

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

А.С. Бабенко, У.А. Булатова,
С.А. Нужных

МЕТОДЫ УЧЕТА
ПОЧВЕННЫХ
БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

*Учебно-методическое
пособие*



ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
Кафедра защиты растений

А.С. Бабенко, У.А. Булатова, С.А. Нужных

**МЕТОДЫ УЧЕТА
ПОЧВЕННЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ**

Учебно-методическое пособие

Томск
2010

РЕКОМЕНДОВАНО методической комиссией Биологического института
Томского государственного университета

Протокол № 79 от 17 марта 2010 г.

Председатель комиссии
доктор биологических наук



М.В. Олонова

В пособии рассматриваются основные методы учета почвенных беспозвоночных, от простейших до насекомых. Приведены методы отбора проб, фиксации, обработки и хранения материала.

Для студентов, аспирантов, преподавателей биологических, экологических, агрономических специальностей вузов, а также для почвоведов, экологов, агрономов и почвенных зоологов.

АВТОРЫ: А.С. Бабенко, У.А. Булатова, С.А. Нужных

Оглавление

Введение	4
1. Учет почвенных простейших	7
1.1. Простейшие, населяющие почву	7
1.2. Учет инфузорий	8
1.3. Учет раковинных амёб	10
2. Учет представителей микрофауны	15
2.1. Учет нематод	15
2.2. Учет почвенных микроартропод	18
2.3. Учет энхитреид	20
3. Учет крупных почвенных беспозвоночных	25
3.1. Метод почвенных проб	25
3.2. Особенности сбора и учета дождевых червей	31
4. Учет напочвенных обитателей	33
4.1. Ручная разборка подстилки и просеивание субстрата на ситах	33
4.2. Почвенные ловушки и их использование для учета беспозвоночных	35
5. Методы фиксации и хранения почвенно-зоологического материала	41
5.1. Методы фиксации почвообитающих беспозвоночных	41
5.2. Документирование материала	47
5.3. Монтировка энтомологического материала	48
5.4. Хранение материала	51
Рекомендуемая литература	54

ВВЕДЕНИЕ

Основу животного населения суши составляют почвенные беспозвоночные животные, большинство из которых до сих пор остаются слабо изученными. Почву населяет основная масса еще не известных науке видов; именно биологические ресурсы почв считаются одними из самых перспективных для удовлетворения растущих потребностей человечества.

Любое исследование почвенных животных начинается со сбора и определения численности изучаемых объектов с точностью, позволяющей сравнивать численность изучаемых организмов на разных участках, выявление закономерностей их распределения.

Такие данные необходимы для оценки почвообразовательной роли почвенных животных в разных ее аспектах (определение количества разрушителей растительных остатков, выявление численности животных, прокладывающих в почве ходы и т.д.). При этом также определяется заселенность почвы вредными организмами (личинки жесткокрылых, гусеницы подгрызающих совок и т.п.), а также численности тех насекомых, которые повреждают надземные части растений, но уходят в почву на зимовку или для окукливания (капустная совка, сосновые пилильщики, другие вредители сельского и лесного хозяйства).

Информация о методах учета почвенных животных имеется практически в каждой монографии, посвященной почвенной фауне и экологии педобионтов; в виде отдельных изданий опубликованы методические рекомендации по изучению различных аспектов экологии почвенных беспозвоночных (Гиляров, Стриганова, 1987; Покаржевский, 2003 и др.). В то же время в учебной литературе, наиболее доступной студентам вузов методика учета педобионтов, как правило, не систематизирована и фрагментарна.

Методы учета почвообитающих животных можно разделить на прямые и косвенные.

При использовании прямых методов подсчитывается количество учитываемых объектов либо на единицу площади поверхности почвы, либо на единицу объема почвы.

Косвенные методы не дают достаточно надежного представления о численности объекта учета, но позволяют сравнивать с большей или меньшей степенью приближения заселенность разных участков. К косвенным методам можно отнести учет за плугом в отваливаемом слое и в

борозде относительно крупных насекомых (проволочники, личинки хрущей) или дождевых червей. Этот метод требует введения коэффициентов пересчета, которые должны быть для данных почвенно-климатических и сезонных условий определены на основе сравнения с точными данными, добытыми методами прямого учета.

Подсчет почвенных личинок насекомых, концентрирующихся на приманках, тоже относится к числу косвенных методов, так как уловистость приманок значительно варьирует в зависимости от почвенных и погодных условий, растительного покрова и т.п. (Гиляров, Стриганова, 1987). В целом, косвенные методы могут только дополнять и уточнять данные, получаемые другими методами, но не заменять их, так как эффективность косвенных методов определяется слишком многими факторами.

В данном пособии основное внимание уделено описанию прямых методов учета почвенных беспозвоночных с учетом морфо-экологической специфики учитываемых объектов. Кроме того, даются рекомендации по выбору оптимальных методов фиксации материала, его хранению и подготовке к определению.

Специфические методы учета разработаны для различных размерных групп почвенной фауны. По размерам тела почвенных животных принято подразделять на четыре группы:

Нанофауна – животные, имеющие микроскопические размеры (до 0,1 мм) (в основном это простейшие). Они способны вести активный образ жизни только в водной среде, поэтому заселяют водяную пленку и капилляры почвы.

Микрофауна – животные, имеющие размеры от 0,1 до 1,5 мм (коловратки, нематоды, большая часть клещей и первичнобескрылых насекомых, часть мелких кольчатых червей). Для этих организмов почва представляет собой не водную среду, как для простейших, а систему замкнутых камер, где постоянно поддерживается высокая влажность воздуха.

Мезофауна – животные, имеющие размеры от 1,5 мм до 2–3 см (большая часть насекомых в личиночной и имагинальной стадии, многоножки, энхитреиды, моллюски)

Макрофауна – наиболее крупные обитатели почвы, чьи размеры превышают 2–3 см (дождевые черви, мышевидные грызуны, землеройки). Для этих животных почва представляет собой плотную среду, в которой они могут перемещаться либо активно прокладывая собственные ходы, либо расширяя естественные щели субстрата. Иногда позвоночных животных и крупных (свыше 80 мм) червей выделяют в особую группу, именуемую мегафауной. Представители мезо- и макрофауны, как прави-

ло, видимы невооруженным глазом, поэтому могут учитываться непосредственно в полевых условиях при разборе и анализе содержимого почвенных проб.

Следует отметить, что в зарубежных следователями термин «мезофауна» практически не употребляется, а весь комплекс почвенных животных (за исключением простейших) обычно подразделяется на микрофауну и макрофауну (последняя включает в себя представителей макро- и мезофауны, описанных выше).

В настоящем пособии приведены основные методы сбора, учета и хранения почвенных беспозвоночных различных размерных групп. Список необходимого оборудования и материалов для сбора представителей различных групп приведен в конце соответствующей главы. Приведенный в конце пособия указатель рекомендуемой литературы предназначен для читателей, желающих подробнее ознакомиться с методикой почвенно-зоологических исследований.

1. УЧЕТ ПОЧВЕННЫХ ПРОСТЕЙШИХ

1.1. Простейшие, населяющие почву

Простейшие – важный компонент почвенной биоты. Они способны противостоять посредством инцистирования или другим путём крайним воздействиям тепла и холода, высыхания и переувлажнения, аэрации и анаэробноза, которые являются естественными в почве. Простейшие питаются бактериями, грибным мицелием, дрожжами, почвенными водорослями, есть среди них и детритофаги, и питающиеся осмотрофно. Основная их роль в почве – участие в разложении органического вещества и поедание клеток микроорганизмов. Видовой состав почвенных Protozoa разнообразен и состоит преимущественно из амёб, жгутиконосцев и инфузорий (рис. 1).

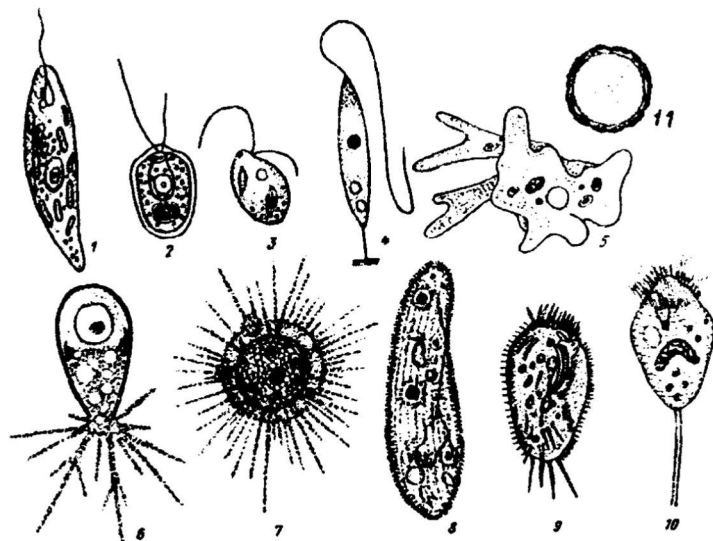


Рис. 1. 1-4 – жгутиконосцы; 5 – амёба; 6 – раковинная амёба; 7 – фораминифера; 8-10 – инфузории; 11 – циста

Чтобы оценить вклад простейших в почвенные процессы необходимо учитывать их численность (которая в отдельных почвах может достигать 1 млн клеток в 1 г почвы), методы учёта по основным группам будут рассмотрены ниже.

