поедаемых растений (астровые с грубыми листьями, например, тысячелистник, скерда) вплоть до ядовитых и вредных (молочай, астровые с опушёнными плодами или горькими листьями, яснотковые и т.п.). На сырых лугах образуются крупные кочки из осок.

В целом мезофильное разнотравье и высокие рыхло- и плотнокустовые злаки заменяются мелкодерновинными злаками (овсяница бороздчатая, тонконог), затем они сменяются полукустарничками и многолетними бурьянами (полынь, чабрец), характерными становятся эфемероиды (мятлик луковичный), растения со стелющимися приземными листьями (прикорневая розетка) - одуванчик, подорожник или побегами – полынь австрийская, спорыш.

Выделяют (Л.Г. Раменский) 10 ступеней пастбищной дигрессии (кроме заболоченных почв):

1-2: влияние выпаса отсутствует или очень слабое. Видовое разнообразие значительное, доля разнотравья – высокая. Видоиндикаторы: чина луговая, герань.

3-4: слабое влияние выпаса, сходное с влиянием раннего и нормального систематического кошения. На лугах уменьшается доля разнотравья, увеличивается – злаков, особенно верховых. Индикаторы: лютики, чемерица, жеруха.

5: умеренное (среднее) влияние выпаса. На лугах и в степи верховые злаки сменяются низовыми, в степи и полупустыне уменьшается роль злаков и возрастает – полыней, солянок; эфемеров и однолетников; появляются и начинают разрастаться па-

стбищные сорняки. На умеренно выпасаемых лугах наблюдается господство сенокосных злаков (костёр, пырей, тимофеевка, овсяница луговая), луг становится ценным сенокосным угодьем.

6-7: сильное влияние выпаса (пастбищная стадия). На лугах господствуют низовые злаки. местами низкорослые бобовые (клевер белый), много низкорослых многолетников из разнотравья (одуванчик, кульбаба осенняя, лапчатка гусиная). В полупустыне и степи господствуют полыни, велика роль эфемеров и однолетников. Сильно выпасаемые луга имеют типично пастбищный травостой с высокой степенью отрастания, образованный в основном низовыми злаковыми (мятлик луговой, овсяница красная, полевица ползучая) с примесью клевера лугового, ползучего, лядвенца, одуванчика, кульбабы, тысячелистника.

8: полусбой. Низовые злаки на лугах и в степях, полыни в полупустыне наполовину и более вытеснены сорными многолетними и однолетними растениями, большое количество неподаваемых и колючих пастбищных сорняков.

9: сбой. Растительный покров сильно изрежен, образован преимущественно однолетниками с высокой *отавностью* (способность отрастать после скашивания) – спорыш.

10: абсолютный сбой. Почва оголена. Произрастают лишь единичные растения.

Цель работы – определить степень пастбищной дигрессии растительного покрова.

Материалы и оборудование:

- определитель и атлас растений;
- гербарий растений.

Ход работы

1. Выбрать участки (как минимум 2) с луговой растительностью без выпаса и с выпасом.

2. Провести описание растительности для каждого участка: 1) видовой состав (начиная с самого обильного вида), 2) обилие (по шкале Друде и по проективному покрытию в %); 3) жизненная форма (по особенностям надземной и подземной частей – по И.Г. Серебрякову и Г.Н. Высоцкому – см. Экологию растений), 4) виды-индикаторы (или доминанты); 5) примечание (значение

видов – ядовитый, вредный, непоедаемый и т.п.); б) степень дигрессии. Представить результаты в табличной форме:

Таблица 2.8 – Характеристика растительного покрова исследуемого участка

| Видовой состав | Обилие | Жизненная форма | Виды-индикаторы | Примечание | Степень дигрессии |
|----------------|--------|-----------------|-----------------|------------|-------------------|
| | | | | | |
| | | | | | |

3. Сравнить участки по числу видов, их значению и доминантам, сделать вывод.

2.8 Биоиндикация рекреационной нагрузки

Рекреация – место отдыха человека, обычно это парки, леса, водоёмы. Рекреационная нагрузка тем выше, чем а) выше плотность населения и б) меньше естественных привлекательных для отдыха ландшафтов. Особенно велика рекреационная нагрузка неорганизованного отдыха при использовании резко возросшего числа личного автотранспорта.

Основной приём учёта рекреационной нагрузки – регистрация последовательных этапов разрушения растительности (аналог учёта стадий пастбищной дигрессии): от совершенно здорового древостоя до полной гибели древесного яруса и отсутствия напочвенного покрова (в первую очередь исчезают эпигейные лишайники и мхи).

Стадии дигрессии лучше и быстрее всего оцениваются на открытой местности, а также в лесных насаждениях путём определения процента деградированных участков или площади, занимаемой дорогами и тропами (так наз. дорожно-тропическая сеть - ДТС). В этом случае выделяют 5 основных стадий дигрессии (по Е.Н. Шелуховой, 1994):

1 стадия. ДТС выражена слабо, значительных изменений растительности по сравнению с контрольным участком, не по-

сечаемым людьми совсем или только случайно, не обнаруживается.

2 стадия. ДТС занимает 5-10%.

3 стадия. ДТС занимает 20-30%.

4 стадия. ДТС занимает около 50%; происходит исчезновение лесных травянистых видов – уменьшается ПП, отмечается внедрение луговых и сорных видов.

5 стадия. ДТС занимает около 90%, преобладает луговая и сорная растительность.

Важными признаками при оценке стадии рекреации являются также:

1) соотношение лесных (теневыносливых растений: зеленчук, медуница, копытень, вороний глаз и др.), луговых (осоки, сныть, щучка и др.) и сорных (мятлик однолетний, клевер ползучий вплоть до амброзии и подорожника) видов;

2) общее снижение видового разнообразия при сильном и постоянном нарушении (на пограничных участках или в начальной стадии нарушений – наоборот, увеличение за счёт встречи на одном участке разных фитоценотивов);

3) общее состояние древесных растений – разреженность, суховершинность, плохое ветвление или облиствение, заломы, сбитости коры и т.п.

Цель работы – определить стадию рекреационной дигрессии.

Материалы и оборудование:

– измерительная лента;

– определитель и гербарий растений.

Ход работы

1. Выбрать опытные и контрольный участки в местах отдыха населения.

2. Сделать их общее описание: местообитание, площадь, характер использования и др. особенности.

3. Вычислить площадь ДТС в % :

- при небольшом участке можно определить глазомерно аналогично ПП;

- при большом участке выделить наиболее репрезентативную площадку и с помощью шагов или мерной ленты определить общую площадь (S_o) участка и участков ДТС (тропинки, асфальтированные дорожки, вытопанные площадки и т.п.).

4. Определить индекс ДТС ($S_{дтс}$), разделив $S_{дтс}$ на S_o и умножив на 100, т.е. узнать соотношение площадей нарушенных участков и территории отдыха:

$$S_{дтс} = (S_{дтс} / S_o) * 100.$$

4. По значению ДТС (%) дополнительным признаком (см. выше) указать стадию рекреационной дигрессии каждого участка.

5. Сделать вывод и возможный прогноз с рекомендациями..

2.9 Биоиндикация основных свойств почвы с помощью беспозвоночных

Биоиндикация ведётся с помощью трёх основных групп животных (М.С. Гиляров, 1965):

1) физиологически водные животные, населяющие крохотные водоёмы почвенной влаги, – преимущественно простейшие (амёбы, инфузории и т.п.) с размером тела 50-150 мк, а также многоклеточные беспозвоночные размером около 1 мм – нематоды, коловратки, тихоходки;

2) микрофауна, обитающая в почвенных пустотах, – мелкие членистоногие, или микроартроподы, размером от 0,2-0,3 до 2-4 мм (клещи, ногохвостки, мелкие насекомые);

3) мезофауна – сравнительно крупные членистоногие размером от нескольких мм до нескольких см, ведущие роющий образ жизни (дождевые черви, мокрицы, многоножки, личинки и имаго многих насекомых).

Представители последней группы – мезофауна – наиболее часто используются в биоиндикации, т.к. они достаточно крупные и больше зависят от всей совокупности условий обитания в почве.

Наиболее устойчивые и богатые по видовому составу почвенные зооценозы формируются под естественной древесно-

кустарниковой растительностью. Менее устойчивы и разнообразны они под многолетними травами и особенно однолетними. Поэтому сравнительный анализ видового состава и обилия популяций зооценозов беспозвоночных в лесной почве и почве, предназначенной для древесно-кустарниковых насаждений, является показателем успешности лесоразведения, восстановления лесных фитоценозов, создания лесополос.

Определённые типы зооценозов (видовой состав, обилие, распределение, плотность) характеризуют достаточно чётко (даже лучше, чем растительный покров) типы почв, типы и динамику почвообразовательных процессов, происхождение почв и т.д. Среди коллембол, жужелиц и др. почвенных животных выделены различные экологические группы для разных видов гумуса и степени гумификации, типа почв и т.п.

Зоологический анализ компостов (Н.М. Чернова, 1996) позволяет достаточно точно определить степень гумификации органических остатков – разные стадии созревания компостов – по преобладанию разных групп беспозвоночных: например, в зрелых компостах много дождевых червей, среди коллембол характерны белые почвенные формы; разные стадии разложения древесины характеризует ряд «жуки-усачи и короеды – грибы – муравьи – дождевые черви».

Лучшими индикаторами порозности почв (объём пустот между частицами почвы) являются микроартроподы – мелкие клещи и ногохвостки: вертикальное распределение микроартропод хорошо коррелирует с общей порозностью почвы.

На лёгких, в частности песчаных, почвах обитают организмы с длинным телом, часто с ложной сегментацией (например, личинки щелкунов), нередок волосистый покров тела, шипики лучше развиты на головном конце тела, на заднем конце тела могут наблюдаться тонкие щетинки; жужелицы имеют покров с металлическим отливом; обычны мраморный и белый хрущи. В среднем видовое разнообразие на лёгких почвах меньше, но выше плотность населения.

На тяжёлых, в частности глинистых, почвах у обитателей сильнее развиты опорные шипики на брюшной стороне послед-

него сегмента, а головная часть относительно гладкая; жужелицы имеют матовый покров тела. Для тяжёлых влажных почв обычны мокрицы.

Численность дождевых червей нарастает от кислых почв к щелочным, например, для лесной зоны: при рН 3 – 1,2 экз/м²; 4 – 6,2; 5 – 15,0; 6 – 25,0; 7 – 40,0; 8 – 55,0. Для обычного дождевого червя (*Lumbricus terrestris*), обитающего и в урбозоне, оптимальным является рН 5-8. Личинки щелкунов выбирают слабокислые почвы – 4,0-5,5.

Дождевые черви являются отрицательными индикаторами засоленных почв, т.е. не переносят даже небольшого засоления.

Для богатых кальцием почв (чернозёмы и серые лесные почвы лесостепей) характерны кальцефилы: диплоподы (например кивсяки), мокрицы с сильно развитым панцирем, раковинные моллюски (например улитки), дождевые черви. Численность кальцефилов резко повышается при известковании почв, что может служить хорошей индикаторной реакцией динамики богатства почв кальцием при агротехнических мероприятиях.

Ответные реакции (параметры учёта): видовой состав, структура зооценозов, плотность, обилие.

Цель работы – охарактеризовать основные свойства почвы с помощью беспозвоночных

Материалы, оборудование и реактивы:

– определители и атласы беспозвоночных или почвенных животных;

– штыковая лопата;

– резиновые перчатки;

– полиэтиленовая плёнка 1 м х 1 м;

– лист белой бумаги того же размера (можно клеёнку белого цвета);

– закрывающиеся стеклянные ёмкости (пузырьки из-под лекарств, чашки Петри);

– пинцеты;

– лупа 2- или 3-кратного увеличения с диаметром стекла 90 мм;

– фиксирующий раствор (4 мл формалина + 2 мл спирта + 100 мл воды) либо эфир медицинский.

Ход работ

1. Выбрать площадки размером 20 см x 20 см с различными почвенными разностями (в различных частях города).

Например: площадка 1 – правый берег р. Кубани; 2 – опытное поле; 3 – лесополоса около правого берега р. Кубани; 4 – обочина дороги; 5 – Ботанический сад, газон.

2. Провести общее описание, указав дату, время, погодные условия, визуальные наблюдения и особые замечания (графа «Примечание»).

3. Занести полученные данные в таблицу 2.9:

Таблица 2.9 – Место и условия проведения исследований

| № площадки | Описание площадки | Привязка к местности | Климатические условия | Визуальные наблюдения | Примечания |
|------------|-------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|------------|
| | | | | | |

4. Отобрать на каждой площадке по 5 проб объемом 20 см³ 20 см x 20 см (штык лопаты) на расстоянии не менее 2 м; почву выбираемой пробы помещают на белую клеёнку.

5. Тщательно вручную разобрать пробы путём перебора почвы. Извлечённых животных помещают в стеклянные ёмкости с фиксирующим раствором, указав на ней номер пробы.

6. С помощью лупы определить найденных животных до вида или группы (точность определяется задачами и квалификацией исследователя) с помощью атласов или определителей. Внешнее строение животного (особенности морфологии, размеры) описывается.

7. Подсчитать количество особей каждой группы (или вида).

8. Пересчитать число животных на 1 м² по формулам:

1) $S = A \times B$, где S – площадь всех проб площадки, A – площадь одной пробы (0,04 м²), B – число исследованных проб;

2) $M = C/S$, где M – число экземпляров на 1 м^2 (экз/м²); C - количество животных одного вида или группового состава.

Данные заносятся в таблицу 2.10:

Таблица 2.10 – Состав почвенной мезофауны площадки № ...

| № п/п | № пробы | Состав мезофауны | Особенности морфологии | Число экз в пробе | Экз/м ² |
|-------|---------|------------------|------------------------|-------------------|--------------------|
| | | | | | |

9. Выделить виды-индикаторы для оценки основных свойств почвы:

- плотность и механический состав;
- реакция (кислотность) и солевой режим (степень засоления);
- содержание кальция (качественное определение);
- гидротермический режим (влажность).

10. Заполнить таблицу 2.11.

Таблица 2.11 – Основные свойства почвы на площадке №...

| № п/п | Вид-индикатор | Особенности почвы | Примечания |
|-------|---------------|-------------------|------------|
| | | | |

11. Сравнить свойств почв на площадках исследования и сделать выводы.

2.10 Индикация индустриального загрязнения почв по количественной оценке популяции дождевых червей

Индустриальные загрязнения связаны с выбросами промышленных предприятий и автотранспорта (ТМ, углеводороды, оксиды углерода, серы, азота и др.) и химических средств защиты растений и удобрений в сельском хозяйстве (пестициды, нитраты). Дождевые черви являются очень чувствительными индикаторами первичной стадии загрязнения почвы, т.к. обитают в

верхних слоях почвы, имеют тонкие и влажные покровы тела. Даже при незначительном загрязнении они чутко реагируют снижением численности и биомассы популяций.

Важным ограничивающим фактором численности дождевых червей даже в условиях антропогенного воздействия является влажность почвы – наиболее благоприятна такая влажность, при которой зажатая в кулак почва образует ком, не липнувший к руке и сохраняющий свою форму, но рассыпающийся от лёгкого удара.

Цель работы – провести индикацию индустриального загрязнения почв по количественной оценке популяции дождевых червей.

Материалы и оборудование:

- штыковая лопата;
- пакет для пробы;
- этикетки для проб;
- кусок клеёнки;
- перчатки хозяйственные;
- пинцет;
- весы с точностью до грамма.

Ход работы

1. Наметить маршрут и точки исследований на разных расстояниях от основного источника загрязнения – 0,2; 0,5; 1; 2 ... км, учитывая предварительную экологическую характеристику района обследования (источники загрязнения, их расположение и степень влияния, а также розу ветров, рельеф и т.п. первичные сведения). Участки отбора проб должны быть сходными по составу почвы, растительному покрову и уровню залегания грунтовых вод.

Фоновые участки (контроль) должны находиться вне зоны действия загрязнения.

2. Измерить толщину подстилки во всех точках взятия проб и оценить грубость растительного материала в ней, что может служить косвенным показателем степени загрязнения. Сильное загрязнение почв тормозит процессы её разложения вследствие токсического действия на микроорганизмы.

3. Отбор проб производится на площадках 20 x 20 см до глубины 0-5 и 5-10 см в десятикратной повторности (для предварительной оценки достаточна 3-кратная повторность). Выкопанная почва помещается в пакет и разбирается на месте или в лаборатории.

4. Разбор пробы. Небольшие порции почвы помещаются на клеёнку и распределяются по ней тонким слоем. Все обнаруженные дождевые черви пересчитываются, и определяется их биомасса путём взвешивания (в течение часа). **С животными работать осторожно и вернуть их после исследования в природу, лучше на прежнее место.**

Заполнить таблицы для каждого участка исследования:

Таблица 2.12 – Количество дождевых червей на участке № ...

| № участка | № пробы | Число червей (экз/м ²) | Масса червей (г/м ²) | Примечания |
|---------------------|---------|------------------------------------|----------------------------------|------------|
| | | | | |
| Среднее для участка | | | | |

Построение графика. По оси ординат откладываются средние значения численности (экз/м²) или биомассы (г/м²) червей для каждой точки исследования, а по оси абсцисс – расстояние от источника загрязнения (км). Получается график, отображающий количественное изменение популяций дождевых червей в зависимости от удаленности от источника загрязнения.

5. Сравнить полученные данные с показателями контрольного участка, сделать выводы. Установить критическую численность дождевых червей для максимального уровня токсикантов и их нормальную численность для района исследований (на контрольном участке). Например, в хвойных лесах Вологодской области численность дождевых червей составляет в среднем 10 экз/м².

2.11 Биотестирование летучих токсических веществ, воды, вытяжки из почвы по прорастаню семян

Биотестирование обычно проводят в лабораторных условиях, где легче учесть влияние какого-либо конкретного фактора. Тест на прорастание семян хорошо разработан и очень давно применяется для установления воздействия различных физиологически (биологически) активных веществ. Биологические пробы применимы и для токсикологической оценки различных компонентов окружающей среды (в том числе и воздушного загрязнения). Обычно используют мелкие семена (льна, кресс-салата, мака, рыжика, укропа и др.). Для достоверной оценки применяют не менее трех тестов с разными видами семян. Лучше использовать свежесобранные семена, так как на лежалых семенах может развиваться сапрофитная микрофлора и они могут загнить и выбывают из опыта (Федорова, Никольская, 2001).

Цель работы – провести биотестирование летучих токсических веществ, воды, вытяжки из почвы, пестицидов по прорастанию семян.

Оборудование, реактивы и материалы:

- широкогорлые колбы с пробирками;
- чашки Петри;
- проволочки;
- вата;
- пинцеты;
- большие пробирки;
- пенициллиновые пузырьки;
- пипетки;
- фильтры;
- карандаш по стеклу;
- семена тест-растений: кресс-салата, редиса, льна и др.;
- токсические летучие вещества: аммиак, бензол, ксилол, ацетон, скипидар;
- водная вытяжка из почвы;
- загрязненная вода.

Ход работы

1. С целью профилактики развития различных поражений патогенами, в первую очередь грибковыми, семена протравли-

вают. Сухие семена погружают в 1%-ный раствор марганцовокислого калия на 0,5 часа, а затем промывают дистиллированной водой, используя два слоя марли, обсушивают на фильтровальной бумаге на воздухе.

2. На дно широкогорлой колбы помещают вату или фильтровальную бумагу, выделяющие токсические пары тех или иных веществ, которыми они пропитаны. К пробке на проволоке подвешивают шарообразный комочек обильно увлажненной ваты, в который предварительно вдавливают семена тест-растения. Другую колбу без токсичных паров, но с ватой и семенами, используют как контроль. Ставят обе колбы в термостат при температуре 25–26°C до начала прорастания, а затем выставляют на свет.

Наблюдают за появлением всходов и ростом проростков (число всходов, разворачивание листочков), а затем измеряют длину и массу каждого проростка. Сравнивают с контролем.

2. В большие пробирки на дно помещают источники газообразных токсических выделений (смоченные ватки). Пробирки располагают наклонно, вблизи горлышка каждой кладут сложенный втрое фильтр, который увлажняют 1–2 мл воды и засевают мелкими семенами мака, салата, рыжика и пр., пробирки закрывают пробками. Через несколько дней производят оценку прорастания семян и роста проростков путем измерения последних.

3. Взятые образцы почв в разных частях города растирают в ступке и просеивают через мелкое сито. Взвешивают на кальке 10 г почвы в трехкратной повторности, пересыпают в колбочку или стаканчик, приливают 25 мл дистиллированной воды. Энергично взбалтывают 10–15 мин, горлышко колбы закрывают фольгой.

4. Два фильтра, смоченные 2 мл полученной вытяжки из почвы или загрязненной водой (в случае очень слабого загрязнения нужна концентрация), помещают на дно чашки Петри, раскладывают на них 50 семян, закрывают крышкой, ставят в термостат при температуре + 25 – +26°C. Через некоторое время оценивают степень прорастания семян и величину проростков

по отношению к контролю, принятому за 100 %. Контроль ставят на дистиллированной воде. Оценку производят, когда семена на контроле прорастут на 50 %.

