

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

**Биоиндикация антропогенного воздействия на экосистемы зеленых зон**

**Направление подготовки: Лесное дело**

**Магистерская программа Лесоведение, лесоводство и лесная пирология**

**Форма обучения: заочная**

## СОДЕРЖАНИЕ

1. Методические указания по проведению практических занятий.....	3
1.1 Практическое занятие № 1 История биоиндикации.....	3
1.2 Практическое занятие № 2 Закономерности воздействия экологических факторов на живые организмы: правило «оптимума».....	3
1.3 Практическое занятие № 3 Антропогенные факторы, вызывающие стресс.....	3
1.4 Практическое занятие № 4 Понятие биоиндикатора, его характеристики.....	4
1.5 Практическое занятие № 5 Высшие растения и их сообщества как индикаторы экологических условий.....	5
1.6 Практическое занятие № 6,7 Методы выявления индикаторов.....	5
1.7 Практическое занятие № 8 Индикационные признаки (часть 1).....	5
1.8 Практическое занятие № 9 Индикационные признаки (часть 2).....	6
1.9 Практическое занятие № 10 Чувствительность и достоверность биоиндикаторов.....	6
1.10 Практическое занятие № 11 Клеточный уровень (часть 1).....	7
1.11 Практическое занятие № 12 Клеточный уровень (часть 2).....	7
1.12 Практическое занятие № 13 Клеточный уровень (часть 3).....	8
1.13 Практическое занятие № 14 Тканевой уровень.....	9
1.14 Практическое занятие № 15 Биоиндикация на организменном уровне (растения).....	9
1.15 Практическое занятие № 16 Биоиндикация на организменном уровне (животные).....	10
1.16 Практическое занятие № 17 Популяционный уровень (растения).....	10
1.17 Практическое занятие № 18 Популяционный уровень (животные).....	11
1.18 Практическое занятие № 19 Экосистемный уровень. Действие на первичных продуцентов.....	12
1.19 Практическое занятие № 20 Экосистемный уровень. Действие на консументов и деструкторов.....	13
1.20 Практическое занятие № 21 Растения-индикаторы геологических условий....	14
1.21 Практическое занятие № 22, 23 Фитоиндикация почвенных условий.....	15
1.22 Практическое занятие № 24, 25 Беспозвоночные животные как индикаторы основных свойств почв.....	15
1.23 Практическое занятие № 26 Ландшафтная индикация экологических условий.....	16
1.24 Практическое занятие № 27 Индикация загрязнения атмосферного воздуха (часть 1).....	17
1.25 Практическое занятие № 28 Биоиндикация загрязнения атмосферного воздуха (часть 2).....	18
1.26 Практическое занятие № 29, 30 Биондикация состояния почвенного покрова.....	19
1.27 Практическое занятие № 31 Биоиндикация качества воды и степени загрязнения водоёмов.....	19
1.28 Практическое занятие № 32 Индикация загрязнений окружающей среды методами биологического тестирования.....	20

## **1.1 Практическое занятие № 1 (2 часа).**

**Тема: «История биоиндикации»**

**1.1.1 Задание для работы:** ознакомиться с основными этапами развития биоиндикации

### **1.1.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. ознакомиться с теоретической частью

2. заполнить таблицу «Основные этапы развития биоиндикации»

Этап развития	Основоположники биоиндикационных направлений	Методы биоиндикации

**1.1.3 Результаты и выводы:** в настоящее время биоиндикация загрязнений, основывающаяся на многовековом опыте использования методов биоиндикации в хозяйственной деятельности человека, находит все большее применение в области охраны окружающей среды и рационального природопользования.

## **1.2 Практическое занятие № 2 (2 часа).**

**Тема: «Закономерности воздействия экологических факторов на живые организмы: правило «оптимума»»**

**1.2.1 Задание для работы:** изучить закономерности воздействия экологических факторов на живые организмы: правило «оптимума».

### **1.2.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Перед занятием нагреть водяную баню до 40°C, в самом начале занятия погрузить в нее пучок из 5 одинаковых листьев исследуемых растений, скрепив черешки проволочкой.

2. Выдержать листья в воде в течение 30 мин, поддерживая температуру на уровне 40°C.

3. Затем взять первую пробу: оторвать по одному листу каждого вида растений и поместить в чашку Петри с холодной водой.

4. После охлаждения взять лист пинцетом и перенести в чашку с соляной кислотой.

5. Поднять температуру в водяной бане до 50°C и через 10 мин после этого извлечь из нее еще по одному листу, повторив операцию и перенеся охлажденный в воде лист в новую чашку Петри с соляной кислотой.

6. Так постепенно довести температуру до 80°C, беря пробы через каждые 10 мин при повышении температуры на 10°C.

7. Через 20 мин после погружения листа в HCl учесть степень повреждения по количеству бурых пятен. Результаты записать в таблицу, обозначив отсутствие побурения знаком «-», слабое побурение «+», побурение более 50% площади листа «++» и сплошное побурение «+++».

8. Записать результаты по разным древесным растениям в общую таблицу.

Объект	Степень повреждения листьев				
	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C

9. Построить ряд термостойкости древесных пород или комнатных растений по степени убывания. Сделать соответствующие выводы.

**1.2.3 Результаты и выводы:** Оптимум и пределы выносливости организмов по отношению любой фактора среды могут варьироваться в определенную сторону в зависимости от того, с какой интенсивностью и в каком сочетании действуют другие экологические факторы (явление взаимодействия экологических факторов).

## **1.3 Практическое занятие № 3 (2 часа).**

**Тема: «Антропогенные факторы, вызывающие стресс»**

**1.3.1 Задание для работы:** изучить действие стрессиндуцирующих антропогенных факторов.

### **1.3.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Проводят сбор показателей по следующим параметрам: направление улицы по сторонам света и увязка его с розой ветров; определение стороны улицы (солнечная, теневая); ширина улицы; тип; наличие высоких домов с обеих сторон улицы; наличие продувов между домами. усиленный продув на перекрестках расширенных улиц; наличие стоянок автобусов, автотранспорта, светофоров на перекрестках; близость зеленых насаждений к дороге (число рядов, номер ряда); вид насаждения (уличная одно-, двух-, трехрядная посадка, сквер, парк, двор); наиболее устойчивые и неустойчивые виды древесных пород.