Жгутиконосцы – самые мелкие формы среди простейших, характеризующиеся наличием жгутиков, иногда длина клетки не превышает 2–5 мкм. Эти организмы часто относят к водорослям, они занимают промежуточное положение между растениями и животными, поэтому в этом пособии они подробно рассматриваться не будут.

1.2. Учет инфузорий

Почвенные инфузории одни из самых прогрессирующих групп простейших, среди представителей почвенной протофауны они самые крупные: длина тела инфузорий достигает 80–180 мкм. Поверхность тела инфузории покрыта ресничками разной длины.

Методика отбора и анализа проб из водоема

Пробы поверхностного слоя (1–2 см) грунта в водоеме отбираются с двух площадок водоема: анализируемой и контрольной. В анализируемой части водоема берутся пробы объемом около 10 г из трех разных точек пробной площадки (таких площадок должно быть не менее трех). Параллельно берут такие же пробы в экологически чистой части водоема со сходными условиями для контроля. Пробы доводят до воздушно сухого состояния. Далее по методике Никитиной (1997) производят подсчет численности простейших.

После подсчета численности инфузорий в анализируемой пробе производится такой же подсчет в контрольной пробе. Данные по численности контрольной пробы принимаются за 1 балл. Далее проводится подсчет по формуле:

$$Q = W \times k / F,$$

где Q – степень (балл) сапробности грунта/почвы; W – количество инфузорий в анализируемой пробе; k – 1 балл (норма); F – количество инфузорий в контроле.

Методика отбора и анализа проб почвы

На исследуемом участке выбирают 3 площадки размером по 1 м². Почву, взятую из нескольких точек одного горизонта (5 см), помещают в один бумажный пакет (сделанный из пергаментной бумаги или кальки) с помощью ножа, который предварительно несколько раз втыкают в почву рядом с местом взятия пробы, для очистки от случайных загрязнений (Корганова, 1975). Таким же методом берут пробу почвы для контроля.

Метод подсчёта инфузорий

Почвенный образец или образец грунта с водоема, доведенный до воздушно сухого состояния, распределяют тонким слоем на листе бумаги и пинцетом тщательно отбирают крупные корешки растений, остатки водорослей (можно использовать лупу). Мелкие корешки извлекают с помощью эбонитовой или стеклянной палочки, назлектризованной кусочком шерстяной ткани. Палочкой проводят над слоем почвы на высоте 3–5 см и все корешки притягиваются к ней. При меньшем расстоянии к палочке могут прилипнуть и мелкие частицы почвы (грунта), поэтому эту операцию проводят осторожно. В процессе отбора корешков почву несколько раз перемешивают и растирают. Растирать можно как в фарфоровой чашке, так и в чашке Петри.

Навеску почвы 1 г увлажняют небольшим количеством дистиллированной или отстоянной воды, тщательно растирают палочкой с резиновым наконечником или пальцем в резиновой перчатке. Полученную кашеобразную почвенную массу переносят в пробирку, несколько раз смывая остатки почвы со стенок чашки. Общий объем использованной воды должен составлять 4 или 9 мл (в первом случае разведение 1:5, а во втором 1:10). Почвенную взвесь в пробирке тщательно взбалтывают, затем закрывают ватной пробкой и ставят в штатив. Таким же образом готовят и все последующие повторности, которых может быть от 3 до 5.

Штатив с пробирками помещают в термостат при температуре 24–26°C или содержат при комнатной температуре. Через 3–4 дня производят микроскопирование.

Перед работой содержимое пробирок опять взбалтывают и дают отстояться в течение 3–5 мин. Стерильной пипеткой набирают 1 мл почвенной суспензии и наносят на предметное стекло по 2–3 капли, постепенно просматривают под малым увеличением микроскопа весь объем жидкости. В журнале регистрируют общее число инфузории, в нашем

случае представителей отряда *Hypotrichida*, в каждой капле. Так подсчитывают число цилиат в 1 мл, взятом из каждой пробирки всех трех или более разведений. Затем вычисляют среднее количество инфузорий для 1 мл почвенной суспензии, используя формулу:

$$X = XI / N,$$

где X – среднее арифметическое; XI – количество инфузорий во всех повторностях; N – число повторностей.

Далее рассчитывают количество инфузорий в 1 г воздушно-сухой почвы (грунта) по формуле:

$$A = X \cdot B \cdot C,$$

где A – количество клеток в 1 г воздушно-сухой почвы (грунта); X – среднее арифметическое число инфузорий в 1 мл суспензии; B – количество мл, использованное для разведения 1 г почвы (грунта); C – разведение.

1.3. Учет раковинных амёб

Эта группа простейших наиболее проста для изучения, так как после гибели этих организмов в почве остаются их минеральные раковинки, по которым и проводят видовую идентификацию и учёт. Раковинные амёбы питаются бактериями, почвенными водорослями, дрожжами и непосредственно органическими веществами из почвенного раствора. Они занимают важное место в пищевой цепи, непосредственно разлагают целлюлозу и лигнин, а также являются хорошими индикаторами почвенных условий.

Методика отбора проб почвы

Образцы отбирают в наиболее характерных с точки зрения растительного покрова участках исследуемого биоценоза – леса, луга, и т.д. На выбранном участке закладывают почвенный разрез или делается небольшая прикопка, откуда берутся пробы A_0 (подстилки), A_1 (гумусового горизонта), а также мхов, образующих подстилку и A_d (дернового гумусового горизонта), если он есть. В нижележащие горизонты раковинные корненожки обычно не проникают, либо случайно попадают единичные экземпляры.

Образцы лесной подстилки собирают обычно в большем количестве, чем почву, из них удаляют крупные фракции растительного опада – веточки, шишки и пр., затем помещают в полиэтиленовый пакет.

Далее из разреза почвенным ножом вырезают монолиты из интересных горизонтов от нижних к верхним, обычно берут монолит не из одного места, а среднюю пробу почвы из нескольких точек одного горизонта. Почву из каждого слоя помещают в отдельный пакет, пакет надписывают – дата, место взятия образца, горизонт и т.д., либо ставят на нём номер, который расшифровывают в полевом журнале.

Образцы исследуют почти сразу же, поэтому их хранят в герметично закрытых полиэтиленовых пакетах в прохладном месте (лучше в холодильнике). Если предполагается, что образцы сразу просматриваться не будут, тогда их в прохладном месте, в тени доводят до воздушно сухого состояния, переложив в бумажные пакеты.

Метод подсчёта амёб

Для учёта почвообитающих простейших широкое распространение получило культивирование в питательной среде, предусматривающее быстрое развитие организмов даже из одной попавшей в среду клетки. Эта методика, однако, не отвечает биологии раковинных корненожек, отличной от жгутиконосцев, инфузорий и голых амёб: сравнительно медленное развитие не позволяет произойти той вспышке роста, на которую рассчитан метод, а единичные попавшие в среду клетки не поддаются учёту.

Более эффективны при работе с этой группой простейших прямые методы, дающие хорошие возможности определения и учета. К прямым методам относится микроскопирование водной суспензии почвы. Суспензия готовится из 100–200 мг субстрата с 20–25 мл воды и оставляется на несколько часов для размокания почвенных частиц. Затем суспензию взбалтывают в течение 10 мин. и сливают в чашку Петри, дно которой расчерчено на квадраты по 1 см². Крупные комочки почвы разрушают с помощью препаровальной иглы, и мелкозем распределяют по дну чашки тонким слоем. Взвесь просматривают под микроскопом с обычным (×10) или водно-иммерсионным (×40) объективом.

Для выявления всех размерных групп, а также для отдельного учёта живых амёб и пустых раковинок предложен метод окрашенных почвенных мазков, используемый в почвенно-протозоологических исследованиях. Метод не требует специальной аппаратуры и применим в полевых условиях. Для приготовления мазков берут 5 г свежей почвы или подстилки, помещают в колбу объёмом 250 мл с 50 мл воды и отстаивают несколько часов для размокания почвенных комочков. Затем содержимое колбы энергично взбалтывают в течение 10 мин. В стационарных усло-

виях для разрушения частиц почвы и отделения раковинок через суспензию можно продувать струю воздуха. Не переставая взбалтывать, из центра колбы берут пипеткой одну каплю суспензии объемом 0,05 мл, в которой содержится соответственно 5 мг почвы (мазок из более чем 5 мг содержит слишком много почвенных частиц, затрудняющих просмотр препарата). Каплю суспензии помещают на обезжиренное предметное стекло, добавляют к ней каплю жидкого (подогретого) агар-агара (0,5%), быстро и тщательно перемешивают обе капли препаративной иглой, распределяя их на площади 8 см² (либо иной площадке, удобной для пересчета) по подложенному трафарету из миллиметровой бумаги со сторонами 2 и 4 см. Мазок подсушивают на воздухе. Твердые частицы, в том числе раковинки тестаций, плотно приклеиваются к стеклу застывшим агаром, образующим прозрачную плёнку.