5. Сделать выводы.

2.12 Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков

Работа наглядно показывает действие солей биогенных и небιοгенных тяжелых металлов на животные и растительные белки, выявляет разницу в реакции тех и других. Белки с тяжелыми металлами образуют комплексы, нерастворимые в воде.

Цель работы – определить влияние тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков.

Оборудование, реактивы и материалы:

- пробирки – 16 шт.;
- пузырьки из-под пенициллина – 8 шт.;
- стаканчик – 1 шт.;
- пипетка на 1 мл – 1 шт.;
- пипетка аптечная – 2 шт.;
- стеклограф;
- фильтровальная бумага;
- 5%-й раствор CuSO_4 ;
- 5%-й раствор $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$;
- дистиллированная вода;
- животный белок (куриного яйца);
- растительный белок (зернового гороха).

Приготовление растворов белков

А. У куриного яйца отделить белок в мерный стаканчик, размешать его стеклянной палочкой в дистиллированной воде и соотношении 1:10. Затем профильтровать.

Б. Зерновой вызревший горох перемолоть в муку в кофемолке, развести в соотношении: 10 г гороховой муки на 50 мл 10%-го раствора NaCl или KCl . Профильтровать.

Ход работы

1. Приготовить в пузырьках от пенициллина серию растворов сульфата меди CuSO_4 и нитрата свинца $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ из исходного 5%-го раствора (2,5 %; 1,25 %; 0,62 %).

2. В 8 пробирок пипеткой внести по 1 мл животного белка, а в другие 8 – по 1 мл растительного белка (для обеих солей всего 8 растворов).

3. В каждую пробирку добавить по 2 капли одного из указанных растворов испытуемой соли. Все пробирки пометить стеклографом.

5. Рассмотреть характер коагуляции на темном фоне (кусочек черной бумаги, доска и др.) и заполнить таблицу 2.13.

Таблица 2.13 – Результаты влияния тяжелых металлов на коагуляцию белков

| Название соли | Концентрация раствора, % | | | |
|---------------|--------------------------|-----|------|------|
| | 5,0 | 2,5 | 1,25 | 0,62 |
| | | | | |

6. Определить концентрацию раствора соли, при которой происходит коагуляция белка (при разном виде солей и при разном типе белков).

7. Сделать выводы.

8. Ответить на следующие вопросы:

1. На какой из видов белков (животный или растительный) сильнее всего действует: а) CuSO_4 и б) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$?

2. Какая соль (свинца или меди) сильнее действует: а) на животный белок, б) на растительный белок?

2.13 Биотестирование токсичности субстратов по проросткам различных растений-индикаторов

Предлагаемый метод биологической оценки субстратов или растворов проводится в трех вариантах:

I. Выращивание растений на субстратах, токсичность которых надо оценить (почва, вода).

II. Полив проростков испытуемыми растворами (вытяжка из почвы или сточные воды различных предприятий) с той или иной степенью их концентрации и очистки.

III. Накапывание испытуемого раствора между семядолями двудольных растений.

В первых двух вариантах применяют самые различные тест-растения (в зависимости от поставленной задачи): пшеница, овес, ячмень, проростки древесных пород.

В качестве тест-растений в третьем варианте используют только проростки двудольных: кресс-салата, салата майского, редиса и др.

В связи с длительностью выращивания большинства тест-растений (исключая пшеницу, овес и др.) указанные методы имеют ограниченное применение для учебных лабораторных работ, однако они дают очень хорошие результаты в оценке токсичности тех или иных субстратов при выполнении курсовых, дипломных, а также научно-исследовательских работ.

Следует отметить, что все результаты испытаний с тест-растениями должны быть подвергнуты статистической обработке (Федорова, Никольская, 2001).

Цель работы – определить токсичность субстратов по проросткам различных растений-индикаторов.

I. Выращивание растений на испытуемом субстрате

Оборудование и материалы:

A. Для испытания твердых субстратов:

- пластмассовые стаканчики;
- пинцеты;
- трубочки для полива;
- пленка;
- испытуемый объект;
- ростки тест-растений.

B. Для испытания воды или других жидких субстратов (например, вытяжки из почвы):

- кюветы (в качестве небольших пластмассовых кювет можно использовать четырехугольные емкости из-под сметаны);
- пластмассовые крышки к кюветам с отверстиями;
- пинцеты;
- ростки тест-растений.

Ход работы

А. Испытание твердых субстратов

(почва, измельченный торф)

1. Субстрат закладывают в стаканчики, увлажняют одинаковым количеством воды. Семена тест-растений предварительно намачивают в отстоянной и очищенной водопроводной воде, раскладывают на два слоя фильтровальной бумаги в большую кювету, помещают в термостат для проращивания при температуре $+25 - +26^{\circ}\text{C}$. Когда длина coleoptилей достигнет 10–15 мм и появятся корни, ростки разделяют на группы по длине и рассаживают по 10 растений каждой группы в стаканчики на испытуемый субстрат. Контроль – субстрат, взятый в относительно чистой зоне. Полив производят через трубочку отстоянной и очищенной водопроводной водой.

2. Когда ростки достигнут длины 6–10 см (через 1–2 недели), производят их измерение и взвешивание. Ростки разделяют на части (надземная часть, корни) и каждую часть измеряют и взвешивают отдельно. В качестве тестовых растений можно использовать практически любые семена.

3. Сделать выводы.

Б. Испытание воды и других жидких субстратов

(вытяжка из почвы, осадки, растворы гербицидов и др.)

1. Вода может использоваться в том виде, в котором она содержится в водоеме, или сконцентрированной упариванием (тогда результаты получаются особенно четкими), а сточная вода предприятий может быть разбавлена.

2. Воду наливают в кювету, в крышке которой просверливают отверстия чуть меньше испытуемых семян. Крышка должна слегка касаться воды.

3. В отверстия вставляют проросшие ростки так, чтобы их корни достигали воды, и выращивают до длины 6–10 см. Кон-

тролем служит отстоянная и очищенная водопроводная вода (пропущенная через фильтр для очистки питьевой воды).

4. Если опыты проводят в жаркую погоду, то испытуемую воду разумнее прокипятить во избежание заражения ее микрофлорой, а над ростками соорудить на каркасе неплотное пленочное покрытие. Это даст возможность оставлять ростки без присмотра на выходные дни. По мере использования ростками воды ее следует доливать. После того как ростки вырастут, их вынимают из воды, обсушивают фильтровальной бумагой, определяют длину и массу отдельно надземной части и корневой системы. Результаты обрабатывают статистически, выражают в процентах по отношению к контролю, принятому за 100 %. Строят диаграммы биотестовых испытаний.

5. Сделать выводы.

Таким же образом можно испытать растворенные в воде токсические вещества (например, смывы гербицидов с полей вместе с почвой).

II. Метод полива проростков тест-растений испытуемой загрязненной водой

Оборудование и материалы:

- стаканчики;
- кюветы;
- фильтровальная бумага;
- промытый и прокаленный песок;
- проростки тест-растений: пшеницы, овса и др.

Ход работы

1. В стаканчики загружают одинаковое количество промытого и прокаленного песка, в который высаживают по 10 одинаковых проростков тест-растений. Песок поливают сверху одинаковым количеством испытуемой воды. Повторность – трехкратная. Контроль – полив отстоянной и очищенной водопроводной водой.

2. После достижения ростками высоты 8–10 см их выкапывают, обсушивают фильтровальной бумагой, разделяют бритвой на части (стебель, корни), измеряют и взвешивают. Данные обрабатывают статистически, выражают в процентах к контролю.

III. Метод накапывания испытуемой воды (или растворов) между семядолями

Оборудование и материалы:

- водяная баня;
- стаканчики;
- песок или гумусная почва;
- трубочки для полива;
- семена двудольных тест-растений: редиса, салата и т.п.

Ход работы

1. Загрязненные природные или сточные воды концентрируют упариванием в 10 раз, хранят в холодильнике. Можно также испытать вытяжку из почвы, водные растворы токсических веществ той или иной концентрации (например, солей тяжелых металлов, пестицидов и др.).

2. Стаканчики наполняют одинаковым количеством промытого и прокаленного песка или почвы, вставляют стеклянную трубочку до дна, через которую производят полив отстоянной водопроводной водой.

3. 18–20 штук всхожих семян высевают на небольшую глубину. После того, как ростки взойдут и раскроются семядоли, в стаканчиках оставляют по 10 одинаковых растений, остальные выщипывают пинцетом. Все стаканчики ставят в ящичек из фанеры или картона с бортиками, на 5 см превышающими ростки в стаканчиках.

4. У микропипеток в 1 мл (можно использовать микропипетки для взятия крови) вытягивают кончик, нагревая его в пламени спиртовки и используя для оттягивания пинцет. Затем затачивают кончик на тонкозернистом брусочке, чтобы образовалось отверстие, дающее небольшую каплю. Накапывают по 1 капле испытуемого вещества между семядолями, прикрывают ящичек пленкой, не сдвигая стаканчики с места. Операцию повторяют 2–3 раза через 1–2 дня (до появления третьего настоящего листа). Контроль – накапывание дистиллированной водой.

5. Полив субстрата для выращивания производят одинаковым количеством воды через трубочку, используя воронку из фольги.

6. Через 2–3–4 недели осторожно выкапывают проростки, промывают, обсушивают фильтровальной бумагой, измеряют и

взвешивают отдельно надземную часть и корни. Данные обрабатывают статистически, выражают в процентах к контролю.

7. Сделать выводы.

2.14 Загрязнение пищевых продуктов нитратами и их определение в различных овощных культурах в зависимости от вида, сорта, органа, ткани

Нитраты – неотъемлемая часть всех наземных и водных экосистем, поскольку процесс нитрификации, ведущий к образованию окисленных неорганических соединений азота, носит глобальный характер. В то же время, в связи с применением в больших масштабах азотных удобрений, поступление неорганических соединений азота в растения возрастает. Избыточное потребление азота удобрений не только ведет к аккумуляции нитратов в растениях, но и способствует загрязнению водоемов и грунтовых вод остатками удобрений, в результате чего территория загрязнения сельхозпродукции нитратами расширяется. Однако накопление нитратов в растениях может происходить не только от переизбытка азотных удобрений, но и при недостатке других их видов (фосфорных, калийных и др.) путем частичной замены недостающих ионов нитрат-ионами при минеральном питании, а также при снижении у ряда растений активности фермента нитратредуктазы, превращающего нитраты в белки.

Ввиду этого наблюдается четкое различие видов и сортов растений по накоплению и содержанию нитратов. Существуют, например, виды овощных культур с большим и малым содержанием нитратов. Так, накопителями нитратов являются растения семейства тыквенных, капустных, сельдерейных. Наибольшее их количество содержится в листовых овощах: петрушке, укропе, сельдерее (таблица 2.14), наименьшее - в томатах, баклажанах, чесноке, зеленом горошке, винограде, яблоках и др. Например, зимние сорта капусты мало накапливают нитратов по сравнению с летними.

Наибольшее количество нитратов содержится в сосущих и проводящих органах растений: корнях, стеблях, черешках и жилках листьев. Так, у капусты наружные листья кочана содержат в 2 раза больше нитратов, чем внутренние. А в жилке листа

и кочерыжке содержание нитратов в 2–3 раза больше, чем в листовой пластинке (рис. 2.3). У кабачков, огурцов и т.п. плодов нитраты убывают от плодоножки к верхушке.

Таблица 2.14 – Содержание нитратов в сельскохозяйственной продукции и их допустимые уровни (мг/кг сырой массы по нитрат-иону)

| Овощная культура | Содержание нитратов | Допустимые уровни | |
|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| | | для открытого грунта | для закрытого грунта |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Арбузы | 40–600 | 60 | |
| Баклажаны | 80–270 | | |
| Брюква | 400–550 | 400 | |
| Горошек зеленый | 20–80 | | |
| Дыни | 40–500 | 90 | |
| Капуста белокочанная | 600–3000 | 900 | |
| Капуста кольраби | 160–2700 | 400 | |
| Кабачки | 400–700 | 400 | 400 |
| Картофель | 40–980 | 250 | |
| Кресс-салат | 1300–4900 | 2000 | 3000 |
| Лук зеленый | 40–1400 | 600 | 800 |
| Лук репчатый | 60–900 | 80 | |
| Морковь | 160–2200 | 400 | |

Продолжение таблицы 2.14

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|-------------------|-----------|------|------|
| Огурцы | 80–560 | 150 | 400 |
| Перец сладкий | 40–330 | 200 | 400 |
| Петрушка (зелень) | 1700–2500 | 1800 | |
| Редька черная | 1500–1800 | 1300 | |
| Редис | 400–2700 | 1500 | |
| Репка | 600–900 | 700 | |
| Салат | 400–2900 | 2000 | 3000 |
| Свёкла столовая | 200–4500 | 1400 | |
| Томаты | 10–180 | 150 | 300 |
| Укроп | 400–2200 | 2000 | 3000 |
| Фасоль | 20–900 | | |
| Чеснок | 40–300 | | |
| Шпинат | 600–4000 | 1200 | |
| Щавель | 240–400 | | |

В результате употребления продуктов, содержащих повышенное количество нитратов, человек может заболеть метгемоглобинией. При этом заболевании ион NO_3^- взаимодействует с гемоглобином крови, окисляя железо, входящее в гемоглобин, а образовавшийся в результате этого метгемоглобин не способен переносить кислород, и человек испытывает кислородную недостаточность: задыхается при физических нагрузках. В желудочно-кишечном тракте избыточное количество нитратов под действием микрофлоры кишечника превращается в токсичные нитриты, а далее возможно превращение их в нитрозоамины – сильные канцерогенные яды, вызывающие опухоли. В связи с этим при употреблении в пищу растений-накопителей нитратов важно «разбавлять» их другими продуктами либо применять специальные способы обработки. Содержание нитратов можно уменьшить вымачиванием, кипячением продуктов (если отвар не используется), удалением тех частей, которые содержат большое количество нитратов.

Допустимые нормы нитратов (по данным ВОЗ) составляют 5 мг (по нитрат-иону) в сутки на 1 кг массы взрослого человека, т. е. при массе 50–60 кг – это 220–300 мг, а при 60–70 кг – 300–350 мг.

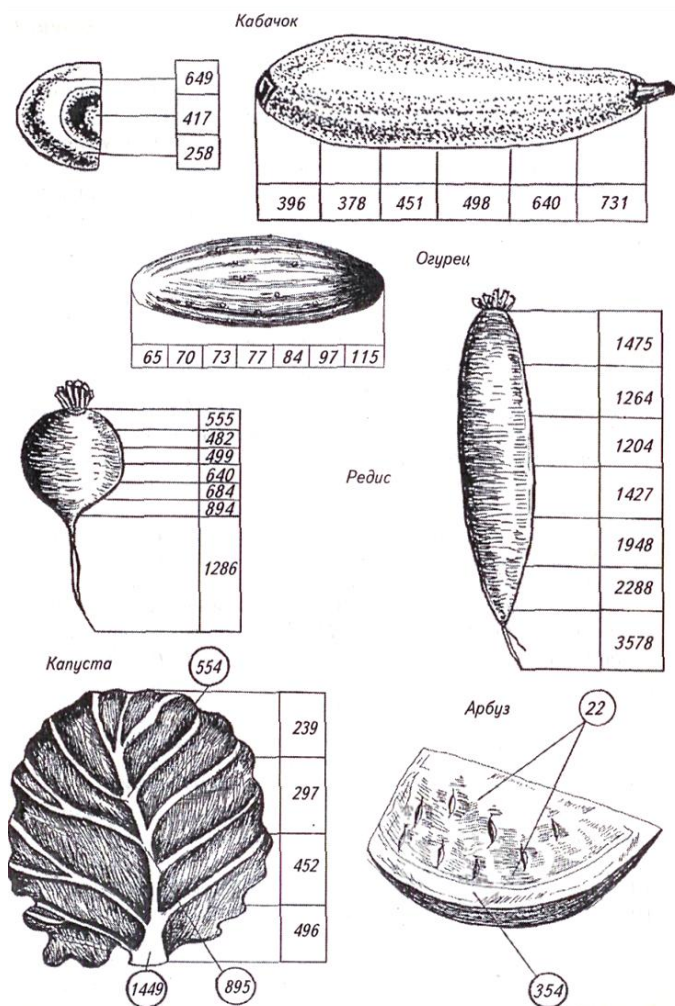


Рисунок 2.3. Распределение нитратов в растениях, мг/кг сырой массы (по А.И. Федоровой, А.Н. Никольской, 2001)

Метод определения нитратов у различных видов, сортов, тканей и частей овощной продукции основан на хорошо известной реакции нитрат-иона с дифениламино. Возможны два варианта определения: с использованием выжатого сока и целых растений.

Указанный метод дает возможность оценить и сравнить разные ткани овощных и других растений прямо в поле. Он проверен и хорошо действует на хлебных злаках, картофеле, корнеплодах, овощах, бобовых, многолетних травах при оценке обеспеченности различных сельхозкультур азотом. Показано, что нитраты исчезают в фазе цветения, но их много в период вегетативного роста, который и должен быть использован для оценки.

Цель работы – определить содержание нитратов у различных видов, сортов, тканей и частей овощной продукции.

Оборудование, реактивы и материалы:

- ступки малые с пестиками;
- предметные стекла;
- марлевые салфетки;
- мелкие емкости – пузырьки из-под пенициллина с пробками;
- пипетки химические на 5 мл;
- пипетки медицинские;
- скальпели;
- дистиллированная вода;
- термостойкий химический стакан на 0,5–1,0 л для кипячения овощей;
- электроплитка;
- части различных овощей, содержащих наибольшее количество нитратов, с неокрашенным соком (капуста, огурцы, кабачки, картофель, дыня и др.).

А. Определение нитратов в соке растений

Ход работы

1. Исследуемые овощи следует вымыть и обсушить.
2. В один из пузырьков наливают 10 мл исходного раствора NaNO_3 , соответствующего по концентрации максимальному содержанию нитратов в овощах (табл. 2.15) – 3000 мг на кг. Для

этого 4,11 г соли надо растворить в литре дистиллированной воды. Следует отметить, что в отдельных органах растений встречаются и значительно большие концентрации.

3. Приготовить серию калибровочных растворов путем прибавления пополам предыдущего (например, к 3 мл исходного раствора прибавляется 3 мл дистиллированной воды, взбалтывается и т. д.) Получают серию растворов с разным содержанием нитратов: 3000, 1500, 750, 375, 188, 94, 47, 23 мг/кг.

4. Приготовить 1%-й раствор дифениламина в серной кислоте (см. ниже)

5. Под предметное стекло подкладывается лист белой бумаги, на стекло капают две капли изучаемого раствора и две такие же капли дифениламина в трехкратной повторности. Описывают реакцию согласно следующей градации, которую можно использовать как для калибровочных растворов, так и для двух типов анализов (по Церлинг, 1965).

Таблица 2.15 –Зависимость окраски исследуемых овощных культур при воздействии дифениламином от содержания нитратов

| Баллы | Характер окраски | Содержание нитратов, мг/кг |
|-------|--|----------------------------|
| 6 | Сок или срез окрашиваются быстро и интенсивно в иссиня-черный цвет. Окраска устойчива и не пропадает | >3000 |
| 5 | Сок или срез окрашиваются в темно-синий цвет. Окраска сохраняется некоторое время | 3000 |
| 4 | Сок или срез окрашиваются в синий цвет. Окраска наступает не сразу | 1000 |
| 3 | Окраска светло-синяя, исчезает через 2–3 минуты | 500 |
| 2 | Окраска быстро исчезает, окрашиваются главным образом проводящие пучки | 250 |
| 1 | Следы голубой, быстро исчезающей окраски | 100 |
| 0 | Нет ни голубой, ни синей окраски. На целых растениях возможно порозовение | 0 |

6. Овощи и плоды расчленяют на части: зона, примыкающая к плодоножке, кожура, периферийная часть, срединная часть, кочерыжка (у капусты), жилки, лист без жилок. Вырезанные части мелко режут ножом и быстро растирают в ступке, сок отжимают через 2–3 слоя марли.

7. 2 капли сока капают на чистое предметное стекло, положенное на белую бумагу, добавляют 2 капли дифениламина. Быстро описывают все наблюдаемые реакции согласно схеме. Повторность опыта 3-кратная. В случае сомнений в содержании нитратов в той или иной части овощной продукции капают рядом калибровочный раствор с известной концентрацией вещества и повторяют реакцию с дифениламином.

8. Анализ начинают с сока капусты и картофеля, затем помещают эти овощи в термостойкий химический стакан с кипящей дистиллированной водой и кипятят 10–15 мин, после чего анализируют и отварные овощи, и отвар. За время варки делают анализ различных частей других овощей и плодов (не менее четырех видов за занятие).

9. Результаты измерений записывают в таблицу 2.16.

Таблица 2.16 – Содержание нитратов в различных частях овощей

| Исследуемое растение | Часть | Баллы | Содержание нитратов в мг/кг |
|----------------------|---------------------------------------|-------|-----------------------------|
| Картофель свежий | а) Под кожурой б) Серединная часть | | |
| Картофель отварной | Те же части | | |
| Капуста | а) Жилки б) Кочерыжка в) Лист | | |
| Капуста отварная | Те же части | | |

10. Сделать выводы.