2. Оценка состояния самих зеленых насаждений производится по следующим положениям (в обследование должны быть включены не менее 10-15 экземпляров одной древесной породы).

Фенологическое состояние (фенофаза). Обычно это состояние сильно различается в загрязненной зоне и в парках.

Наличие хлорозов, визуальная оценка процента хлорозной ткани (пожелтение ткани листа вследствие разрушения хлорофилла). Отмечается расположение повреждений на дереве (по отношению к дороге, по отношению к поверхности земли - низ кроны, средняя часть, верх кроны).

Наличие и процент точечного или краевого изменения пигментации листьев (появление красных, желтых, сине-фиолетовых, синих точек и пятен), вызванного попаданием на листья капелек серной и азотной кислот, солей тех или иных тяжелых металлов.

Наличие некрозов (отмершей ткани), их процент по сравнению с общей поверхностью листьев. Типы некроза: а) точечный; б) краевой; в) межжилковый; г) идущий лучами от жилок листа. Часто наибольший процент пораженной ткани наблюдается непосредственно у жилок листа, ближе к черешку.

### Поражение фито- и энтомовредителями.

3. В зоне влияния различных предприятий обследование зеленых насаждений производится аналогично. Собирают дополнительные данные о характере и количестве атмосферных выбросов того или иного предприятия, высоте труб, возможной дальности разноса загрязнителей в связи с типом климата, преобладающими ветрами и другими факторами.

4. оформить данную работу, учитывая все выявленные параметры, оценить стрессоустойчивость различных древесных пород в тех или иных экологических условиях, обосновать причины выявленных повреждений.

**1.3.3 Результаты и выводы:** Наличие очень стрессчувствительных биоиндикаторов дает возможность ранней индикации, когда реакция заметна уже при минимальных дозах спустя очень короткое время.

## **1.4 Практическое занятие № 4 (2 часа).**

### **Тема: «Понятие биоиндикатора, его характеристики»**

**1.4.1 Задание для работы:** ознакомление с основными принципами биоиндикации на примере определения состояния окружающей среды в прошлые годы по радиальному приросту древесных растений

### **1.4.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. На круговых спилах подсчитывают возраст дерева по годичным кольцам.
2. Измеряют ширину годичных колец, пользуясь измерительной лупой.
3. Струят графики роста дерева в толщину по годам в зависимости от стран света и экологических условий.

Выдвигаются различные гипотезы изменчивости роста дерева по годам.

**1.4.3 Результаты и выводы:** Радиальный прирост древесных растений очень хорошо отражает факторы среды. Он относится к неспецифическим признакам (прирост

одинаково реагирует на разнообразные факторы: солнечную активность, влажность почвы, ее плодородие, засоление, температуру, влажность воздуха и др.).

### **1.5 Практическое занятие № 5 (2 часа).**

**Тема: «Высшие растения и их сообщества как индикаторы экологических условий»**

**1.5.1 Задание для работы:** определение поражения и омертвления тканей листа при антропогенном загрязнении воздушной среды по проценту пораженной ткани. .

#### **1.5.2 Краткое описание проводимого занятия:**

Собранные листья расправляют, кладут на квадрат кальки, у которого длина и ширина соответствуют размерам листа.

Кальку взвешивают ( $P_{кв}$ ), лист очерчивают, по контурам на кальке вырезают его силуэт. Этую часть кальки также взвешивают ( $P_л$ ). Определяют площадь листа ( $S_л$ ):

$$S_л = P_л * S_{кв} / P_{кв}$$

Применение кальки обусловлено ее прозрачностью, что необходимо для дальнейшей работы.

Контуры листа на кальке совмещают с листом и очерчивают все поврежденные участки, вырезают, взвешивают. Вычисляют процент поврежденной ткани:

$$S_{повр} = P_{повр} * S_л * 100 / P_л$$

**1.5.3 Результаты и выводы:** высшие растения и их сообщества являются индикаторами экологических условий, т.к. очень чувствительны к загрязнению окружающей среды.

### **1.6 Практическое занятие № 6,7 (4 часа).**

**Тема: «Методы выявления индикаторов»**

**1.6.1 Задание для работы:** выяснить сравнительную устойчивость древесных пород к аммиаку и определить наиболее чувствительные биоиндикаторы.

#### **1.6.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Комочки (0,7 см<sup>3</sup>) гигроскопической ваты увлажняют 5%-ным аммиаком, опускают длинным пинцетом на дно конических колб-камер.

2. Берут пучки листьев (по 5-7 г) разных древесных пород, черешки обвязывают ниткой, опускают в колбы таким образом, чтобы листья висели, не соприкасаясь с реактивами.

3. Колбы закрывают пробкой и герметично задельывают пластилином.

4. Снятие результатов производится путем постоянного наблюдения, а также после выемки растений через 2-3 часа в чашку Петри и описания всех повреждений.

5. Устанавливают сравнительную устойчивость разных древесных пород к аммиаку.

6. Выделяют растения-биоиндикаторы.

**1.6.3 Результаты и выводы:** выявление биоиндикаторов основывается на чувствительности организмов к действию антропогенных факторов.

### **1.7 Практическое занятие № 8 (2 часа).**

**Тема: «Индикационные признаки (часть 1) »**

**1.7.1 Задание для работы:** изучить влияние условий произрастания на содержание хлорофилла в листьях растений - биоиндикационный признак неблагоприятных условий среды

#### **1.7.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Внимательно рассмотреть данные ФЭК по изучению оптической плотности вытяжки хлорофилла, приготовленной из листьев каштана конского, произрастающего в разных условиях.

2. Определить концентрацию хлорофилла по калибровочной кривой.

