

О.В.Мусатова

БИОИНДИКАЦИЯ И БИОПОВРЕЖДЕНИЯ

Методические рекомендации к лабораторным работам

Репозиторий ВГУ

Витебск, 2006

УДК 574.2 (075)
ББК 28.081 я 73
М 91

Автор: старший преподаватель кафедры экологии и охраны природы УО «ВГУ им. П.М.Машерова» **О.В.Мусатова**

Рецензенты: заведующий кафедрой химии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», кандидат биологических наук, доцент **В.П.Баран**
заведующий кафедрой зоологии УО «ВГУ им. П.М.Машерова», кандидат биологических наук, доцент **А.А.Лешко**

Научный редактор: заведующий кафедрой экологии и охраны природы, кандидат биологических наук, доцент **А.М.Дорофеев**

Мусатова О.В.

М 91 БИОИНДИКАЦИЯ И БИОПОВРЕЖДЕНИЯ: методические рекомендации к лабораторным работам/ О.В. Мусатова. – Витебск: Издательство УО «ВГУ им. П.М.Машерова», 2006. - с.

В пособии рассматриваются некоторые методы и практические приемы, используемые в биоиндикации, позволяющие оценить специфику почвенной, водной и воздушной сред обитания. В пособие включены работы, отражающие возможности биоиндикации на разных уровнях: организменном (физиологическом и биохимическом), видовом, биоценотическом. Отдельный раздел посвящен практическим вопросам регистрации и идентификации биоповреждений, количественным методам оценки биоповреждающего воздействия.

Пособие предназначено для студентов-экологов дневной и заочной формы обучения, может быть полезно учителям биологии и экологии и школьникам.

УДК 574.2 (075)
ББК 28.081 я 73

Мусатова О.В., 2006
УО «ВГУ им. П.М.Машерова», 2006

Введение

Характерными чертами природных и антропогенных экологических проблем являются масштабность их проявления и неоднозначность воздействия как на отдельные регионы, так и на планету в целом. В связи с этим всегда существует проблема приоритетности принятия решений по снижению их последствий. Не последнюю роль в решении этой задачи играют мониторинговые исследования, благодаря которым можно оценить состояние среды, факторы воздействия и степень экологического риска.

Биоиндикация является составной частью биомониторинга, выполняя функции экспресс-метода оценки качества окружающей среды, хотя и мало специфичного, но весьма эффективного в регистрации возникшего экологического напряжения. Существует несколько подходов к индикации экологических условий. Основаны они на использовании либо абсолютных стандартов сравнения (например, системы не подверженные воздействию антропогенных факторов, находящиеся в фоновом состоянии), либо относительных стандартов (корреляции с пространственно-временными изменениями антропогенных факторов среды). Для реализации этих задач используются разнообразные средства, объекты и материалы, применение которых зависит от типа анализируемой среды, экосистемы, а также возможностей исследователей.

В данном пособии рассматриваются некоторые методы и практические приемы, используемые в биоиндикации, нетрудоемкие, но вместе с тем позволяющие составить суждение о специфике почвенной, водной и воздушной сред обитания. Студентам предлагается сравнить характеристики различных биологических объектов с точки зрения их индикаторной ценности, выделить наиболее эффективные для конкретных случаев уровни индикации, тест-функции организмов. В пособие включены работы, отражающие возможности биоиндикации на разных уровнях: организменном (физиологическом и биохимическом), видовом, биоценоотическом. Кроме этого студентам предложены в качестве примера некоторые работы по биотестированию как методологической основе биомониторинга.

Отдельный раздел посвящен практическим вопросам регистрации и идентификации биоповреждений, количественным методам оценки биоповреждающего воздействия. На основе анализа экспериментальных данных студентам предлагается составить прогноз возникновения и развития биоповреждающей ситуации, предложить максимально эффективные средства защиты биологических объектов, материалов и изделий.

Структура методических рекомендаций логически связана с теоретическим курсом «Биоиндикация и биоповреждения», построена на основании базовой программы дисциплины и максимально адаптирована к условиям и возможностям кафедры экологии и охраны природы. При подготовке к лабораторным работам студенты могут ориентироваться на контрольные вопросы, задания для самостоятельной работы, а также библиографический список, перечень которых имеется в пособии.

Пособие предназначено для студентов-экологов дневной и заочной формы обучения, может быть полезно учителям биологии и экологии и школьникам.

Репозиторий ВГУ

Лабораторная работа. Рясковые – биоиндикаторы качества водной среды

Контрольные вопросы:

1. Токсичность среды и ее характеристики.
2. Диапазон физиологической толерантности организмов. Экологические диапазоны присутствия.
3. Параметры водной среды.
4. Биотестирование и биоиндикация качества природных вод.

Анализ жизнеспособности видов и их устойчивости к стрессовым воздействиям можно осуществлять на разных уровнях: клеточном, организменном, популяционном. Исторически именно морфологические реакции организмов на техногенные факторы вошли в практику оценки качества среды. Фиксируются морфологические отклонения растений ряски от нормы под действием загрязнителя (среды): хлорозы, пожелтения, увядания листьев, специфические реакции. Биологическими параметрами являются изменение окраски листеца: пожелтение, побурение, потеря интенсивности окраски. Этот метод лег в основу методов машинного анализа фирмы Lemna Тес, где учет ведется с помощью сканалайзера, идентифицирующего листеца по цветовой гамме: темно-зеленые, зеленые, желтые, бурые, белые, хлорозы листа.

Для диагностики повреждений клеток используют метод витального окрашивания. Он основан на окрашивании мертвых клеток красителем сафронином. Живые клетки сильно ограничивают проницаемость внутрь органических веществ, и помещенные в раствор красителя практически не окрашиваются. В мертвые клетки краска проникает свободно, благодаря чему их можно сразу обнаружить и учесть. В качестве красителя используется сафронин, поскольку он обладает способностью хорошо окрашивать стенки клеток. Сафронин (0,25 грамм) растворяют в 100 мл 10%-ного спирта (Паушева, 1980; Методические указания по цитологической и цитоэмбриологической технике, 1991).

Наконец, для определения популяционных возможностей вида используют метод подсчета реализации репродуктивного потенциала. Для оценки воздействия загрязнителя выбрано время удвоения численности ($t_{удв}$), рассчитываемое через коэффициент мгновенного роста популяции (r), изменение которого отражает сопротивление среды, т.е. характеризует сумму всех лимитирующих факторов среды, препятствующих реализации репродуктивного потенциала (r_{max}), который рассчитывается по контролю.

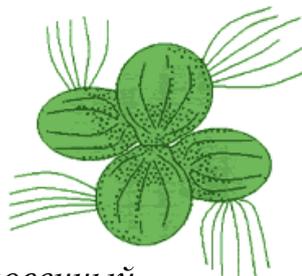
Оборудование: кристаллизаторы на 2-5 л для содержания маточной культуры, чашки Петри, пипетки на 3-5 мл, микрошпатель, пинцет, лупа, бинокулярный микроскоп, весы торсионные, сафронин, этиловый спирт.

Ход работы

1. Пробу в чашке Петри, содержащую 150-200 растений разделить по видам, пользуясь рисунками и определителем.

Определитель рясок

1. Корней на материнском щитке или на крупных дочерних - несколько (больше одного); если корни не развиты, материнский щиток крупный, 5-10 мм



-многокоренник обыкновенный

(*Spirodela polyrrhiza*)

2. Корень один3

3. Щиток вытянутый, на верхушке заостренный



- ряска тройчатая (*Lemna trisulca*)

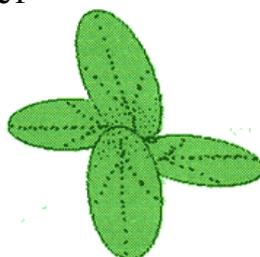
4. Щиток округлый.....5

5. С нижней стороны щитка отчетливо выражено вздутие



- ряска горбатая (*Lemna gibba*)

6. Вздутия на нижней стороне нет



- ряска малая (*Lemna minor*)

После разбора проб сосчитать число растений каждого вида, общее число щитков (материнских и дочерних), число щитков с повреждениями. К повреждениям относят черные и бурые пятна (некроз) и пожелтение (хлороз). Количество и размеры пятен не учитываются.