Б. Определение нитратов в целых растениях

Ход работы

1. Отрезают у свежих растений части в виде толстых срезов: куски стеблей, черешков, плодов. Кладут их на полоску восковой бумаги.

2. Капают на различные части среза по несколько капель 1%-ного раствора дифениламина в серной кислоте, отмечают окрашивание согласно вышеприведенной шкалы. При этом в случае малых концентраций нитратов в продукции и при отсутствии синей окраски может наступить порозовение ткани, вследствие ее обугливания от H_2SO_4 в реактиве дифениламина.

3. Результаты анализа представить в табличной форме

4. Сделать выводы.

Приготовление реактивов

1. 1%-й раствор дифениламина в серной кислоте: 1 г дифениламина растворяют в 54 мл H_2SO_4 .

2. Исходный раствор $NaNO_3$ для построения калибровочной кривой. Если растворить 1 г $NaNO_3$ в 1 л воды, то это будет соответствовать 729 мг/кг нитратов (по нитрат-иону):

$$\begin{array}{r} 85 - 1000 \text{ мг (1 г)} \\ 62 - X \\ X = (62 \times 1000) / 85 = 729 \text{ мг/кг} \end{array}$$

где: 85 – молекулярный вес $NaNO_3$, 62 – молекулярный вес нитрат-иона (NO_3^-).

Однако, согласно таблице 2.15, наибольшее содержание нитратов в распространенных видах овощей – 3000 мг/кг.

$$\begin{array}{r} 729 - 1000 \text{ мг(1 г)} \\ 3000 - X \\ X = (3000 \times 1000) / 729 = 4,11 \text{ г,} \end{array}$$

т. е. надо растворить 4,11 г соли в литре дистиллированной воды. Однако при небольшом количестве анализов в учебных целях достаточно и 100 мл, т. е. 411 мг $NaNO_3$ нужно растворить в 100 мл воды.

2.15 Определение степени токсичности сложного компоста по составу микробоценозов

Интенсивная эксплуатация невозобновляемых энергоносителей ставит вопрос о необходимости перехода на возобновляемое сырьё типа отходов жизнедеятельности живых организмов: осадков сточных вод (ОСВ), мусора и прочих отходов сельского хозяйства и промышленности. К тому же это позволяет решать проблемы защиты окружающей среды от загрязнения и его негативных последствий. Однако сложные компосты, в зависимости от состава как самих смесей, так и их составляющих, не могут быть использованы в качестве удобрений без определённой подготовки и нейтрализации опасных загрязнителей и патогенов. Органоминеральные смеси подвергаются аэробной переработке или анаэробному сбраживанию с помощью микроорганизмов (бактерий, микроскопических грибов), поэтому хорошими тест-объектами для определения степени созревания компоста и отсутствия токсичности служат микробоценозы – видовой состав и численность популяций.

Исходный субстрат (смесь сразу после смешивания) угнетает рост грибов по сравнению с контролем, а спустя 3 мес после компостирования наблюдается стимуляция их роста.

Примечание: Анаэробное сбраживание ОСВ способно уничтожить патогенные бактерии: при 35⁰С *Streptococcus faecalis* всего за 15 дней, *Salmonella typhimurum* – за 10, *Shigella dysenteriae* – за 5. При комнатной температуре процесс сбраживания занимает примерно вдвое больше времени. Однако в анаэробных субстратах преобладают строгие анаэробы, например, продуценты токсичных веществ клостридии, в аэробных условиях почвенная флора вытесняет патогенную из субстрата на основе ОСВ и превращает его в органику, легко усвояемую почвенными микроорганизмами и отвечающую санитарно-гигиеническим и экологическим характеристикам.

Цель работы – определение токсичности отработанного биогазового субстрата на основе вторичных ОСВ (Миндубаев А.З., 2008).

Работы с микроорганизмами требуют определённых навыков и проводятся под руководством специалиста-микробиолога в специальных лабораториях, оборудованных боксами для стерильных посевов, термостатами для выращивания культур, специальными реактивами и посудой.

Материалы и оборудование:

- испытуемый субстрат полученный аэробной переработкой ОСВ после производства биогаза;
- чашки Петри;
- стеклосуда для разведений (мерные колбы);
- пипетки с градуировкой;
- выделенные из почвы грибы: *Aspergillus niger*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Azotobacter*;
- определители и атласы (лучше цветные) грибов и их колоний;
- счётчики для подсчёта клеток грибов (микроскопы или др. приспособления);
- питательные среды для выращивания культур грибов: Сабуро с левомицетином, Эшби для азотфиксаторов на мясопептонном агаре;
- физиологический раствор (0,9% раствор NaCl).

Ход работы

1. Выделение культур почвенных грибов *Aspergillus niger*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Azotobacter*.
2. Выращивание чистых культур грибов на соответствующих питательных средах (см. выше).
3. Посев производится путём отбора проб компоста и разбавления его физраствором в 100 (0,5 г компоста на 50 мл раствора) и 1 000 раз, полученный испытуемый раствор вносят в культуру азотобактер (аналогично в др. культуры, указанные выше), разведённую в 10, 100, 1 000 раз.
4. Пробы компоста (почва + ОСВ в соотношении 1 : 1) отбирают в начале смешения, затем после регулярного полива (отстоянной водопроводной водой примерно 1 раз в неделю) и исчезновения гнилостного запаха (через 2,5-3 мес).
5. Контролем служат подготовленные аналогично пробы почвы без компоста.
6. Для определения состава микрофлоры компоста делается посев разбавленных растворов (см. выше) на среду Эшби (для азотобактера) и на среду Сабуро с левомицетином (для грибов).

7. Для сравнения состава микрофлор проводят одновременно аналогичный посев почвы, использованной при формировании компоста.

8. Заполняют таблицу 2.17.

9. После анализа результатов произведённых посевов делают выводы.

Таблица 2.17 – Рост культур микроорганизмов на разных стадиях созревания субстрата на основе ОСВ

| Культура (вид микроорганизма) | Плотность культуры, кл/мл | |
|----------------------------------|---------------------------|------|
| | Контроль | Опыт |
| | | |

ЛИТЕРАТУРА

1. Белюченко И.С. Введение в антропогенную экологию: Учебное пособие / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2011. – 265 с.

2. Белюченко И.С. Введение в общую экологию / И.С. Белюченко. – Краснодар, 1997. – 543 с.

3. Белюченко И.С. Введение в экологический мониторинг / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2011. – 297 с.

4. Белюченко И.С. Грибные консорты озимой пшеницы в степной зоне Краснодарского края / И.С. Белюченко, Ю.В. Пономарева // Экол. Вестник Сев. Кавказа. – 2005. – Т.1.– № 2. – С. 128-137.

5. Белюченко И.С. Использование фосфогипса для рекультивации чернозема обыкновенного в степной зоне Кубани / И.С. Белюченко // В сб.: Проблемы рекультивации отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства. – Краснодар, 2009. – С. 54-59.

6. Белюченко И.С. К вопросу о механизмах управления развитием сложных компостов / И.С. Белюченко // Экологический Вестник Северного Кавказа. – 2012. – Т. 8. – № 3. – С. 88-111.

7. Белюченко И.С. К вопросу о процессе нитрификации в агроландшафтах степной зоны Краснодарского края / И.С. Белю-

ченко, Г.В. Волошина, А.Г. Фалин, А.И. Стешенко // Экологические проблемы Кубани. – 2006. – № 32. – С. 218-222.

8. Белюченко И.С. Методическое пособие для проведения лабораторных занятий по общей экологии и экологическому мониторингу (методы сравнительной экологии состояния почвенного покрова) / И.С. Белюченко, О.А. Мельник, Ю.Ю. Петух, Е.В. Терещенко, Л.Н. Ткаченко. – Краснодар: Изд-во КубГАУ, 2010. – 43 с.

9. Белюченко И.С. Методическое пособие для проведения полевых и лабораторных занятий по экологическому мониторингу / И.С. Белюченко, В.Н. Гукалов, Н.Н. Мамась, О.А. Мельник, Ю.Ю. Петух, Л.Б. Попок, Л.Н. Ткаченко, Е.В. Терещенко. – Краснодар: Изд-во КубГАУ, 2010. – 50 с.

10. Белюченко И.С. Нитрификация и почвенное плодородие / И.С. Белюченко, А.Г. Фалин // Экологические проблемы Кубани. – 2007. – № 33. – С. 36-41.

11. Белюченко И.С. Основы экологического мониторинга: практ. пособие для бакалавров экологии / И.С. Белюченко, А.В. Смагин, Г.В. Волошина, В.Н. Гукалов, О.А. Мельник, Ю.Ю. Никифорова, Е.В. Терещенко, Л.Н. Ткаченко, Н.Б. Садовникова, Д.А. Славгородская. – Краснодар: КубГАУ, 2012. – 252 с.

12. Белюченко И.С. Практикум по экологии / И.С. Белюченко, Л.Б. Попок. – Краснодар, 2010. – 293 с.

13. Белюченко И.С. Сложный компост и его роль в улучшении почв / И.С. Белюченко // Экол. Вестник Сев. Кавказа. – 2012. – Т. 8. – № 2. – С. 75-86.

14. Белюченко И.С. Физико-географическая характеристика Ленинградского района / И.С. Белюченко, Е.А. Перебора, В.Н. Гукалов // Экологические проблемы Кубани. – 2002. – № 16. – 186 с.

15. Белюченко И.С. Эволюционная экология / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2001. – 504 с.

16. Белюченко И.С. Экологические проблемы степной зоны Кубани, причины их возникновения и пути решения / И.С. Белюченко // Экологический Вестник Северного Кавказа. – 2011. – Т. 7. – № 3. – С. 47-64.

17. Белюченко И.С. Экология Краснодарского края (региональная экология) / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2010. – 354 с.
18. Высоцкая И.Ф. Диагностика загрязнения тяжелыми металлами почв урболандшафта на основе биотеста *Lepidium sativum* / И.Ф. Высоцкая // Сборник статей VI Международной заочной конференции «Экология и биология почв». – Ростов-на-Дону: ЮФУ, общество почвоведов В.В. Докучаева, 2007.
19. Высоцкая И.Ф. Тест-объект *Lepidium sativum* для оценки загрязнения почв выбросами автомобильного транспорта в Юбилейном микрорайоне г. Краснодара / И.Ф. Высоцкая // Экологические проблемы Кубани. – Краснодар, 2007. – № 33. – С. 132-134.
20. Криволицкий Д.А. Почвенная фауна в экологическом контроле / Д.А. Криволицкий. – М.: Наука, 1994. – 268 с.
21. Перель Т.С. Распространение и закономерности распределения дождевых червей в фауне СССР / Т.С. Перель. – М.: Наука, 1979. – 272 с.
22. Цаценко Л.В. Методика биотестирования почвы на основе ряскового теста в агрономическом мониторинге / Л.В. Цаценко, Н.Г. Малюга. – Краснодар: КубГАУ, 2003. – 43 с.

3. БИОИНДИКАЦИЯ КАЧЕСТВА ВОДЫ

Биологические методы оценки качества воды – это характеристика состояния водной экосистемы по гидробионтам, т.е. по растительному и животному населению водоёма. Если физико-химические измерения позволяют оценить качество водоёма только на данный момент (например, вывал навоза с прибрежной фермы в реку – в случае фиксации этого момента – даст чрезвычайно высокое содержание нитратов), то по составу и состоянию живых организмов можно установить его санитарное состояние, определить степень и характер загрязнения, пути его распространения в водоёме, а также дать характеристику протекания процессов естественного самоочищения и сделать прогноз.

Прежде всего влияние антропогенных факторов и в частности загрязнения отражается на видовом составе водных сообществ и соотношении численности слагающих их видов. Биоиндикация выявляет уже состоявшееся или продолжающееся загрязнение воды, но не даёт её оценки на момент исследования. Кроме того, живые индикаторы отражают воздействие всего комплекса факторов, включая многие сложные соединения, в том числе токсины, на чём основана водная токсикология и методы биотестирования.

При сбросе промышленных сточных вод, содержащих токсины, происходит угнетение и обеднение фито- и зоопланктона. Накопление токсинов в воде и иле приводит, соответственно, к их накоплению в рыбе и к ряду патологий вплоть до генетических и полной гибели. При перегрузке водоёмов биогенами (например, бытовые сточные воды) сначала происходит увеличение продуктивности фитопланктона, бурное и массовое его развитие, обычно за счёт 1-3 видов, - «цветение» воды, но затем – гибель и разложение избыточной биомассы, что сопровождается выделением сероводорода и других токсинов. Вода становится непригодной для питья и многих других видов хозяйственного использования.

Сапробность воды (водоёма) – способность организмов переносить (развиваться, размножаться) при той или иной степени органического загрязнения (поли-, мезо- и олигосапробные водоёмы – вода соответственно грязная, умеренно загрязнённая или умеренно чистая и чистая) – см. таблицы 3.1 и 3.2. От олигосапробной к полисапробной зоне уменьшается содержание растворённого кислорода, нитраты превращаются в более токсичные нитриты и аммонийные соединения, сульфаты – в сульфиды и далее до сероводорода. При этом соответственно меняется видовой состав и обилие различных таксонов в водных сообществах, т.е. меняются показатели биоразнообразия.

Таблица 3.1 – Класс качества воды и зона сапробности

| Класс качества | Зона сапробности | Состояние водоёма |
|----------------|-------------------|-------------------------|
| 1 – 2 | Олигосапробная | Чистое |
| 2 – 3 | b – мезосапробная | Умеренно чистое |
| 3 | a – мезосапробная | Умеренно загрязнённое |
| 4 | Полисапробная | Загрязнённое |
| 5 – 6 | - «» - | Грязное и очень грязное |

Таблица 3.2 – Качество воды и некоторые параметры загрязнённости водоёма

| Класс качества | Аммон. азот, мг/л | Нитрат. азот, мг/л | Фосфаты, мг/л | Кислород, % насыщ. | БКП ₅ , мг/л | Коли-индекс, колоний/мл |
|----------------|-------------------|--------------------|---------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1-2 | г.м. 0,4 | м. 0,3 | м. 0,05 | 90-100 | 0-3 | м. 50 |
| 3 | 0,4-0,8 | 0,3-0,5 | 0,05-0,07 | 80-90 | 3-5 | 50-100 |
| 4 | 0,8-1,5 | 0,5-1,0 | 0,07-0,1 | 50-80 | 5-7 | 100-1 тыс. |
| 5-6 | 11,5-5,0 | 11,0-8,0 | 0,1-0,3 | 5-50 | 7-10 | 1 тыс.-20 тыс. |

Примечания: г.м. – гораздо меньше; м. – меньше; БКП₅ – потребление O₂ гидробактериями за 5 сут; коли-индекс – косвенный показатель патогенов по содержанию кишечной палочки (симбионта кишечника человека).

Токсобность воды (водоёма) – способность водных организмов существовать в токсичной среде. Токсичность среды определяется наличием токсических веществ, способных оказывать повреждающее или летальное воздействие на организмы: соединения ТМ, особенно ртути, свинца, кадмия; пестициды, особенно хлор- и фосфорорганические; нефть и продукты её переработки; кислоты, фенолы, ПАВ и некоторые другие соединения. Для быстрого интегрального определения токсичности воды используют методы биотестирования.

Водоросли, особенно синезелёные (цианобактерии), - хорошие индикаторы эвтрофикации водоёма, его органического и нитратного загрязнения. Хорошим индикатором биогенов, особенно азота, может служить нитчатая зелёная водоросль *спирогира* – при эвтрофикации она образует массовые скопления, плавающие на поверхности воды и напоминающие внешним видом жёлто-зелёные мочалки. Наоборот, в самых чистых олиготрофных водоёмах преобладают представители отдела *золотистых* водорослей, в мезотрофных водах – отдела *зелёных* водорослей: хлорелла, хлорококк и др.

Показателями чистой воды являются *харовые* водоросли, а также макрофиты: рдесты блестящий и сплюснутый; кувшинка белая и кубышка жёлтая, водокрас, телорез; из прибрежных растений – ольха чёрная, ива. Рдесты курчавый, пронзённолистный и особенно гребенчатый могут существовать и при сильном загрязнении. Тростник южный, камыш озёрный и некоторые др. виды высших водных растений – космополиты, устойчивые к избытку в среде обитания химических элементов; на усиленное поступление биогенов они реагируют увеличением продуктивности и гигантизмом. Элодея, телорез, рдесты – концентраторы биогенных элементов – сначала они активно увеличивают фитомассу, затем, при достижении барьера терпимости, угнетаются и совсем исчезают из водоёма.

Зоопланктон, кроме того, может служить индикатором патогенного загрязнения водоёма. *Простейшие* (инфузории, амёбы, сувойки и др.) - высокочувствительные индикаторы сапробности водоёмов. Зообентос (обитатели дна и придонных слоёв воды, в

частности лёгочные моллюски, особенно катушки и речные чашечки) – индикаторы донных отложений. Амёбы и некоторые устрицы, являясь фильтраторами и очистителями воды, способны адсорбировать кишечные и другие вирусы, патогенные для человека.

Наиболее чувствительны к чистоте воды свободно живущие личинки насекомых – ручейников, подёнок, веснянок, которые и используются в большинстве методов оценки воды как индикаторные виды, а также крупные двустворчатые моллюски: перловица, беззубка, вилхвостки, водяной клоп. Наоборот, шаровки, дрейсены, плоские и особенно червеобразные пиявки, красные крупные дафнии, масса трубочника и мотыля – индикаторы неблагополучия вплоть до грязной воды (Приложение В).

Ихтиофауна особенно важна для оценки состояния водного объекта в целом и при определении допустимых уровней загрязнения водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение.

Перифитон (организмы-обрастатели) – дают картину общего состояния воды за достаточно долгий промежуток времени, предшествующий исследованию, особенно для рек и ручьёв.

При водной биоиндикации важно время года – в холодное время года методы гидробиологии неприменимы. Важное значение при выборе метода биоиндикации имеют также такие характеристики водоёма, как стоячесть или проточность, скорость течения. При разовых и местных загрязнениях необходимо исследовать обитателей дна в местах со слабым течением (заводы, бочаги и т.п.), для представления об общем состоянии реки выбирать лучше места с быстрым течением (перекаты, плотины и т.д.). Необходимо также учитывать места стоков и их качество. Чем крупнее водоём, тем больше разнообразных мест отбора проб требуется.

Общая характеристика водоёма включает установление следующих показателей:

– название, местонахождение, находящиеся вблизи него объекты (строения, дороги, формы рельефа), способ использования;

- размеры (длина и ширина, площадь, длина береговой линии и т.п.);
- характеристика береговой линии.
- для реки – площадь бассейна, падение – разница в высотах между истоком и устьем (можно только для изучаемого участка), уклон (отношение величины падения к протяжённости участка или всей реки), скорость течения (с помощью поплавков или нетонущего предмета).
- наличие и характеристика притоков.
- глубина: у берегов и в центре водоёма (при отсутствии лодки и лота – примерно).
- тип донного грунта: каменистый, песчаный, илистый, глинистый.
- наличие мусора, его состав и количество.
- прозрачность воды - средняя глубина, при которой с поверхности на теневой стороне виден белый предмет (специальное приспособление – диск Секки диаметром 30 см).
- температура воды – у поверхности и в придонном слое на теневой стороне – с помощью водного термометра.
- степень антропогенного воздействия – пляжи, свалки, стоки, пастбища и т.п.

3.1 Предварительная экологическая оценка водоёмов с помощью макрофитов и/или описания прибрежных обрастаний

3.1.1 *Использование макрофитов* (Е.В. Федоненко, Т.С. Шарамок, О.Н. Маренков; Днепропетровский госуниверситет, Украина, 2014)

Оценка качества воды водоемов может быть проведена с использованием биологических методов, которые характеризуют состояние водной экосистемы по растительному и животному населению водоема. Для гидроэкологического анализа качества вод могут быть использованы практически все группы организмов, населяющие водоем: планктонные и бентосные организмы, простейшие, водоросли, бактерии, рыбы и макрофиты.

Водная экосистема, находясь в равновесии с факторами внешней среды, имеет сложную систему подвижных биологических связей, которые нарушаются под воздействием антропогенных факторов, что отражается на видовом составе водных сообществ и соотношении численности слагающих их видов. Биологический метод оценки состояния водоема позволяет решить задачи, разрешение которых с помощью гидрофизических и гидрохимических методов невозможно. Оценка степени загрязнения водоема по составу живых организмов позволяет быстро установить его санитарное состояние, определить степень и характер загрязнения и пути его распространения в водоеме, а также дать количественную характеристику протекания процессов естественного самоочищения. При реализации данного метода используют индикаторные виды, к которым относятся и некоторые *макрофиты* (высшая водная растительность).

Значение макрофитов наиболее существенно при предварительном гидробиологическом осмотре водных объектов. В загрязненных водоемах изменяется видовой состав, биомасса и продукция макрофитов, возникают морфологические аномалии, происходит смена доминантных видов, обуславливающих особенности биоценоза. Во время индикации водоемов и водотоков необходимо учитывать степень покрытия водоемов макрофитами, флористическое разнообразие растений, их жизненность, отклонения в развитии и росте, определять ряд количественных характеристик: величину фитомассы и продукцию, высоту и массу стеблей, химический состав растений.