3. Вычислить количество хлорофилла в мг/г листа (по сырой или сухой массе).
4. Построить диаграмму зависимости содержания хлорофилла в листьях конского каштана от условий местопроизрастания.

**1.7.3 Результаты и выводы:** содержание хлорофилла в листьях некоторых древесных пород (липа мелколистная, клен платанолистный, каштан конский, ель обыкновенная, сосна обыкновенная) является неспецифическим индикационным признаком состояния окружающей среды.

### **1.8 Практическое занятие № 9 (2 часа).**

**Тема: «Индикационные признаки (часть 2)»**

**1.8.1 Задание для работы:** изучить изменения на клеточном уровне – индикационные признаки содержания тяжелых металлов.

**1.8.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. С поверхности сильноокрашенной синей луковицы сделать несколько срезов эпидермиса, состоящего из 1-2 слоев окрашенных клеток, содержащих антоциан.

2. Поместить срезы по отдельности в капли воды на предметные стекла, закрыть покровными стеклами и рассмотреть в микроскоп.

3. Клетки с окрашенным клеточным соком зарисовать; найти и рассмотреть устьица.

4. Определить начало и характер плазмолиза клетки под действием одинаковых концентраций биогенных и небиогенных солей. Для этого: заменить воду в препаратах 5%-ным раствором  $\text{CuSO}_4$  на одном предметном стекле и таким же раствором  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  на другом. Эта замена производится способом 4-5-кратного накалывания раствора соли с одной стороны покровного стекла и отсасывания кусочком фильтровальной бумаги с другой до полной замены воды раствором соли. Оставить клетки в растворе солей на 15 мин, когда плазмолиз будет хорошо заметен, рассмотреть в микроскоп. Зарисовать и сделать выводы относительно действия солей биогенных и небиогенных тяжелых металлов на характер плазмолиза клетки.

5. Выявить комплексное действие повышенной температуры и одной из наиболее токсичных солей. Для этого препараты, в которых вода заменена на раствор соли, выдерживают 10 мин на водяной бане при температуре 40°C, а потом рассматривают в микроскоп и зарисовывают. При этом часто наблюдается усиление плазмолиза и почернение содержимого некоторых клеток. Очевидно, соли свинца при реакции с сероводородными группами белков дают этот черный цвет.

**1.8.3 Результаты и выводы:** изменение структуры клеток является индикационным признаком содержания тяжелых металлов.

### **1.9 Практическое занятие № 10 (2 часа).**

**Тема: «Чувствительность и достоверность биоиндикаторов»**

**1.9.1 Задание для работы:** определить чувствительность растений к pH среды и содержанию солей тяжелых металлов по изменению цвета флавоноидных пигментов

**1.9.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Комочек ваты размером с просяное зерно смачивают в одном из растворов кислот, аммиака, указанных солей, прикрепляют лейкопластырем к листу или лепестку цветущего растения, выдерживают 1-1,5 часа, затем снимают. Реакцию учитывают как во время текущего занятия, так и через одну-две недели.

2. Кусочки лепестков свежих цветков, срезанную чешую фиолетового лука или листья фиолетовой капусты помещают в малую чашку Петри, заливают полностью или частично (в виде накалывания) растворами кислот, аммиака или солей тяжелых металлов, следят за изменением окраски.

3. Лепестки сухих или свежих антоцианодержащих растений заливают горячей дистиллированной водой, чтобы они размякли, растирают пестиком до состояния жидкой

кашицы. Выжимают через марлю и разливают по пробиркам, оставив образец раствора для контроля. Добавляют поочередно в каждую пробирку по несколько капель кислот (имитация кислых осадков), аммиака, растворов солей тяжелых металлов. Следят за последовательным изменением окраски.

4. Белые, цвета слоновой кости или желтоватые цветки, содержащие антоцианы или их предшественники, окуривают парами аммиака или дымом сигареты, следят за изменением окраски.

Схема записи опытов

Название	Ответная реакция по изменению цвета при действии реагентов							
	Контроль	$H_2SO_4$	$HCl$	$NH_4OH$	$FeCl_3$	$PbNO_3$	$HgNO_3$	$ZnSO_4$

5. Делают соответствующие выводы.

**1.9.3 Результаты и выводы:** комплекс экологических факторов (температура воздуха и почвы, влагообеспеченность, pH среды, загрязнение почв и воздуха тяжелыми металлами) сказывается на биосинтезе пигментов и этот биоиндикатор может оказаться наиболее информативным

### 1.10 Практическое занятие № 11 (2 часа).

**Тема: «Клеточный уровень (часть 1)»**

**1.10.1 Задание для работы:** изучить влияние обезвоживания древесных растений на состояние клеток листовой пластиинки.

**1.10.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Рассматривают под микроскопом свежеприготовленные срезы листьев разных древесных растений, растущих в относительно чистой зоне, но встречающихся в уличных посадках города, окрашенные «нейтральным красным» и плазмолизированные молярным раствором сахарозы.

2. Подсчитывают оставшиеся живыми клетки по возникшему плазмолизу. Чем больше осталось живых клеток, тем лучше растение выносит обезвоживание.

3. Страйт ряд устойчивости клеток разных растений к обезвоживанию (устойчивости к сернистому газу).

**1.10.3 Результаты и выводы:** 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 тurgора, колоколообразности листьев, пожелтении, появлении некрозов.

### 1.11 Практическое занятие № 12 (2 часа).

**Тема: «Клеточный уровень (часть 2)»**

**1.11.1 Задание для работы:** изучить влияние низких температур на состояние клеток листовой пластиинки.

**1.11.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Взвесить 2-3 г молодых листьев акации белой или каталпы (неморозостойкие породы), тополя черного (морозостойкая порода), растереть в ступке с 4 мл воды, добавив 6 мл при смывании, отделить обрывки тканей центрифугированием и разлить зеленый раствор хлорофилл-протеина в пробирки.