Полученные данные занести в таблицы 1 и 2.

Таблица 1. Качественные показатели оценки специфической индивидуальной реакции биоиндикаторов

Признаки	Вид 1 (например, ряска малая)			Вид 2...		
	№ пробы			№ пробы		
	1	2	3...	1	2	3...
Специфическая окраска						
Пожелтение	+*	-*				
Побурение						
Сохранение зеленой окраски						
Специфическая реакция						
Сетчатое окрашивание						
Отмирание с краев, увядание						
Рассоединение листочков из групп						

* - «+» - наличие реакции; «-» - отсутствие реакции.

Таблица 2. Количественные показатели оценки специфической индивидуальной реакции биоиндикаторов

Номер пробы	Число особей	Общее число щитков	Число щитков с повреждениями	Отношение числа щитков к числу особей	% щитков с повреждениями	Качество воды*

*Графу «Качество воды» заполнить, используя таблицу экспресс-оценки качества воды .

Таблица экспресс-оценка качества воды

% щитков с повреждениями	Отношение числа щитков к числу особей				
	0-1*	1,3	1,7	2	>2
0	1-2	2	3	3	3
10	3	3	3	3	3
20	3	4	3	3	3
30	4	4	4	3	3
40	4	4	4	3	-
50	4	4	4	-	-
60 и более	5	5	-	-	-

* Соответствует тем случаям, когда в целой пробе не удалось набрать 30 экземпляров даже наиболее массового вида.

2. На предметном стекле приготовить препарат листочков ряски разных видов из разных проб. Окрасить препарат сафранином, под микроскопом провести учет окрашенных клеток. Выделить следующие типы специфической реакции (рисунок):

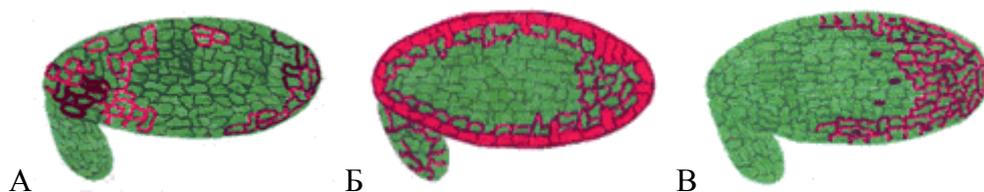


Рис. Применение метода витального окрашивания для изучения степени фитотоксичности среды на примере ряски малой (*Lemna minor*). Примечание: красным цветом обозначены мертвые (поврежденные) клетки А - "сетчатое" окрашивание, связанное с проникновением красителя по апопластическим сетям; Б - "сетчатое" окрашивание, сочетающееся с повреждением листеца по краям, а также с частичным повреждением молодого листеца; В - сочетание "сетчатого" окрашивания с локальным проникновением красителя.

Количество окрашенных клеток в процентном отношении к общей площади листеца принят за показатель токсичности поллютантов (среды).

Результаты эксперимента занести в таблицу 3 и проанализировать полученный материал.

Таблица 3. Результаты диагностики состояния организмов методом витального окрашивания

Вид ряски	№ (наименование) пробы					
	1			2		
	Тип специфической реакции	Число окрашенных клеток	Показатель токсичности поллютантов	Тип специфической реакции	Число окрашенных клеток	Показатель токсичности поллютантов
Ряска малая						

Сделать вывод об устойчивости видов к агрессивному действию среды, выделить наименее устойчивый вид.

3. Заранее отобранные растения разных видов ряски из разных с точки зрения нагрузки биотопов инкубировать при следующих условиях (см. таблицу) в течение 5-7 дней.

Таблица. Условия опытов при работе с видами рясок

Температура	27-28 ⁰
Качество света	Белый свет электро-лампы
Интенсивность света	86μE/m ² /сек
Количество раствора	15 мл
Количество тестируемых растений	20 листецов
Повторность опыта	4-х кратная
Контроль	За контрольный раствор принимаются в случае токсикологического анализа разбавляющий раствор, в случае биомониторинга - условно чистая вода из контрольного раствора, в качестве эталона - дистиллированная вода

По истечении времени экспозиции в контроле и в каждой пробе подсчитать общее количество листецов, включая материнские особи и листецы, отделившиеся от материнской особи.

В контроле и в каждой пробе на основании полученных результатов рассчитать коэффициент мгновенного роста популяции (r):

$$r = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{t}, \text{ где}$$

N_0 - начальная численность листецов; N_t - конечная численность листецов; t - время экспозиции (сутки).

Далее по каждому t рассчитать время удвоения численности ($t_{\text{удв}}$) в контроле и в опытных образцах:

$$t_{\text{удв}} = \frac{\ln(2)}{r} = 0,6931 / r, \text{ где}$$

r - коэффициент мгновенного роста популяции.

Показатель изменения времени удвоения численности ряски в исследуемых пробах по отношению к контрольному выражается в процентах (Dt):

$$Dt = \left(\frac{t_{\text{удв.к}} - t_{\text{удв.оп.}}}{t_{\text{удв.к}}} \right) \times 100\%, \text{ где}$$

$t_{\text{удв.к}}$, $t_{\text{удв.оп.}}$ - время удвоения численности в контроле и в опыте соответственно, и свидетельствует о качестве испытываемого водного раствора. Статистически достоверным следует считать отклонение более $\pm 20\%$ от времени удвоения в контроле. Отклонение в сторону увеличения при токсикологическом анализе возможно в исключительных случаях подпорогового воздействия концентраций токсикантов, при биомониторинге - в случае увеличения эвтрофикации. Отклонение в сторону уменьшения при токсикологическом анализе показывает степень воздействия токсиканта, при биомониторинге - уменьшение эвтрофикации воды или присутствие токсикантов.

На основе полученных данных сформулировать вывод о качестве воды в исследуемых биотопах и относительной устойчивости видов. Выделить признак, реакция на который у представителей семейства видоспецифична.

Самостоятельная работа: растения ряски, собранные в естественных биотопах и подвергнутые ранее эксперименту и анализу по предложенным методикам, инкубировать в течение 2-5 суток в кристаллизаторах с проточной водой из водопровода, в дистиллированной воде. Оценить те же параметры состояния организмов и популяции. Сравнить результаты с полученными прежде, сделать соответствующие выводы.

Лабораторная работа. Методики биотестирования с помощью представителей семейства рясковых

Рясковые впервые как фитотесты стали использоваться для тестирования загрязнения воды пестицидами. В качестве корректной оценки использовали показатели: коэффициент роста, длину и количество корней, площадь листеца, реакцию фотосинтеза и другие физиологические и морфологические характеристики. В настоящее время с помощью видов семейства рясковые

проводят биотесты на токсичность тяжелых металлов, нефтепродуктов, радионуклидов и других загрязнителей среды.

Среди поллютантов агроценоза особое положение занимают соли тяжелых металлов. Показано, что не только виды растений, но и отдельные сорта и даже клоны различаются по чувствительности к определенному загрязнителю. Специальные биотесты для определения эффективности общего действия поллютантов сводятся к оценке степени изменения морфометрических и биохимических показателей, оценке энергии прорастания, энергии роста корней, поражаемости растений под влиянием загрязнителя. Степень депрессии растений после обработки определяется физиологическими методами.

Оборудование: растворы солей натрия, водные растворы солей $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $BaCl_2$, $MnSO_4$, $Fe_2(SO_4)_3$, химические стаканы, стеклянные палочки, пипетки, фильтровальная бумага, воронки, линейки.

Ход работы

1. В чашках Петри приготовить 0,5М растворы солей $NaCl$, NaI , Na_2SO_4 , NaH_2PO_4 и др. В каждую чашку поместить по 20-30 предварительно взвешенных и измеренных растений ряски. В течение 3 дней провести оценку состояния и роста ряски. В ходе эксперимента дать оценку токсичности разных анионов по скорости гибели растений и замедлению их роста. Выявив наиболее токсичный для растений анион, заложить эксперимент по определению острой токсичности среды, выражающейся в гибели отравленного организма за короткий промежуток времени – от нескольких секунд до 48 часов, а также интегральной токсичности сложной смеси.