Индикаторные свойства макрофитов стоит рассматривать на основании подобности структурных и функциональных изменений видовых групп, которые проявляют стенобионтность по отношению к исследуемому фактору.

Биоиндикация с использованием макрофитов проводится путем *многократных* наблюдений. Вместе с тем изменения в видовом составе высшей водной растительности необходимо подтверждать параллельными гидрологическими и гидрохимическими исследованиями.

Для чистых водоемов индикаторными свойствами обладают популяции лобелии Дортмана (*Lobelia dortmana* L.), полушника озерного (*Isoetes lacustris* L.), урути очередноцветковой (*Myriophyllum alterniflorum* L.). Данные виды занесены в Красную книгу, являются чувствительными к изменению качества воды. Предупреждает о значительной эвтрофикации водоема развитие ряски и массовое появление нитчатых водорослей.

На неблагополучие в водной экосистеме указывает, например, массовое развитие видов семейства рясковых (*Lemnaceae*). Обилие ряски трехдольной (*Lemna trisulca* L.) говорит о большом количестве биогенных веществ, развитие ряски малой (*Lemna minor* L.) и многокоренника обыкновенного (*Spirodela polyrrhiza* L.) помимо эвтрофирования может свидетельствовать о сельскохозяйственном загрязнении водоема. Массовое развитие телореза алоэвидного (*Stratiotes aloides* L.) ведет к заболачиванию водоема.

Индикаторами скорости течения водоема может быть глицерия (*Glyceria fluviatilis* L.) Ежеголовник всплывающий (*Sparganium emersum* Rehm), подводные формы сусака зонтичного (*Butomus umbellatus* L.), стрелолиста обыкновенного (*Sagittaria sagittifolia* L.), некоторые виды рдестов: рдест пронзеннолистный (*Potamogeton perfoliatus* L.), рдест плавающий (*Potamogeton natans* L.).

Для водных объектов с **минерализованной водой** характерны zostера морская (*Zostera marina* L.), взморник малый (*Zostera noltii* Hornem), камыш приморский (*Schoenoplectus litoralis* (Schard.) Palla), камыш трехгранный (*Schoenoplectus triqueter* (L.) Palla), камыш Табернемонтана (*Schoenoplectus tabernaemontani* (C.G.Gmel) Palla) и другие. Хорошо выдерживают засоление и эврибионтные виды: тростник обыкновенный (*Phragmites australis* (Cav.)), наяда морская (*Najas marina* L.), уруть колосистая (*Myriophyllum spicatum* L.), рдест гребенчатый (*Potamogeton pectinatus* L.) и другие. В целом возрастание минерализации воды приводит к обеднению видового состава растений. В минерализованной воде практически не встречаются виды с плавающими листьями.

Чередование **резких понижений и повышений уровня воды** вызывает массовое появление таких видов, как горец земноводный (*Polygonum amphibium* L.), стрелолист обыкновенный (*Sagittaria sagittifolia* L.).

Индикаторами **постоянного уровня воды и отсутствия течения** являются виды рода пузырчатка (*Utricularia*).

Повышение температуры хорошо переносят уруть колосистая (*Myriophyllum spicatum* L.), рдест пронзеннолистный (*Potamogeton perfoliatus* L.), валлиснерия спиральная (*Vallisneria spiralis* L.), наяда морская (*Najas marina* L.).

Индикатором изменений температурного и гидрохимического режимов водоема могут служить и макрофиты-вселенцы, например пистия (*Pistia stratiotes* L.). Данный вид характерен для тропических рек Африки. Но в летний период в некоторых водоемах Центральной и Южной Украины наблюдалась неожиданная вспышка ее размножения в реках (Мокрая Сура, Северский Донец, Запорожское водохранилище), что объясняется высокой температурой летом, высокой минерализацией воды и высоким содержанием органических соединений в воде.

При уменьшении рН заросли тростников становятся более редкими, на их месте развивается болотный хвощ (*Equisetum palustre* L.), осоки (род. *Carex*), манник большой (*Glyceria maxima* (Hartm.) Holmb.). При понижении рН до 6,7 начинают исчезать рдестники.

Видовой состав, характер распространения, структура растительных сообществ, показатели фитомассы и площади зарастания акватории водоема выступают маркерами, которые визуально могут указать на экологическое состояние водных объектов. Наблюдение за динамикой качественных и количественных показателей развития водной растительности позволяют определить направление трансформации водной экосистемы.

Исследования необходимо проводить на акватории водоема или на его отдельном участке, используя стационарные наблюдательные пункты с четко фиксированными границами. Закладку пунктов наблюдения производят на разных по типу зарастания участках и местах контакта фитоценозов с возможностью

восстановления наблюдения на данном участке и в последующие года. Подобные площадки регулярно картируются с точным нанесением границ растительных сообществ, детальным их описанием, учетом фенологических особенностей видов, количественными их измерениями с обязательной отметкой факторов природной среды.

Сравнение проводят по всем параметрам, которые характеризуют группировки: по площади зарастания, по видовому составу, вертикальной и горизонтальной структуре, по продукционным характеристикам. Изменения могут носить сезонный или годовой характер, обусловленные изменением климатических условий, особенностями биоритмов растений, массовым развитием животных, которые прямо или косвенно воздействуют на них, или же антропогенным воздействием на водоем. Сезонные изменения характеризуются хаотичностью и являются обратимыми. Поэтому они рассматриваются как временное изменение структуры группировки, вызванные внешними или внутренними факторами. Для того чтобы понять, какие изменения происходят в группировках и чем именно они вызваны, необходимы *долгосрочные исследования*.

Изменения в группировках макрофитов могут оцениваться при помощи *специальных экологических индексов*: число видов, независимо от их количественной характеристики (обилия) учитывают коэффициенты Жаккара и Серенсена.

$$\text{Коэффициент Жаккара: } K = \frac{c}{a+b-c}.$$

$$\text{Коэффициент Серенсена: } K = \frac{2c}{a+b},$$

где K – коэффициент видового сходства, a , b – число видов в сравниваемых участках, c – количество общих видов.

Таким образом, высшая водная растительность является более консервативным показателем состава и качества вод по сравнению с другими элементами водной экосистемы, что связано с большей ее устойчивостью к антропогенному воздействию, и это свойство консервативности может служить биоиндикатором. Степень и характер зарастания водоема, флористиче-

ский состав, развитие, величина фитомассы и продукции макрофитов могут свидетельствовать о степени трофности водоёма, а изменения этих показателей – о протекании процесса трансформации его экосистемы, на что должно быть обращено серьезное внимание.

3.1.2 Описание прибрежных обрастаний

Прибрежное обрастание – лучший индикатор опасных загрязнений в предварительной оценке качества воды в водоёме. Прибрежное обрастание располагается на поверхности предметов у кромки воды и может иметь различный цвет и консистенцию: *чистые* водоёмы – ярко-зелёный или буроватый; *загрязнённые* – белые хлопьевидные; *при избытке органических соединений и повышении общей минерализации* – сине-зелёный (за счёт цианобактерий); *при плохой очистке фекально-бытовых сточных вод* – белые или сероватые (за счёт большого количества прикреплённых инфузорий); *избыток сернистых соединений* – хлопьевидный налёт из нитчатых серобактерий.

3.2 Определение качества воды с помощью индекса Вудивисса

Биотический индекс Вудивисса используется во всем мире для определения качества воды в водотоках рек умеренной зоны (не годится для прудов и озёр) по качественным и количественным характеристикам зообентоса (донных организмов). Индекс учитывает общее разнообразие населяющих водоем донных беспозвоночных и наличие в нем организмов, принадлежащих к индикаторным группам.

Цель работы – определить качество воды с помощью индекса Вудивисса.

Материалы и оборудование:

дночерпатель (рамка, скребок, сачок гидробиологический и т.п.); промывалка; кюветы белые фотографические; емкости для

сбора животных; пинцет большой; пинцет глазной; пипетка глазная; иглы для препарирования; определительные таблицы.

Ход работы

1. Используя карту или схему реки, выбирают места отборов проб (станции). Для оценки состояния экосистемы реки станции отбора проб должны закладываться в одинаковых биотопах с учетом характера грунта (каменистая, песчаная литораль, риталь и т.д.).

2. В намеченных местах с помощью различных орудий лова отбирают пробы зообентоса. Затем в течение 15-20 минут на каждом участке осуществляется дополнительный сбор всех бентосных животных, которые попадут в поле зрения исследователей. Проба промывается в промывальнике, выкладывается в кювету. Животных выбирают из кюветы с помощью пинцетов или пипетки (выбор зависит от размера гидробионотов) и распределяют на группы, определяя их до вида или более крупного таксона.

3. Выясняют, какие индикаторные группы есть в водоеме. К ним относятся: личинки веснянок, поденок, ручейников, рачки бокоплав, равноногие раки, трубочники, личинки хиромонид.

4. Оценивают общее разнообразие донных беспозвоночных, подсчитывают число групп; под группой понимают:

- ✓ любой вид плоских червей;
- ✓ класс малощетинковых червей (кроме рода *Nais*);
- ✓ любой вид моллюсков, пиявок, ракообразных, водных клещей;
- ✓ любой вид веснянок, перепончатокрылых жуков;
- ✓ любой вид поденок, кроме *Baetis rodani*;
- ✓ любое семейство ручейников;
- ✓ семейство комаров-звонцов, кроме видов рода *Chironomus*;
- ✓ *Chironomus sp.*;
- ✓ личинки мошек *Simuliidae*;
- ✓ каждый известный вид личинок других летающих насекомых.

5. Находят индекс водоема по таблице 3.3 на пересечении значения общего количества групп и индикаторной группы, начиная сверху с личинок веснянок.

6. Определяют степень загрязнения водоема от 0 до 8 баллов:

от 0 до 2 баллов – сильное загрязнение;

от 3 до 5 баллов – средняя степень загрязнения;

от 6 до 7 баллов – незначительное загрязнение;

от 8 до 10 баллов – чистый водоем.

Таблица 3.3 – Определительная таблица расчета индекса Вудивисса (* кроме вида *Baetis rhodani*)

| Индикаторные группы | >1 вида, 1 вид | Общее количество групп | | | | | | | | | |
|--|-------------------|------------------------|--------|--------|--------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | 0-1 | 2-5 | 6-10 | 11-15 | 16-20 | 21-25 | 26-30 | 31-35 | 36-40 | >40 |
| <i>Plecoptera</i> Личинки веснянок | >1 вида, 1 вид | - - | 7 6 | 8 7 | 9 8 | 10 9 | 11 10 | 12 13 | 13 12 | 14 13 | 15 14 |
| <i>Ephemeroptera</i> Личинки поденок | >1 вида, 1 вид | - - | 6 5 | 7 6 | 8 7 | 9 8 | 10 9 | 11 10 | 12 11 | 13 12 | 14 13 |
| <i>Trichoptera</i> Личинки ручейников | | - 4 | 5 4 | 6 5 | 7 6 | 8 7 | 9 8 | 10 9 | 11 10 | 12 11 | 13 12 |
| <i>Gammarus</i> Бокоплав | | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| <i>Isopoda</i> Равноногие раки | | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Только трубочники (<i>Tubifex</i>) или личинки комаров (<i>Chironomidae</i>) | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Все данные группы отсутствуют | | 0 | 1 | 2 | - | - | - | - | - | - | - |

Мини-список донных беспозвоночных для оценки качества воды методом Вудивисса

1. Основные индикаторные группы:

1. Личинки веснянок
2. Личинки поденок
3. Личинки ручейников *Trechoptera*
4. Бокоплавцы, род *Gammarus*
5. Равноногие раки
6. Малощетинковые черви р. *Tubifex*
7. Личинки комаров-звонцев *Chironomidae*
2. Прочие группы
 - 9-10. Моллюски двустворчатые
 - 11-12. Моллюски легочные
 - 11-12. Пиявки *Hirudinea*
 14. Водяные клещи
 15. Личинки вислокрылок *Sialidae*
 16. Личинки жуков, жуки *Corixidae*
 17. Личинки мошек *Simuliidae*
 18. Личинки стрекоз *Odonata*
 19. Водяной клоп *Hemiptera*

3.3 Определение класса качества воды по индексу Майера

Методика основана на определении индикаторных групп водных беспозвоночных, приуроченных к водоёмам с определённым уровнем загрязнённости и разделённых по этому признаку на три части.

Эта методика годится для водоёмов любого типа, другое преимущество – не требует определения водных беспозвоночных с точностью до вида (таблица 3.4).

Количество обнаруженных групп из 1-го раздела таблицы умножают на 3, количество групп из 2-го раздела – на 2, из 3-го – на 1. Получившиеся числа складывают. Значение суммы характеризует степень загрязнённости водоёма:

22 и более – 1-й класс качества воды; **17-21** – 2-й класс; **11-16** – 3-й класс; **11** и меньше – грязная вода (таблица 3.3).

Таблица 3.4 – Деление индикаторных водных беспозвоночных

по чувствительности к общему загрязнению воды

| Обитатели чистых вод | Организмы средней чувствительности | Обитатели загрязнённых водоёмов |
|------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| Личинки веснянок | Бокоплав | Личинки комаров-звонцов |
| - «» - подёнок | Речной рак | Пиявки |
| - «» - ручейников | Личинки стрекоз | Водяной ослик |
| - «» - вислоккрылок | -«»- комаров-долгоножек | Прудовики |
| Двустворчатые моллюски | Моллюски-катушки | Личинки мошки |
| | Моллюски-живородки | Малоцетинковые черви |

Цель работы – определить класс качества воды по индексу Майера.

Материалы и оборудование:

- сачки из капрона (в крайнем случае матерчатый мешок типа наволочки с отверстием не менее 25-30 см и длиной до 0,5 м);
- скребки или специально подготовленные банки;
- почвенные мелкие сита (диаметр отверстий не более 2 мм);
- светлые пластиковые кюветы и вёдра;
- пинцеты (пипетки, чайные ложки),
- стеклянные ёмкости (чашки Петри, пузырьки из-под лекарств, широкогорлые баночки);
- хозяйственные перчатки;
- тетради и карандаши для записей и заметок;
- определители и атласы беспозвоночных гидробионтов и их личинок (Приложение В).

Ход работы

1. Сбор бентоса. Для работы на небольшой глубине можно применить консервную банку с диаметром дна не менее 10-12 см, при этом необходимо с одной стороны полностью удалить

крышку – аккуратно, без острых краёв (в крайнем случае можно оббить их после удаления крышки молотком), с другой стороны – в дне банки – сделать несколько небольших отверстий для прохода воды. Такая банка, при лёгком покручивании ввинчивается в дно, а затем переворачивается и вынимается вместе с грунтом. При наличии можно использовать плотный сачок из синтетической ткани, насаженный на рукоятку длиной 1,5-2 м. Количество проб – не менее 5, при сильном различии условий обитания число проб соответственно увеличивается. Пробы бентоса отбираются обычно через каждые 10 м береговой линии.

2. Промывка грунта. Грунт промывается через специальные почвенные сита (за неимением – через мелкий дуршлаг или мучное сито) в пластиковом ведре (лучше белого цвета) до прозрачности воды в сите. Оставшиеся в сите организмы стряхиваются в белую фотокювету (тарелку или тазик) для последующего разбора.

3. Сбор плавающих обитателей в толще воды можно производить с помощью той же банки или лучше сачком методом «кошения» против течения воды – ближе к дну, по зарослям водной растительности, у камней. 1 взмах – 1 проба, которую следует вытряхнуть в кювету. Можно дополнить сборы экзemplярами животных, собранных вручную (лучше это делать в хозяйственных перчатках) на камнях, корягах, на дне и растениях.

4. Разбор проб производится с помощью пинцетов, пипетки или чайной ложки (как удобнее) в разные стеклянные ёмкости (очень удобны для этого чашки Петри, широкие низкие баночки) с целью их дифференцировки, подсчёта и определения.

5. Определение организмов производится с помощью лупы (в лабораторных условиях используется бинокляр) и атласов (если необходимо более точное определение – до вида - то нужны определители).

6. По количеству обнаруженных групп водных беспозвоночных произвести подсчет индекса Майера и определение класса качества воды.

7. Сделать вывод о степени загрязненности водоема.

3.4 Оценка качества воды по олигохетному индексу

Олигохетный индекс, или индекс Гуднайт-Уотлея (I_{GU}), - простая и достаточно надёжная методика, но только для *определения органики в донных отложениях*. Для расчёта индекса годятся только материалы дночерпательных проб, где путём разбора определяется количество олигохет (малощетинковых червей *Tubifex tubifex*) – N_O и общее число любых других организмов, включая олигохет, - $N_{общ.}$. Далее делается расчёт отношения в процентах, т.е.

$$I_{GU} = N_O / N_{общ.} * 100\%,$$

значение которого сравнивается со значениями в таблицах 3.5 и 3.6.

Таблица 3.5 – Степень загрязнения воды

| Класс качества воды | I | II | III - IV | V | VI |
|---------------------|----------------------|---------------------------|----------------------------|---------------|-----|
| Зоны самоочищения | Ксено-сапроб-пробная | Бета-альфа-олигосапробная | Бета- альфа- мезосапробная | Полисапробная | |
| Значение индекса | 0 | 1-20 21-35 | 36-50 51-65 | 66-85 | >85 |

Примечание: Класс качества и характеристика воды

I – очень чистая; II – чистая; III – умеренно загрязненная; IV – загрязненная; V – грязная; VI – очень грязная

Таблица 3.6 – Оценка качества воды по олигохетному индексу

| I_{GU} , % | Степень загрязнения воды | Класс качества воды |
|--------------|--------------------------|---------------------|
| Менее 30 | Отсутствие загрязнения | 1-2 |
| 30-60 | Незначительное | 2-3 |

| | | |
|----------|--------------|-----|
| 60-70 | Умеренное | 3-4 |
| 70-80 | Значительное | 4-5 |
| Более 80 | Сильное | 5-6 |

3.5 Биоиндикация загрязнения водоёмов по состоянию популяций водных растений семейства рясковых

Ряска (чаще малая или тройчатая – *Lemna minor*, *L. trisulca*) – широко распространена в стоячих или с медленным течением водоёмах и довольно чувствительна к загрязнениям органикой и ТМ. Рясковые – пресноводные растения-гелофиты, т.е. плавают на поверхности воды или слегка погружены в неё. Растение представляет собой зелёную округлую пластину («щиток», или листец) размером от 1 до 10 мм с простым прозрачным корнем и прикрепленными по бокам листеца дочерними щитками («детками»), благодаря которым ряска очень быстро размножается вегетативно и заполняет всю поверхность водоёма (рис. 3.1).

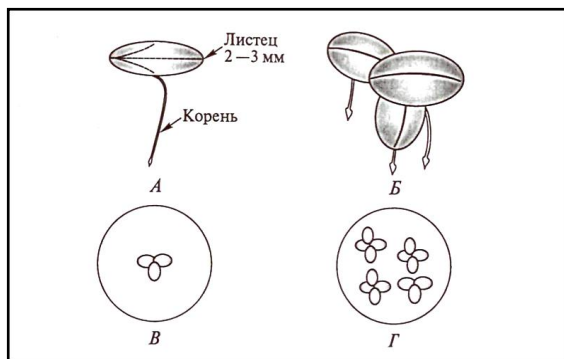


Рисунок 3.1. Строение ряски малой (*Lemna minor* L.):

А – общий вид; Б – группа листецов (один материнский и два дочерних); В – растение ряски в начале эксперимента; Г – растения ряски в конце эксперимента.

Обследование водоёма проводится в течение 2-4 дней. Наилучшее время для обследования – первая декада июня, для уточнения данных дополнительные исследования можно провести в середине июля – начале сентября.

Цель работы – определить загрязнение водоема с помощью семейства рясковых.

Материалы и оборудование:

- чистые пластиковые контейнеры;
- пинцет для отлова ряски;
- шумовка или сачок;
- дистиллированная вода для контрольного варианта.

Ход работы

1. *Наметить точки отбора проб* (по карте или в ходе визуального осмотра водоёма), причем, чем сильнее загрязнение, тем ближе точки должны быть расположены (0,5-1,0 км). На мало загрязнённых участках точки могут быть удалены на расстояние 2-3 км друг от друга.

2. *Провести сбор материала* в месте с медленным течением (залив, бухточка) с помощью ведра с поверхности воды площадью примерно 0,5 м². Растения ряски переносятся затем с помощью шумовки в чистые пластиковые контейнеры с водой из водоёма.

3. *Разобрать пробу*: 150-200 растений разделяются по видам (обычно в небольшом водоёме размножается только один вид), и для каждого вида и точки производится подсчёт следующих данных: 1) сумма всех материнских и дочерних щитков вида, 2) количество поврежденных и неповрежденных хлорозом или некрозом щитков, которые заносятся в таблицу 3.7.