2. Заморозить растворы во всех пробирках в смеси снег-соль или лед-соль, рассматривая их через каждые 5 мин; отметить разницу в замерзании растворов от разных растений.

3. Растворить образовавшийся лед и подвергнуть растворы центрифугированию. Отметить разницу в величине осадка, представляющего коагулированный хлорофилл-белковый комплекс.

4. Подготовить растертый образец, как указано выше, и до замораживания добавить в пробирку сахарозу до полного ее растворения при встряхивании и перемешивании. Заморозить растворы хлорофилл-белкового комплекса с сахарозой и без нее, проследить коагуляцию белка и защитное действие сахарозы.

Использовать следующую градацию:

- Начало замерзания (гомогенная масса с кристаллами льда) - «+».
- Частичное замерзание (множественные кристаллы льда, но не сплошной слой) - «++».
- Полное замерзание (появление сплошного слоя льда: при перевертывании пробирки вода не выливается) - «+++».

5. Результаты записать в таблицу

Вариант	Время в мин						Величина осадка, мм
	5	10	15	20	25	30	

**1.11.3 Результаты и выводы:** Большинство растений средних и северных широт подвергается действию низких температур. Устойчивость к этому фактору определяется генетическими свойствами растений, их физиологическим состоянием. Особенно сильно страдают южные интродуценты. Это выражается в обратимой или необратимой потере листьями тургора, частичной или полной гибели ассимилирующей поверхности. Это явление сглаживается при наличии в клеточном соке защитных веществ (криопротекторов), роль которых выполняют сахара, свободные аминокислоты, соли органических и неорганических кислот.

## 1.12 Практическое занятие № 13 (2 часа).

**Тема: «Тканевой уровень»**

**1.12.1 Задание для работы:** Определение влажности листьев и их тургорного состояния как индикационных признаков в условиях уличных посадок городских экосистем

### 1.12.2 Краткое описание проводимого занятия:

1. Проводят обследование деревьев на улицах города в жаркий сухой день; у растений-индикаторов (липа, каштан, клен остролистный) учитывается визуально изменение состояния листьев (потеря тургора, обвисание, изменение направления роста у какой-либо части листа).

2. Одновременно на высоте 4-5 м от основания дерева срезают 30-50 листьев одной породы, растущей в разных экологических условиях (улицы, закрытые дворы, загородная территория), которые помещают в полиэтиленовые пакеты.

3. В лаборатории листья быстро перекладывают в бумажные пакеты (типа больших аптекарских) в трехкратной повторности, подписывают, взвешивают вместе с пакетом.

4. Листья высушивают лаборант при температуре + 105°C до постоянной массы к следующему занятию.

5. Материал быстро переносят в эксикатор, на дне которого находится  $\text{CaCl}_2$  (очень гигроскопичное вещество).

6. Затем листья взвешивают в пакете, освобождают пакет и взвешивают его.

7. Вычисляют влажность листьев (X) в процентах:

$$X = (a - 100/b)$$

где:  $a$  - масса испарившейся влаги,  $b$  - масса сухих листьев.

Схема записи

Место взятия образца	Масса пакета с сырыми	Масса пакета с сухими	Масса пустого пакета, г	Влажность листьев, %

Делают оценку состояния листьев в разных экологических условиях и заключение о состоянии окружающей среды в месте взятия образцов

**1.12.3 Результаты и выводы:** оводненность тканей растений - один из информативных неспецифических показателей состояния воздушной и почвенной среды.

## 1.13 Практическое занятие № 14 (2 часа).

## Тема: «Биоиндикация на организменном уровне (растения)»

**1.13.1 Задание для работы:** изучить методику индикационных исследований по изменение феноритмов у растений.

### 1.13.2 Краткое описание проводимого занятия:

1. Построить и объяснить феноспектры (прохождение фенофаз) для одной и той же древесной породы при ее произрастании в районе водоема (например, Зауральная роща), расположенного в пределах городской экосистемы, и при произрастании этого же вида в посадках центральных улиц города. Данные по срокам фенофаз в справочных материалах.

2. Построить и объяснить феноспектры (прохождение фенофаз) для липы, растущей в уличных посадках городской среды и в загородном парке.

3. Нанести на феноспектр длину вегетационного периода древесных пород в резко различающихся условиях среды.

4. Выдвинуть версию - объяснение изменения феноритмов при произрастании древесных пород в разных экологических условиях и возможности использования этого интегрального показателя как весьма информативного бионикатора.

### 1.13.3 Результаты и выводы:

**1.13.3 Генетика и выводы.**  
Фенологические наблюдения - это основа всех экологических прогнозов. Под влиянием неблагоприятных изменений абиотических, биотических и антропогенных факторов среды у растений в пределах генетически обусловленной нормы реакции происходит смещение фенофаз, иногда - накладка одной фенофазы на другую, выпадение фенофаз. При сильном воздействии антропогенных факторов среды (вредные выбросы предприятий и автотранспорта) у древесных видов наблюдается сокращение вегетационного периода на весьма ощутимые величины.

## 1.14 Практическое занятие № 15 (2 часа).

## Тема: «Биоиндикация на организменном уровне (животные)»

**1.14.1 Задание для работы:** интегральная экспресс-оценка качества среды обитания живых организмов по флуктуирующей асимметрии некоторых признаков позвоночных и беспозвоночных животных.

### 1.14.2 Краткое описание проводимого занятия:

1. С каждого препарата рыб снять 5 признаков.
2. Данные измерений занести в таблицу:

## Феногенетические признаки исследуемых животных

3. Провести оценку величины флюктуирующей асимметрии по дисперсии относительного различия между сторонами (л — левая, п — 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.

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

$$\text{ЧАП} = \sum_{i=1}^n k_i$$

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

6. Провести балльную оценку качества среды обитания.

**1.14.3 Результаты и выводы:** нарушение симметрии развития является показателем изменения морфогенетического гомеостаза животных под действием антропогенных факторов (Мелехова, 2007), в частности комплексного загрязнения водоёма и длительности негативного воздействия

### 1.15 Практическое занятие № 16 (2 часа).

**Тема: «Популяционный уровень (растения)»**

**1.15.1 Задание для работы:** определить состояние окружающей среды, в частности почвы, по частотам встречаемости различных фенов клевера белого.