В чашках Петри приготовить растворы токсиканта, разведенные по схеме 1:2, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100. Параллельно приготовить разбавленные в 10, 5 и 2 раза растворы из смеси 1М растворов солей. В чашки Петри налить неразбавленную смесь и разбавленные в соответствии со схемой растворы. В каждую чашку поместить по 10-20 растений ряски. Через 24-48 часов определить количественные меры токсичности исследуемого вещества и сложной смеси на данный вид живых организмов. Это показатели острой токсичности $NOEC$, $LC0$, $LC50$, $LC100$, устанавливаемые для «чистого» вещества при его лабораторном исследовании. Показатели не имеют универсального значения и устанавливаются для каждого тест - объекта индивидуально.

$NOEC$ – максимально недействующая концентрация вещества;

$LC0$ – минимальный порог чувствительности, при котором отмечаются специфические тест-реакции или смертность тест-объектов.

$LC50$ – стандартная мера токсичности вещества, показывающая, какая концентрация вещества вызывает гибель 50% тест-организмов за установленное время (24, 48 или 96 ч.).

$LC100$ – высший смертельный порог для всех организмов или тест-культуры, использованных в опыте. Показатели токсичности выражаются в баллах токсичности целыми числами (2, 5, 10, 50, 100 и т.д.) соответственно величинам разведения.

Результаты наблюдений занести в таблицу 1.

Таблица 1. Показатели токсичности среды для исследуемых видов

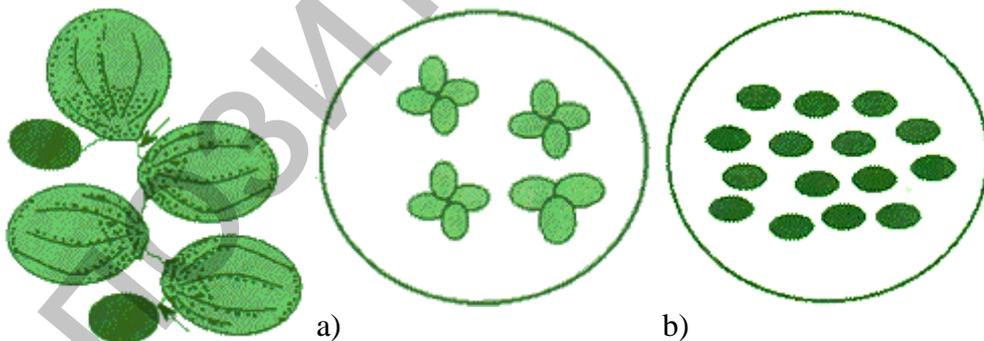
Показатель токсичности	NOEC	LC0	LC50	LC100
Концентрация вещества (молярность)				
Баллы токсичности				

Рассчитать величину острой токсичности вещества для данного вида по формуле: $T = 1 / LC50$.

Определить интегральную токсичность – токсичность сложных смесей, сточных вод, многокомпонентных факторов. Количественно интегральная токсичность определяется как величина обратная максимальному разведению, при котором не наблюдается каких-либо нарушений жизненно-важных функций тест-организмов при 24-48 часовом биотестировании.

Сделать вывод о степени токсичности веществ для исследуемого вида организмов и возможности их синергичного воздействия. Охарактеризовать экологический диапазон присутствия данного вида, его индикаторную ценность. Указать тип чувствительности данного биоиндикатора.

2. Для исследований взять водные растворы солей $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $BaCl_2$, $MnSO_4$, $Fe_2(SO_4)_3$. Ряска тройчатая и многокоренник относятся к биоиндикаторам 4-го и 3-го типа, что затрудняет проведение экспресс-оценки качества среды, наиболее удобно использовать для этих целей ряску малую. В чашки Петри поместить 10 растений в растворы солей разной концентрации (см. таблицу 2). Через 6 часов проанализировать качественные реакции, произошедшие с организмами в растворах. Отметить изменение окраски и рассоединение листочков (рисунок) в каждом опыте.



Гиалиновая нить, соединяющая четыре листочка и два турiona.

Рис. Специфическая реакция: а) эталон, все листочки ряски маленькой собраны в группы; б) все растения рассоединились и листочки побурели.

Результаты наблюдений внести в таблицу 2.

Таблица 2. Реакция ряски малой (*Lemna minor*) на соли металлов.

Металл и его концентрации	Показатели по тестам		
	специфическая окраска листочков	рассоединение листочков	реакция
Эталон			
Cu 0,1			
0,025			
0,001			

Fe 0,1			
0,025			
0,001			
Zn 0,1			
0,025			
0,001			
Ba 0,1			
0,025			
0,001			
Mn 0,1			
0,025			
0,001			

Исследуемые металлы по степени токсического действия на окружающую среду относятся к разным классам токсичности:

- 1 класс - Zn,
- 2 класс – Cu
- 3 класс - Ba, Mn

Сделать вывод, совпадает ли живых растений с принятым ГОСТом, сделать попытку классифицировать исследованные металлы по вредности по результатам биотестирования.

Самостоятельная работа: по предложенным методикам оценить показатели токсичности NO_3^- и NO_2^- - ионов, Pb^{+2} для растений ряски малой.

Лабораторная работа. **Индикация состояния воды с помощью индекса Гуднайта – Уотлея**

Контрольные вопросы:

1. Альгоиндикация качества вод.
2. Животные-биоиндикаторы.
3. Интегральная оценка качества природных вод.

Оборудование: скребки, чашки Петри, бинокляр, пинцет, препаравальные иглы.

Ход работы

Собрать бентосные организмы со дна водоема, тщательно промыть пробу на сите, поместить в емкости с водой. Всех отмеченных в пробе животных разделить на две группы: одна группа – малощетинковые кольцецы, вторая – прочие виды.

Показателем качества воды в озерах и прудах является ее трофность, понимаемая как количество органических веществ, накопленных в процессе фотосинтеза в условиях наличия биогенных элементов. Процесс повышения трофности водоема называют эвтрофикацией. Принято выделять 3 степени эвтрофикации: 1) слабая, 2) средняя, 3) сильная. В качестве организмов-индикаторов трофности водоемов часто используют хирономусов и малощетинковых кольцецов, обитающих в донных илах, богатых органикой. Показателем эвтрофикации служит индекс Гуднайта и Уотлея:

$$a = \frac{M}{B} \cdot 100, \% , \text{ где}$$

M – численность малощетинковых червей и B – численность всех видов организмов в пробе.

Рассчитать по предложенной формуле показатель эвтрофикации для исследуемых водоемов по результатам анализа бентосных проб.

Определить степень загрязнения водоема по таблице:

Состояние водоема	Индекс Гуднайта и Уотля		
	80	60-80	60
Сильное загрязнение	x		
Сомнительное загрязнение		x	
Хорошее состояние			x

Сделать вывод о качестве воды в исследуемых типах водоемов.

Самостоятельная работа: оценить по предложенным методикам пробы воды, отобранные в разных участках реки (вдоль континуума) в черте города и за его пределами. Сравнить полученные результаты, обосновать рекомендации о проведении защитных мероприятий.

Лабораторная работа. Индикация состояния окружающей среды по частотам встречаемости фенов белого клевера

Контрольные вопросы:

1. Характеристика воздушной среды. Методы биомониторинга атмосферы.
2. Биоиндикация с помощью высших растений.
3. Типы чувствительности биоиндикаторов. Тест-функции для регистрации воздействия.
4. Лихеноиндикация.

Оценить состояние окружающей среды можно с помощью фенотипических биоиндикаторов. Фены – это четко различающиеся варианты какого-либо признака или свойства биологического вида. Под воздействием экологических факторов в популяциях увеличивается частота встречаемости специфичных фенотипов у различных видов. В таких случаях частота встречаемости является биологическим индикатором воздействия антропогенных факторов.