Таблица 3.7 – Данные разбора пробы ряски для точки № ...

| Число растений | Общее число щитков* | Число щитков с повреждениями** |
|--------------------------------|---------------------|--------------------------------|
| | | |
| Доля*** повреждённых щитков, % | | |

Примечание: одно растение – материнский щиток (с детками при их наличии); * - сумма всех материнских и дочерних щитков вида; **повреждение – хлороз или некроз без количества и размера пятен; *** - доля рассчитывается как отношение поврежденных щитков к общему их числу и умножается на 100.

4. Определить качество воды по таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Определение класса качества воды по щиткам ряски

| Доля повреждённых щитков, % | Отношение числа щитков к числу особей вида в пробе | | | | |
|-----------------------------|--|-----|-----|-----|-----|
| | 0,1 | 1,3 | 1,7 | 2,0 | 2,0 |
| 0 | 1-2 | 2 | 3 | 3 | 3 |

| | | | | | |
|----|---|---|---|---|---|
| 10 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 20 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 |
| 30 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 |
| 40 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 |
| 50 | 4 | 4 | 4 | 3 | - |
| 50 | 4 | 4 | 4 | - | - |
| 50 | 5 | 5 | - | - | - |

Примечание: 1 – очень чистая вода; 2 – чистая; 3 – умеренно загрязнённая; 4 – загрязнённая; 5 – грязная; «-» – встречаемость комбинации исключается.

5. Сделать выводы

3.6 Тест на загрязнение воды тяжелыми металлами по движению хлоропластов в клетках ряски (Ломагин, Ульянова, 1993; Цаценко, 2010)

Дополнительные рекомендации: *при наличии микроскопа* можно использовать тест на загрязнение воды ТМ (тяжёлыми металлами) по движению хлоропластов в клетках ряски. В норме они концентрируются со стороны источника света, располагаясь перпендикулярно лучам света (положительный фототаксис), а при сильном загрязнении перемещаются хаотически, прижимаясь к боковым стенкам клеток и располагаясь к источнику света ребром (отрицательный фототаксис). Пробы должны быть при этом *свежими*, а растения живыми.

Для биотестирования загрязнённых, например сточных, вод лучше брать ряску одного вида и клона (из аквариума, бассейна).

Чувствительность ряски на загрязнение ТМ (барий, медь, магний, железо, кобальт) проявляется уже при концентрации порядка 10 мкг/л (Галактионов, Юдин, 1980). Ответные реакции на некоторые ТМ довольно специфичны. Так, в ответ на Cu (0,1-0,25 мг/мл) уже через 4 часа воздействия происходит рассоединение листцов из групп и изменение окраски с зелёной на голубую; при воздействии Zn (0,025 мг/мл) – насыщенная зелёная окраска меняется на бесцветную, зелёной остаётся только точка роста; Ва (0,1-0,25 мг/мл) – идёт полное рассоединение листцов, отпадают корни, зелёная окраска меняется на молочно-белую; Со (0,25-0,0025 мг/мл) – наблюдается полное приостановление роста и потеря окраски (Малюга и др., 1996).

Цель работы – провести тест на загрязнение воды ТМ по движению хлоропластов в клетках щитков ряски.

Материалы и оборудование:

- микроскоп световой;
- стёкла предметные и покровные;
- препаровальные иглы;
- медицинский шприц для инфильтрации растений ряски;
- карандаш и листы бумаги для записей и зарисовок.

Ход работы

1. Листецы живых растений инфильтруют (пропитывают исследуемой жидкостью) с помощью медицинского шприца и ставят на слабый свет (120 лк).

2. Через 17 час после инфильтрации (утром следующего дня) оторванные листецы помещают в каплю исследуемой жидкости на предметное стекло.

3. Под микроскопом (желательно 400-кратное увеличение) в верхних клетках хлоренхимы рассматривают хлоропласты и делают зарисовки. Для количественного анализа просматривают не менее 10 клеток и ведут подсчёт хлоропластов в каждой группе по расположению к свету («ребром» и перпендикулярно).

4. Не сдвигая опытный препарат, создают сильное освещение в течение 10 мин, а затем снова зарисовывают и(или) пересчитывают хлоропласты в разных положениях.

5. Определяют визуально либо количественно соотношение числа хлоропластов, расположенных «ребром» к свету, к их первоначальному количеству и выражают показатель в %. Чем он выше, тем сильнее загрязнена вода ТМ.

6. Контрольный листец помещают в каплю водопроводной или дистиллированной воды, в нём соотношение хлоропластов в разных положениях (показатель торможения фототаксиса) обычно близко к нулю.

7. Делают выводы

3.7 Использование флуктуирующей асимметрии животных для оценки качества среды

Цель работы – интегральная экспресс-оценка качества среды обитания живых организмов по флуктуирующей асимметрии

некоторых признаков позвоночных и беспозвоночных животных.

Оборудование и материалы:

- карандаш;
- блокнот;
- определители позвоночных и беспозвоночных животных;
- 10%- и 96% спирт;
- 3% формалин;
- удочки с крючком № 4;
- мышеловки;
- приманки;
- мешочки для сбора материала;
- бинокляр;
- чашки Петри;
- энтомологические булавки;
- резиновые перчатки;
- фиксированный материал рыб и лягушек, выдержанный предварительно в воде;
- черепа рыжей полевки.

Ход работы

1. Отлов рыб производится с помощью удочки или водяного сачка. Если невозможно использовать свежепойманную рыбу, то собранный материал помещают в морозильную камеру. При фиксации использовать 70%-й спирт или 3%-й формалин.

Зеленых лягушек отлавливают удочкой с крючком № 4. На крючок насаживается приманка (кузнечик, муха или имитатор в виде темной бумаги, резины). Подойти к лягушке на расстояние удочки и поднести приманку к ее рту, слегка покачивая. Отлов бурых лягушек производят вручную или с использованием почвенных ловушек Барбера. Если нет возможности обработать или зафиксировать материал сразу, лягушек можно хранить несколько дней в тряпичных мешочках, куда предварительно кладут пучок травы во избежание «вспенивания» животных. Ежедневно необходимо увлажнять мешочек и просматривать лягушек. Для более длительного хранения лягушек фиксируют в 96%-м спирте или 3%-м формалине.

Рыжих полевок отлавливают с помощью стандартных мышеловок в типичных местах обитания вида в количестве не менее 20 особей с одной точки. В качестве приманки хорошо ис-

пользовать смоченный подсолнечным маслом белый хлеб. Мышеловки ставят возле нор, коряг, пней, поваленных деревьев на расстоянии 2-3 м друг от друга. Тела животных фиксируют в 96%-м спирте.

2. Перед работой с черепами рыжей полевки головы отделяют от тушек и вываривают в воде 30—40 мин после закипания. Далее вычищают череп, используя пинцет, препаровальные иглы, зубную щетку с жесткой щетиной, глазной скальпель. Очищенные черепа высушивают и хранят каждый в отдельной таре с этикеткой.

3. С каждого препарата рыб снять 5 признаков в соответствии с рисунком 3.4.

4. С каждого препарата лягушек снять до 11 признаков в соответствии с рисунком 3.5 (как правило, не учитывая признаки зубов).

5. С каждого черепа рыжей полевки снять до 10 параметров в соответствии с рисунком 3.6.

6. Данные измерений занести в таблицу 3.9:

Таблица 3.9 – Феногенетические признаки исследуемых животных

| Дата | Место сбора | | | | | | | | Вид | | | | | |
|-------------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|-----|---|-----|---|---|---|
| № препарата | № признака | | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | ... | | k | |
| | л | п | л | п | л | п | л | п | л | п | л | п | л | п |
| 1 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | | | | |
| ... | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | | | | | | | | |

Примечание. л — левая сторона; п — правая сторона.

Таблица 3.10 – Оценка качества окружающей среды в баллах по интегральному показателю стабильности развития животных (по В.М. Захарову, 1996)

| Класс | Коэффициент асимметрии, баллы | | | | |
|-------|-------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------|---------------------|
| | 1 (чисто) | 2 (отно- сительно) | 3 (загряз- но) | 4 (гряз- но) | 5 (очень грязно) |
| | | | | | |

| | | | | | |
|---------------|--------|-----------|-----------|-----------|--------|
| | | чисто) | нено) | | |
| Рыбы | < 0,35 | 0,35-0,40 | 0,40-0,45 | 0,45-0,50 | > 0,50 |
| Земноводные | <0,50 | 0,50-0,55 | 0,55-0,60 | 0,60-0,65 | >0,65 |
| Млекопитающие | < 0,35 | 0,35-0,40 | 0,40-0,45 | 0,45-0,50 | > 0,50 |

7. Провести оценку величины флуктуирующей асимметрии по дисперсии относительного различия между сторонами (л — левая, пр — правая), основанной на оценке величины дисперсии различий между сторонами не от нуля (строгой симметрии), а от некоторого среднего различия между ними, имеющего место в рассматриваемой выборке особей (см. лаб. работу № 3).

8. Для анализа асимметрии качественных признаков рассчитать среднее число асимметричных признаков (ЧАП) на особь:

$$ЧАП = \frac{\sum_{i=1}^k A_i}{nk}$$

где A_i – число асимметричных проявлений признака i (число особей, асимметричных по признаку i); n – численность выборки; k – число признаков.

9. Провести балльную оценку качества среды обитания в соответствии с таблицей 3.10, в которой приведены коэффициенты асимметрии.

Оценка стабильности развития *рыб* проводится по флуктуирующей асимметрии и частоте фенотипов (отклоняющиеся варианты) пяти меристических признаков (т.е. по числу элементов какого-либо органа) карася золотого (*Carassius carassius*) и карася серебряного (*Carassius auratus*) (рис. 3.2).

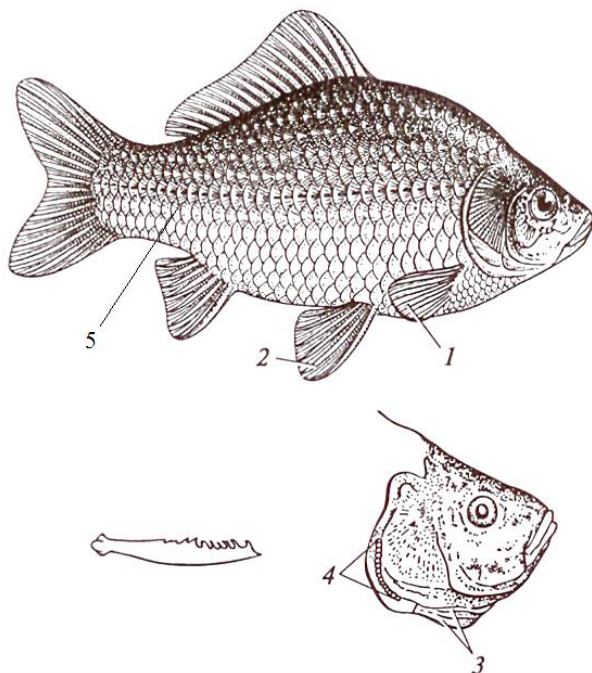


Рисунок 3.2. Схема морфогенетических показателей, используемых для оценки стабильности развития рыб: золотого карася и серебряного карася (по рисунку Д. Шепоткина):

1–5 — меристические признаки; в скобках указана условная «норма» — обычное значение или диапазон значений признака (* — золотого карася; ** — серебряного карася): 1 — число лучей в грудных плавниках (* — 15 — 16, ** — 18 — 19); 2 — число лучей в брюшных плавниках (* — 9, ** — 9); 3 — число жаберных тычинок (* — 26 — 29, ** — 46 — 49); 4 — число глоточных зубов (* — 4, ** — 4); 5 — число чешуй в боковой линии (* — 29 — 31, ** — 28 — 29)

Оценка стабильности развития *земноводных* проводится по флуктуирующей асимметрии 13 признаков бесхвостых амфибий — зеленых лягушек гибридного комплекса *Rana esculenta* (*R. lessonae* и *R. esculenta*). На рисунке 3.3 представлен комплекс показателей морфогенетического гомеостаза лягушек.

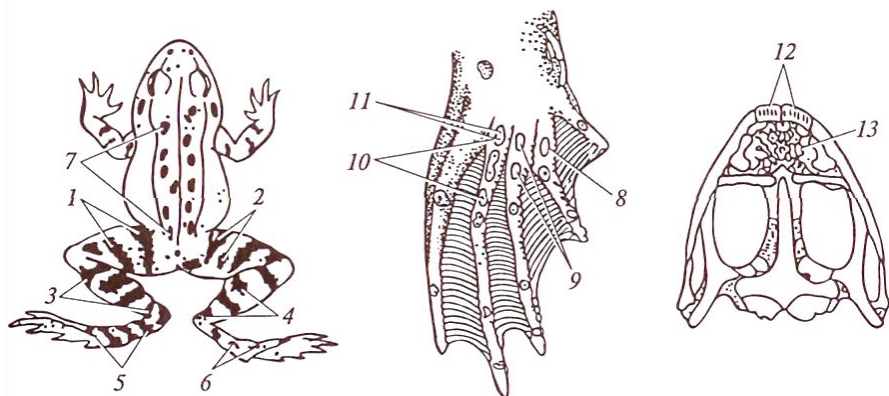


Рисунок 3.3. Схема морфогенетических показателей (1—13), используемых для оценки стабильности развития зеленых лягушек гибридного комплекса *Rana esculenta*

(по рисунку Д. Шепоткина):

1–7 – признаки окраски: число полос (1) и пятен (2) на бедре; число полос (3) и пятен (4) на голени; число полос (5) и пятен (6) на стопе; число пятен на спине (7); 8–11 – признаки кожных покровов: число пятен на вентральной стороне второго (8), третьего (9) и четвертого (10) пальцев; число пор на вентральной стороне третьего пальца (11); 12–13 – остеологические признаки: число зубов на межчелюстной кости (12) и сошнике (13)

Оценка стабильности развития *млекопитающих* проводится по флуктуирующей асимметрии 10 краниологических (строение черепа) признаков рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) и обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*) (Захаров, 1987). На рисунке 3.4 приводится такая оценка на примере рыжей полевки.

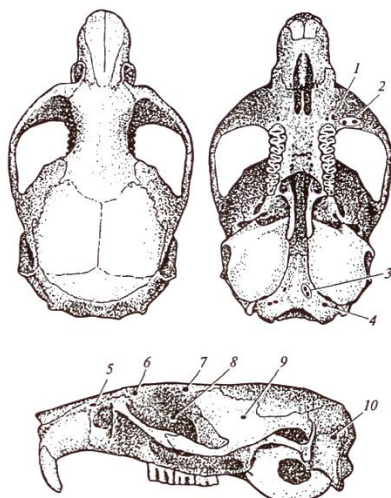


Рисунок 3.4. Схема морфогенетических показателей, использованных для оценки стабильности развития млекопитающих на примере рыжей полевки (*Clethrionomys glareolis*)

(по рисунку Д. Щепоткина):

1-10 – краниологические признаки (число отверстий для выхода мелких кровеносных сосудов и нервов); 1 – (1); 2 – (1 – 2); 3 – 0; 4 – (3 – 4); 5 – (1); 6 – (1); 7 – (1 – 2); 8 – (1); 9 – (1); 10 – (1). В скобках указана условная «норма» — обычное значение или диапазон значений признака

Принцип предложенных в лабораторной работе методов основан на нарушении симметрии развития показателей морфогенетического гомеостаза животных под действием антропогенных факторов (Мелехова, 2007), в частности комплексного загрязнения водоёма и длительности негативного воздействия.

При использовании этих методов (за исключением последнего) желательно возвращение животных в природные места обитания, поэтому обращаться с ними надо осторожно, стараясь не нанести повреждений. Что касается изучения краниологических признаков, то этот метод трудоёмок и не очень приятен, особенно на начальном подготовительном этапе: отлов, умерщвление животных и вываривание мягких тканей головы, чтобы отделить их от черепа, поэтому рекомендуется для серьёзных научных исследований с привлечением специалистов по анатомии и морфологии животных.

Достоинства и недостатки биологических методов оценки загрязнения вод

В результате анализа методов биоиндикации по оценке загрязнения поверхностных вод можно выделить основные достоинства и недостатки (табл. 3.11). Все перечисленные методы биоиндикации широко используются для оценки антропогенного воздействия на биоценозы наземных и водных экосистем. При любых неблагоприятных условиях разнообразие видов в биоценозе уменьшается, а численность устойчивых видов возрастает. Кроме этого, методы биоиндикации имеют общие недостатки:

- численность большинства организмов имеет четко выраженную сезонность и зависит от погодных условий;
- для большинства методов требуются *квалифицированные специалисты в определении видов живых организмов*.

Наряду с методами биоиндикации необходимо применение и методов биотестирования для выявления и оценки действия факторов (в т.ч. и токсических) окружающей среды на организм, отдельную функцию органа или систему органов.

В настоящее время методики биоиндикации и биотестирования не имеют общепризнанной и стандартизированной системы биологического анализа и нет чётких требований, которым должна отвечать эта система. Поэтому методы биоиндикации остаются дополнительными, но обязательными при осуществлении экологического мониторинга.

Таблица 3.11 – Характеристика биологических методов оценки загрязнения вод

| Наименование | Преимущества | Недостатки |
|--|---|---|
| 1 | 2 | 3 |
| Сапробность воды по показателям перифитона | Устанавливается по видовому составу индикаторных организмов, живущих в воде | Приспособление организмов к существованию при различных условиях среды (эврибионтность) |

Продолжение таблицы 3.11

| 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|
| Сапробность воды по отдельным крупным таксонам зообентоса | Повсеместное распространение таксонов: личинки хируномид (комары – звонцы) и олигохет (малощетинковые черви) | Является характеристикой водной среды за некоторый промежуток времени и не дает оценки на момент исследования. Для получения надежных данных, как правило, пробоотборник должен находиться в реке не менее четырех недель. При этом в каждой точке проводят не менее трех повторных отборов |
| Биотический индекс Вудивисса | Учитывает частую последовательность исчезновения групп индикаторных организмов по мере увеличения загрязнения | Не подходит для озер и прудов. Необходимо выяснить, какие индикаторные организмы имеются в исследуемом водотоке, в зависимости от чувствительности к загрязнению. Происходит изменение видовой структуры бентосных организмов по мере повышения уровня загрязненности воды, следовательно, наблюдается отмирание индикаторных таксонов. Пригодна в прибрежной зоне, где донная фауна разнообразна |
| Индекс Гуднайта-Уотля | Используется для определения загрязнения водоема органическими веществами | Используются для анализа только материалы дночерпательных проб. Следует иметь в виду, что изменения в донных отложениях происходят медленнее, чем меняется качество воды в водной среде |

Продолжение таблицы 3.11

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

| | | |
|---|--|---|
| <p>Модифицированный олигохетный индекс (Э. А. Пареле)</p> | <p>Основаны на отношении отдельных семейств олигохет к общей численности всех олигохет</p> | <p>Используется только для крупных рек в условиях Русской равнины. Индекс D_1 применяется для малых рек с быстрым течением и разнообразной флорой. Индекс D_2 для рек и водоемов с неблагоприятным кислородным режимом и бедным составом олигохет</p> |
| <p>Индекс Шеннона</p> | <p>Придает большой вес редким видам. Подходит для целей сравнения в тех случаях, когда не интересуют компоненты разнообразия по отдельности</p> | <p>Невозможно включить в выборку все виды реального сообщества</p> |
| <p>Индекс Майера</p> | <p>Подходит для любых типов водоемов. Используются организмы-индикаторы, чувствительные к различным условиям водной среды (обитатели чистых вод, организмы средней чувствительности и обитатели загрязненных водоемов)</p> | <p>Точность метода невысока</p> |

3.8 Определение качества воды методом биотестирования с использованием дафний (Е.В. Федоненко и др., Днепетровский госуниверситет, Украина, 2014)

Методы биотестирования лишены многих недостатков биотических индексов и других биоиндикационных методов оценки качества воды, однако проводятся они, как правило, в специальных лабораториях и нуждаются в особых условиях. При этом их преимущество заключается в том, что они позволяют определить конкретно качество (тип) загрязнителя, а также его количество (концентрацию) и степень токсичности (опасности) для живых организмов. Методы биотестирования позволяют определить токсичность и сточных, и природных вод. Критерием острой токсичности является гибель 50% и более организмов в анализируемой воде по сравнению с контролем в течение 24, 48 или 96 ч.

Дафнии (*Daphnia magna* и другие виды) – наиболее часто используемый тест-объект для определения токсичности воды. Дафнии относятся к ветвистоусым рачкам (*Cladocera*) (Приложение В-2). Их можно встретить в самых разнообразных водоемах. Питаются обитающими в пресных водах мелкими организмами: водорослями, инфузориями и др.

Дафнии позволяют определить как качество природных вод, так и токсичность стоков. Показателем острой токсичности является гибель 50% и более дафний в анализируемой воде по сравнению с контролем в течение 24, 48 и 96 часов. Для определения качества природных вод ставятся хронические опыты по методике Л.А. Лесникова длительностью 10-15 суток.

Методика работы

Для определения токсичности вод необходимо иметь культуру дафний. Исходный материал можно получить в специальных учреждениях или использовать свою культуру, но в последнем случае результаты считаются недостоверными. При культивировании дафний берут водопроводную воду, отстаиванную не менее 7 суток и насыщенную кислородом (не менее 6,0 мг/л), с рН=7,0-8,2; жесткость общая 3-4 мг/л. Лучше всего использовать отстаившуюся воду из аквариума.