Мазок окрашивают 1% раствором эритрозина в 5% карболовой кислоты в течение одного часа (перекрашивание ведет к сильному уплотнению и почернению цитоплазмы). Затем мазок отмывают от излишков краски, последовательно проводя через несколько сосудов с водой, и просушивают.

Для подсчета стекло с окрашенным материалом покрывают тонким слоем иммерсионного масла для просветления препарата и помещают на предметный столик микроскопа. При помощи препаратоводителя просматривают последовательно весь мазок с объективом ×20 и окуляром ×10 и определяют число и видовую принадлежность встретившихся раковинок. Цитоплазма живых организмов окрашивается карболовым эритрозинном в интенсивно малиновый цвет, что позволяет отличать их от пустых раковин которые иногда приобретают слегка розоватую окраску. Окрашивание не проводят, если не стоит цели отдельного учёта живых тестаций и пустых раковинок. Строение мелких форм рассматривают при большом увеличении с иммерсионным объективом ×90. Для более полного списка видов учитываются как живые и инцистированные формы, так и пустые раковинки.

Этот метод имеет ряд недостатков, главный из которых – большое количество посторонних почвенных частиц, мешающих просмотру препарата. Поэтому предложен метод, где можно уменьшить количество детрита в просматриваемом материале.

Взвешенную на аналитических весах пробу переносят в колбу объемом 500 мл, заливают 250 мл воды и отстаивают в течение нескольких часов для размокания и разрушения почвенных агрегатов. После размокания агрегатов колбу встряхивают на качалке в течение 10 мин. Полученную суспензию, взбалтывая, пропускают сначала через сито с ячейей

1 мм, затем через сито с ячейёй 0,5 мм (диаметр сит 8 см) для отделения крупных растительных остатков и минеральных частиц. Отделенные крупные растительные и минеральные частицы вторично заливают водой, взбалтывают и вновь пропускают через сито с ячейёй 0,5 мм. Полученную почвенную суспензию объединяют с ранее полученной в результате предыдущих процедур.

Почвенную суспензию отстаивают в течение суток и доводят до объема 300 мл для проб из гумусово-аккумулятивных горизонтов. Для проб из органогенных горизонтов (L, F, H) объем воды составляет 50 или 100 мл. Пробу гомогенизируют энергичным встряхиванием и микропипеткой 0,1 мл отбирают полученную суспензию из середины колбы. Аликвоту переносят на предметное стекло и распределяют в виде 2 капель в каплю глицерина с каплей эритрозина карболового для окрашивания цитоплазмы простейших. Капли равномерно перемешивают и распределяют по площади равной площади покровного стекла размером 24×24 мм. Живые амёбы окрашиваются в интенсивно малиновый цвет.

Почвенную суспензию из органоминеральных горизонтов после перемешивания разделяют на две части – 250 и 50 мл. Часть объемом 50 мл доводят до 100–150 мл в зависимости от первоначальной массы почвы. Из части объемом 250 мл отбирают 50 мл, и этот объем доводят также до 100–150 мл. Из обеих колб микропипеткой отбирают почвенную суспензию для микрокопирования.

Во всех случаях просматривают не менее 2 препаратов. Объем выборки раковинных амёб для каждой почвенной пробы доводят до 300 экз. В редких случаях при низкой плотности раковинных амёб объем выборки составляет 100 экз. Рабочее увеличение при микрокопировании обычно ×200, для уточнения деталей морфологии мелких раковин и раковинки рода *Euglypha* используют увеличение ×400. Пересчет численности раковинных амёб на пробу проводят, исходя из объема суспензии, взятой для микрокопирования, разведения или серии разведений.

Посуда и реактивы для учета простейших

1. Стаканчики для отбора проб объёмом 20 мл.
2. Почвенный нож.
3. Конические колбы объемом 100, 250 и 500 мл.
4. Мерные цилиндры объемом 500 и 200 мл.
5. Весы аналитические с точностью взвешивания не менее 1 мг.
6. Качалка или встряхиватель для колб.

7. Почвенные сита с ячейками 1 и 0,5 мм.
8. Предметные стекла.
9. Микроскоп с увеличением до $\times 400$ и окуляром с мерной линейкой.
10. Глицерин.
11. Эритрозин карболовый (1% раствор эритрозина в 5% карболовой кислоте).

Контрольные вопросы

1. Чем отличаются методы отбора проб для амёб и инфузорий?
2. Почему для раковинных амёб не подходят методы культивирования?
3. Почему навески для учёта инфузорий растирают в ступке, а пробы для учёта раковинных амёб растирать нельзя?
4. Какое минимальное количество субстрата необходимо для учёта инфузорий?

2. УЧЕТ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОФАУНЫ

2.1. Учет нематод

Нематоды или круглые черви чрезвычайно многообразны. Среди них в почве встречаются хищники (питающиеся простейшими, коловратками, нематодами, тихоходками, ногохвостками), паразиты растений (обитающие в корневой системе), сапробионты (питающиеся органикой), гемисапробионты (поедают дрожжи, бактерии, грибы) и другие. Поэтому их учёт важен не только для определения почвенной биомассы, но и, например, для таких показателей как заражённость почвы.

Почвенные пробы для изучения отбирают так же, как и для учёта простейших. Предварительно взвешенную пробу в капроновом сите опускают в воронку, на которую надета прозрачная силиконовая трубка. Пережимают свободный конец трубки зажимом Мора. Воронку заливают охлажденной до 12°C водой и оставляют на сутки при комнатной температуре или располагают над пробой лампу. Спустя сутки (при использовании лампы – через 12 часов) нематоды собираются на пережатом конце. Отпустив зажим, нематод собирают в пластиковые одноразовые стаканчики объемом 50–100 мл. Стаканчик покрывают пластиковой пищевой пленкой и оставляют в холодильнике до подсчета. Нематод можно также экстрагировать модифицированными методами Кобба и Оостенбринка, причем метод Кобба дает более точные результаты.

Метод Оостенбринка

Пробу помещают в литровый лабораторный стакан (предпочтительнее полиэтиленовый) с известной массой и взвешивают. Целые почвенные пробы осторожно разламывают руками и заливают приблизительно 400 мл водопроводной воды (дистиллированной водой пользоваться нельзя!). Для разрушения пробы нельзя использовать нож или другие острые предметы, так как это приводит к гибели значительной части нематод. Пробу оставляют размокать, после размочания интенсивно, но осторожно перемешивают суспензию стеклянной или деревянной палочкой в течение 45 с. Затем суспензии дают отстояться в течение 15 с. Верхнюю часть суспензии, в которой скапливаются нематоды сливают через сито Кобба (рис. 2) с ячейей 365 мкм в емкость объемом 1,5–2 литра.

При этом нужно следить за тем, чтобы основная масса почвы не попала в сборную емкость и жидкость не содержала слишком много взвеси и крупных органических частиц. Также необходимо следить, чтобы попадающий на сито крупный органический материал не играл бы роль фильтра.

Попавшие на сито Кобба органические частицы и прочее смываются струей воды на молочный фильтр в экстракционном сите; при этом не собирается фильтрат, а всего процедура проводится 3 раза. Фильтрат из сборной емкости пропускается трижды через сито Кобба 50 мкм. Каждый раз отфильтрованный материал откидывается на молочный фильтр. Надо стараться смыть с сита максимальное количество осадка. Затем экстракционное сито ставится в тарелку подходящего диаметра, которая аккуратно наполняется свежей водой, покрыв водой фильтр.

Сито оставляется на 44 ч для проникания нематод через фильтр в тарелку. После экстракции сито с фильтром осторожно удаляются. Жидкость в тарелке отфильтровывается сквозь воронку с надетым фильтром из 20 мкм мельничного газа. Отфильтрованные нематоды смываются в счетную чашку Петри с размеченным дном и пересчитываются под биноклем с увеличением $\times 16$. Для определения нематод до рода их фиксируют согласно процедуре, описанной ниже.

Метод Кобба

Пробу помещают в литровый лабораторный стакан (предпочтительнее полиэтиленовый) с известной массой и взвешивают. Цельные почвенные пробы осторожно разламывают руками и заливают приблизительно 400 мл водопроводной воды (дистиллированной водой пользоваться нельзя!). Для разрушения пробы нельзя использовать нож или другие острые предметы, так как это приводит к гибели значительной части нематод. Пробу оставляют размокать; после размокания интенсивно, но осторожно перемешивают суспензию стеклянной или деревянной палочкой в течение 45 с. Суспензии нужно дать отстояться в течение 15 с, после чего верхняя часть жидкости сливается в сборную емкость.