**1.15.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Для работы необходимо выбрать участок (-и), который испытывает влияние какого-либо источника загрязнения (автотрасса, 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.

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.

$$P_2 = (n_2 / N) \times 100\% \text{ и т.д.}$$

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.

$$\text{ИФС}_1 = [(n_2 + n_3 + \dots) / N] \times 100\%.$$

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

6. Сделать вывод.

**1.15.3 Результаты и выводы:** Антропогенное воздействие, в частности загрязнение, зачастую и является таким фактором, отражаясь на вариабельности признаков и фенотипической структуре популяции. Поэтому частота встречаемости некоторых фенов может являться биоиндикатором степени загрязнения среды.

## **1.16 Практическое занятие № 17 (2 часа).**

**Тема: «Популяционный уровень (животные)»**

**1.16.1 Задание для работы:** определить состояние окружающей среды, в частности почвы, по численности дождевого червя.

### **1.16.2 Краткое описание проводимого занятия:**

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).

5. Заполнить таблицы для каждого участка исследования:

Количество дождевых червей на участке

№ ... № участка	№ пробы	Число червей (экз/м <sup>2</sup> )	Масса червей (г/м <sup>2</sup> )	Примечания
Среднее для участка				

**1.16.3 Результаты и выводы:** Антропогенное воздействие является таким фактором, отражающимся на структуре популяции животных. Поэтому частота встречаемости некоторых видов животных может являться биоиндикатором степени загрязнения среды.

## **1.17 Практическое занятие № 18 (2 часа).**

**Тема: «Экосистемный уровень. Действие на первичных продуцентов»**

**1.17.1 Задание для работы:** оценить состояние лесной экосистемы.

### **1.17.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Выбрать пробные площадки в древесных насаждениях в разных районах города.

2. Описать состояние листьев или хвои на деревьях, отмечая признаки, указанные в таблице. 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.

Характеристика категорий состояния деревьев

Категория деревьев	Основные признаки	Дополнительные признаки
Хвойные породы		
1	без признаков ослабления	Хвоя зеленая блестящая, корона 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, объедания хвои, выраженные сильнее, чем у предыдущей категории деревьев; попытки поселения или удавшееся местно заселение стволовых вредителей на стволе или ветвях
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 осипалась лишь частично Признаки предыдущей категории; в конце сезона возможно наличие на части дерева вылетных отверстий насекомых
6	сухостой прошлых лет	Хвоя осипалась или сохранилась лишь частично, мелкие веточки, как правило, обломились, большая часть ветвей и коры осипалась На стволе и ветвях имеются вылетные отверстия насекомых, под корой - обильная буровая мука и грибница дереворазрушающих грибов
Лиственные породы		
1	без признаков ослабления	Листья зеленая, блестящая, крона густая прирост текущего года нормальный для данных породы, возраста, условий места произрастания и сезона
2	ослабленные (в кроне до 25 % сухих ветвей)	Листья 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
3	ослабленные (сухих ветвей 25-50 %)	Листья мельче или светлее обычной, преждевременно опадает, крона изрежена. Признаки предыдущей категории выражены сильнее, попытки поселения или удавшиеся местные поселения стволовых вредителей, сокотечение и водяные побеги на стволе и ветвях
4	сильно ослабленные (сухих ветвей 50-75 %)	Листья мельче или светлее обычной, преждевременно опадает, крона изрежена. Признаки предыдущей категории выражены сильнее; попытки поселения или удавшиеся местные заселения стволовых вредителей, сокотечение и водяные побеги на стволе и ветвях
5	усыхающие сухокронные (в кроне более 75% сухих ветвей)	Листья мельче, светлее или желтее обычной, преждевременно опадает или увядает, крона сильно изрежена. 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
6	сухостой текущего года	Листва усохла, увяла или преждевременно опала, мелкие веточки и кора сохранились. На стволе, ветвях и корневых лапах час-то признаки заселения стволовыми вредителями и поражения грибами
6	сухостой прошлых лет (старый)	Листва и часть ветвей опали, кора разрушена или опала на большей части ствола Имеются вылетные отверстия насекомых на стволе, ветвях и корневых лапах, на коре и под корой - грибница и плодовые тела грибов

4. Сделать выводы о состоянии насаждений на изучаемой территории.

**1.17.3 Результаты и выводы:** В качестве надежных индикаторов состояния лесов и со-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 территорий и природно-территориальных комплексов разного ранга.

### 1.18 Практическое занятие № 19 (2 часа).

#### Тема: «Экосистемный уровень. Действие на консументов и деструкторов»

**1.18.1 Задание для работы:** изучить влияние антропогенных факторов на качественное и количественное состояние микробоценоза почвы.

#### 1.18.2 Краткое описание проводимого занятия:

1. Отвесить 1 г исследуемой почвы из среднего образца и развести стерильной водой по следующей схеме: высыпать навеску почвы в колбу на 100 мл, развести стерильной водой, закрыть стерильной пробкой и тщательно взбалтывать в течение 5 мин.

2. Взять стерильной пипеткой 1 мл почвенной болтушки из колбы и внести в пробирку с 9 мл стерильной воды; перемешать, перенести 1 мл из второй пробирки в третью, откуда после перемешивания взять 1 мл и внести в стерильную чашку Петри. При большом количестве микроорганизмов в почве следует ввести еще одно разведение до 0,00001 г.

3. Подписать чашку карандашом по стеклу. После полного застывания агара перевернуть чашку вверх дном, чтобы образующиеся при конденсации водяного пара капельки воды не попадали в среду. Поставить в термостат при температуре +25°C.

4. Через одну - две недели производится подсчет количества выросших колоний и определяется, сколько микроорганизмов содержалось в 1 г почвы, в 1 мл воды. Если колоний микроорганизмов очень много, рекомендуется разделить чашку Петри на секторы (1/4, 1/8).