В качестве объекта можно использовать широко распространенный белый клевер *Trifolium repens* (клевер ползучий). Форма рисунка на пластинках листа и частота встречаемости может использоваться как индикатор загрязнения среды.

При индикации осуществляют подсчет форм с различным рисунком и без него и последующего расчета частоты встречаемости этих фенов в %.

Оборудование: лупы, пинцеты, препаровальные иглы.

Ход работы

В разных районах города заложить пробные площадки, на которых произвести внимательный осмотр отдельных растений, определить их фенотип и суммировать общее число особей каждого фена. Отдельно отметить наличие растений с какими-либо уникальными фенами (например, с рисунком красного цвета, с большим или меньшим количеством листовых пластинок и т.п.). Подсчет сделать не менее, чем для 200 особей. Результаты наблюдений внести в таблицу и обработать математически.

Результаты фенотипической диагностики пробной площадки № _____

Количество растений				Процент фенотипов			
Фен 1 (без рисунка)	Фен 2	Фен...	Всего	Фен 2	Фен 3	Фен...	ИСФ

Для расчета частоты встречаемости отдельных фенов и индекса соотношения фенов используют формулы:

$$P_i = \frac{Cn_i}{N} \times 100\%, \quad ИСФ = \frac{C(n_2 + n_3 + \dots)}{N} \times 100\%, \text{ где}$$

P_i – частота i -го фена,

n_i – количество растений с i -тым рисунком на листовой пластинке

N – общее число учтенных растений.

По величине ИСФ при достаточно большом числе учетных площадок на исследуемой территории можно выделить наиболее антропогенно нагруженные участки. На чистых территориях величина ИСФ не превышает 30%, а на загрязненных территориях ИСФ может достигать 70-80%.

На основании проведенных исследований сделать вывод о степени нагрузки на фитоценозы в исследуемых районах.

Самостоятельная работа: на основе анализа литературных данных о полиморфности морфологических структур высших растений предложить оптимальные виды-биоиндикаторы, которые можно использовать для оценки качества среды описанными методиками.

Лабораторная работа. Индикация состояния окружающей среды по величине флуктуирующей асимметрии листа березы бородавчатой

Контрольные вопросы:

1. Методы качественной оценки экосистем.
2. Понятие о стрессе и стрессорах. Типы стрессоров.
3. Симметрия в природе, ее типы и эволюционная детерминация.

Воздействие среды на организмы может проявляться в разнообразных формах. Наиболее удобны для биоиндикации изменения внешней морфологии, возникающие как спонтанная изменчивость развития. Ее можно оценить по флуктуирующей асимметрии, которой охвачены практически все билатеральные

структуры у самых разных видов живых организмов. Флуктуирующая асимметрия (ФА) представляет собой небольшие ненаправленные отклонения биообъектов от билатеральной симметрии. При этом различия между сторонами не являются строго генетически детерминированными и, следовательно, зависят, в основном, от внешних условий. Уровень морфогенетических отклонений от нормы оказывается минимальным лишь при оптимальных условиях среды и неспецифически возрастает при любых стрессовых воздействиях. Поэтому стабильность развития, оцениваемая по уровню ФА, является чувствительным индикатором состояния природных популяций и представляет интерес для биоиндикационных исследований.

Оборудование: лупы, линейки, транспортир, циркуль.

Ход работы

Одновозрастные листья березы бородавчатой, собранные в разных биотопах разместить перед собой сторонами, обращенными к верхушке побега. С каждого листа снять показатели по пяти промерам с левой и правой сторон листа:

1. Ширина левой и правой половин листа в месте перегиба при совмещении верхушки с основанием.
2. Длина жилки второго порядка, второй от основания листа.
3. Расстояние между основаниями первой и второй жилок второго порядка.
4. Расстояние между концами этих же жилок.
5. Угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка.

Результаты измерений занести в таблицу 1.

Таблица 1

№ листа	Номер признака									
	1		2		3		4		5	
	слева	справа	слева	справа	слева	справа	слева	справа	слева	справа
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Коэффициент флуктуирующей асимметрии вычисляют по формуле

$$\bar{A}_1 = \frac{1}{mn} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{|L_{ij} - R_{ij}|}{L_{ij} + R_{ij}}, \text{ где}$$

m- число объектов,

n-число признаков,

L, R – величина признаков у каждого объекта слева и справа относительно плоскости симметрии.

Алгоритм вычислений:

1. Определить относительные величины асимметрии для каждого признака. Для этого разность между промерами слева и справа делят на сумму этих же промеров:

$(L-R)/(L+R)$. Полученные величины занести во вспомогательную таблицу 2.

2. Вычислить показатель асимметрии для каждого листа как среднее арифметическое относительных величин асимметрии по каждому признаку.

3. Рассчитать коэффициент асимметрии как среднее арифметическое всех величин асимметрии для каждого листа.

Таблица 2

№ листа	Номер признака					Величина асимметрии листа
	1	2	3	4	5	
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
Коэффициент флуктуирующей асимметрии, ФА						X=

Для характеристики состояния среды используется абсолютная 5-балльная оценка качества среды по степени отклонения ее состояния от экологической оптимальности. Каждому из приведенных баллов соответствует свой определенный интервал значений коэффициента флуктуирующей асимметрии. Баллом 1 характеризуются участки, практически не затронутые человеческой деятельностью. Баллом 5 обозначаются гибнущие экосистемы в районах с чрезвычайной антропогенной нагрузкой. Таким образом, абсолютная шкала предоставляет возможность сравнивать между собой любые территории и участки.

Балл	Величина ФА	Характеристика состояния среды
1	<0,040	ситуация условно нормальная
2	0,040-0,044	небольшие отклонения от нормального состояния
3	0,045-0,049	существенные нарушения
4	0,050-0,054	опасные нарушения
5	>0,054	критическое состояние

На основании расчетов сделать вывод о стабильности развития данного вида в исследуемых биотопах, охарактеризовать качество среды. Удобен ли данный вид растений в качестве индикаторного для оценки параметров состояния среды?

Самостоятельная работа: проанализировав результаты работы по индикации состояния среды с помощью оценки асимметрии мерных (счетных) признаков листа растений, предложить в качестве тест-функций качественные признаки растений или животных, пригодные для биоиндикации.

Лабораторная работа. Популяции редуцентов как индикаторы качества почв

Контрольные вопросы:

1. Причины и виды загрязнения почв.
2. Индикация физико-химических параметров почв.
3. Зооиндикация.

Влияние стрессоров на организмы определяется путем количественной оценки определенных таксономических или физиологических групп (чаще всего таксоценозов) и некоторых результатов их жизнедеятельности. Оба параметра в сочетании с фактором времени позволяют делать выводы относительно интенсивности протекания микробиологических процессов в почве. Для индикации изменений в ценозах привлекаются экологические параметры структуры, прежде всего доминирование (как относительное процентное обилие), равномерность распределения, видовое разнообразие и различие в разнообразии и доминировании.

Оборудование: воронка Тулгрена (рисунок 1) или эклектор, чашки Петри, пинцеты, препаравальные иглы, бинокулярные лупы, 70%-ный спирт, 5%-ный глицерин, дистиллированная вода.

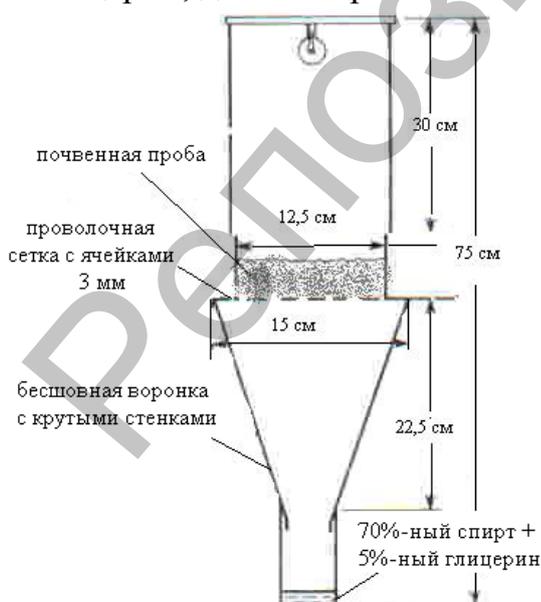


Рис. 1. Воронка Тулгрена

Ход работы

В разных районах отобрать смешанный почвенные образцы методом «конверта»: с обследуемого элементарного участка взять пять образцов почвы так, что точки отбора проб расположены по углам квадрата со стороной 2-3 м, а также в точке пересечения диагоналей квадрата (рисунок 2).

