

УДК 504.054 (075.8)
ББК 28.081я73-1
Э 40

Печатается по решению
редакционно-издательского совета
Уральского государственного
университета им. А. М. Горького

*Материалы для публикации подготовлены
в рамках Федеральной целевой программы «Интеграция»*

Авторы: докт. биол. наук В. С. Безель (введение и заключение);
канд. биол. наук Е. А. Бельский (гл. 6); канд. биол. наук Д. В. Веселкин (гл. 4);
канд. биол. наук Е. Л. Воробейчик (гл. 5); канд. биол. наук С. Ю. Кайго-
родова (гл. 1); канд. биол. наук И. Н. Михайлова (гл. 3); канд. биол. наук
С. В. Мухачева (гл. 7); канд. биол. наук Е. В. Хантемирова (гл. 2)

Под общ. ред. проф. В. С. Безеля

Рецензенты: кафедра ботаники и методики преподавания
биологии Урал. гос. пед. ун-та; докт. биол. наук гл. науч. сотр. Ботани-
ческого сада УрО РАН А. К. Махнее

*Экологическая токсикология: Учеб. пособие / Под общ. ред.
проф. В. С. Безеля. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2001. 136 с.
ISBN 5-7996-0105-4*

ББК 28.081я73-1
УДК 504.054 (075.8)

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Понятие экологической токсикологии	4
Эколого-географические особенности района расположения стационара	6
Глава 1. ПРЕОБРАЗОВАНИЕ СВОЙСТВ ПОЧВЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ АТМОСФЕРНЫХ ВЫБРОСОВ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ	9
Методы исследования загрязненных почв	10
Техногенные преобразования почв	11
Экологические последствия загрязнения почв и их диагностика	18
Глава 2. СОСТОЯНИЕ ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ	20
Методы полевых исследований лесных фитоценозов	21
Характеристика деградации фитоценозов в районе стационара	27
Глава 3. СОСТОЯНИЕ СООБЩЕСТВ ЭПИФИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ	31
Методика лишайниковых исследований	34
Состояние лишайниковых сообществ в районе стационара	35
Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ МИКОРИЗНЫХ АССОЦИАЦИЙ В ЗОНЕ СТАЦИОНАРА (НА ПРИМЕРЕ ЭКТОМИКОРИЗ)	38
Методы исследования микориз	39
Развитие микориз в разных зонах техногенной нагрузки	44
Глава 5. СОСТОЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ БИОТЫ	47
Методы изучения почвенной биоты	51
Техногенная трансформация почвенной биоты	59
Глава 6. СОСТОЯНИЕ ОРНИТОФАУНЫ	65
Методы полевых исследований птиц	68
Состояние орнитофауны в районе стационара	76
Глава 7. СОСТОЯНИЕ НАСЕЛЕНИЯ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ	86
Методы полевых исследований	91
Состояние населения мелких млекопитающих в районе стационара	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	126
Список литературы	128

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКОРИЗНЫХ АССОЦИАЦИЙ В ЗОНЕ СТАЦИОНАРА (НА ПРИМЕРЕ ЭКТОМИКОРИЗ)

Взаимодействие растений (автотрофных организмов) и симбиотрофных грибов (гетеротрофов), приводящее к формированию микоризных ассоциаций, или микориз, является основой существования большинства наземных экосистем. Для древесных растений характерно облигатное формирование эктомикоризных ассоциаций, для большинства травянистых растений — эндомикоризных. Многие доминанты напочвенного покрова бореальных лесов (растения сем. *Ericaceae* и *Vacciniaceae*) также облигатно микотрофны и образуют микоризы эрикоидного типа.

Результатом взаимодействия симбионтов в микоризных ассоциациях является существенное расширение адаптивных возможностей каждого вида, вступающего в симбиоз, благодаря чему в большинстве растительных сообществ доминантами оказываются высокомикотрофные растения. Микоризные грибы, в частности эктомикоризные, также выступают в роли доминантов в почвенных микро- и микробеценозах таежных лесов, развивая большую биомассу и активно влияя на прочие группы организмов. Суть взаимоотношений симбионтов в микоризах сводится к «взаимовыгодному» обмену органическими и неорганическими соединениями, а также к взаимной регуляции роста и формообразовательных процессов. Грибы эффективно улавливают, депонируют и перераспределяют в корни растений минеральные вещества (преимущественно азот и фосфор), в свою очередь получая от растений органические углеродсодержащие соединения (продукты фотосинтеза). Обзоры по строению и физиологии микоризных ассоциаций содержатся в работах Н. М. Шемахановой (1962), Н. В. Лобанова (1971), И. А. Селиванова (1981), И. В. Каратыгина (1993) и др. В соответствии с современными представлениями взаимодействие между растениями и микоризными грибами в значи-

тельной мере определяет видовое разнообразие, продуктивность и устойчивость наземных экосистем (см.: Каратыгин, 1993; Read, 1998; Heijden van der et al., 1998).