Пробу перемешивают палочкой и дают отстояться еще два раза, добавляя каждый раз по 400 мл воды. Собранную суспензию профильтровать через каскад сит Кобба с ячейей 1000, 400, 200, 100 и 50 мкм, начиная с самого крупного сита. Каждое из сит после фильтрации нужно промыть струей воды над новой сборной емкостью (рис. 2).

Фильтрацию через последнее и самое тонкое сито проводят 5 раз. Собранный фильтрат медленно выливают на сито с двумя молочными

фильтрами (например, фильтры Nugia milac SW (Hartmann)), которое затем помещается в тарелку подходящего диаметра и заливается водопроводной водой, так чтобы она покрыла фильтр.

Пробы оставляют на 44 ч в темноте, для того чтобы нематоды проникли сквозь фильтры в тарелку. Жидкость в тарелке нужно отфильтровать сквозь воронку с надетым фильтром из 20 мкм мельничного газа. Отфильтрованных нематод можно смыть в счетную чашку Петри с размеченным дном и пересчитать под биноклем с увеличением $\times 16$.

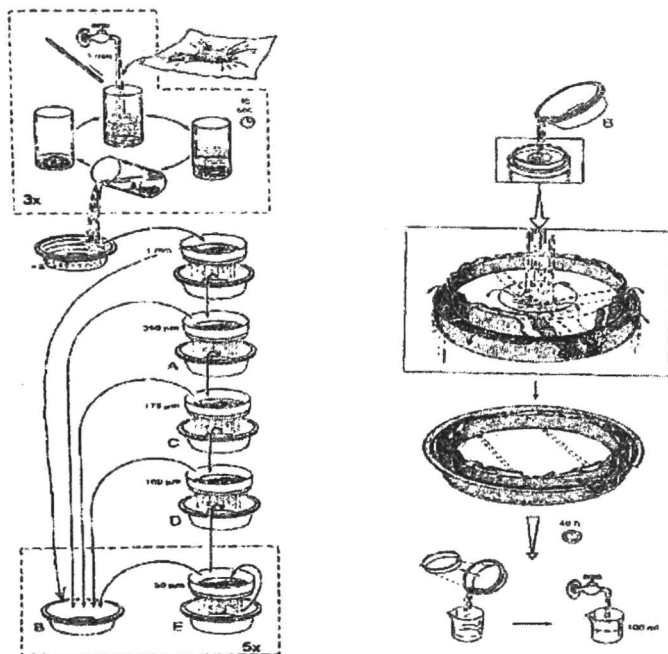


Рис. 2. Схема экстракции нематод методом Кобба

Фиксация нематод

Воронки вставляют в пробирки, их стык уплотняют парафином или резиновым переходником. После подсчёта нематод, заливают воду из счётных чашек Петри в воронки и дают отстояться в течении 2 ч для осе-

дания нематод на дне пробирок. Осторожно отсасывают с поверхности излишнюю воду, таким образом, чтобы в пробирке осталось 1,5 мл жидкости. После этого ставят пробирку на водяную баню с температурой воды 63°C, выключают нагрев и дают пробе постоять на бане 2 мин. Затем добавляют 1,5 мл 8% раствора формальдегида (т.о., его концентрация в фиксирующей жидкости становится 4%). Хранить зафиксированные пробы рекомендуется при температуре 4°C.

Нематод можно также зафиксировать горячим 70% спиртом с добавлением 5–10% глицерина.

Посуда и реактивы для учета нематод

1. Воронки диаметром 5–7 см с диаметром носика около 0,5 см.
2. Куски пластикового сита с ячейей примерно 0,05 мм.
3. Силиконовые трубки длиной 15 см по диаметру носика воронки.
4. Зажимы Мора.
5. Пластиковые одноразовые стаканчики объемом 50–100 мл.
6. Штативы для воронок.
7. Лампы 12–15 ватт.
8. Водопроводная вода.
9. Холодильник.

2.2. Учет почвенных микроартропод

Среди мелких членистоногих (микрофауны) в почве доминируют клещи, встречаются также ложноскорпионы, мелкие имаго и личинки насекомых, низшие бескрылые насекомые и др. Микроартроподы, за редким исключением, плохо различимы невооруженным глазом, поэтому их учет возможен после предварительного сбора почвенных образцов и выгонки животных.

Отбор проб почвы для изучения микроартропод проводится буром (как правило, диаметром 5 см). Отобранные пробы помещаются в эклектор; рекомендуется использовать модифицированный эклектор Макфедьена (Гиляров, 1987). Суть работы эклектора заключается в том, что создаваемый нагревателем градиент температуры и влажности в пробах заставляет микроартропод передвигаться в нижние слои пробы и проваливаться в воронки с сосудами, наполненными фиксирующей жидкостью.

При подготовке к экстракции микроартропод берутся пронумерованные пластиковые контейнеры, которые нужно заполнить на 0,7–1 см этиленгликолем с добавлением жидкого моющего средства. Отобранные почвенные пробы взвешиваются и помещаются в сита, в которых предварительно прокладывается дополнительный слой сетки с ячейей 2 мм для предотвращения попадания частиц почвы в этиленгликоль (что особенно важно для минеральных проб). Затем сита устанавливаются на стаканчики и помещаются в эклектор. Рекомендуется всю поверхность проб и промежутки между ними накрыть сверху хлопчатобумажной тканью для получения более эффективного градиента.

После включения водяного охладителя нужно положить температурный датчик поверх проб, избегая его контакта с металлом и накрыть тканью.

Выгонка микроартропод осуществляется согласно температурному графику. После выгонки микроартроподы извлекаются из сосудов, отсасывая этиленгликоль грушей с наконечником, закрытым 20 мкм мельничным газом и промывая осадок 96% спиртом. Почва высушивается при температуре 105°C в течение суток и взвешивается для определения влажности по разности веса пробы до экстракции и после сушки.

Оборудование и материалы для учета микроартропод (эклектором Макфедьена)

1. Сита диаметром 6–7 см и высотой 5 см с ячейей 2 мм.
2. Кружочки из капроновой сетки с ячейей 2 мм по диаметру сит.
3. Конусообразные контейнеры (пластиковые стаканы) с внутренним диаметром в диаметр сит и крышки для контейнеров.
4. Хлопчатобумажные платки.
5. Эклектор с автоматической регуляцией температуры.
6. Водостойчивый маркер.
7. Этиленгликоль.
8. Жидкое моющее средство.
9. Груша или сифон с фильтром из мельничного газа для отсасывания фиксатора из контейнера.
10. Этиловый спирт 96%.

Суть другого метода, рекомендованного Д.А. Кривоуцким для экстракции почвенных клещей, заключается в трехдневной экстракции клещей в воронках Тулгрена диаметром 15 см (или 15×15 см в случае ис-

пользования квадратных воронок) под лампами 25–40 Вт в пузырьки или пробирки со спиртом.

При этом пузырьки наполняются спиртом и размещаются под воронками так, чтобы носик воронки был внутри пузырька, но не касался спирта. После этого пробы почвы равномерно распределяются по поверхности сита, а последние помещаются на воронки. Включаются лампы, расположенные над поверхностью пробы на расстоянии около 15 см.

Экстракция продолжается 3 суток, после чего лампы выключаются, пузырьки вынимаются, в них по необходимости добавляется спирт и этикетка для идентификации материала.

Как правило, объем почвенных проб составляет от 125 см³ до 750 см³, при этом большие пробы используются для учета динамики доминирующих видов.

Оборудование и материалы для учета микроартропод (по методу Д.А. Криволицкого)

1. Круглые или квадратные воронки
2. Штатив для воронок
3. Сита высотой 5 см с ячеей 1–2 мм и с диаметром дна в размер воронки.
4. Лампы 25–40 Вт в абажурах в диаметр воронки
5. Стекланные или пластиковые пузырьки с диаметром горлышка большим, чем диаметр носика воронки
6. Этиловый спирт 96%

2.3. Учет энхитреид

Энхитреиды представляют собой группу относительно мелких кольчатых червей; их размеры колеблются от 2 до 45 мм в длину при толщине 0,2–0,8 мм. Наиболее мелкие энхитреиды пользуются при перемещении в почве системой естественных нор и каналов, другие активно прокладывают почвенные ходы. Учет энхитреид имеет свои особенности – их зачастую нельзя фиксировать до определения, так как при фиксации изменяется ряд важных в таксономическом отношении морфологических признаков червей.

Для оценки численности, видового состава и биомассы энхитреид используется два основных метода: метод Рембке и метод О'Коннора (Покаржевский, 2003).

Метод Рембе

Отбор почвенных проб для учета энхитреид производится почвенным буром. Бур осторожно вдавливают в почву на глубину 12–16 см в зависимости от типа почвы. В редких случаях используют пластиковую киянку для вколачивания бура в почву. После извлечения бура почву осторожно вынимают или выталкивают из бура.

Полученный образец почвы разрезают ножом на субобразцы высотой 3–4 см. Эти субобразцы сохраняют до экстракции в пластиковых пакетах при температуре 4–6°C в течение не более недели. Бур после извлечения образца промывают водой.