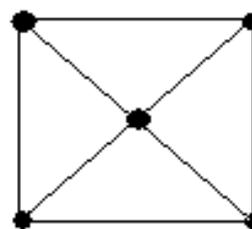


Рисунок 2. Схема взятия почвенных образцов методом «квадрата»

Масса каждого образца должна составлять примерно 200-300 г. Смешанные образцы упаковать, поместить в полиэтиленовые или полотняные мешочки, этикетировать с указанием места и даты взятия образца и его номер.

Поместить каждый образец в воронку Тулгрена. Через 6-8 часов рассмотреть содержимое чашек Петри под биноклярными лупами, выделить основные таксономические группы и отдельные виды (рисунок 3), заполнить таблицу.

Группа	Число организмов в образце			Среднее число особей, x_{cp}	Дисперсия, V	Показатель скученности, I
	Образец 1	Образец 2	Образец 3			
<i>Отряд Collembola</i>						
<i>Отряд Diplura</i>						
<i>Отряд Acariformes</i>						
<i>Отряд Parasitiformes</i>						
<i>Класс Nematoda</i>						
<i>Прочие</i>						

Рассчитать дисперсию каждой группы для определения типа пространственного распределения особей, используя формулы:

$$V = \frac{\sum (x - x_{cp})^2}{n - 1} \quad \text{и} \quad I = \frac{V}{x_{cp}} - 1, \quad \text{где}$$

- n-число проб;
- x-число организмов в пробе;
- x_{cp} -среднее для образца;
- V-дисперсия;
- I-показатель скученности.

Сравнить результаты расчетов для почвенных образцов, взятых в разных районах. Истолковать экологический смысл случайной дисперсии и скоплений животных.

Подсчитать число видов каждой группы в анализируемых образцах. Для сравнительной характеристики видового состава сообществ микроартропод в различных районах отбора проб рассчитать следующие показатели:

1) индекс видового богатства Р. Маргалефа $d = S - 1/\ln N$, где

- S- общее число видов;
- N – численность особей всех видов.

2) видовое разнообразие по Шеннону - Уиверу $H = \sum_{i=1}^s h_i$, где

S- общее число видов,

h_i – частичная мера информации i-того вида ($h_i = p_i \ln \frac{1}{p_i}$),

p_i – относительная частота встречаемости вида ($p_i = n_i/N$),

n_i – численность особей i-того вида,

N – численность особей всех видов.

3) индекс выровненности

$$E = \frac{1}{\sum p_i^2 \times S}, \text{ где}$$

p_i – относительная частота встречаемости вида;

S – общее число видов.

Сделать вывод о качестве среды на основании полученных результатов.

Самостоятельная работа: для отобранных проб почвы оценить такие показатели как биомасса микроорганизмов, групповое и суммарное обилие. Сравнить эти показатели для разных проб, сделать вывод об экологическом стандарте для исследуемых групп.

Репозиторий ВГУ

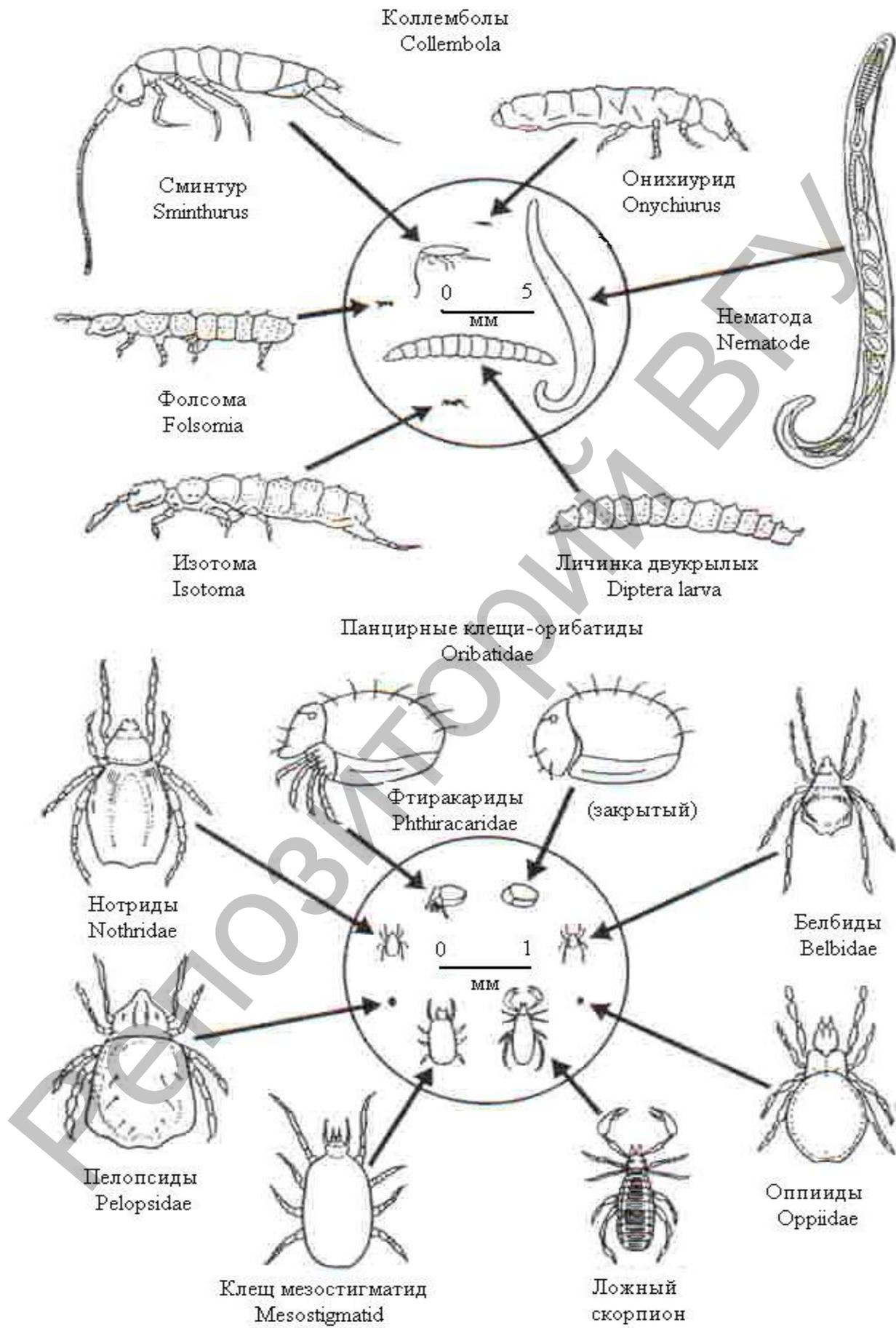


Рис. 3. Некоторые микроорганизмы – обитатели почв

Лабораторная работа. Индикация состояния почв по интенсивности почвенного дыхания

Контрольные вопросы:

1. Роль деструкторов в почвообразовательных процессах.
2. Основные группы почвенных беспозвоночных, используемые в биоиндикации.

Оборудование: хим. стаканы, чашки Петри, стеклянные сосуды-изоляторы, 0,05н р-р HCl, 1н раствор KOH, фенолфталеин.

Ход работы

Измерение интенсивности дыхания определяется по скорости выделения CO₂ почвенными микроорганизмами в процессе дыхания. Скорость выделения CO₂ из почвы определяют абсорбционным методом Штатнова.

Поместить часть почвы из ранее отобранных почвенных образцов в стеклянные стаканы известного диаметра. В чашку Петри налить по 10 мл щелочи. Сосуд с почвой и чашку Петри со щелочью изолировать под стеклянным цилиндром и оставить на 4-6 часов. Параллельно собрать подобную же установку, но без почвенного образца для контроля. Время экспозиции то же.