Большое экологическое значение микоризных ассоциаций определяется важностью изучения их реакций на техногенные воздействия. Являясь физиологически активными всасывающими органами, находясь на границе между почвой и корнями растений и будучи также зависимыми от состояния ассимилирующих органов растений, микоризы реагируют как на загрязнение атмосферы газообразными поллютантами, так и на такие типы техногенного воздействия, которые оказывают негативное воздействие на биоту через трансформацию почвенных характеристик.

В биоиндикационных исследованиях изучение микориз не имеет явных преимуществ по сравнению с большинством других биологических индикаторов, так как чувствительность эктомикоризных симбиозов к техногенным нагрузкам невысока, к тому же на настоящий момент нельзя дать однозначной характеристики реакции эктомикориз на различные типы техногенных воздействий. Однако экологическая индикация по состоянию микориз имеет одно явное достоинство: таким способом непосредственно оценивается состояние системообразующих для лесной экосистемы связей между организмами различных трофических уровней (см.: Весёлкин, 1996).

Как уже указывалось, для древесных растений — доминантов бореальных экосистем, и хвойных и лиственных, — характерны эктомикоризы. Поскольку поражение древесного яруса является наиболее заметным симптомом поражения экосистем и причиной, «запускающей» механизмы деградации прочих компонентов экосистем, в дальнейшем рассмотрены методы исследования и основные аспекты реакции на техногенные воздействия именно эктомикоризных ассоциаций.

Методы исследования микориз

Методы полевых исследований

Исследование эктомикориз в любых экологических ситуациях, различных градиентах внешних условий (в том числе и в условиях техногенных воздействий) логично проводить как часть комплексных исследований природных сообществ в данных условиях. Поэтому

При исследовании микориз растений первого яруса извлечение неповрежденных корневых мочек из почвы становится довольно трудной задачей. Лучше всего отбор образцов проводить из стенки траншеи или почвенного разреза, обязательно записывая почвенный горизонт, из которого извлечены микоризы. Во многих случаях при исследовании микориз взрослых растений приходится ограничиваться изучением их разнообразия и внутреннего строения, без учета количественных параметров микоризообразования. В таких случаях можно извлекать образцы микориз, не выкапывая разрезов, пользуясь лопатой или почвенными бурами, различными трубами и т. п. Определенную сложность при исследовании микориз взрослых растений представляет задача огличения корней и микориз разных видов деревьев в смешанных древостоях. Поэтому предварительно, путем тщательной раскопки скелетных и проводящих корней, следует ознакомиться с особенностями морфологии корней и микориз исследуемых видов. Фиксировать образцы корней удобно в пенициллиновых пузырьках.

Методы камеральной обработки

Эти методы подробно описаны Н. В. Лобановым (1971) и И. А. Селивановым (1981). Камеральная обработка является более трудоемкой процедурой, чем сбор материала. Ниже рассмотрены некоторые особенности методики, основанные на нашем опыте и вытекающие из специфики задачи — исследования микориз в условиях загрязнения.

Всего можно выделить 4 группы параметров, с разных сторон характеризующих состояние эктомикоризных ассоциаций: 1) количественные (счетные); 2) морфологические параметры развития микориз; 3) разнообразие микориз; 4) параметры внутреннего (анатомического) строения микориз.

При исследовании количественных характеристик развития микориз (такие параметры, как количество микориз у одной особи растения, плотность микориз, интенсивность микоризации) следует определяться с выбором счетной единицы. Можно подсчитывать, во-первых, количество микориз, т. е. структур, развивающихся из одного короткого бокового сосущего корешка, прикрепляющихся к проводящему корню в одном месте. Во-вторых, можно подсчитывать количество микоризных окончаний, т. е. терминальных микоризных ответвлений корневой системы (следует учитывать, что одна микориза может включать несколько микоризных окончаний). Иногда

пробные площади, на которых производится сбор материала, лучше всего совмещать с постоянными пробными площадями, заложеными для исследования фитонозов. В противном случае пробные площади закладываются по тем же критериям, что и пробные площади для описания растительности с установлением минимума необходимых характеристик (состав древостоя, сомкнутость крон, характеристика возобновления, развитость напочвенного покрова, морфология почв, особенно верхних горизонтов, интенсивно осваиваемых корнями).