Экстракция энхитреид

Экстракцию следует проводить как можно скорее после отбора проб. При этом каждый субобразец кладут на сито, которое опускают в пластиковый таз, так чтобы сито не касалось дна таза. Образцы осторожно разрушают руками, и после этого таз заполняют водой, покрывая поверхность образца.

Для того чтобы экстрагировать более 90% энхитреид образцы почвы следует выдерживать 4–7 дней, а образцы подстилки 1–2 дня при температуре воды не более $12 \pm 2^\circ\text{C}$. Продолжительность экстракции зависит в большей мере от содержания органического вещества. Время экстракции зависит и от преследуемых задач и необходимого числа энхитреид, если экстракция животных проводится для эксперимента. Следует помнить, что недостаток кислорода в воде ведет к быстрой гибели животных. По окончании экстракции сита удаляют и почву выбрасывают.

После удаления почвы воду осторожно сливают, так чтобы над осадком осталось 5–10 мм воды. Оставшийся осадок на дне таза осторожно взмучивают, и суспензию переносят в чашки Петри или стеклянные чашки. Как только муть осядет, возможен отбор энхитреид скарификаторами, булавками или пипетками Эппендорфа. Отобранных энхитреид переносят в маленькие сосуды или чашки Петри.

Следует отметить, что количество экстрагируемых образцов ограничивается только числом сит и тазов, а также размерами комнаты для экстракции. Обычно одновременно можно экстрагировать до 50 образцов. Для этого удобно использовать прохладное подвальное помещение.

Определение энхитреид проводится по мере возможности сразу же после экстракции, так как животные гибнут в воде через несколько дней даже при содержании в холодильнике. Животных переносят под микро-

скоп на стекло в каплю слабогазированной минеральной воды для обездвиживания с помощью CO_2 .

Определение энхитреид ведут на живом материале, так как при фиксации в 70% спирте животные теряют некоторые морфологические признаки. Можно окрашивать животных красителем Бенгалроз и заключать в препараты на стекле, но это процедура требует времени и детально не описана в литературе.

Для проб взятых в незнакомом месте в первый раз используют фиксацию почвы, заливая ее 96% спиртом и окрашивая через несколько минут 1% спиртовым раствором Бенгалроз. Для этого почвенный образец перед фиксацией распределяют тонким слоем на поверхности белой пластиковой или металлической ванночки. После суточного выдерживания проб животных легко выделить по ярко розовой окраске.

Оборудование и реактивы для учета энхитреид по методу Рембе

1. Бур диаметром 5–6 см.
2. Пластиковая киянка для вдавливания бура в почву.
3. Электронный термометр/гигрометр.
4. Водопроводная вода.
5. Пластиковые тазы диаметром 20 и высотой 10 см.
6. Пластиковые сита диаметром примерно 15 см с ячейей 0,5 мм.
7. Чашки Петри диаметром 12 см.
8. Небольшие стеклянные чашки или пластиковые чашки Петри для отбора энхитреид.
9. Острый кухонный нож.
10. Холодильник.
11. Бинокляр с увеличением до $\times 40$.
12. Микроскоп с увеличением до $\times 400$.
13. Изогнутые стоматологические скарификаторы или энтомологические булавки, впаянные в стеклянную трубку.
14. Стеклянные пипетки с грушей.
15. Этиловый спирт 70%.
16. Бенгалроз (краситель).
17. Пластиковые или металлические ванночки для проявки фотоматериалов.
18. Пробирки Эппендорфа с крышечкой.
19. Аппарат для лиофилизации образцов.
20. Аналитические весы с точностью до 0,1 мг.

Метод О'Коннора

Другой метод экстракции в воронках, называемый методом О'Коннора широко используется специалистами по энхитреидам в разных модификациях.

При подготовке к экстракции силиконовую трубку вставляют в носик воронки и с другого конца вставляют пробирку. Установив воронку в штатив, в нее ставят пластиковое сито, на которое кладут почвенный образец, распределяя его по площади сита до верхнего края воронки. Образец полностью заливают холодной водопроводной водой, лучше выдержанной в холодильнике до температуры 5–7°C. Над образцом располагают лампу, включаемую через реостат примерно на четверть мощности, затем через полчаса мощность увеличивают до половины, затем еще через полчаса до 3/4 и, наконец, еще через полчаса до полной мощности. При полной мощности образец выдерживают 1 ч. После экстракции пробирку вынимают и до идентификации червей хранят в штативе в холодильнике.

Для регулирования мощности ламп используют автоматические реостаты с постепенным увеличением мощности. Основная задача - медленное увеличение мощности для того, чтобы животные не погибли в пробе при резком увеличении температуры.

В другой модификации метода О'Коннора экстракция энхитреид ведется в пластиковые бутылки герметично соединенные с воронками.

При этом полулитровые пластиковые бутылки соединяются герметично с воронками и заполняются охлажденной до температуры 5–7°C водой до половины высоты воронки. После этого пробы размещаются в сита (с ячейками 1 мм) и взвешиваются. Затем сита опускаются на воронки, и уровень воды доводится до половины высоты сит.

Вся система размещается в эклекторе, состоящем из ванны-охладителя, в которую ставят бутылки и лампы 150 Вт в металлических абажурах сверху. Следует также накрыть пробы сверху хлопчатобумажной тканью для усиления градиента.

Оборудование и реактивы для учета энхитреид по методу О'Коннора

1. Стекланные или пластиковые воронки диаметром 9–10 см с диаметром носика 1–1,5 см.

2. Пластиковые сита по диаметру несколько меньшие, чем диаметр воронки.

3. Прозрачные силиконовые трубки длиной 20–25 см по диаметру носика воронки.
4. Пластиковые или стеклянные пробирки по диаметру носика воронки.
5. Штативы для воронок.
6. Штативы для пробирок
7. Водопроводная вода.
8. Лампы 25–40 Вт.
9. Реостат.
10. Холодильник.

Контрольные вопросы

1. Чем лучше фиксировать нематод?
2. Какую воду нужно использовать для размачивания почвенных проб? Почему?
3. Почему суспензию с нематодами фильтруют несколько раз, а не один?
4. Зачем используется каскад из сит разного диаметра ячейки?
5. Почему для идентификации энхитреид нужны живые особи?

3. УЧЕТ КРУПНЫХ ПОЧВЕННЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

3.1. Метод почвенных проб

Особенностью крупных почвенных беспозвоночных (макро- и мезофауны) является хорошая видимость и высокая подвижность объектов учета. При почвенно-зоологических исследованиях чаще применяются методы прямого учета, позволяющего определить численность почвенных животных во всем заселенном ими объеме почвы (до глубины встречаемости), рассчитанную на 1 м^2 .

Чаще всего используется метод послонной выкопки и разборки проб почвы (часто в литературе именуемый как метод почвенных проб). При раскопках во влажное время года и во влажных районах оптимальным размером пробы следует признать принятый у нас в практике почвенно-зоологических исследований и применяемый при работах по службе учета вредных насекомых размер пробы $0,25 \text{ м}^2$ ($50 \text{ см} \times 50 \text{ см}$). В аридных районах в сухие периоды года размеры отдельной пробы приходится увеличивать до 1 м^2 ($100 \text{ см} \times 100 \text{ см}$), а иногда и до 2 м^2 ($100 \text{ см} \times 200 \text{ см}$), так как в таких условиях беспозвоночные уходят на значительную глубину, а вырыть яму с отвесными стенками при малой площади пробы практически невозможно (Гиляров, Стриганова, 1987).

Уменьшение размера пробы до $1/16 \text{ м}^2$ ($25 \text{ см} \times 25 \text{ см}$) также нежелательно, особенно если пробу берут путем выкопки почвы лопатой – при таком способе взятия проб малой площади возрастает ошибка за счет увеличения площади стенок ямы. Использование проб маленького размера оправдано, если изучается население лишь самых верхних (5–10 см) горизонтов почвы.

При взятии пробы следует пользоваться прямоугольной лопатой (с незакругленным режущим краем). Лопата должна быть острой, хорошо отбитой и заточенной. Если раскопки проводят, в местностях с щебнистой почвой (сланцевые, известковые и др. почвы, особенно в горных местностях), кроме лопаты, используют кирку или лом. При взятии проб в лесах, где почва пронизана толстыми одревеснелыми корнями, для их перерубки удобен топор. При взятии пробы целесообразно пользоваться обыкновенной лопатой для выкопки земли и саперной, с короткой ручкой, для выборки почвы и подравнивания дна ямы после выборки каждого слоя.

Поскольку численность вертикально мигрирующих крупных почвенных беспозвоночных в конечном итоге рассчитывается на единицу поверхности (на 1 м²), а при раскопках определяется число беспозвоночных во всем столбе выкапываемой пробы, пробу приходится брать до нижнего предела встречаемости почвенных животных. При достаточно высокой влажности в весеннее время бывает возможным ограничиться слоем глубиной до 30–50 см, но в сухих местностях и особенно на легких почвах приходится брать более глубокие пробы, на глубину 100 см и более. Такого размера пробы отбираются сравнительно редко. Чаще, особенно весной, крупные почвенные беспозвоночные держатся близ поверхности почвы.