Для расчета количества выделившегося CO₂ используют формулу:

$$v = \frac{(a - b) \cdot 1,1}{S \cdot t \cdot 100}, \text{ где}$$

v – количество CO₂, выделившееся из почвы кг/га в час;

a – количество 0,05 н HCl, пошедшей на титрование исходного раствора щелочи, мл;

b – количество 0,05н HCl, пошедшей на титрование щелочи из чашки после экспонирования на почве, мл;

1,1 – масса CO₂, эквивалентная массе HCl, содержащейся в 1 мл 0,05 н раствора HCl, мг/мл;

S – площадь почвы под сосудом-изолятором, м²;

t – экспозиция, час.

Рассчитав интенсивность дыхания почвенной биоты в разных образцах, занести результаты в таблицу:

Номер образца	a, мл	b, мл	S, м ²	t, час.	V, кг/га в час
1.					
2.					

Сделать вывод о биологической активности почв по интенсивности выделения CO₂ почвенными образцами.

Сопоставить полученные выводы с результатами оценки видовой структуры сообществ микроартропод в исходных образцах почв (лабораторная работа №). Использовать в качестве параметра сравнения коэффициент корреляции

$$r = \frac{\sum (x - x_{cp})(y - y_{cp})}{\sqrt{\sum (x - x_{cp})^2 \sum (y - y_{cp})^2}}, \text{ где}$$

x , y – значения сравниваемых параметров для каждого образца;
 $x_{\text{ср}}$, $y_{\text{ср}}$ – средние величины этих значений.
 Результаты расчета занести в таблицу:

Таблица. Степень взаимозависимости активности почвенного дыхания от относительного обилия исследуемых групп микрогеобионтов (коэффициенты корреляции)

Группа геобионтов	Отр. Collembola	Отр. Diplura	Отр. Acariformes	Отр. Parasitiformes	Класс Nematoda	Суммарное обилие исследуемых групп
Активность почвенного дыхания						

Сделать вывод о степени и направленности связи между анализируемыми параметрами.

Самостоятельная работа: проверить наличие корреляции между активностью почвенного дыхания и влажностью почвенных образцов.

Лабораторная работа. Половая структура популяций жесткокрылых как показатель условий среды обитания

Контрольные вопросы:

1. Демографическая структура популяций животных.
2. Популяционно-динамические изменения (колебания структуры, численности, плотности популяции) в ответ на действие стрессоров.

Функциональная роль разных полов животных в составе популяций неравнозначна, и, как следствие, неравнозначна и их реакция на изменение условий существования. Относительное увеличение доли особей того или иного пола – информативный признак, свидетельствующий о динамике экологически значимых для вида параметров среды. Этот признак часто используется в практике мониторинговых исследований для установления типа и степени нагрузки на биогеоценозы, составления прогнозов развития популяций и сообществ.

В качестве биоиндикаторов эффективнее всего использовать виды животных с непродолжительным жизненным циклом и четко выраженным половым диморфизмом, например, жесткокрылых (виды родов *Staphylinus*, *Philonthus*, *Carabus*, *Pterostichus* и другие).

Оборудование: ловушки Барбера, 4%-ный формалин, чашки Петри, фильтровальная бумага, сборы насекомых в различных биотопах (фиксированный материал), пинцеты, препаровальные иглы, бинокляр или лупы.

Ход работы

Сбор насекомых провести одновременно в естественных сообществах разных типов (например, разные типы леса с одной лесообразующей породой) и

в условиях антропоической нагрузки. Для отбора проб использовать ловушки Барбера, установив их в количестве не менее 10 шт./биотоп. Проверку осуществлять раз в 3-5 суток. Чем более длительный срок охватывает эксперимент, тем меньше вероятность ошибки, возникающей в случае различий во временной активности полов. Для анализа можно использовать также материал ранее проведенных сборов.

Собранных жуков проанализировать по полу, рассчитать процентное соотношение полов в выборке $\%, \text{самок(самцов)} = \frac{n_{\text{самок(самцов)}}}{N}$, половой индекс $\frac{n_{\text{самцов}}}{n_{\text{самок}}}$, где n-количество особей самцов или самок, N-общее число всех учтенных особей. Постройте диаграмму соотношения полов в популяциях для разных типов сообществ.

Проанализировав материал, собранный в естественных условиях и в условиях, подверженных антропоической нагрузке, сделать вывод о влиянии среды на половую структуру популяций исследуемых видов, вывод о чувствительности полов к условиям стресса.

Лабораторная работа. Индикация состояния среды по морфологическим реакциям организмов

Контрольные вопросы:

1. Типы морфологических изменений.
2. Классификация макро- и микроскопических изменений ассимиляционного аппарата растений.
3. Причины, затрудняющие биоиндикацию с использованием растений.

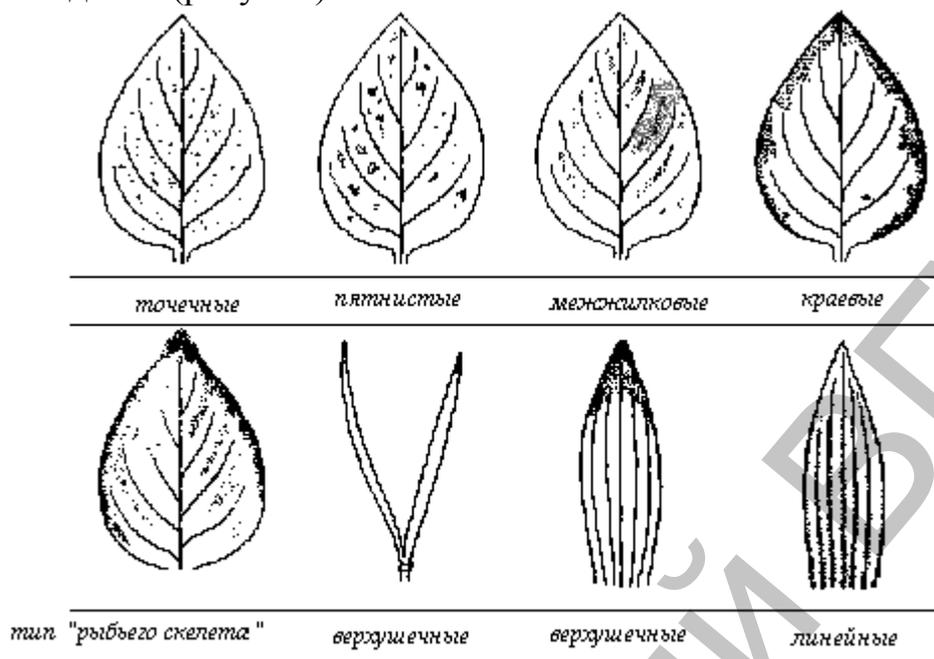
Термин «повреждение» включает все реакции растений, обусловленные загрязнением атмосферы: обратимое изменение метаболизма, некроз листьев, преждевременный листопад или подавление и прекращение роста. Возникновение повреждений ассимиляционных органов растений опосредованно связано с качеством среды обитания организмов. Ослабление иммунной силы организма под влиянием стрессовых факторов среды провоцирует биоповреждающую ситуацию, агентами которой могут выступать различные фитофаги и фитопатогены. Кроме того, в условиях урбанизированных территорий всегда отмечается высокий процент повреждений листового аппарата небиогенного происхождения, что обусловлено присутствием в воздухе в высоких концентрациях разнообразных загрязнителей.

Оборудование: фитоматериал для анализа (листья древесных растений разных пород, произрастающих на участках с разной степенью антропогенной нагрузки), весы торсионные, линейки, калька, миллиметровая бумага, лупы, бинокляр.

Ход работы

Выборки листьев древесных растений одного вида из средней части кроны (по 10-20 штук) из разных мест отбора проб внимательно рассмотреть, используя, если необходимо, лупы и бинокляры. В ходе работы фиксировать

макроскопические изменения листовой пластинки биогенного и небιοгенного происхождения (рисунок).