Сбор материала (образцов корневых систем) для характеристики микоризообразования необходимо проводить во всех намеченных точках в максимально сжатые сроки, так как сезонные различия в обилии и строении микориз могут быть значительны. Обязательно должен соблюдаться также принцип отбора материала с одного и того же субстрата во всех точках исследования. *Ювенильные* растения осторожно извлекаются из почвы ножом или совком; в случае уплотненного субстрата можно извлекать из почвы ком, полностью вмещающий корневую систему, с последующим осторожным отряхиванием почвы. Фиксировать такие растения удобно в пенициллиновых пузырьках, этикетуя их прямо в поле. Можно фиксировать и обширную группу растений с одной пробной площадью (или одного типа субстрата) в марлю с последующим помещением в тару. Фиксировать можно в 4 %-м формалине, ацетоформоле, хромово-уксусной смеси. Наиболее доступный фиксатор — формалин, он дает вполне удовлетворительные результаты. Объем выборки при проведении экологических исследований должен составлять не менее 50 особей из одного варианта.

При исследовании более старших растений, относящихся к категории *подроста*, их также лучше собирать полностью, вместе с надземной частью, или перед фиксацией и этикетированием измерять общую высоту, приросты, устанавливая возраст и жизненное состояние особи. Извлечение корневых систем особей в возрасте старше 10 лет из почвы практически невозможно провести без повреждения и обрывов корней, поэтому фиксировать следует только наименее поврежденные участки проводящих корней с представленными на них микоризами. Фиксировать удобно в банках и канистрах в 4 %-м растворе формалина, обертывая каждый образец в марлю. Объем выборки — 30–50 особей из каждого варианта.

выбор счетной единицы оказывает существенное влияние на конечные выводы. При подсчете количества микориз следует отдельно учитывать и немикоризные боковые сосущие корни, которые по внешнему виду, при известном навыке, можно надежно отличать от микориз (критерии отличий см.: Лобанов, 1971; Селиванов, 1981).

Одновременно с учетом количественных параметров следует учитывать *признаки морфологического (внешнего) строения* микориз, основными из которых являются частота встречаемости разветвленных микориз, степень и способ их ветвления. Данные параметры в большинстве случаев оказываются довольно чувствительными к технологическим вмешательствам. Следует также обращать внимание на размеры микориз, измеряя длину у определенного числа случайно отобранных микориз в каждом образце. Исследование счетных и морфологических параметров развития микориз проводится под бинокуляром, при этом удобно разработать бланк описания одного образца и внести в него все снимаемые показатели. На данном этапе камеральной обработки случайным образом осуществляется также отбор микориз от каждого растения или образца (по 5–10 штук) для последующего анатомического анализа.

Известны различные способы классификации микориз. В России (и бывшем СССР) при исследовании *разнообразия эктомикориз* широко использовалась классификация микориз Т. Доминика (см.: Доминик, 1963); переработанный вариант этой системы с определительной таблицей и хорошими рисунками приводится в монографии И. А. Селиванова (1981). При выборе данного способа требуется приготовление значительного количества тонких срезов (толщиной 10–20 мк), которые лучше делать на замораживающем микротоме, так как это менее трудоемко, чем заливка в парафин. Качество срезов при использовании замораживающего микротомы вполне удовлетворительно; срезы, сделанные от руки, не дают требуемого качества. Приготовленные срезы можно помещать в глицерин и просматривать без окрашивания или окрашивать различным образом в соответствии с известными рекомендациями (см., например: Шемаханова, 1962; Лобанов, 1971; Селиванов, 1981).