При отборе проб сначала отмечают ее площадь, забивая по углам отмеренного квадрата колышки, натягивая между ними бечевку. Затем от границ отмеренной площадки оттребают в разные стороны опад или лесную подстилку. Рядом с пробой с одной или с двух сторон раскладывают клеенку, лист пластика, какую-либо плотную материю, на которую потом и помещают выбираемую из пробы почву. Сперва с площади пробы на клеенку руками снимают опад и другие растительные остатки, которые тщательно вручную перебирают, учитывая и собирая всех найденных при этом животных, а траву выщипывают, что облегчает дальнейшую разборку почвы из верхнего слоя почвы. Встреченных на поверхности почвы беспозвоночных фиксируют и записывают отдельно от встреченных собственно в почве. Затем (после удаления разобранных растительных остатков) приступают к выкапыванию почвы с площади пробы лопатой.

Выбрасываемые на разложенную рядом с пробой клеенку (или другую подстилку) небольшие порции земли тщательно перебирают руками, причем более крупные комья приходится разбивать, а сплетения корешков и дерновину – разрывать. Всю землю из разбираемого слоя порцию за порцией перетирают на весу между ладонями, тщательно следя за всей ссыпавшейся на клеенку землей и собирая падающих и легко при этом обнаруживаемых животных. Иногда рекомендуется рассеивать над клеенкой горсти почвы, свободно лежащей на обращенной вверх ладони, или, распределив почву по поверхности клеенки тонким слоем, разгребать ее пинцетом.

Животных собирают отдельно из каждой пробы и слоя. Беспозвоночные, нуждающиеся в специальной сложной фиксации (дождевые черви, моллюски) или необходимые для прижизненных наблюдений, помещаются в матерчатые мешочки или баночки с небольшим количеством взятой из пробы почвы. Хищники должны быть размещены поодиночке. Мелкие насекомые, многоножки, мокрицы для фиксации помещаются в пробирки с

70%-ным этиловым спиртом с добавкой нескольких капель глицерина и формалина, крупные насекомые – в морилки или сосуды со спиртом.

Информацию обо всех найденных при раскопках животных (в том числе и раздавленных, непригодных для фиксации, или упущенных) тут же в полевых условиях записывают в дневник с той точностью определения, которая доступна руководителю работы, или под условными наименованиями. В дневнике дается подробная характеристика участка и места взятия пробы. В мешочки с червями, в баночки и пробирки кладут временную этикетку с номером пробы (и слоя). Если раскопки проводят по-слойно (что предпочтительнее), в этикетках числителем обозначают номер пробы, знаменателем – номер слоя, с соответствующей записью в дневнике. Фиксацию живых объектов и консервацию собранного материала проводят в конце рабочего дня в камеральных условиях.

Для учета крупных почвенных беспозвоночных наиболее благоприятна такая влажность почвы, при которой горсть почвы, зажата в кулак, образует ком, сохраняющий свою форму при разжатии руки, но легко рассыпающийся от легкого удара, а почва не пристает к руке. При такой влажности поверхностного слоя почвы беспозвоночные держатся у поверхности, а почва при разборке легко перебирается и просеивается.

При полевых исследованиях почвенных беспозвоночных важно знать не только их численность, но и распределение в почве по глубинам. Это бывает важно для сопоставления этих данных с распределением корневых систем и расположением генетических горизонтов почвы, для выявления тех глубин, на которых держатся те или иные виды и т.д. Поэтому в разные сезоны вегетационного периода целесообразно проводить по-слойные раскопки, позволяющие выявить глубину нахождения основных представителей почвенной фауны.

Удобнее всего при взятии проб анализировать почву по слоям, глубиной 10 см каждый. После взятия пробы на глубину до прекращения встречаемости беспозвоночных следует провести замеры генетических горизонтов почвы и сделать краткое описание разреза; если попутно не берут проб на влажность – глазомерно определить влажность каждого слоя почвы. При этом следует иметь в виду, что иногда после перерыва в 10–20 см снова встречаются почвенные обитатели. Глубже других уходят обычно дождевые черви и многоножки – геофилиды. Остальные пробы достаточно брать на 10 см глубже встречаемости, выявленной при взятии первой пробы. Пробы площадью 0,25 м² лучше всего брать вчетвером. Один выкапывает землю, двое ее перебирают, один собирает и записывает встреченных животных.

Во многих случаях удобным оказывается метод взятия проб для учета крупных беспозвоночных с помощью крупных буров. Отмечалось, что почвенные экологи, работавшие на торфянистых и легких супесчаных почвах без крупных корней и камней, брали пробы стальным цилиндрическим буром диаметром 16 см (площадью 0,02 м²). Высота цилиндра – 25 см. Пробы, взятые таким буром (на всю глубину или послойно), можно разбирать в полевых условиях, но можно помещать их и в полиэтиленовые мешки, доставлять в помещение и там исследовать в более удобной обстановке. Этот метод взятия проб применим далеко не на всех почвах – при работе в лесу, на щебнистых и на сильно уплотненных почвах пользоваться буром бывает невозможно (Гиляров, Стриганова, 1987).

Для повышения точности размера пробы (в сравнении с рытьем почвы лопатой) рекомендовано взятие проб с помощью забиваемых в почву рамок или пластинок, однако этот способ пригоден только при взятии проб до глубины 20 см. Для облегчения работы по анализу почвенных проб и повышения точности результатов за счет нивелировки индивидуальных особенностей лиц, берущих пробы, был предложен ряд методов извлечения из проб почвенных животных, отличных от описанной стандартной разборки.

Один из методов – промывка почв на системе сит, проводимая в стационарных условиях (в помещении с водопроводом). Такие методы были предложены еще в 20-х гг. XX в. Установка для промывки почвы представляет собой колонку сит, в которой верхнее сито имеет ячейки размером 3,5 мм, среднее – 1,5 мм, нижнее – 0,5 мм. Проба почвы помещается на верхнее сито. Промываемые струей воды частицы почвы и различные включения (и животные) распределяются по ситам, а самые мелкие частицы почвы – вымываются.

Применительно к полевым экспедиционным условиям был разработан более простой метод промывки проб. При его использовании образцы почв в мешках доставляют к берегу водоема или другому источнику больших количеств воды, где проводят промывку на системе сит, изготовленных из чередующихся друг с другом цилиндрических ведер и ведер, расширяющихся кверху, днища которых заменены сеткой – наиболее крупноячейистой у верхнего, наиболее мелкой у нижнего ведра.

Такой метод промывки возможен только вблизи источников воды и очень громоздок; легче всего им пользоваться при стационарных исследованиях. Кроме того, эффективность этого метода невелика при работе с лесными почвами, в которых обильны остатки растений, и особенно на торфяниках. Выборка животных, прилипающих к мокрым остаткам рас-

тений, очень затруднительна, а вся работа требует больших затрат времени и в общем при учете крупных форм промывка нецелесообразна.

Другой метод использования воды для извлечения крупных объектов из проб – взмучивание в насыщенном растворе соли – позволяет учитывать насекомых, но неэффективен при учете червей. Кроме того, при взмучивании в растворе соли всплывают растительные остатки, из которых трудно выбирать всплывающих животных.

Для учета почвенных беспозвоночных широко рекомендовано просеивание почвы с использованием сит. Использование ручных сит для просеивания проб почвы – физически трудная и недостаточно производительная работа.

Кроме того, применение сит ограничено свойствами анализируемой почвы. На бесструктурных и слабоструктурных песках использование сит целесообразно. Целесообразно и просеивание на ситах лесной подстилки при учете населения этого слоя. Но на тяжелых комковатых почвах, на черноземах, при исследовании почвы с большим количеством корней и дернины использование сит не дает ни заметного ускорения работы, ни повышения точности результатов.

Для учета всех групп крупных почвенных беспозвоночных (дождевые черви, многоножки, насекомые на разных стадиях развития и т. д.) ручная разборка проб на месте в полевых условиях – метод, дающий наиболее объективные данные о порядке численности и соотношении встречаемости отдельных таксонов и экологических групп. Именно данные, полученные при ручной разборке почвы, оказываются наиболее сопоставимыми при сравнительных зональных и региональных исследованиях.

При учетах крупных почвенных беспозвоночных кроме ручной разборки проб предложены и автоматические методы экстракции, подобно указанному выше для экстракции микроартропод.

Экстракция мезо- и макрофауны

Для выгонки крупных почвенных беспозвоночных применяют экстрактор Кемпсона (рис. 3). При подготовке к экстракции пронумерованные пластиковые кюветы заполняются этиленгликолем (примерно 2 см по высоте); добавляется несколько капель жидкого моющего средства. Почвенные пробы взвешиваются и помещаются в сита с диаметром ячеек 5 мм в перевернутом положении, чтобы облегчить животным выход из пробы. Длинные почвенные пробы размещаются горизонтально и разрезаются надвое, при этом нужно промаркировать их отдельные части.