Типы некрозов листьев у высших растений

На каждой листовой пластинке определить типологию повреждений, суммарную площадь повреждения листового аппарата, а также площадь биоповреждений и повреждений небιологической этимологии. Для этого собранные листья расправить на квадратном листе кальки, размеры которого соответствуют размерам листа ($S_{кв}$). Кальку взвесить ($P_{кв}$), лист очертить, по контурам вырезать его силуэт на кальке. Эту часть кальки также взвесить ($P_{л}$).

Определить площадь листа по формуле $S_{л} = \frac{P_{л} \cdot S_{кв}}{P_{кв}}$.

Совместив контуры листа на кальке с образцом, очертить все поврежденные участки, вырезать их и взвесить. Вычислить процент поврежденной ткани: $S_{повр} = \frac{S_{л} \cdot P_{повр}}{P_{листа}} \cdot 100$.

Результаты анализа представить в виде доли (в среднем) поврежденной поверхности от массы или от общей площади листа (для этого можно использовать миллиметровую бумагу) и занести в таблицу.

Таблица. Сравнительная характеристика доли повреждений листовой пластинки у исследуемых видов на пробных площадках (% площади (массы) листа)

Тип морфологических изменений листа	Исследуемый вид растений	
	Пр. площадка № 1	Пр. площадка № 2...
	$M \pm m$	$M \pm m$
Изменение окраски (хлороз, побронзовение, серебристая окраска и т.п.)		
Некрозы:		
-точечные		

-пятнистые		
-межжилковые		
-верхушечные		
-краевые		
-линейные		
-тип «рыбьего скелета»		
Изменение формы и размера		
Всего		

Самостоятельная работа: изучить динамику исследуемых параметров ассимиляционного аппарата растений в г. Витебске за последние 3 года. Сравнить полученные в результате биоиндикации результаты с данными о величине индекса загрязнения атмосферы города в анализируемые годы. Сделать вывод об эффективности методики для оценки качества среды.

Лабораторная работа. **Диагностика степени поражения ассимиляционной ткани листа**

Для более детального анализа анатомо-морфологических изменений ассимиляционного аппарата растений в отношении агрессивности среды необходимо исследовать микроструктуры листа и их изменения в ходе функционирования.

Оборудование: фитоматериал для анализа (листья древесных растений разных пород, произрастающих на участках с разной степенью антропогенной нагрузки), микроскоп, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, чашки Петри, дистиллированная вода, 0,2 н раствор HCl, раствор метиленового голубого (100 мг/л) в 2,5%-ном K₂HPO₄ или акридиновый оранжевый (200 мг/л), 10%-ный раствор сахарозы.

Ход работы

Для диагностики поврежденных тканей можно использовать несколько методов.

1. Листья исследуемых растений выдержать 20-30 мин в теплой воде (35-37°C) для размягчения ткани, затем поместить на 20 мин в 0,2 н раствор соляной кислоты. Мертвые и поврежденные участки побуреют в результате свободного проникновения кислоты в поврежденные клетки и феофитинизации хлорофилла.

2. Метод окрашивания. Приготовить срезы разных частей листа, поместить в каплю метиленового голубого в K₂HPO₄. Через несколько минут раствор окрашивает нежизнеспособные клетки в синий цвет. При окрашивании акридиновым оранжевым через 5-10 минут живые клетки флуоресцируют зелено-желтым светом, а поврежденные и мертвые – оранжево-красным.

3. Плазмолитический метод. Срезы сочных тканей поместить на 1-2 часа в 10%-ный раствор сахарозы. У мертвых клеток плазмолиз не наступает.

Используя микроскопы, исследовать эти, а также некоторые другие изменения параметров клеток листьев растений, а результаты внести в таблицу.

Таблица. Изменения микроструктур листа у исследуемых видов растений

Микроскопические изменения листа	Исследуемый вид растений
----------------------------------	--------------------------

	Пр. площадка № 1	Пр. площадка № 2...
Размеры клетки		
Наличие кристаллических включений в цитоплазме		
Грануляция плазмы		
Состояние и число хлоропластов		
Плазмолиз		
Среднее число устьиц (шт/см ² площади листа)		
Толщина листа, кутикулы		
Густота опушения		

На основании результатов анализа определить приоритетные типы повреждений, указать наиболее и наименее чувствительные виды, сделать вывод об экологическом благополучии сравниваемых биотопов для исследованных видов древесных растений.

Лабораторная работа. Индикация состояния среды по физиологическим параметрам организмов

Контрольные вопросы:

1. Понятие «физиологического», или «латентного», повреждения.
2. Тест-функции индикаторных организмов, используемые для анализа.
3. Биологическая роль фенольных соединений в растениях. Основные группы фенольных веществ.

Содержание хлорофилла (и других пигментов) в листьях растений – весьма изменчивый признак, его использование в качестве индикаторного неоднозначно воспринимается учеными. Согласно литературным данным, динамика содержания хлорофилла у разных видов растений неодинакова в ответ на стресс. Например, у чувствительных к загрязнению видов количество хлорофилла снижается при увеличении интенсивности действия токсиканта. Другие виды отвечают увеличением концентрации пигментов в ответ на действие стрессора. Понятно, поэтому, что сравнение разных видов растений по этому параметру не даст репрезентативных результатов, особенно если учитывать, что количество хлорофилла детерминировано действием на растения одновременно многих факторов. Вместе с тем использование этого показателя в сочетании с другими признаками для оценки степени загрязнения наземных экосистем может дать хороший результат, если использовать в качестве индикатора один вид, представленный в разных по степени нагрузки условиях обитания.

Оборудование: торзионные весы, колориметр фотоэлектрический концентратационный КФК-2МП., ступки с пестиками, стеклянные палочки, мерные колбы на 100 и 50 мл, фильтровальная бумага, 90%-ный спирт.

Ход работы

Определение хлорофилла проводят фотоэлектроколориметрическим способом на свежем или фиксированном материале.

Листья, собранные из средней части кроны растений, произрастающих в разных с точки зрения экологической нагрузки зонах, фиксируются водяным паром (5 мин) и высушиваются в термостате. Навеску сухого материала массой 0,5-1 г тщательно растереть и поместить в колбу, добавить 10 мл спирта и оставить на некоторое время. Полученный раствор отфильтровать в мерную колбу на 50 мл. К остатку прилить 4-5 мл растворителя и вновь перенести раствор на фильтр. Эту манипуляцию повторить 2-3 раза, затем перенести на фильтр всю массу, уплотнив ее стеклянной палочкой. Стекающий раствор должен быть бесцветным. После объем вытяжки довести до черты растворителем.

Колориметрирование раствора произвести на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром. При интенсивном окрашивании экстракта можно его разбавить. Для пересчета хлорофилла на стандартные величины используют раствор Гетри, который по окраске колориметрически эквивалентен раствору кристаллического хлорофилла по содержанию последнего 85 г в литре. Разбавляя стандартный раствор Гетри, необходимо построить калибровочную кривую, где по оси абсцисс откладывается содержание хлорофилла (мг/л), а по оси ординат – оптическая плотность. Калибровочную кривую строят от концентрации 0,085 мг/л (1 мл исходного раствора и 99 мл воды) до 7,65 мг/л листа.

На ФЭКе несколько раз произвести измерение оптической плотности опытных образцов, определив среднее. По полученным данным, используя калибровочную кривую, установить содержание хлорофилла в листьях исследуемых растений (по сухой массе или в процентах), проделав необходимые расчеты:

$$A = C \times V / P \cdot 1000, \text{ где}$$

A – содержание пигмента в растительном материале, мг/г;

C – концентрация пигментов, мг/л;

V – объем вытяжки пигментов, мл;

P – навеска растительного материала.

Для удобства результаты замеров и промежуточных расчетов внести в таблицу:

Номер образца	Навеска, мг	Объем вытяжки, мл	Оптическая плотность, ε	Количество хлорофилла по калибровочной кривой, мг/50 мл	Содержание хлорофилла в листьях	
					мг/г сухой массы	% сухой массы листа

На основании результатов эксперимента сделать вывод о чувствительности исследованных видов и степени экологической нагрузки на

экосистемы. Построить экологический ряд исследованных экосистем по их чувствительности к нагрузке.