Более доступным способом классификации эктомикориз и особенно пригодным в различного рода экологических исследованиях является классификация их по внешним признакам строения – та-

ким, например, как цвет микориз, характер поверхностных гифальных образований и способ ветвления микориз. Примеры подобных классификаций приводятся в ряде работ (см.: Семенова, 1980; Мартикайнен, 1985; Dighton, Skeffington, 1987; Danielson, Pruden, 1989). Нами предложен способ классификации микориз хвойных при исследовании их разнообразия в условиях техногенного загрязнения (см.: Веселкин, 1997). При использовании подобных классификаций необходимо учитывать, что при фиксации в формалине цвет микориз заметно меняется в сторону потемнения. Безусловным достоинством способов классификации микориз по макропризнакам является возможность изучения их разнообразия без приготовления срезов, что снижает трудозатраты и дает возможность анализировать большой объем материала. Информацию о разнообразии микориз, обнаруженных в одном образце, удобно заносить в те же бланки, что и информацию о количестве и внешнем строении микориз.

Внутреннее строение микориз изучается под микроскопом как тонких срезах одновременно с исследованием разнообразия микориз по методу Доминика – Селиванова. Обязательно измеряется толщина грибоного чехла и общий диаметр микоризного окончания. По нашим наблюдениям и литературным данным, толщина микоризного чехла, как правило, зависит от уровня загрязнения территории.

В дальнейшем есть смысл определить относительный вклад грибоного симбионта в формирование общего объема микоризы по следующей формуле:

$$V_4 = \frac{(R^2 - r^2)}{R^2} \times 100\%,$$

где V_4 – доля объема, занимаемого микоризным чехлом в микоризном окончании, R – радиус всего микоризного окончания, r – радиус тканей собственно корня растения в микоризном окончании.

Таким образом, показатель доли объема, который занимает грибоной чехол в общем объеме микоризы, учитывает как собственно толщину чехла, так и общие поперечные размеры микоризного окончания. Можно предполагать, что этот параметр характеризует, во-первых, долю ресурсов, затрачиваемых растением на формирование «тела» грибоного симбионта, а во-вторых, соотносится с уровнем функцио-

нальной активности гриба. В целом, если наблюдается изменение доли объема микоризного чехла в каком-либо градиенте условий, то можно говорить об изменении во взаимоотношениях симбионтов, в то время как изменение толщины чехла необязательно указывает на то, что взаимоотношения растения и гриба изменяются.

Следует также обращать внимание на такие признаки, как глубина на распротранения сети Гартига по межклетникам клеток коры корня и количество слоев отмерших («танниновых») клеток коры корня. Данные признаки могут указывать на уровень жизнеспособности микориз. Глубина распротранения сети Гартига определяется как отношение числа слоев клеток коры корня, охваченных гифами гриба, к общему числу слоев клеток коры корня (данный параметр желательнее определять после предварительного окрашивания). Отмершими считаются клетки, которые располагаются на периферии коры корня непосредственно под грибным чехлом и легко идентифицируются по темной окраске и погере тургора. Полезным при исследовании строения микориз в условиях техногенных нагрузок может оказаться также установление частоты встречаемости внутриклеточной инфекции. Определение этого показателя возможно только после окрашивания срезов.

Развитие микориз в разных зонах техногенной нагрузки

В зоне действия выбросов СУМЗа исследованы эктомикоризные ассоциации, формирующиеся на корнях основных лесобразующих хвойных растений: сосны, ели и пихты. Микоризы темнохвойных видов собиравались на ключевых участках, расположенных на расстоянии 2; 4,5; 7 и 30 км в западном направлении от предприятия; пробные площади совмещены с площадями, на которых производилось описание растительности и других компонентов экосистем. У пихты исследовались микоризы всходов (возраст 2 года) и подроста (возраст 5–16 лет), у ели – микоризы подроста. Образцы микориз сосны собраны в искусственных сосновых древостоях, культурах возраста 30–40 лет, расположенных в северном и западном направлениях от источника загрязнения. Основные закономерности преобразования строения микориз разных видов растений в градиенте загрязнения сходны и могут быть охарактеризованы следующим образом.

Количественные характеристики микоризообразования. При приближении к источнику загрязнения заметно возрастает плотность микориз и (или) микоризных окончаний, локализованных на проводящих корнях растений. При этом интенсивность микоризации (важная характеристика успешности микоризообразования) или не изменяется по сравнению с фоновыми значениями, или оказывается несколько пониженной. В целом можно сделать вывод, что при высоких концентрациях тяжелых металлов в подстилке и почве микоризообразование у хвойных не подавляется. При загрязнении интенсифицируется процесс возникновения коротких боковых сосущих корней, что и приводит к возрастанию количества микориз у одной особи.