Кормом служат зеленые водоросли (хлорелла) и хлебопекарные дрожжи. Кормят дафний 1-2 раза в неделю. Дозировка

кормления для дафний: из расчета 2 мл/л суспензии водорослей хлореллы с плотностью 25-35 млн кл./мл.

Для культивирования дафний используют стеклянные сосуды емкостью 3–5 литров. Начальная плотность дафний от 6 до 10 особей на 1 л. Через 5–7 суток в сосуды добавляют воду для дальнейшего культивирования. В помещении, где находится культура дафний, не должно быть вредных газов и паров, оптимальная температура 20⁰С, освещение рассеянное 12–14 часов в сутки. Обмен воды в культуре дафний проводят через 7 суток.

Посуду моют водой с питьевой содой, другие моющие средства не рекомендуются.

Материал и оборудование:

- культура дафний, желательна стандартизированная (см. выше);
- ёмкости стеклянные для содержания тест-животных;
- отстоянная водопроводная вода (параметры см. выше);
- корм для дафний;
- стеклянные ёмкости для забора водных проб (из коллекторов, из стоков и т.п.);
- стеклянные трубочки диаметром 5-7 мм для забора дафний;
- микроскоп или бинокулярная лупа с окулярмикрометром.

Ход работы

1. *Отбор проб для анализа.* Для анализа на токсичность берут воду объемом до 1 л. Время от начала забора до опыта не должно превышать 6 часов, а температура хранения 4⁰С.

Пробы промышленных сточных вод (2–3 л) отбирают из соответствующих коллекторов или открытых участков водотока и хранят в стеклянной таре в холодильнике.

2. *Проведение опытов.* Опыты ставят в трех повторностях. В каждый стакан заливают по 200 мл раствора и сажают по 10 дафний. Их переносят стеклянной трубкой диаметром 5–7 мм. Каждая серия опытов сопровождается контрольными испытаниями с чистой водой. Наблюдают за ходом эксперимента через 24, 48 или 96 часов. Дафний во время эксперимента не кормят.

3. Регистрация показателей в кратковременных опытах.

Основным показателем токсичности среды является **выживаемость** рачков, наблюдения за которыми проводят непрерывно в течение первого часа воздействия раствора, через каждые 15 мин в продолжение второго часа, затем ежедневно до конца первого дня наблюдений, а в последующие сутки - 2-3 раза в день.

Время гибели рачков отмечают по наступлению неподвижности (иммобилизации): дафнии лежат на дне стакана, плавательные движения отсутствуют и не возобновляются при легком прикосновении струей воды или покачивании стакана.

4. После окончания эксперимента производят подсчет дафний. **Рассчитывают процент выживших особей.**

Проба воды оценивается как токсичная, если за 24 часа опыта в ней гибнет больше 50% дафний по сравнению с контролем. Для количественной оценки токсичности проб воды применяется 4-балльная шкала токсичности Н.С. Строганова (1971) (табл. 3.12).

Таблица 3.12 – Шкала токсичности воды

| Количественная оценка (балл) | Продолжительность жизни 50% дафний (дни) | Оценка токсичности |
|------------------------------|--|--------------------------------------|
| 1 | 1 до 20 | Слабая токсичность или ее отсутствие |
| 2 | 2 до 10 | Средняя токсичность |
| 3 | 3 до 5 | Сильная токсичность |
| 4 | 4 до 2 | Весьма сильная токсичность |

5. Регистрация показателей в долговременных опытах.

Отобранные пробы воды фильтруются через мельничный газ. Опыты можно ставить только после выравнивания температур в пробах и маточной культуре дафний. В каждую пробу с 0,3 л воды помещается по 10 дафний возрастом 6 суток.

В течение опыта регулярно (1 раз в течение 2 суток) под бинокуляром отмечается их состояние. Длительность опытов не

менее 10 суток. В пробы воды корм не добавляется. В ходе опыта воду не заменяют, молодь не удаляют.

При просмотрах у дафний регистрируются: размеры (в делениях окулярмикрометра); состояние гонад и эмбрионов в выводковых камерах, их число; окраска тела, наличие и цвет капель жира, наполненность кишечника и его содержимое.

У погибших и иммобилизованных дафний регистрируются симптомы гибели (тетаническое сокращение мышц туловища, судорожное опорожнение кишечника, осветление участков тела, яиц или эмбрионов и т.п.).

Результаты опытов позволяют в основном качественно судить о характере изменения условий в водоеме. В качестве руководства в первом приближении можно использовать прикладываемую к методике определительную схему (Приложение 3), составленную на основании анализа результатов опытов с разными веществами.

3.9 Оценка качества воды при помощи водорослей

В современной экотоксикологии (синоним биотестирования) в качестве тест-объектов для определения токсичности водной среды используют также различные виды водорослей. Наиболее удачными объектами при определении токсичности загрязняющих веществ и сточных вод по подсчету численности водорослей и интенсивности фотосинтетических процессов выступают представители отделов зеленых и синезеленых (цианобактерии) водорослей, культуры которых выращены в лабораторных условиях на специальных средах.

Приготовление сред для культивирования микроводорослей

Для культивирования зеленых водорослей (*Chlorella*, *Scenedesmus*) можно использовать **среду Кнопа**, которую готовят следующим образом: к 1 л дистиллированной воды добавляют следующие вещества: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 0,25 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,06 г, KH_2PO_4 – 0,06 г, KCl – 0,08 г, Fe_2Cl_6 – одна капля 1% раствора (можно заменить раствором хелатного железа). Также на среде Кнопа можно выращивать ряску.

Для выращивания синезеленых водорослей (*Anabaena*, *Botryococcus*) рекомендуется использовать среду **Чу-10**: к 1 л дистиллированной воды добавляют следующие вещества: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 0,04 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,025 г, KH_2PO_4 – 0,01 г, Na_2CO_3 – 0,02 г, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – 0,025 г, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,0008 г (также можно заменить хелатом железа).

Длительно выдерживать водоросли без пересева не рекомендуется, так как водоросли могут прекратить свой рост в результате самоотравления продуктами жизнедеятельности. Признаками такого угнетения могут служить пожелтение культуры, появление белесого оттенка на среде и ее помутнение.

Сохранить коллекцию водорослей можно на твердых питательных средах, где рост культуры замедлен, поэтому частые пересевы не требуются (раз в месяц, а если хранить при слабом рассеянном свете при температуре 10-15⁰С, то и раз в два месяца). Состав твердой **среды Прата** (г/л раствора): KNO_3 – 0,10, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01, K_2HPO_4 – 0,01, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,001, агар-агар – 12 г. Среду необходимо *простерилизовать*.

Цель работы - освоить методику проведения эксперимента по определению токсичности растворенных веществ на культурах водорослей.

Реактивы и оборудование:

- экспериментальные культуры зеленых (*Chlorella vulgaris*) и синезеленых (*Botryococcus braunii*) водорослей;
- растворы токсичных веществ;
- пробы сточных вод;
- конические колбы;
- лакмусовая бумага;
- дистиллированная вода;
- камера Горяева;
- пипетки;
- ФЭК (фотоэлектроколориметр);
- мембранные фильтры № 3 и № 4;
- микроскоп.

При проведении исследований токсичности промышленных сточных вод и различных ядовитых веществ необходимо подоб-

рать оптимальную питательную среду для водорослей, в которой бы их рост и развитие отвечали задачам исследования. Также необходимо принимать во внимание условия освещения и температуры, которые должны быть стабильными и оптимальными для роста водорослей. В качестве искусственного источника освещения рекомендуется использовать люминесцентные лампы дневного освещения.

При токсикологических исследованиях влияния сточных вод и различных химикатов на водоросли целесообразно использовать два варианта методики определения токсичности: ускоренный и экспериментальный методы.

3.9.1 Ускоренный метод позволяет точно ответить на вопрос об острой токсичности воды. В его основу положено определение выживания водорослей *Chlorella vulgaris* и *Botryococcus braunii*, которые выращены на одной из питательных сред.

Ход работы

1. *Постановка эксперимента по определению токсичности сточных вод.* В конические колбы емкостью 1,0–1,5 л наливают 0,5–1,0 л питательного раствора и добавляют вещества, токсичность которых исследуется. При этом вещества вносят в виде растворов или порошков (если последние плохо растворяются в воде). Готовят серию разведений: 0 (без разведения), 1:1, 1:2, 1:3 и т.д. Сточные воды разводят водой, отобранной из исследуемого водоема, и добавляют питательные вещества. В качестве контроля используют питательную среду или воду из водоема, в которую добавляют необходимые для роста водорослей минеральные соли.

2. *Внесение культуры водорослей.* После приготовления шкалы разведения или растворов для определения токсичности веществ в каждую колбу вносят культуру водорослей, которая находится в фазе экспоненциального роста (массовое размножение) в таком количестве, чтобы плотность культуры не превышала 2–3 млн кл./мл. Из тщательно перемешанного культурального раствора водорослей отбирают одинаковый объем жидкости (10–20 мл) с клетками и добавляют к экспериментальным емкостям. Затем содержимое колб перемешивают и помещают в

люминодат, который поддерживает нужный режим освещения. Исследование проводят при постоянной температуре 18–20⁰С и при 12-часовом освещении лампами дневного света 3–5 тыс. лк.

3. *Подсчёт количества, плотности и биомассы водорослей.* Через некоторый промежуток времени (1, 2, 5, 10 и т.д. суток) подсчитывают численность клеток в колбах с помощью счётных камер Горяева. При подсчете просматривают 30 квадратов по всей площади камеры и перечисляют на общее количество счетных квадратов. При этом необходимо знать объем квадрата для пересчета количества водорослевых клеток в 1 мл раствора, а затем перечислить в млн (млрд) клеток на литр.

Если же суспензия водорослей не меняет окраску, то есть постоянно зеленого цвета, то подсчёт в счетной камере можно заменить измерением оптической плотности суспензии на ФЭК с последующим сравнением ее с численностью клеток в определенном объеме по калибровочных графику.

Кроме этого, результаты наблюдений можно выразить в весовых единицах, определяя биомассу водорослей по количеству сухого вещества клеток в литре суспензии водорослей. Для этого определенный объем суспензии водорослевых клеток (30-50 мл) отфильтровывают через предварительно взвешенный мембранный фильтр № 3 (или № 4) и доводят до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 105–110⁰С. Биомассу выражают в миллиграммах сухого вещества в 1 л.

При проведении токсикологических исследований необходимо *постоянно следить за рН среды* как в контрольных, так и опытных растворах. Изменение рН среды дает дополнительную информацию относительно определения жизнестойкости клеток водорослей. Обычно при старении культуры наблюдается повышение щелочности среды, а подкисление растворов исследовательских колб при просмотре на свет извещает об угнетении развития водорослей.

4. *Сделать выводы по результатам исследований.*

По полученным результатам можно сделать выводы относительно

- острой токсичности водной среды, сточных вод или отдельных веществ для организмов, которые принимают активное участие в процессах самоочищения водоемов и выступают продуцентами водных экосистем;

- определить, при каком разведении сточных вод чистой водой из водоема исчезает их токсичность или какие концентрации веществ не нарушают нормального физиологического состояния водорослевых клеток.

Подобные результаты помогают определить ту концентрацию токсичных веществ, до которой необходимо очищать воду перед тем, как возвращать ее в водоем.

3.9.2 Качественное и количественное определение живых и мертвых клеток синезеленых и зеленых водорослей при помощи красителей

Во время проведения токсикологических исследований при действии различных химических веществ, а также при разработке химических способов регулирования численности микроскопических водорослей вследствие их массового развития в водоемах возникает необходимость выявить жизнеспособность клеток различных водорослей. Определение живых и мертвых клеток является показателем эффективности токсического действия различных альгоцидов (веществ-токсикантов для водорослей). Провести подобную дифференциацию можно благодаря использованию красителей, механизмом действия которых является проникающая способность: живые и мертвые клетки имеют различные адсорбционные и проникающие свойства клеточных мембран.

В данном случае рекомендуется производить окраску водорослевых клеток используя два красителя: первый – витальный, который четко выявляет наличие живых и целостных клеток, второй – окрашивает мертвые и поврежденные клетки.

Цель работы - освоить методики окрашивания клеток водорослей для подсчета количества живых и погибших клеток.

Реактивы и оборудование:

- метиленовый синий,

- нейтральный красный,
- трифенилтетразолхлорид,
- азур-эозин,
- KH_2PO_4 ,
- Na_2HPO_4 ,
- лакмусовая бумага,
- дистиллированная вода,
- камера Горяева,
- пипетки,
- микроскоп,
- экспериментальные культуры зеленых (*Chlorella*) и синезеленых (*Botryococcus*) водорослей.

Ход работы

1. Окрашивание клеток водорослей.

При окраске клеток синезеленых и зеленых водорослей используют следующие красители.

Метиленовый синий – раствор готовится из расчета на 1 л 200 мг красителя, который растворяют в фосфатном буфере, содержащем 18,2 г/л KH_2PO_4 и 28,1 г/л Na_2HPO_4 . Приготовленный раствор должен иметь pH 6,8–7,0.

Нейтральный красный – раствор готовится на дистиллированной воде при концентрации 0,1 %.

Трифенилтетразолхлорид – готовят 0,2 % раствор этого вещества на дистиллированной воде.

Азур-эозин – готовят 0,1% раствор на дистиллированной воде.

Для определения живых и мертвых клеток зеленых водорослей (*Scenedesmus* и *Chlorella*) используют два красителя – *метиленовую синь* и *нейтральный красный*. К 1 мл суспензии водорослей добавляют 1 мл метиленовой сини и нейтрального красного, который нужно развести в пропорции 1:5000. Полученный раствор красителей и суспензии водорослей тщательно размешивают и через 20 минут микроскопируют. При этом метиленовая синь красит мертвые клетки в синий цвет, а живые клетки окрашиваются прижизненным красителем нейтральным красным в розовый цвет.

При окраске растворами метиленовой сини и нейтрального красного в разведении 1:10000 автоспор, которые образуются после распада ценобия зеленых водорослей, они окрашиваются в голубовато-зеленый цвет – за счет повреждения проникающей способности оболочки под действием токсичных веществ. Метиленовая синь свободнее поступает к погибшей клетки, чем нейтральный красный к живой клетке, поэтому клетки, которые окрашены в голубовато-зеленый цвет, обычно считаются как мертвые.

Для определения живых и мертвых клеток синезеленых водорослей (*Anabaena* и *Botryococcus*) используют красители – *трифенилтетразолхлорид* (ТТХ) и *азур-эозин*. К 1 мл суспензии водорослей добавляют несколько капель 0,2% раствора ТТХ, чтобы его конечная концентрация в среде составляла 0,075% и 1-2 капли 0,1% раствора азур-эозина.

Пробы тщательно размешивают и на 16-20 часов выставляют на рассеянный свет, после чего их микроскопируют. ТТХ красит живые клетки в ярко-красный цвет, а азур-эозин мертвые клетки в фиолетовый цвет. При окрашивании живых клеток водорослей происходит восстановление ТТХ в формазон, а клетки, убитые токсичными веществами, теряют способность к подобному восстановлению ТТХ.

2. Подсчет живых и погибших клеток водорослей.

Для подсчета численности клеток водорослей используют камеру Горяева. Для этого пипеткой отбирают суспензию водорослей из колбы, наносят по одной капле на сетки в счетной камере Горяева. Затем камеру накрывают покровным стеклом, которое притирают по бокам, пока не появятся кольца интерференции. Через 1-2 минуты начинают подсчет водорослей в пяти крупных (или восьмидесяти малых) квадратах, которые находятся по диагонали сетки счетной камеры, или в 25 больших квадратах всей камеры (при малой плотности водорослей). Для того чтобы получить наиболее достоверные результаты, нужно проводить не менее трех повторных подсчетов, при этом каждый раз необходимо изменять положение покровного стекла на камере, проводить замену растворов. Затем берется среднее ариф-

метическое из всех подсчётов и вычисляют количество живых и мертвых клеток, содержащихся в единице объема раствора.

3. Обработка и оценка результатов.

На основании подсчетов клеток в каждой капле рассчитывают численность клеток водорослей (кл/см³) в контрольном и опытном образцах, для живых и мертвых клеток. Используют следующую формулу:

$$X_{n(он)ij} = \frac{m_{k(он)ij}}{nV},$$

где $m_{k(он)ij}$ – количество подсчитанных живых (мертвых) клеток водорослей в камере в контроле (опыте) для i -й капли и j -го параллельного определения;

i – номер капли суспензии;

j – номер параллельного определения;

V – объем части камеры, которая имеет площадь маленького квадрата;

n – количество подсчитанных квадратов.

Для каждого параллельного определения, как в опыте, так и контроле (как живых, так и мертвых клеток), рассчитывают среднее арифметическое численности клеток водорослей в 1 см³ по формуле:

$$\bar{X}_{n(он)j} = \frac{\sum_{i=1}^I X_{n(он)ij}}{I},$$

где I – количество капель суспензии.

На основании результатов трех параллельных подсчетов численности живых (мертвых) клеток водорослей в контроле и опыте находят средние арифметические численности живых (мертвых) клеток водорослей в контроле (опыте) по формуле:

$$\bar{X}_{n(он)} = \frac{\sum_{j=1}^J \bar{X}_{n(он)j}}{J},$$

где J – количество параллельных подсчетов численности живых (мертвых) клеток водорослей в контроле (опыте); $J = 3$.

Рассчитывают численность живых (мертвых) клеток водорослей в опыте в процентах от их численности в контроле по формуле:

$$P = \frac{\bar{X}_{\text{ож}}}{\bar{X}_{\text{к}}} \cdot 100,$$

где P – численность живых (мертвых) клеток водорослей в опыте, %;

$\bar{X}_{\text{ож}}$ – среднее арифметическое численности живых (мертвых) клеток водорослей в опыте, кл/см³;

$\bar{X}_{\text{к}}$ – среднее арифметическое численности живых (мертвых) клеток водорослей в контроле, кл/см³.

Данные подсчета и пересчета заносят в таблицу (табл. 3.13).

Таблица 3.13 – Количество живых и погибших клеток водорослей в пробе

| № п/п | 1 | 2 | 3 | ... |
|---|---|---|---|-----|
| Вид водорослей | | | | |
| Проба (контроль, опыт) или часть пробы (1/2, 1/10) | | | | |
| Количество живых клеток в камере, кл. | | | | |
| Количество погибших клеток в камере, кл. | | | | |
| Количество живых клеток в 1 см ³ раствора, кл/см ³ | | | | |
| Количество погибших клеток в 1 см ³ раствора, кл/см ³ | | | | |

Выводы делают, анализируя величину P как для живых, так и для мертвых клеток водорослей в опыте и контроле. Если величина P для живых клеток составляет 50% и менее (соответственно для мертвых клеток наоборот), то проба считается токсичной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белюченко И.С. Введение в общую экологию / И.С. Белюченко. – Краснодар, 1997. – 543 с.

2. Белюченко И.С. Введение в экологический мониторинг / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2011. – 297 с.
3. Белюченко И.С. Эволюционная экология / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2001. – 504 с.
4. Белюченко И.С. Экология Краснодарского края (региональная экология) / И.С. Белюченко. – Краснодар, 2010. – 354 с.
5. Белюченко И.С. Методическое пособие для проведения лабораторных и полевых занятий по изучению качества воды по общей экологии и экологическому мониторингу (методы сравнительной экологии при изучении состояния водных систем) / И.С. Белюченко, Н.Н. Мамась, О.А. Мельник, Ю.Ю. Петух, Е.В. Терещенко, Л.Н. Ткаченко. – Краснодар: КубГАУ, 2010. – 56 с.
6. Белюченко И.С. Использование методов биотестирования и биоиндикации в оценке степени токсичности отходов и компонентов окружающей среды / И.С. Белюченко, Ю.В. Пономарева // Экологические проблемы Кубани. – № 31. – Краснодар, 2006. – С. 68-72.
7. Брагинский Л.П. Визуально фиксируемые реакции пресноводных гидробионтов как экспресс - индикатора токсичности водной среды / Л.П. Брагинский, А.А. Игнатюк // Гидробиол. журн. – 2005. – Т. 41. – № 4. – С. 89-103.
8. Копысов В.А. Биоиндикация токсичности природных вод с помощью дафний / В.А. Копысов // Экология родного края. – Киров, 1996. – 720 с.
9. Лесников Л.А. Методика оценки влияния воды из природных водоемов на дафний / Л.А. Лесников // В кн.: «Методики биологических исследований по водной токсикологии». – М.: Наука, 1971.
10. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / Під ред. В. Д. Романенко. – К., 2006.– 628 с.
11. Методы биотестирования качества водной среды / Под ред. О.Ф. Филенко. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 106 с.
12. Садчиков А.П. Экология прибрежно-водной растительности / А.П. Садчиков, М.А. Кудряшов. – М.: Изд-во НИИ-Природа, РЭФИА, 2004. – 220 с.

13. Строганов Н.С. Методика определения токсичности водной среды / Н.С. Строганова. – Л., 1987.