Самостоятельная работа: сравнить относительную устойчивость разных видов фанерофитов, произрастающих в г. Витебске, используя описанные методики. Сформулировать практические рекомендации службам озеленения города при планировании и проведении искусственных посадок, формировании рекреационных зон и зон, несущих культурно-эстетическую нагрузку.

Лабораторная работа. Вторичные метаболиты как индикаторы физиологического состояния организма

Другим часто используемым в биоиндикации признаком является накопление фенольных соединений растениями как проявление защитной реакции на неблагоприятные условия среды. Функции фенольных веществ крайне многообразны, важная роль их заключается в формировании иммунных защитных свойств организма. Накопление фенольных веществ под влиянием неблагоприятных и стрессовых условий среды обеспечивает устойчивость вида, в то время как снижение их количества может служить маркером ослабления иммунных сил организма. Более информативным показателем является, безусловно, характеристика содержания и динамики индивидуальных веществ или отдельных групп. Вместе с тем в практике биоиндикации чаще пользуются хотя и неспецифичным, но удобным для анализа методом определения суммы фенольных соединений по Левенталю в модификации А.Л.Курсанова.

Оборудование: ступки с пестиками; весы торзионные; стаканы на 100 мл; водяная баня; чашки испарительные на 800-1000 мл; бюретки; колбы на 50 мл; раствор индигокармина; 0,1 н раствор KMnO_4 ; дистиллированная вода; прибор для титрования; фиксированный растительный материал, собранный в различных экологических условиях.

Ход работы

Навеску в 1-3 г сухого перемолотого растительного материала нагреть в стаканчике на 100 мл с 40 мл дистиллированной воды в течение 15 мин на кипящей водяной бане при интенсивном перемешивании. Экстракт охладить, отфильтровать и довести до метки в колбе на 50 мл. Часть полученного экстракта (5 мл) перенести в фарфоровую чашку или стакан объемом 800-1000 мл, добавить 325 мл дистиллированной воды и 12,5 мл раствора индигокармина. Смесь оттитровать 0,1 н раствором KMnO_4 (3,16 г KMnO_4 в 1 л воды) при энергичном перемешивании. Окончание титрования устанавливают по появлению в растворе золотисто-желтого оттенка. Результат титрования умножить на пересчетный коэффициент для перевода миллилитров 0,1 н раствора KMnO_4 в миллиграммы фенольных соединений, содержащихся в 5 мл взятого на титрование экстракта. Чаще пользуются пересчетным коэффициентом 4,16, определенным для китайского таннина. Полученный результат перевести на грамм сухой массы листа.

Сравнить полученные данные для растений, собранных в разных биотопах. Сделать вывод о физиологических особенностях организмов в исследуемых зонах.

Репозиторий ВГУ

Задания для индивидуальной исследовательской работы

1. Оценить возможность применения методик оценки качества водной среды с помощью Рясковых на других видах водных растений (например, элодее канадской). Предложить адекватные тесты и виды-индикаторы.
2. Изучить влияние минеральных и органических удобрений, используемых в сельском хозяйстве, на жизнеспособность ряски малой, используя необходимые методики.
3. Предложить эффективные тесты и тест-объекты для индикации влияния на организмы различных пестицидов.
4. Дать оценку качества городской среды по стабильности развития какого-либо вида насекомых (рыб, земноводных и т.д.). Предложить адекватные тест-функции.
5. Проанализировать, как зависят видовой состав и обилие почвенных микроорганизмов от важнейших характеристик почвы: типа, структуры, механического состава, влажности, кислотности, плодородия.
6. Сравнить экологическую устойчивость фоновых и интродуцированных видов фанерофитов, подобрав соответствующие методы оценки морфологических и физиологических характеристик.
7. Проанализировать относительную устойчивость к влиянию техногенной среды разных жизненных форм высших растений. Сформулировать практические рекомендации службам озеленения города при планировании и проведении искусственных посадок, формировании рекреационных зон и зон, несущих культурно-эстетическую нагрузку.
8. Используя приемы лишеноиндикации, провести экологическое зонирование одного из районов г. Витебска по степени загрязнения атмосферного воздуха. Сравнить возможности биоиндикации, сопоставив экспериментальные данные с результатами физико-химического анализа качества атмосферного воздуха.

Литература

1. Биоиндикация загрязнения наземных экосистем. / под ред. Р. Шуберта. // М.: Мысль. - 1988. - 345с.
2. Бурдин К.С. Основы биологического мониторинга. // М., - 1985. - 265с.
3. Вернадский В.И. О химическом элементарном составе рясок (*Lemna*) как видовом признаке. // Живое вещество и биосфера. М., "Наука". - 1994. - С.473-476.
4. Вронский В.А. Прикладная экология. // Ростов н/Дону. - 1996. - 512с.
5. Гербхард А., Четвериков А.Г., Герасименко В.В., Цоглин Л.Н. Действие ионов ртути на растения ряски. // Физиология растений. - 1990. - Т.37. Вып.2. - С.349-354.
6. Евгеньев М.И. Тест-методы и экология. // Соросовский образовательный журнал. - 1999. №11. - С.29-34.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высшая школа. - 1990. - 352с.
8. Левич А.П. Биотическая концепция контроля природной среды. // Доклады академии наук. - 1994. - N 2. - С.280-282.
9. Ломагин А.Г., Ульянова Л.В. Новый тест на загрязненность воды с использованием ряски - *Lemna minor* L. // Физиология растений. - 1993. - N 2. - С.327-328.
10. Методические указания по цитологической и цитоэмбриологической технике (для исследования культурных растений) // ВИР. - Ленинград. - 1991. - 118с.
11. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. // М.: Колос. - 1980. - 304с.
12. Пухальская В.Н. Антропогенные стрессы в экологии. М. - 1998. - 174с.
13. Пшеничников Р.А. Современные тест-системы выявления мутагенов окружающей среды. // Свердловск. - 1990. - 135с.
14. Рожнов Г.И., В.А.Пройнова, Х.П.Тирас., Моисеева М.В., Иванов Н.Г. Перспективы использования биотестирования в качестве альтернативных методов оценки токсичности. // 1-й съезд токсикологов России. Тезисы докладов 17-20 ноября. - 1998. - Москва. 313с.
15. Симонян Е.Г., Погосян В.С., Джигаружян Э.М., Суджян А.О. Выявление действия загрязнителей атмосферного воздуха с применением растительных тест-объектов. // Вопросы биологии. 1989. - Т.5. - С.49 - 59.
16. Соколов В.Е., Шаланкин Я., Криволуцкий Д.А. и др. Международная программа по биоиндикации антропогенного загрязнения природной среды. // Экология. - 1990. - N 2. - С.90-94.
17. Соколов М.С., Филипчук О.Д., Цаценко Л.В. Биогеоэкологические критерии экологического нормирования. // С.-х. Биология. - 1998. - №3. - С.3-24.
18. Сорочинский Б.В., Грозинский Д.М. Ряска многолетняя как индикатор радионуклидного загрязнения. // Радиобиол. съезд. - Пущино. - 1993. Ч.3. - С.944-945.
19. Тахтаджян А.Л. Жизнь растений. Семейство рясковые (*Lemnaceae*). Т.6. // М.: Просвещение. - 1982. - С.493-500.

20. Цаценко Л.В., Малюга Н.Г. Чувствительность различных тестов на загрязнение воды тяжелыми металлами и пестицидами с использованием ряски малой. *Lemna minor* L. // Экология. - 1998. - №5. - С.407-409.
21. Цаценко Л.В., Филипчук О.Д. Фитоиндикация загрязнения воды и почвенной вытяжки. //Агрохимия, 1999. №1. С.90 -93.
22. Шапиро И.А. Физиолого-биохимические изменения у лишайников под влиянием атмосферного загрязнения.// Успехи современной биологии. - 1996. - N 116. Вып. 2. - С.158-171.
23. Штина Э.А. Почвенные водоросли как экологические индикаторы.// Ботан.журнал.. -1990. - N 4. - С.441-453.

Репозиторий ВГУ