Во время подсчета каждую колонию следует пометить восковым карандашом или авторучкой на стекле чашки Петри, помня, что каждая микробная клетка дала одну колонию.

#### Схема записи результатов

Характеристика	Число колоний, шт.	
	В чашке Петри	В 1 г почвы
Типичный чернозем загородной зоны		
Малогумусный чернозем обочин городских дорог		

5. Сделать выводы относительно содержания микроорганизмов: а) в почве и воде, б) в различных типах почв, в) в разных источниках воды.

В случае анализа по полной схеме можно отдельные варианты поручить разным группам студентов, а результаты записать на доске.

#### 1.18.3 Результаты и выводы:

При изменении химических параметров почвы в почвенных ценозах происходит снижение активности и обилия организмов (микроархопод и микробов), разлагающих органические вещества, обеднение фауны.

### **1.19 Практическое занятие № 20 (2 часа).**

**Тема: «Растения-индикаторы геологических условий»**

**1.19.1 Задание для работы:** освоить методику фитоиндикации геологических условий.

#### **1.19.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Получить у преподавателя задание на карточке.
2. С помощью определителей и каталогов дать названия растениям по номерам.
3. Выяснить, индикатором каких геологических условий являются данные растения.
4. Рассчитать коэффициенты достоверности и значимости растений-индикаторов.
5. Дать характеристику свойств почв, на которые указывают найденные вами растения-индикаторы.
6. В отчете привести все названия растений, среди них указать растения-индикаторы и характеризуемые ими свойства почв; привести расчеты коэффициентов достоверности и значимости индикаторов.

**1.19.3 Результаты и выводы:** Ряд растений-индикаторов определённым видимым образом реагирует на повышенные или пониженные концентрации микро- и макроэлементов в почве. Это явление используется для предварительной оценки почв, определения возможных мест поиска полезных ископаемых.

### **1.20 Практическое занятие № 21, 22 (4 часа).**

**Тема: «Фитоиндикация почвенных условий »**

**1.20.1 Задание для работы:** оценить загрязнение почвы по всхожести семян и проросткам кress-салата

#### **1.20.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Предварительно проверяют семена на всхожесть (всхожесть – процент проросших семян от числа посевных): норма – 90-95% проросших семян при температуре 20-25°C за 3-4 суток. Для этого размещают семена на прикрытым 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 (гумуси-рованной, 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 и сделать вывод о степени загрязнения субстрата. В таблицу вносят средние данные.

Скорость прорастания семян крестоцветных

Субстрат	Число проросших семян, %				Всхожесть, %
	1 сут.	2 сут.	3 сут.	...	
Вариант 1					
Вариант 2					
...					

**1.20.3 Результаты и выводы:** капустные, используется как ранняя зелень), быстро растущее и отли-чающееся очень хорошей всхожестью, а также очень чувствительное к загрязнению среды

## 1.21 Практическое занятие № 23, 24 (4 часа).

Тема: «Беспозвоночные животные как индикаторы основных свойств почв»

**1.21.1 Задание для работы:** освоить методику индикации характеристик почв по состоянию микробоценоза.

### 1.21.2 Краткое описание проводимого занятия:

1. Наливают в химические стаканы почвенную вытяжку, воду из ПЗ-19 (по 200 мл в трехкратной повторности). Контроль - очищенная или аквариумная вода.

2. В каждый стакан помещают по 10 раков в возрасте 2-4 суток. Для этого пипеткой с широким концом дафний отлавливают из сосуда, где они выращивались, и помещают на часовое стекло. Тонкой пипеткой отсасывают воду со стекла и дафний смывают в приготовленный стакан, используя жидкость из этого же стакана. Дафний сначала помещают в контрольные, а затем в опытные стаканы, начиная с наименьшей концентрации. При проведении опыта их не кормят.

3. По истечении 1, 2, 4, 8, 24, 48 часов снимают результаты опытов, учитывая при этом число живых особей, их поведение (активность и характер передвижения), степень наполнения кишечника пищей, количество сброшенных эфипиумов (при действии токсического агента нарушаются метаболические процессы у особей и, как реакция на токсикант, происходит линька и сбрасывание эфипиума). Те животные, которые в течение нескольких секунд после легкого встряхивания стакана не начинают двигаться вновь, считаются погибшими, несмотря на то, что у них могут двигаться антенны.

4. При осмотре стаканов погибших дафний удаляют пипеткой, начиная с наименее концентрированного раствора, после чего пипетку тщательно моют. Для контроля должна быть отдельная пипетка.

Если гибель дафний в контроле превышает 10%, то опыт повторяют.

При отмирании 50% особей концентрация считается сильно токсичной (среднелетальная) и обозначается  $ЛК_{50}$ . При гибели 100% особей концентрация считается летальной ( $ЛК_{100}$ ). Минимальная концентрация, при которой организмы не гибнут, обозначается  $ЛК_0$ .

Если за период наблюдений гибель дафний не наблюдается даже в неразбавленной воде, значит острой токсичностью она не обладает. При гибели 20% особей концентрация уже считается вредной.

5. В результате опытов можно получить ответы на следующие вопросы:

Является ли испытуемое вещество или сточная вода остротоксичными?

Каким должно быть разбавление сточной воды или какой должна быть концентрация вещества, чтобы исчезла острая токсичность?

**1.21.3 Результаты и выводы:** Микроорганизмы – наиболее быстро реагирующие на изменение окружающей среды биоиндикаторы. Их развитие и активность находятся в прямой связи с составом органических и неорганических веществ в среде, так как

микроорганизмы способны разрушать соединения естественного и антропогенного происхождений. На этом основаны принципы биоиндикации с использованием микроорганизмов. Необходимо иметь сведения о составе, количестве и функциональной активности последних.