14. Строганов Н.С. Метод биотестирования качества вод с использованием дафний / Н.С. Строганов, Е.Ф. Исакова, Л.В. Колосова // В кн.: Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Вып. 1. – Л.: Гидрометеиздат, 1987.

15. Унифицированные методы исследования качества вод. – М.: СЭВ, 1990.

16. Фрейндлинг А.В. Макрофиты как индикатор природной среды / А.В. Фрейндлинг // Водная среда Карелии: исследование, использование и охрана. – Петрозаводск, 2003. – С. 75-87.

17. Цаценко Л.В. Рясковые в биоконтроле и генетическом мониторинге: свидетельство регистрации базы данных № 2010620309 от 28.05.2010. Заявка № 2010620156 от 13.04.2010. – 25, 19 Мб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение следует сказать, что ни одна из методик биоиндикации, взятая по отдельности, не может служить достаточно точной и достоверной оценкой состояния окружающей среды. Поэтому при биоиндикации очень важны следующие аспекты:

1) правильность выбора методики, в частности учёт тех факторов окружающей среды, которые могут повлиять на результаты исследований (например, погодные условия, сезон года; несколько видов загрязнений, которые могут действовать синергически или, наоборот, ослаблять негативное действие друг друга, и т.п.);

2) достоверность исследований, зависящая от правильного выбора точек отбора и числа повторностей (при наличии большого числа повторностей можно сделать математическую обработку);

3) комплексность исследований всех блоков ландшафта с использованием различных по систематическому и экологическому статусу организмов;

4) долговременность наблюдений (исследований), что и даст возможность более правильной интерпретации результатов и прогноза.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ А

**Основные загрязнители атмосферного воздуха
и их среднегодовая концентрация (мг/см³)**

| Загрязнитель, среднегодовая концентрация, мг/м ³ | Источник | Воздействие на окружающую среду |
|--|--|--|
| Твердые частицы (пыль, зола), 0,04-0,4 | Сжигание до 240 млн т топлива | Снижение видимости; облачность, туманы, смог. Снижение темпе- ратуры земли при дли- тельном воздействии |
| Сернистый ангидрид, 0,5-1,0 | Сжигание до 175 млн т топлива | Хроническое поражение растений, лесов; сниже- ние урожайности, забо- левания дыхательных путей |
| Оксиды азота, 0,05-0,2 | Окисление азота топлива до 55 млн т/год | Поглощение солнечного света, образование фото- химических смогов, туман- ов, снижение урожай- ности, разрушение ряда материалов, лесов, сни- жение содержания гемо- глобина в крови |
| Оксид углерода, 1-50 | Неполное сгорание топлива до 350 млн т/год | Снижение содержания гемоглобина в крови |
| Летучие углеводороды, до 3 мг/м ³ | Неполное сгорание топлива до 80 млн т/год | Поражение растений при концентрации выше 0,02 мг/м ³ , раздражающее действие на глаза |

Перечень некоторых лишайников-индикаторов загрязнения воздуха сернистым газом

1. **Гипогимния (*Hypogymnia* sp.)**. Гипогимния вздутая (*Hypogymnia physodes*) — один из обыкновеннейших листоватых лишайников, которые растут на коре и ветвях лиственных (чаще березе) и хвойных пород (например, ели), ветви которых часто сплошь покрыты этим видом. Слоевище имеет вид округлых (на коре) или сильно вытянутых в одном направлении (на ветвях) листовидных пепельно-серых розеток, местами плотно сросшихся с субстратом. Нижняя сторона голая, морщинистая, черная или коричневатая-черная, к краям светлеющая. Концы лопастей обыкновенно приподнимаются над талломом и слегка заворачиваются на верхнюю сторону.

2. **Ксантория (*Xanthoria* sp.)**. Ксантория настенная (*Xanthoria parietina*) распространена на коре лиственных пород (осин, тополей). Часто встречается на обработанной древесине (заборы, крыши, стены). Слоевища имеют вид почти правильных желто-оранжевых розеток диаметром больше 3 см. Яркость окраски зависит от освещенности. На солнце слоевище оранжевое, при затенении становится серовато-зеленым.

3. **Уснея (*Usnea* sp.)**. Виды уснеи свешиваются с ветвей деревьев как длинные сероватые, серовато-зеленые или коричневатые пряди, состоящие из тонких ветвящихся нитей и напоминающие бороду.

4. **Эверния (*Evernia* sp.)**. Эверния сливовая (*Evernia prunastri*) — «дубовый мох». Один из обыкновеннейших и широко распространенных лишайников, растущих на коре и ветвях различных лиственных деревьев. В отличие от уснеи и других кустистых лишайников слоевищные полости эвернии не округлые, а имеют вид дихотомически разветвленных лент, мягких на ощупь. Сверху они беловато- или серовато-зеленые, снизу более светлые, с розоватым оттенком. Край лопастей обычно заворачиваются на нижнюю поверхность.

5. **Леканора (*Lecanora* sp.)**. Слоевище однородное, накипное, гладкое, иногда зернистое или бородавчатое, часто мало заметное, плотно срастается с субстратом (корой дерева, камнями и т. п.). Плодовые тела (апотеции) сидячие, дисковидные. Видовая принадлежность определяется трудно.

6. **Пармелия (*Parmelia* sp.)**. – пармелия бороздчатая (*Parmelia sulcata*); п. оливковая (*P. olivacea*), п. козлиная (*P. caperata*). Слоевища листоватые, разрезанно-лопастные, в виде крупных розеток; прикреплены к субстрату ризоидами, реже свободны. Лопасты разнообразные: узкие или широкие, сильно- или маловетвистые, плоские или выпуклые, тесно сомкнутые или раздельные. Окраска верхней стороны – от беловато-сероватой и желтоватой (*P. caperata*) до коричневатой и черной, матовая или блестящая (*P. olivacea*); нижней стороны – от белой или светло-коричневой до черной. Обитает на коре деревьев, реже на замшелых почвах и скалах, на обнаженной древесине.

7. **Алектория (*Alectoria/Bryoria* sp.)**. Таллом кустистый, прямостоячий или повисающий; с волосовидными или иногда сплюснутыми главными веточками. Прикрепляется к субстрату центральным гифом, который с возрастом отмирает, и тогда таллом становится свободным. Обитает в основном на стволах деревьев, реже на мшистой почве и замшелых скалах.

8. **Рамалина (*Ramalina* sp.)**. Рамалина мучнистая (*Ramalina farinacea*). Таллом в виде прямостоячих кустиков, серовато- или коричнево-зеленый, 5–6 см длиной, мягкий. Лопасты плоские, к концам немного утончаются, по краям покрыты крупными головчатыми беловатыми соралиями. Поселяются на коре и обработанной древесине.

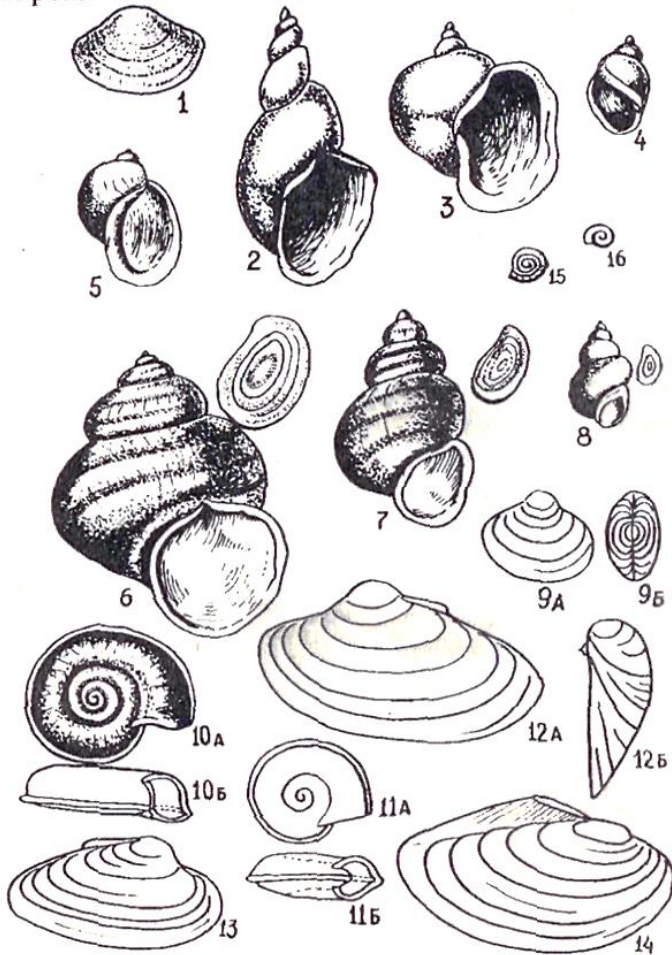
9. **Калоплака (*Caloplaca* sp.)**. Таллом накипной, всегда однородный по краю. Окраска оранжевая, желтовато-оранжевая, реже темно-коричневая. Кора таллома развита плохо, края не бывают листоватыми. Слоевище всегда в виде зернистобугорчатой корочки. Обитает на древесине, коре, камнях (особенно содержащих известь), реже на почве.

10. **Фисция (*Physcia* sp.)**. Фисция припудренная (*Physcia pulverulenta*) часто встречается на коре осин, имеет вид изящ-

ных, округлых, правильной формы розеток оливкового или темно-коричневого цвета диаметром до 15 см. Плотно прилегает к субстрату, состоит из плоских, довольно широких или узких разветвленных лопастей и сверху покрыта обильным сизоватым налетом, отчего и кажется пепельно-серой. На верхней стороне слоевища образуются довольно крупные плодовые тела с черно-вато-коричневым диском. Нижняя сторона слоевища темная, почти черная, с густыми темно-серыми или черными ризоидами.

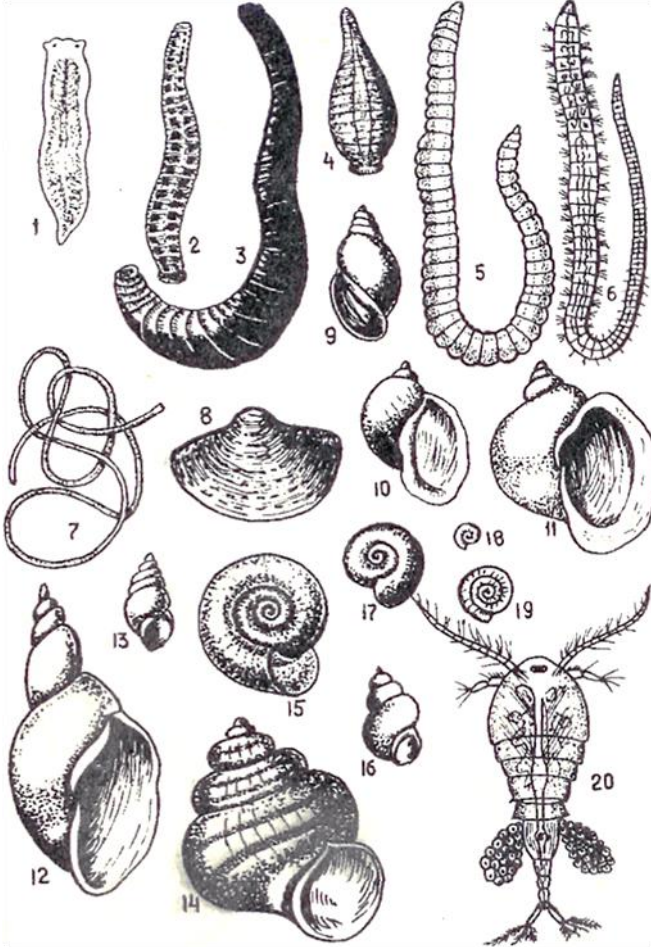
11. **Анаптихия (*Anapthychia* sp.).** Анаптихия реснитчатая (*Anapthychia ciliaris*) наиболее распространена в парках, в светлых лиственных лесах, на придорожных деревьях. Реже ее можно встретить на скалах и древесине. Пепельно-серое или коричневатое-серое слоевище имеет вид лежащих на субстрате или слегка приподнимающихся кустикав.

12. **Графис (*Graphis* sp.).** Графис письменный (*Graphis scripta*) часто встречается на гладкой коре лиственных пород (ольхи, лип, особенно рябины и черемухи). Слоевище лишайника погружено в субстрат (кору), тонкокорковидное, серовато-беловатое, иногда слабозаметное и так плотно растающее в субстрат, что о его существовании можно судить только по некоторому изменению окраски субстрата — белесым пятнам на коре да по плодовым телам — апотециям. Апотеции в виде неправильно ветвящихся извилистых черных штрихов образуют на коре красивый узор, напоминающий восточные письмена.



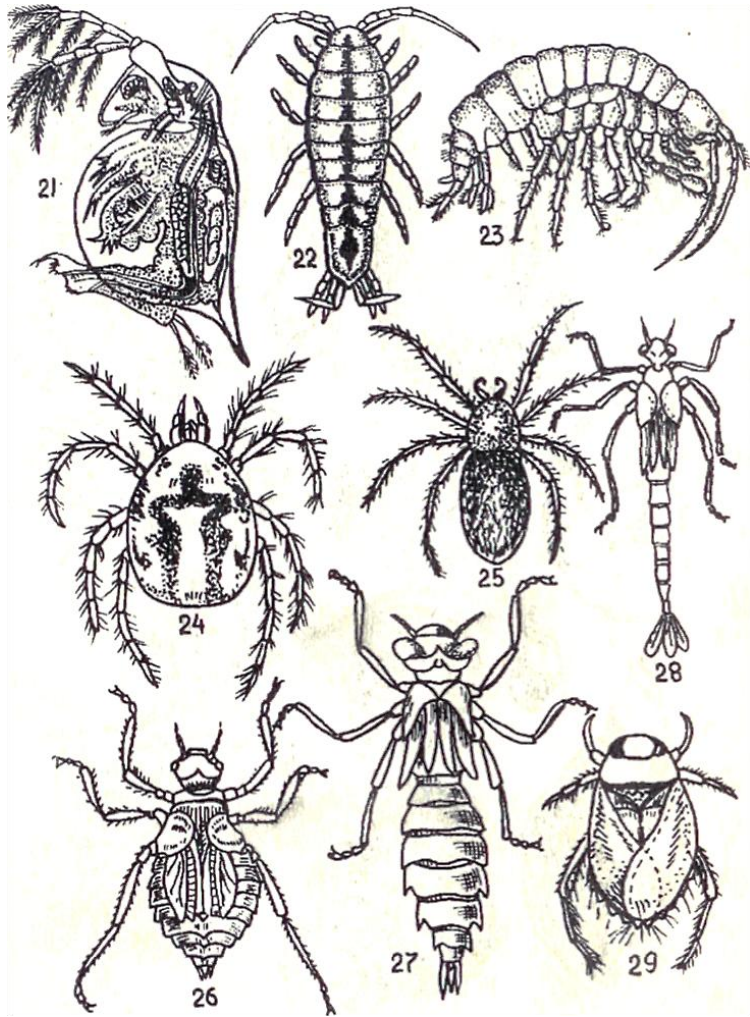
Пресноводные моллюски - биоиндикаторы чистоты водоема

1. Роговая шаровка. 2. Прудовик обыкновенный. 3. Прудовик ушковый. 4. Физа ключевая. 5. Прудовик яйцевидный. 6. Лужанка настоящая. 7. Лужанка полосатая. 8. Битиния щупальцевая. 9а, б. Горошина. 10а, б. Катушка обыкновенная. 11а, б. Катушка килевая, 12а, б. Перловица вздутая. 13. Перловица живописцев. 14. Беззубка утиная. 15. Катушка завитая. 16. Катушка гладкая.



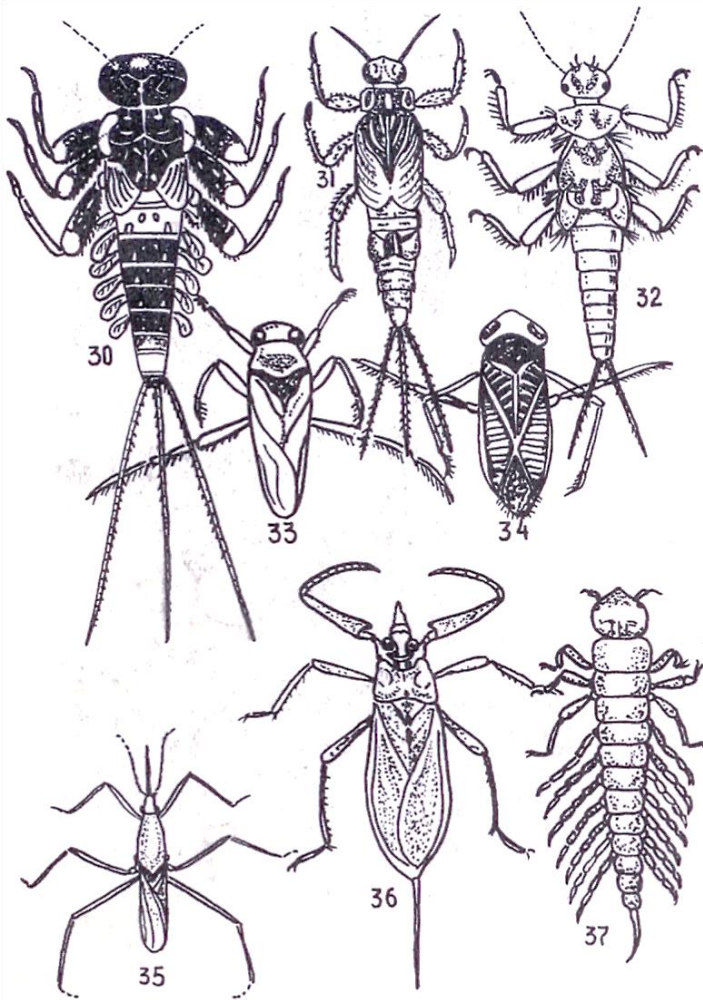
Животное население малых рек и озер

1. Молочно-белая планария. 2. Малая ложноконская пиявка. 3. Ложноконская пиявка. 4. Улитковая пиявка. 5. Дождевой червь. 6. Трубочник. 7. Волосатик. 8. Шаровка. 9. Физа заостренная. 10. Яйцевидный прудовик. 11. Ушковый прудовик. 12. Обыкновенный прудовик. 13. Прудовик малый. 14. Лужанка настоящая. 15. Роговая катушка. 16. Битиния щупальцевая. 17. Катушка килевая. 18. Катушка гладкая. 19. Катушка круговая. 20. Циклоп.



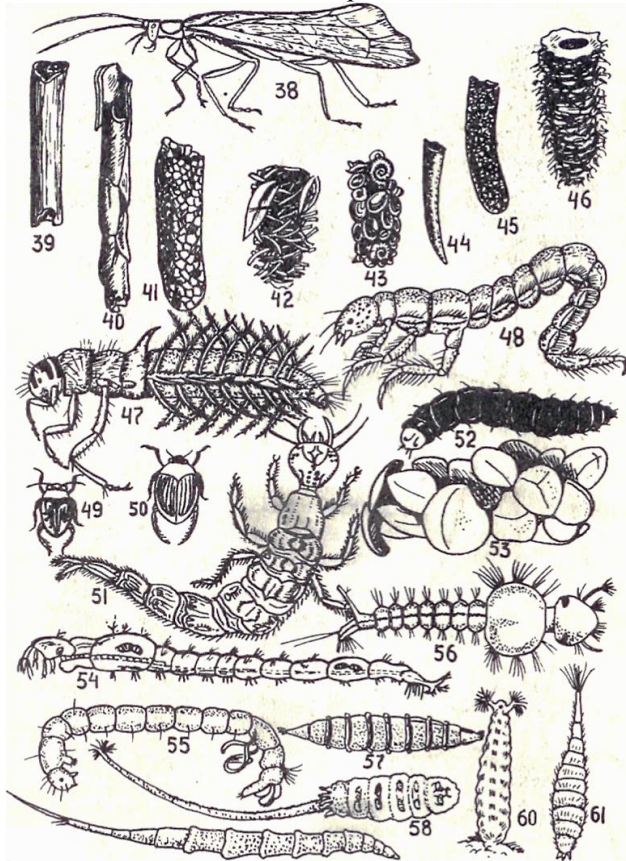
Животное население малых рек и озер

21. Дафния. 22. Водяной ослик. 23. Бокоплав. 24. Гидракарина ацеркус торрис. 25. Водяной паук (самка). 26. Личинка настоящей стрекозы. 27. Личинка стрекозы-коромысла. 28. Личинка стрекозы лютки. 29. Плавт.



Животное население малых рек и озер

30. Личинка поденки. 31. Личинка поденки Кенис макрура. 32. Личинка веснянки Перла маргината. 33. Гладыш (клоп). 34. Гребляк малый. 35. Водомерка панцирная. 36. Водяной скорпион. 37. Личинка вислокрылки с трахейными жабрами.