Вывод об отсутствии негативных последствий загрязнения изучаемого типа на развитие микориз подтверждается в некоторой степени при рассмотрении *морфологических параметров строения микориз*. Установлено, что по мере возрастания уровня техногенной нагрузки возрастает доля сложных, разветвленных микориз. Увеличивается, во-первых, частота их встречаемости, и, во-вторых, возрастает доля образцов, в которых представлены интенсивно ветвящиеся микоризы. В условиях последнего порядка (корневых и микоризных окончаний), что указывает на повреждение тонких корней.

Разнообразие микориз по мере приближения к источнику загрязнения снижается, что выражается как в уменьшении показателей богатства разновидностей микориз, так и в возрастании степени доминирования наиболее обычных их разновидностей. Снижение разнообразия микориз, хотя и достоверное, не является резким, катастрофическим. Эти закономерности обнаруживаются при использовании различных схем классификации эктомикориз. На фоне общего снижения разнообразия в условиях загрязнения происходит преобразование внутренней структуры наборов разновидностей микориз, что особенно заметно при использовании классификации микориз, основанной на учете особенностей строения грибных чехлов.

Внутреннее строение микориз под влиянием токсической нагрузки изменяется. У некоторых исследованных групп растений (всходы пихты, подрост ели) в зоне максимального загрязнения формируются в среднем более толстые, мощные микоризные чехлы, чем в

фоновых условиях. Это происходит одновременно с возрастанием поречных размеров микоризных окончаний в целом. Но приращение толщины чехлов выражено гораздо сильнее, чем возрастание диаметра тканей собственно корня растения в микоризном окончании, что приводит в результате к тому, что грибоной симбионт вносит на зараженных территориях заметно больший вклад в формирование общего объема микориз, чем в фоновых условиях. Можно, таким образом, говорить, что взаимоотношения симбионтов изменяются в зависимости от уровня заражения территории. У других групп растений (сосна, подрост пихты) изменения средней толщины микоризных чехлов в градиенте заражения не происходит.

В условиях заражения возрастает также доля микориз, имеющих отмершие клетки коры корня, что указывает на снижение жизнеспособности микориз, интенсификацию процессов их отмирания и, наконец, на снижение поглощающей активности микориз.

При попытке выбора параметров, пригодных для индикационных исследований, оказалось, что наиболее тесно связаны с уровнем заражения территории признаки, характеризующие интенсивность ветвления микориз. В силу того, что наличие тех или иных разновидностей микориз на определенной территории является дискретной характеристикой, изменяющейся по принципу присутствия/отсутствия, в качестве индикационных могут быть использованы также параметры разнообразия микориз. На основании перечисленных признаков построена простая шкала состояния микориз темнохвойных растений в условиях заражения экосистем тяжелыми металлами в комплексе с SO_2 (см. об этом: Весёлкин, 1996).

СОСТОЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ БИОТЫ

Существеннейшую роль в устойчивом функционировании почвы, поддержании и увеличении ее плодородия играет почвенная биота. Она служит одним из основных звеньев биологического круговорота в наземных экосистемах. В настоящее время общепринято положение, что основное участие в деструкции органического вещества принимают две группы организмов — сапрофиты мезофауны и целлюлозоразлагающая микрофлора (см.: Тейт, 1991). При этом сапрофиты выступают основными первичными деструкторами органики (см.: Стриганова, 1980, 1989), а микроорганизмы — минерализаторами (см.: Аристовская, 1980). Прочие группы (микрoarтроподы, нематоды, простейшие и др.) оказывают лишь определенное регулирующее действие на протекание деструкционных процессов (Мооре, Уоллет, 1988). Отсюда, в частности, следует вывод, что выполняемые почвенной мезофауной и целлюлозоразлагающими микроорганизмами функции полностью не могут быть заменены никакой другой группой организмов.

Учитывая уникальную биогенотическую роль почвенной биоты, можно предполагать, что подавление ее активности будет приводить к необратимым изменениям почвы и в конечном итоге, через уменьшение почвенного плодородия, влиять на продуктивность экосистем и их устойчивость, т. е. на те параметры, которые должны рассматриваться в качестве базовых при оценке состояния природных комплексов. Поэтому параметры почвенной биоты должны включаться в качестве обязательного элемента в системы экологического мониторинга и экологической экспертизы.

В качестве основных параметров почвенной биоты целесообразно выбрать следующие:

- 1) состояние лесной подстилки (интегральный показатель функционирования сапрофильного комплекса почвенной биоты);
- 2) характеристики населения почвенной мезофауны (основной первичный деструктор активных фракций опада);