Компактные блоки подстилки из листьев мелколиственных пород деревьев кладутся на бок. Пробы из минеральных горизонтов предварительно разламываются. При экстракции уже раздробленных и частично гомогенизированных проб сита заполняются до половины. Затем сито вставляется в кювету.

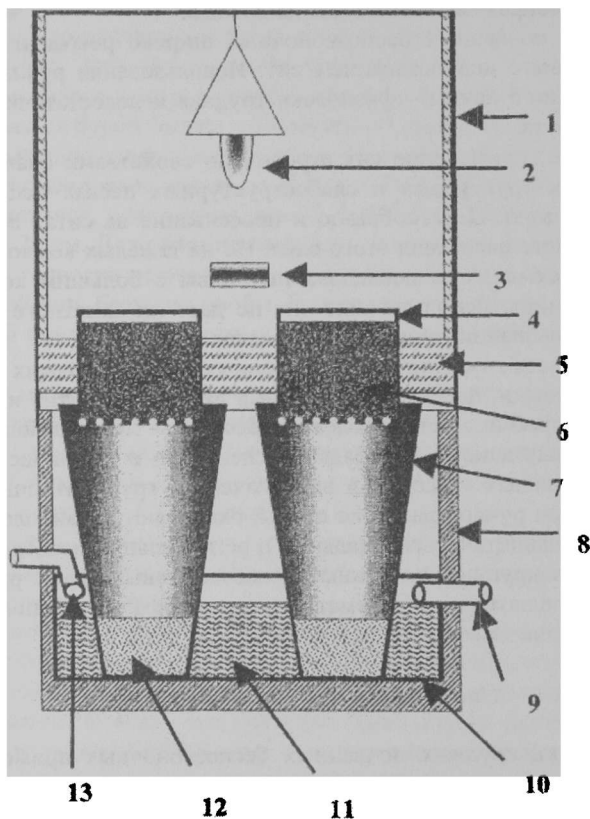


Рис. 3. Экстрактор Кемпсона: 1 – верхняя часть кожуха; 2 – нагреватель (инфракрасная лампа); 3 – термодатчик; 4 – пластиковая труба с сетчатым дном; 5 – теплоизоляция; 6 – проба; 7 – пластиковый стакан; 8 – нижний кожух; 9 – выпускная труба охладителя; 10 – кювета охладителя; 11 – вода; 12 – фиксатор; 13 – впускная труба охладителя

Оборудование и материалы для экстракции крупных почвенных беспозвоночных

1. Сита диаметром 20 см и высотой 5 см с ячейёй 5 мм.
2. Конусообразные контейнеры (пластиковые кюветы) с внутренним диаметром в диаметр сит.
4. Крышки для контейнеров.
5. Хлопчатобумажные платки.
6. Эклектор с автоматической регуляцией температуры.
7. Водоустойчивый маркер.
8. Этиленгликоль.
9. Жидкое моющее средство.
10. Этиловый спирт 70%.

3.2. Особенности учета дождевых червей

Специально для учета дождевых червей применяется полив поверхности почвы (пробы) раздражающими покровы червей жидкостями, заставляющими их выходить на поверхность. Сначала для этой цели применяли раствор марганцовокислого калия. Этот метод обладает тем недостатком, что заставляет выходить на поверхность только виды с широкими постоянными ходами, как *Lumbricus terrestris* L., большинство же более мелких собственно почвенных форм при применении этого метода с достаточной точностью не учитывается. В настоящее время этот метод не применяется. Позже для выгонки червей из почвы был предложен полив учетной поверхности почвы раствором формалина (Raw, 1959). Этот метод тоже особенно эффективен в отношении видов с вертикальными мало ветвящимися ходами и неэффективен по отношению к видам, обитающим в минеральных слоях почвы, особенно выпадающим в состоянии летнего покоя.

При использовании этого метода рекомендуются растворы формалина крепостью от 0,14 до 0,5%. Слабые растворы эффективны во влажных районах для выгонки таких видов, как *Lumbricus terrestris*, но позволяют учесть не более 50% особей таких видов, как *Eisenia rosea* Sav. и *Allolobophora caliginosa* Sav. Применение раствора крепостью 0,5% позволяет достаточно полно учитывать склонных к диапаузированию червей на участках с влажной и водопроницаемой почвой. Рекомендуется на пробу площадью 0,5 м² выливать 3 раза по 10 л раствора. Эффективнее всего этот метод при температуре около 10°C и при влажности суглинистой почвы около 40%.

В тех случаях, когда исследователя не интересует вертикальное распределение видов и дождевые черви представлены поверхностными и норными видами, можно рекомендовать этот метод как менее трудоемкий. Однако для большинства почвенно-зоологических исследований он мало пригоден. Кроме того, при этом методе требуется доставка к пробам большого количества воды, что ограничивает его применение во многих случаях, особенно в лесах.

Следует, однако, отметить, что выгонка формалином – единственный метод, позволяющий выявить и хотя бы примерно определить численность таких червей, как *Scherotheca chicharia* Bouche, обитающих в трещинах известняков. Однако в более сухих местностях этот метод недостаточно эффективен, и рекомендуется после выгонки червей формалином разобрать вручную верхние 10 см почвы.

В случае очень богатых волокнистыми растительными остатками почв для извлечения дождевых червей рекомендуется метод, аналогичный методу извлечения из проб нематод.

Пробы почвы доставляют в мешках и помещают в простой прибор следующего устройства. В детской ванночке на высоте 5 см от дна укрепляется проволочное сито, на которое и высыпают (равномерно распределяя) исследуемую торфянистую почву. Ванночку заливают наполовину водой, а затем над ней устанавливают батарею из 14–16 Вт лампочек. Через 3 ч после включения лампочек снимают батарею лампочек, затем вынимают сито с почвой, а потом вылавливают из воды червей. На участке с густой зарослью *Deschampsia* этот метод оказался более эффективным, чем ручная разборка или выгонка формалином при учете червей, например, вида *Allolobophora caliginosa*.

Контрольные вопросы

1. Для каких типов почв подходит использование почвенных сит для учета крупных беспозвоночных?
2. В чем заключаются достоинства и недостатки метода промывки почв?
3. Каков оптимальный размер почвенной пробы для учета крупных беспозвоночных?
4. Для учета каких групп дождевых червей удобен метод выгонки формалином?

4. УЧЕТ НАПОЧВЕННЫХ ОБИТАТЕЛЕЙ

4.1. Ручная разборка подстилки и просеивание субстрата на ситах

Ручная разборка может быть рекомендована для сбора беспозвоночных из лесной подстилки, мха, сильно разложившейся древесины, сухого навоза, речных наносов, растительных остатков, грибов и т.д. Для сортировки субстрата удобно пользоваться колонками почвенных сит (с круглыми, а не щелевидными отверстиями). Использовать полную колонку нерационально, достаточно 3–4 сит с диаметром отверстий 5 мм, 2 мм, 0,5 мм (иногда для мелких форм 0,25 мм) дна и крышки. Субстрат крышкой или совком нагребают в верхнее сито (куртинки мха, комья и т.д. нужно на сите расчленить, а камни, палки и другие крупные предметы удалить). Колонка несколько раз энергично встряхивается в вертикальной и горизонтальной плоскости, после чего верхнее сито опорожняют и вновь заполняют субстратом. Эту операцию повторяют несколько раз (работая с сыпучими субстратами, надо следить, чтобы средние сита не переполнялись больше чем на треть своего объема), после чего колонку последовательно разбирают, извлекая беспозвоночных мягким глазным пинцетом без прорезей и зубцов на концах и эксгаустером. Наиболее удобен эксгаустер небольшого объема (~50 мл), с трубками, изогнутыми под прямым углом к цилиндру (рис. 4). Разборку сит нужно производить в тени, поскольку на солнце животные начинают быстро двигаться и чаще уходят (улетают) из сита, а многие формы быстро гибнут от перегрева. Некоторые мелкие неярко окрашенные животные плохо заметны на ситах, поэтому субстрат из сит удобно разбирать в белой кювете.

При просеивании частично теряются крупные формы, не прошедшие через верхнее сито. Поэтому удобно работать вдвоем, одновременно бегло просматривая сброшенный с него субстрат на клеенке или бумаге. Просеивание разных типов лесной подстилки показало, что для активных форм, склонных укрываться от опасности в скважинах, этот способ дает не худшие (например, для косянок) или даже лучшие (для имаго и личинок стафилинид, жуужелиц и других мелких жуков, кивсяков) результаты, чем ручная разборка подстилки, однако при этом несколько больше теряются поверхностные или затаивающиеся формы (пауки, сенокосцы, клопы). Этот способ позволяет значительно экономить время и не требу-

ет постоянного напряженного внимания, что даст более стабильные результаты учета. Сочетая колонку сит с предварительным просеиванием на сите большого объема с крупной сеткой (удобны различные сита-мешки, так называемые сифтеры), можно получить особенно значительную экономию времени по сравнению с ручной разборкой. Это важно еще и потому, что при длительной разборке подвижные животные, потревоженные сгребанием субстрата, успевают уйти с пробной площади. Работая с ситами, нужно сохранять их сухими (беречь от дождя, не просеивать слишком влажные субстраты) и следить, чтобы их отверстия не забивались.