Животное население малых рек и озер

38. Ручейник. 39. Чехлик агрипинии. 40. Чехлик ручейника граммаулиуса. 41. Чехлик стенофилакса. 42, 43, 46. Чехлик лимнофилуса. 44. Чехлик колчанки. 45. Чехлик Стенофилакса ротундипенниса. 47. Личинка большого ручейника. 48. Личинка ручейника, не строящая чехликов. 49. Пеструшка. 50. Желтушка. 51. Личинки плавунца окаймленного. 52. Личинка бабочки рясковой огневки. 53. Группа листецов ряски. 54. Личинка комара коретры. 55. Личинка комара-дергуна. 56. Личинка комара обыкновенного. 57. Личинка слепня. 58. Личинка иловой мухи. 59. Птихоптера. 60. Личинка мокреца. 61. Личинка мухильвинки.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

**Предельно допустимые концентрации некоторых веществ
в воздухе рабочей зоны**

(Извлечение из ГОСТа 12.1.005-88 "Воздух рабочей зоны")

| Вещества | Величина предельно допустимой концентрации, мг/м ³ | Класс опасности | Агрегатное состояние |
|---|---|-----------------|----------------------|
| Азота окислы (в пересчете на NO ₂) | 5 | 2 | п |
| Акролеин | 0,2 | 2 | п |
| Альдегид масляный | 5 | 3 | п |
| Амины алифатические первичные (C ₇ - C ₉) | 1 | 2 | п |
| Амины алифатические высшие (C ₁₅ - C ₁₉) | 1 | 2 | п+а |
| Аммиак | 20 | 4 | п |
| Ангидрид серный | 1 | 2 | а |
| Ангидрид сернистый | 10 | 3 | п |
| Ангидрид хромовый | 0,1 | 1 | п |
| Анилин* | 0,1 | 2 | п |
| Барий углекислый | 0,5 | 1 | а |
| Бензин-растворитель (в пересчете на С) | 300 | 4 | п |
| Бензин топливный (сланцевый крекинг и др.) в пересчете на С | 100 | 4 | п |
| Бензол* | 5 | 2 | п |
| 3,4 - Бензпирен | 0,00015 | 1 | а |
| Дивинил (1,3 бутадиен) | 100 | 4 | п |
| Керосин (в пересчете на С) | 300 | 4 | п |
| Кислота серная | 1 | 2 | а |
| Кислота соляная | 5 | 2 | п |
| Кислота уксусная | 5 | 3 | п |
| Ксилол | 50 | 3 | а |
| Масла минеральные (нефтяные) ГОСТ 20799 -75 | 5 | 3 | а |
| Медь металлическая | 1/0,5' | 2 | а |

продолжение ПРИЛОЖЕНИЯ Г

| | | | |
|--|-------------|---|----------|
| Метилмеркаптан | 0,8 | 2 | <i>n</i> |
| Нафталин | 20 | 4 | <i>n</i> |
| Озон | 0,1 | 1 | <i>n</i> |
| Ртуть металлическая | 0,01/0,005* | 1 | <i>n</i> |
| Ртуть двухлористая (сулема) | 0,1 | 1 | <i>a</i> |
| Свинец и его неорганические соединения | 0,01/0,007* | 1 | <i>a</i> |
| Сероводород* | 10 | 2 | <i>n</i> |
| Сероуглерод | 1 | 2 | <i>n</i> |
| Синильная кислота соли (в пересчете на HCN)* | 0,3 | 2 | <i>n</i> |
| Сольвент-нафта (в пересчете на С) | 100 | 4 | <i>n</i> |
| Спирт метиловый* | 5 | 3 | <i>n</i> |
| Спирт этиловый | 1000 | 4 | <i>n</i> |
| Стирол | 5 | 3 | <i>n</i> |
| Табак | 3 | 3 | <i>a</i> |
| Толуол | 50 | 3 | <i>n</i> |
| Трихлорэтилен | 10 | 3 | <i>n</i> |
| Уайт-спирит (в пересчете на С) | 300 | 4 | <i>n</i> |
| Углерода окись | 20 | 4 | <i>n</i> |
| Углерод четыреххлористый | 20 | 2 | <i>n</i> |
| Фенол* | 0,3 | 2 | <i>n</i> |
| Формальдегид | 0,5 | 2 | <i>n</i> |
| Фосфористый водород | 0,1 | 1 | <i>n</i> |
| Фтористый водород | 0,5 | 2 | <i>n</i> |
| Хлор | 1 | 2 | <i>n</i> |
| Хлористый водород | 5 | 2 | <i>n</i> |
| Хлоропрен | 0,05 | 1 | <i>n</i> |

Примечание:

1. Буквы, обозначающие агрегатное состояние вещества в условиях производства, обозначают: *n* - пары и (или) газы, *a* - аэрозоли, *n+a* - смесь паров и аэрозоля.

2. Знак "+" означает, что вещество опасно при поступлении через кожу.

3. Знак "*" означает среднесменные величины ПДК.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ (мг/л) в воде водных объектах хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования
(Извлечение из ГН 2.1.5.689 -98)

| Наименование вещества | Водные объекты хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения | |
|--------------------------------|---|---------------------|
| | ЛПВ* | Величина ПДК (мг/л) |
| Анилин | Санитарно-токсикологический | 0,1 |
| Аммиак (по азоту) | Общесанитарный | 2,0 |
| Бензол | Санитарно-токсикологический | 0,5 |
| Дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) | -»- | 0,1 |
| Железо | Органолептический | 0,3 |
| Кадмий | Санитарно-токсикологический | 0,001 |
| Керосин тракторный | Органолептический | 0,1 |
| Медь | -»- | 1,0 |
| Мышьяк | Санитарно-токсикологический | 0,05 |
| Нефть многосернистая | Органолептический | 0,1 |
| Никель | Санитарно-токсикологический | 0,1 |
| Ртуть | Общесанитарный | 0,0005 |
| Свинец | -»- | 0,03 |
| Сурьма | Органолептический | 0,1 |
| Толуол | Органолептический | 0,5 |
| Фенол | -»- | 0,001 |
| Формальдегид | Общесанитарный | 0,05 |
| Фтор | Санитарно-токсикологический | 1,5 |
| Хлор активный | Общесанитарный | отсутствие |
| Хром (Cr ³⁺) | Санитарно-токсикологический | 0,5 |
| Хром (Cr ⁶⁺) | Санитарно-токсикологический | 0,05 |
| Цианиды | Санитарно-токсикологический | 0,035 |
| Цинк | Общесанитарный | 1,0 |

*ЛПВ – лимитирующий показатель вредности, отражающий приоритетность требований к качеству воды.

**Предельно допустимые концентрации (ПДК) некоторых
загрязняющих веществ в почве
(Извлечение из ГОСТа 17.4.01-83)**

| Вещество | ПДК _П , мг/кг | Вещество | ПДК _П , мг/кг |
|--------------|--------------------------|---|--------------------------|
| Ацетальдегид | 10 | Бромфос | 0,4 |
| Бензол | 0,3 | Перхлорвинил | 0,5 |
| Марганец | 1500 | Изопрнилбензин | 0,5 |
| Медь | 3 | Фосфора оксид Р ₂ О ₅ | 200 |
| Мышьяк | 2 | а-Метилстирол | 0,5 |
| Никель | 4 | Формальдегид | 7 |
| Ртуть | 2,1 | Бенз(а)пирен | 0,02 |
| Свинец | 20 | Хром | 0,05 |
| Цинк | 23 | Нитраты | 130 |
| Сурьма | 4,5 | Толуол | 0,3 |

Фоновое содержание тяжелых металлов в почвах России

| Элемент | Концентрация | Элемент | Концентрация |
|---------|--------------|----------|--------------|
| Олово | 2,5-1,4 | Свинец | 16-39 |
| Селен | 0,01-0,85 | Медь | 0,3-28 |
| Цинк | 19-80 | Кадмий | 0,25-0,6 |
| Ртуть | 0,01-0,5 | Марганец | 161-860 |
| Хром | 16-440 | Молибден | 0,3-3,5 |
| Кобальт | 2-25 | Никель | 5-58 |

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

**Естественное содержание некоторых металлов,
вызывающих заболевания человека**
(в частях на миллион или мг/кг по массе – Реймерс, 1990)

| Металл | В горных породах | В угле | В морской воде | В растениях (на сухой вес) | В животных (на сухой вес) |
|---------|------------------|---------|----------------|----------------------------|---------------------------|
| Кадмий | 0,2 | 0,25 | 0,0001 | 0,1-6,4 | 0,1-3 |
| Хром | 100 | 60 | 0,00005 | 0,3-4 | 0,02-1,3 |
| Кобальт | 25 | 15 | 0,00027 | 0,2-5 | 0,3-4 |
| Свинец | 12,5 | 5 | 0,00003 | 1,8-50 | 0,3-35 |
| Ртуть | 0,08 | - | 0,00003 | 0,02-0,03 | 0,05-1 |
| Никель | 75 | 35 | 0,0045 | 1,5-36 | 0,4-26 |
| Серебро | 0,07 | 0,1 | 0,0003 | 0,97-0,25 | 0,006-5 |
| Талий | 0,45 | 0,05-10 | 0,00001 | 1,0-80 | 0,2-160 |
| Золото | 0,004 | 0,125 | 0,00001 | 0-0,012 | 0,007-0,08 |
| Ванадий | 135 | 40 | 0,002 | 0,13-5 | 0,14-2,3 |

**Определительная схема (тест-шкала)
соответствия токсического действия веществ
и физиологического состояния дафний**

- 1(2,3) Дафнии гибнут все в течение первых 4 суток. *Острое летальное действие*..... 4
- 2(1,3) Дафнии постепенно гибнут все или частично в сроки от 4 до 15 суток. *Хроническое летальное действие* 1
- 3(1,2) Дафнии не гибнут за срок до 15 дней или гибнут отдельные особи. Явной закономерности в сроках их гибели не обнаруживается..... 19
- 4(5,6,7) У иммобилизованных дафний исчезают капли жира, окраска тела снижается до 1 балла, наблюдаются (сохраняются) следы перистальтики кишечника, подергивание мышц плавательных антенн, иногда редкие сокращения сердца..... 8
- 5(4,6,7) Дафнии скапливаются у поверхности воды в сосуде, окраска тела становится темнее (наблюдается помутнение), погибшие особи либо остаются у поверхностной пленки, либо падают на дно; отдельные мышцы погибших дафний вздрагивают у почти разложившихся особей, туловище у погибших дафний выдвинуто далеко вниз через щель раковины. Гибель наступает от *резкого дефицита кислорода (меньше 0,5 мг/л)*.
- 6(4,5,7) Наблюдается помутнение плазмы клеток сначала в жаберных отростках ног, затем всего туловища..... 12
- 7(4,5,6) У дафний наблюдается судорожное сокращение мышц туловища, сопровождающееся выдавливанием части яиц или эмбрионов из выводковой камеры. Иногда при этом наблюдается судорожное опорожнение кишечника. *Действие органических токсичных веществ с раздражающим типом действия: ряд циклических соединений, например фенолы, и другие, как формалин, нефтепродукты и т. п.*

8(9) Дафнии сначала роятся в одном углу сосуда, кувыркаются, затем становятся вялыми и все чаще ложатся на дно. Фильтровальный аппарат их ничем не забит, кишечник либо пуст, либо имеет следы содержимого (баллы 1 и 2). Число яиц в выводковой камере сокращается вплоть до нуля. Развитие отложенных яиц протекает нормально. Дафнии голодают. *Действие воды, взятой с олигосапробного участка водоема.*

9(8) Фильтровальный аппарат дафний забит сгустками или слизью, животные ложатся на дно. При искусственном осторожном освобождении от такого засорения (препаровальной иглой) и перенесении в хорошие условия дафния может восстановить жизнедеятельность полностью и нормально размножаться. Часто сгустки или нити наблюдаются и на плавательных антеннах и на каудальной игле..... 10

10(11) Забит только фильтровальный аппарат. В среде держаться взвеси в количествах, делающих невозможным функционирование фильтровального аппарата дафний

11(10) Забит только фильтровальный аппарат, слизистые комки или нити на плавательных антеннах и на каудальной игле. *Вода для опыта взята с полисапробно-мезосапробного участка водоема. Внесено слишком много корма, особенно когда кормят дрожжами.*

12(13) Помутнение плазмы наблюдается у иммобилизованных дафний. *Действие хлоридов и сульфатов натрия и кальция и смесей этих солей.*

13(12) Помутнение плазмы жабр наблюдается у еще плавающих дафний, которые часто ложатся на дно, а затем судорожно всплывают и снова падают на дно. Часто у таких дафний уже прекращено дрожание глаза и сокращение сердца. *Действие солей калия, магния аммония и тяжелых металлов.*

14(15,16,17,18) Дафнии постепенно бледнеют, у них исчезают капли жира, число яиц в выводковых камерах сокращается до 1-2, многие самки становятся бесплодными. Ги-

бель наступает через 5-10 дней, но отдельные особи живут и дольше. Дафнии скучиваются в одном углу сосуда и кувываются. *Вода для опыта взята с олигосапробного участка водоема. Внесено очень мало корма.*

15(14,16,17,18) У дафний резко повышается балл окраски тела (4-5), которое часто становится несколько мутным, животные поднимаются к поверхности сосуда. *Дефицит кислорода в среде порядка 1,5 мг/л.*

16(14,15,17,18) У дафний в плавательных антеннах и каудальной игле бактериальные обрастания, балл окраски тела часто повышается; все яйца и эмбрионы в выводковых камерах погибают, часто разлагаются до превращения в сплошную пенистую массу. *Вода для опыта взята из мезосапробного участка водоема. Резкий перекорм дафний.*

17(14,15,16,18) У части дафний через разные сроки от начала опыта наблюдается судорожное сокращение мышц туловища и выдавливание части яиц из выводковой камеры. Одни яйца развиваются неправильно, другие яйца гибнут и сбрасываются при линьке со шкуркой. *Действие хронических доз ряда циклических соединений типа фенолов, нефтепродуктов, инсектицидов и т. п.*

18(14,15,16,17) У дафний отмирает часть яиц в выводковой камере. Значительная часть выметанной молодежи тут же погибает. Перед гибелью несколько снижается интенсивность окраски тела. *Действие солей тяжелых металлов.*

19(20,21) Интенсивность размножения дафний понижается, среднее число яиц на самку 3-7. Дафнии бледнеют (1-2 балла), исчезают капли жира. Понижено наполнение кишечника.....

22

20(19,21) Окраска тела дафний умеренная (2-3 балла) Капли жира имеются. Наполнение кишечника 4-5 баллов. Средняя интенсивность размножения 18-40 яиц на самку.....

24

21(19,20) Окраска тела дафний яркая (4-5 баллов).....

27

22(23) Случаев гибели яиц в выводковых камерах нет. *Во-*

да для опытов взята с олигосапробно-мезосапробного участка водоема. В опыты вносится недостаточно корма.

23(22) В выводковых камерах часть яиц гибнет (яйца иногда заметно увеличиваются в размерах) и часто в выводковых камерах одновременно присутствуют яйца и зародыши. *Действие небольших концентраций солей тяжелых металлов. Иногда - это действие ухудшения условий среды и причины неясны.*

24(25,26) В выводковых камерах все яйца развиваются нормально. Иногда на дафниях появляются эпибионты из водорослей (особенно в опытах с водой из природных водоемов, взятой в летнее время). *Вода для опыта взята с мезосапробного участка водоема. В опыт внесено оптимальное количество корма.*

25(24,26) У дафний в выводковых камерах часть яиц гибнет и прекращает развиваться, или часть их развивается без линек эмбрионов. После вымета нормально развитой молоди такие яйца сбрасываются на дно сосуда, часть их остается в выводковых камерах сброшенных шкур. *Действие небольших концентраций циклических соединений. В лабораторных опытах может быть следствием того, что дафниям в корм дается пожелтевшая культура водорослей.*

26(24,25) У дафний отмирает часть яиц в выводковых камерах. На дафниях обрастания из бактерий, грибов и сувоек. Иногда резорбция яиц в гонадах. *Вода для опыта взята с мезосапробного участка водоема. Небольшой перекорм.*

27(28) Обрастаний на дафниях нет, может даже быть довольно много капель жира. Функции размножения не нарушены. *В среде пониженное содержание растворенного кислорода (2-3 мг/л).*

Примечание: курсивом отмечены причины физиологических изменений у дафний под действием негативных факторов: степень загрязнения воды, конкретные токсиканты, погрешности в содержании.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|----|
| ПРЕДИСЛОВИЕ | 3 |
| 1 БИОИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ | 5 |
| 1.1 Оценка состояния атмосферного воздуха на наличие некоторых загрязнителей по растениям – индикаторам | 5 |
| 1.2 Определение загрязнения окружающей среды пылью по ее накоплению на листовых пластинках растений | 8 |
| 1.3 Оценка качества воздуха по состоянию хвои сосны | 10 |
| 1.4 Кресс-салат как тест-объект для оценки загрязнения воздуха и почвы | 14 |
| 1.5 Биоиндикация загрязнения воздуха с помощью лишайников | 16 |
| 1.6 Индикация загрязнения окружающей среды по качеству пыльцы растений | 23 |
| 1.7 Определение устойчивости клеток различных растений к обезвоживанию | 25 |
| 1.8 Определение кислотности и токсичности осадков, выпадающих в зонах загрязнения | 26 |
| 1.9 Флуктуирующая асимметрия древесных и травянистых форм растений как тест-система оценки качества среды | 28 |
| 1.10 Комплексная оценка состояния природной среды по интегральным показателям состояния древесных насаждений | 34 |
| Литература | 40 |
| 2 БИОИНДИКАЦИЯ ПОЧВЫ | 42 |
| 2.1 Индикация кислотности почв по видам растений | 43 |
| 2.2 Определение плодородия почвы по ее цвету и продуктивности растений | 45 |
| 2.3 Оценка солевого загрязнения почвы по листьям липы | 48 |
| 2.4 Определение степени увлажнения почвы по морфологии корневой системы одуванчика | 49 |

| | | |
|------|--|-----|
| 2.5 | Индикация состояния окружающей среды по частотам встречаемости различных фенов клевера белого | 51 |
| 2.6 | Оценка состояния древостоя смешанного леса | 54 |
| 2.7 | Индикация пастбищной дигрессии растительного покрова | 56 |
| 2.8 | Биоиндикация рекреационной нагрузки | 58 |
| 2.9 | Биоиндикация основных свойств почвы с помощью беспозвоночных | 60 |
| 2.10 | Индикация индустриального загрязнения почв по количественной оценке популяции дождевых червей | 64 |
| 2.11 | Биотестирование летучих токсических веществ, воды, вытяжки из почвы по прорастанию семян | 67 |
| 2.12 | Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков | 69 |
| 2.13 | Биотестирование токсичности субстратов по проросткам различных растений-индикаторов | 71 |
| 2.14 | Загрязнение пищевых продуктов нитратами и их определение в различных овощных культурах в зависимости от вида, сорта, органа, ткани | 75 |
| 2.15 | Определение степени токсичности сложного компоста по составу микробоценозов | 83 |
| | Литература | 85 |
| 3 | БИОИНДИКАЦИЯ КАЧЕСТВА ВОДЫ | 88 |
| 3.1 | Предварительная оценка водоёмов с помощью макрофитов и/или описания прибрежных обрастаний | 92 |
| | 3.1.1 Использование макрофитов | 92 |
| | 3.1.2 Описание прибрежных обрастаний | 97 |
| 3.2 | Определение качества воды с помощью индекса Вудивисса | 97 |
| 3.3 | Определение класса качества воды по индексу Майера | 100 |
| 3.4 | Оценка качества воды по олигохетному индексу | 103 |

| | | |
|-----|--|-----|
| 3.5 | Биоиндикация загрязнения водоёмов по состоянию популяций водных растений семейства рясковых | 104 |
| 3.6 | Тест на загрязнение воды тяжелыми металлами по движению хлоропластов в клетках ряски | 106 |
| 3.7 | Использование флуктуирующей асимметрии животных для оценки качества среды | 108 |
| 3.8 | Определение качества воды методом биотестирования с использованием дафний | 117 |
| 3.9 | Оценка качества воды при помощи водорослей | 120 |
| | 3.9.1 Ускоренный метод | 122 |
| | 3.9.2 Качественное и количественное определение живых и мёртвых клеинок синезелёных и зелёных водорослей при помощи красителей | 124 |
| | Литература | 129 |
| | ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 131 |
| | ПРИЛОЖЕНИЕ | 132 |

Учебное издание

Белюченко Иван Степанович
Федоненко Елена Викторовна
Смагин Андрей Валентинович
Славгородская Дарья Алексеевна
Ткаченко Людмила Николаевна
Корунчикова Валентина Васильевна
Никифорова Юлия Юрьевна
Высоцкая Ирина Федоровна
Зеленская Ольга Всеволодовна
Мамась Наталья Николаевна
Мельник Ольга Александровна
Скрипка Людмила Федоровна
Садовникова Надежда Борисовна
Миндубаев Антон Зуфарович
Шарамок Татьяна Сергеевна
Маренков Олег Николаевич

**Биологический контроль состояния
окружающей среды**

Учебное пособие

Под редакцией проф. И.С. Белюченко,
проф. Е.В. Федоненко, проф. А.В. Смагина

Подписано в печать

Тираж 100 Формат 60×84^{1/16}

Усл. печ. л. – ...

Учеб.-изд. л. – ...

Типография Кубанского государственного
аграрного университета
350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13