### **1.22 Практическое занятие № 25 (2 часа).**

**Тема: «Ландшафтная индикация экологических условий»**

**1.22.1 Задание для работы:** ознакомиться с методикой ландшафтной индикации по типам леса.

#### **1.22.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Перечислите характерных представителей напочвенного покрова в следующих типах леса:

Тип леса	Представители напочвенного покрова (индикаторы типов леса)
Сосняк-лишайниковый Сухая суборь (В1) Сухая судубрава (С1) Очень сухой бор (Ао) Влажная суборь (Вз) Сухая дубрава (Д1) Сосняк-брусничник Ельник-кисличник Сосняк-долгомошник Ельник – травяно- болотный Сосняк-черничник Влажный бор (Аз)	

2. Какие типы условий местопроизрастания (по П.С. Погребняку) соответствуют следующим типам леса (по В.Н. Сукачеву)

Тип леса (по В.Н.Сукачеву)	Тип условий местопроизрастания (по П.С. Погребняку)
Сосняк- лишайниковый Сосняк – долгомошник Сосняк – брусничник Сосняк – черничник Ельник – кисличник Ельник – липовый Ельник – приручейный Ельник – брусничник	

3. Дайте характеристику гидротопам (по П.С. Погребняку).

Гидротопы	Почва, степень увлажнения, уровень грунтовых вод	Господствующие древесные породы, их класс бонитета. Подлесок.	Характерные представители напочвенного покрова

0. Крайне сухие местообитания (ксерофильные)
1. Сухие местообитания (мезоксерофильные)
2. Свежие местообитания (мезогигрофильные)
3. Влажные местообитания (мезогигрофильные)
4. Сырые местообитания (гигрофильные)
5. Лесные болота (ультрогигрофильные)

**1.22.3 Результаты и выводы:** ландшафтная индикация основывается на том, что ландшафтные условия являющиеся совокупностью условий, отражаются на типе формирующегося фитоценоза.

### **1.23 Практическое занятие № 26 (2 часа).**

**Тема: «Биоиндикация загрязнения атмосферного воздуха (часть 1)»**

**1.23.1 Задание для работы:** Определение площади листьев у древесных растений в загрязненной и чистой зонах

#### **1.23.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Во время экскурсии по городу, студенты срезают по 20-25 листьев каждой древесной породы с деревьев, растущих в разных экологических условиях.

2. Складывают листья в пакеты, а затем засушивают между листами газетной бумаги в лабораторных условиях.

3. Затем проводят установление переводного коэффициента. Для этого берут бумагу (лучше в клеточку) и очерчивают квадрат, равный длине и ширине листа, а затем аккуратно обрисовывают его контур. Вычисляют площадь квадрата бумаги, вырезают и взвешивают его, затем вырезают контур листа и также взвешивают.

Из полученных данных вычисляют переводной коэффициент по формулам 1 и 2:

$$K = S_{л}/S_{кв}$$

$$S_{л}=S_{кв}P_{л}/P_{кв}$$

где:

$K$  - переводной коэффициент,

$S$  - площадь листа (л) или квадрата бумаги (кв),

$P$  - масса квадрата бумаги или листа.

Вычисление коэффициента производится на основании измерения 7-8 листьев.

4. Таким же расчетом он устанавливается отдельно для каждого вида растений.

5. Затем измеряют длину (А) и ширину (В) каждого листа и умножают на переводной коэффициент (K):

$$S=ABK$$

Получаем ряд значений изменчивости площади листьев для каждой древесной породы в разных экологических условиях.

6. Для каждого ряда вычисляют среднеарифметические величины, сравнивают между собой.

7. Строят вариационные кривые встречаемости листьев определенной площади в разных условиях среды.

При этом все ряды по площади листьев разбивают на классы от самого маленького листа до самого большого с одинаковым шагом между классами.

**1.23.3 Результаты и выводы:** В санитарных зонах предприятий, в уличных посадках в большинстве случаев размеры листьев уменьшены по сравнению с более чистой загородной территорией.

### **1.24 Практическое занятие № 27 (2 часа).**

**Тема: «Биоиндикация загрязнения атмосферного воздуха (часть 2)»**

**1.24.1 Задание для работы:** построить карту состояния среды на определенной территории по реакциям хвойных

#### **1.24.2 Краткое описание проводимого занятия:**

##### **Изучение хвои**

1. Хвою осматривают при помощи лупы, выявляют и зарисовывают хлорозы, некрозы кончиков хвоинок и всей поверхности, их процент и характер (точки, крапчатость, пятнистость, мозаичность).

2. Измеряют длину хвои на побеге прошлого года, а также ее ширину (в середине хвоинки) при помощи измерительной лупы. Повторность 10-20-кратная.

3. Устанавливают продолжительность жизни хвои путем просмотра побегов с хвоей по мутовкам.

4. Вычисляют массу 1000 штук абсолютно сухих хвоинок.

5. Определяют степень сближенности хвоинок.

Во всех случаях измерений выводится среднее.

Схема записи результатов измерений хвои

Место взятия образца	Длина, мм	Ширина, мм	Продол- житель- ность жизни, лет	Число хвоинок на 10 см побега, шт.	Вес шт, г	1000	Некрозы	
							%	харак- тер

### Изучение побегов

6. Измеряют длину прироста каждого года, начиная от последнего, двигаясь последовательно по междуузлиям от года к году.

7. Устанавливают толщину осевого побега (на примере двухлетнего).

8. В местах мутовок подсчитывают ветвление, выводится среднее.

9. На побегах устанавливают наличие некрозов (точечное или другой формы отмирание коры).

### Изучение почек

10. Подсчитывают число сформировавшихся почек, вычисляют среднее.

11. Измеряют длину и толщину почек измерительной лупой.

Схема записи результатов измерений побегов и почек

Место	Побеги			Почки		
	Длина осевых побегов,	Толщина осе- вых побегов,	Ветвление, шт.	Число, шт.	Длина, мм	Толщина, мм

*Примечание.* Для построения карты состояния среды на определенной территории по реакциям хвойных все биометрические показатели выражаются в баллах (самый высокий балл - 5 - в чистой зоне) и наносятся на карту, а затем контурными линиями выделяются зоны разной степени загрязнения.

**1.24.3 Результаты и выводы:** Наиболее удобными биоиндикаторами атмосферного загрязнения среды являются хвойные деревья, т.к. они отличаются высокой чувствительностью к повышенным концентрациям токсических веществ в окружающей среде. В городских условиях хвойным деревьям необходимы дополнительные затраты для компенсации воздействия стрессовых факторов, что снижает интенсивность роста и репродукцию биомассы. Одним из используемых параметров для оценки такого влияния являются морфометрические показатели хвои.

## **1.25 Практическое занятие № 28-39 (4 часа).**

### **Тема: «Биондикация состояния почвенного покрова»**

**1.25.1 Задание для работы:** определить токсичность почв методом биотестирования на проростках растений.

#### **1.25.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Взятые образцы почв (например, одинаковые типы почв под уличными посадками в разных частях города, различающиеся по загруженности улиц автотранспортом) растирают в ступке и просеивают через мелкое сито.

2. Взвешивают на кальке 10 г почвы в трехкратной повторности

3. Пересыпают почву в колбочку или стаканчик.

4. Приливают 25 мл дистиллированной воды.

5. Энергично взбалтывают 10-15 мин, оставляют на ночь.
6. Жидкость фильтруют через воронку со складчатым фильтром.
7. Жидкость с колбой стерилизуют в кипящей водяной бане методом погружения и кипячения 10-15 мин, горлышко колбы закрывают фольгой.
8. Охлаждают, затем этой вытяжкой смачивают 2 фильтра до полной влагоемкости.
9. Фильтры стерилизуют вместе с чашками Петри.
10. На фильтры раскладывают диски листьев наземных растений нижней стороной вниз. Повторность трехкратная (по 10 дисков).
11. Чашки Петри закрывают крышками и ставят в термостат в темноту при температуре +25°C - + 26°C. Наблюдения проводят через 1 сутки утром и вечером каждого дня.

Контролем служат диски, помещенные на чистую простерилизованную воду

12. Результаты выражают в процентах от контроля, взятого за 100, или абсолютно (по площади пораженной ткани). Стрягают график.

**1.25.3 Результаты и выводы:** Тест на прорастание семян хорошо разработан и очень давно применяется для установления воздействия различных физиологически активных веществ. Биологические пробы применимы и для токсикологической оценки различных компонентов окружающей среды (в том числе и воздушного загрязнения).

## **1.26 Практическое занятие № 30 (2 часа).**

**Тема: «Биоиндикация качества воды и степени загрязнения водоёмов»**

**1.26.1 Задание для работы:** провести биотестирование речной воды методом накапывания между семедолями.

**1.26.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Загрязненные природные или сточные воды концентрируют упариванием в 10 раз, хранят в холодильнике.
2. Стаканчики наполняют одинаковым количеством промытого и про-каленного 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.
4. 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.
5. У микропипеток в 1 мл (можно использовать микропипетки для взятия крови) вытягивают кончик, нагревая его в пламени спиртовки и используя для оттягивания пинцет.
6. Затем затачивают кончик на тонкозернистом брускочке, чтобы образовалось отверстие, дающее небольшую каплю. Накапывают по 1 капле испытуемого вещества между семедолями, 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.
7. Полив субстрата для выращивания производят одинаковым количеством воды через трубочку, используя воронку из фольги.
8. Через 2-3-4 недели осторожно выкапывают проростки, промывают, обсушивают фильтровальной бумагой, измеряют и взвешивают отдельно надземную часть и корни.
9. Данные обрабатывают статистически, выражают в процентах к контролю.

**1.26.3 Результаты и выводы:** наиболее перспективными для биоиндикационных исследований являются проростки пшеницы, у которых под действием тяжелых металлов и других загрязняющих веществ значительно угнетался рост надземной части растений, что может служить биоиндикационным признаком для определения общей токсичности среды.

## **1.27 Практическое занятие № 31 (2 часа).**

**Тема: «Индикация загрязнений окружающей среды методами биологического тестирования»**

**1.27.1 Задание для работы:** провести биотестирование речной воды по росту отрезков колеоптилей пшеницы.

### **1.27.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. Из речной воды приготавливают серию растворов на 2%-ной сахарозе методом последовательного разбавления. Последний из растворов должен быть ниже ПДК.

2. Ростки пшеницы срезают у основания бритвой или пинцетом с заточенными кончиками, складывают в чашку Петри.

3. Используя миллиметровку и предметное стекло, разделяют колеоптили на фракции: 1,5-2 мм, 2-2,5 мм и работают на преобладающей фракции.

4. От колеоптиля бритвой отсекают кончик 0,5 мм, вырезают следующие 5 мм — зону растяжения, и помещают на 10-15 мин в чашку Петри с дистиллированной водой для удаления ауксинов и лучшей реакции на испытуемое вещество.

5. Через указанное время вырезанные зоны колеоптилей помещают (по 10 шт.) в пенициллиновые бутылочки с испытуемым раствором, которые закрывают резиновыми пробками. Повторность опытов - трехкратная.

6. Пенициллиновые бутылочки осторожно поворачивают набок, отрезки колеоптилей расправляют так, чтобы они все плавали в растворе. В таком состоянии их помещают в термостат при температуре +25°C - +26°C на неделю.

7. Снимают результаты измерения длины отрезков колеоптилей. Рост их на чистой 2%-ной сахарозе принимается за контроль (100%), реакция же на испытуемые растворы подсчитывается относительно контроля.

8. Строится гистограмма ингибирования (а в отдельных случаях и стимулирования) роста отдельными токсическими веществами или их смесями (вытяжка из почвы, вода) в разных разведениях.

**1.27.3 Результаты и выводы:** Биотест с отрезками колеоптилей пшеницы также хорошо разработан и основан на растяжении определенной зоны колеоптиля под действием того или иного вещества по сравнению с контролем, который принимается за 100%.