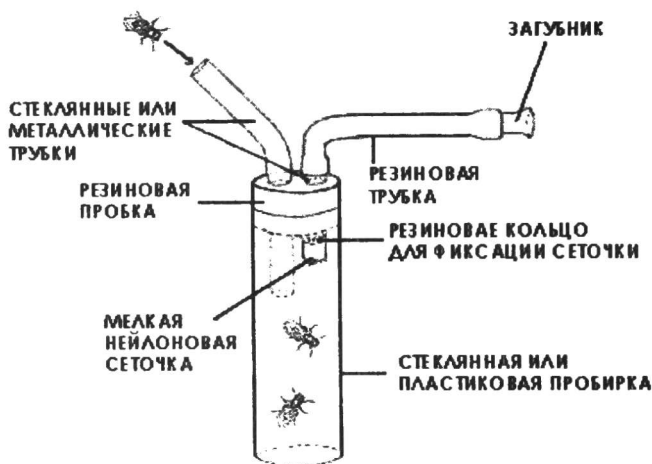


Рис. 4. Экстаустер для сбора беспозвоночных животных

Ручная разборка подстилки производится, как и разбор почвенных проб, на клеенке или бумаге. Весь субстрат с пробной площади нужно сразу собрать в мешок и потом разбирать частями. Оптимальный размер пробных площадей для напочвенных беспозвоночных – $0,25 \text{ м}^2$. Меньшие площади содержат мало крупных форм, а разборка больших площадей слишком трудоемка и при этом нарушенные растительность и моховой покров долго восстанавливаются, что слишком нарушает структуру биоценоза. Число необходимых проб зависит от особенностей распределения объекта и его численности в пробах, обычно достаточно 20–30 проб в каждом биотопе.

4.2. Почвенные ловушки и их использование для учета беспозвоночных

Для учета активно передвигающихся по поверхности почвы беспозвоночных животных (герпетобионтов) используются почвенные ловушки, впервые предложенные венгерским исследователем Барбером в 1931 году. С помощью почвенных ловушек учитывается не численность, а динамическая плотность (активность) поверхностно активных животных. Она выражается в сумме животных, пойманных за определенный период на ловушку или группу ловушек.

Существует множество вариантов почвенных ловушек, но все они устроены по принципу стакана, вкопанного в почву вровень с ее поверхностью.

Конструкция и установка ловушек

В последние годы большинство исследователей использует в качестве ловушек пластиковые стаканы различного объема. Ранее использовались различные стеклянные ловушки (стеклянные банки различного объема, граненые стаканы и т.п.); в настоящее время они практически не применяются из-за большей громоздкости и большей дороговизны.

Наиболее удобны стаканы объемом 200–250 мл с диаметром входного отверстия около 50 мм, однако используются и более крупные стаканы (объемом 0,5 л и диаметром входного отверстия 90 мм). Еще более крупные ловушки не слишком удобны, так как при их установке значительно нарушается структура микроландшафта; к тому же установка крупных ловушек более трудоемка. Иногда рекомендуется использование микроловушек (пробирок с толстыми стенками или пенициллиновых пузырьков). Такие ловушки имеют диаметр входного отверстия 10–15 мм и могут быть использованы для учета активности наиболее мелких представителей напочвенной фауны. В целом, в зависимости от диаметра входного отверстия ловушки может изменяться соотношение различных групп напочвенных обитателей. В ловушки в более крупном отверстии чаще попадают бурозубки, пресмыкающиеся, земноводные и т.п. В микроловушках всегда относительно выше доля мелких беспозвоночных с узким, вытянутым телом. В любом случае обязательным условием при проведении учетов является использование в одном эксперименте (или серии экспериментов) ловушек одинакового размера.

Перед установкой ловушек выбирается наиболее подходящий участок. Как правило, для выявления видового состава и активности герпе-

тобионтов выбирается наиболее типичный для изучаемой местности биотоп. При изучении распределения герпетобионтов в пределах катены, ловушки устанавливаются по градиенту экологических условий; при исследовании влияния источника загрязнения на почвенную фауну ловушки располагаются по градиенту действия загрязняющего фактора и т.д.

Рекомендуется устанавливать ловушки в одну линию, при этом количество ловушек зависит от целей исследования. При проведении большинства экологических работ достаточно линии из 10 ловушек; однако при работах, связанных с изучением экотонов количество ловушек в линии может быть увеличено до нескольких десятков.

Расстояние между ловушками в линии определяется задачами эксперимента и, как правило, составляет около 1 м. Оно может увеличиваться в случае однообразия растительного покрова и микрорельефа биотопа и уменьшаться, если мозаичность местообитаний беспозвоночных высока. Микроловушки могут быть установлены на расстоянии нескольких десятков сантиметров одна от другой.

Установка ловушек и учет герпетобионтов проводят в теплое время года, в период активности животных. При установке удобно использовать два стакана в ловушке, один в качестве каркаса лунки, а второй как ловушку. Важно следить, чтобы отсутствовал промежуток между краем стакана и почвой, куда могут проникнуть передвигающиеся по почве беспозвоночные. Также необходимо предохранять ловушки от попадания в них постороннего мусора (листового опада, веточек и пр.), который засоряет ловушки и снижает их уловистость.

Фиксирующие жидкости для почвенных ловушек

Ловушки можно использовать без применения фиксирующих жидкостей (для учета суточной динамики активности, для сбора живых насекомых), а также с применением различных фиксаторов.

В качестве фиксирующей жидкости чаще всего используют формалин (в виде 4% раствора) или пропиленгликоль. Формалин относительно дешев, слабо испаряется и сохраняет свои фиксирующие свойства даже при сильном разбавлении (например, после дождя). Однако формалин ядовит и обладает не слишком приятным запахом. К тому же почвенные животные, зафиксированные в формалине, становятся ломкими.

Пропиленгликоль (главная составная часть используемой автомобилистами жидкости Тосол) существенно дороже и при разбавлении теряет свои фиксирующие свойства. Объекты, попавшие в пропиленгликоль,

сохраняют гибкость, но требуют дополнительного промывания перед окончательной фиксацией. Естественно, что в пределах одного эксперимента нужно пользоваться каким-либо одним фиксатором, так как различные фиксирующие жидкости имеют различную привлекательность для тех или иных герпетобионтов.

Намного реже в качестве фиксатора используется 10% уксусная кислота или насыщенный раствор поваренной соли. Эти жидкости обладают слабыми фиксирующими свойствами и могут быть использованы лишь в случае отсутствия традиционных фиксаторов. Любая из фиксирующих жидкостей используется однократно во избежание изменения ее аттрактивности для напочвенных обитателей.

Для предотвращения попадания в ловушки излишней воды (б.ч. во время дождей) рекомендуется прикрывать стаканы крышками. Наиболее практичны квадратные крышки (приблизительно 15x15 см) из тонкого оргстекла на проволочных ножках. Расстояние между крышкой и поверхностью почвы должно быть около 2–3 см. Такие пластиковые крышки не затеняют ловушки и практически не влияют на уловистость беспозвоночных.

Проверка ловушек (выемка попавшихся особей беспозвоночных) проводится через равные интервалы времени, как правило, один раз в 7–14 суток. Ловушки без фиксатора требуют более частой проверки, так как подвижные герпетобионты могут выбраться из ловушек, а в случае попадания в ловушку хищников последние могут поедать более мелких или менее подвижных представителей напочвенной фауны.

Почвенные ловушки не раз подвергались модификации с целью увеличения уловистости и повышения сохранности отлавливаемого материала.

Оригинальный вариант ловушки для почвенных беспозвоночных предложен М.Н. Цуриковым (2003). Ловушка (рис. 5) состоит из каркаса (1) изготовленного из стальной проволоки с диаметром сечения 3 мм, куска плотной черной ткани (2), прозрачной пластиковой воронки (3), пакета-накопителя (4), емкости (5) для отлова беспозвоночных. Каркас (1) состоит из двух колец из проволоки диаметрами 1000 мм и 100 мм, соединенных 4 кусками проволоки длиной 500 мм (рис. 5, А). К верхнему кольцу каркаса крепится воронка (3) узким концом вверх, а остальную часть наружной поверхности этого каркаса обшивается черной тканью (2). Для изготовления пакета-накопителя необходимо взять кусок полиэтиленовой пленки размерами 170×200 мм, сложить его вдвое и, проло-

жив сверху прозрачный неплавкий материал, нужно скрепить оба слоя по линиям (рис. 5, *В*) при помощи термического сплавления.

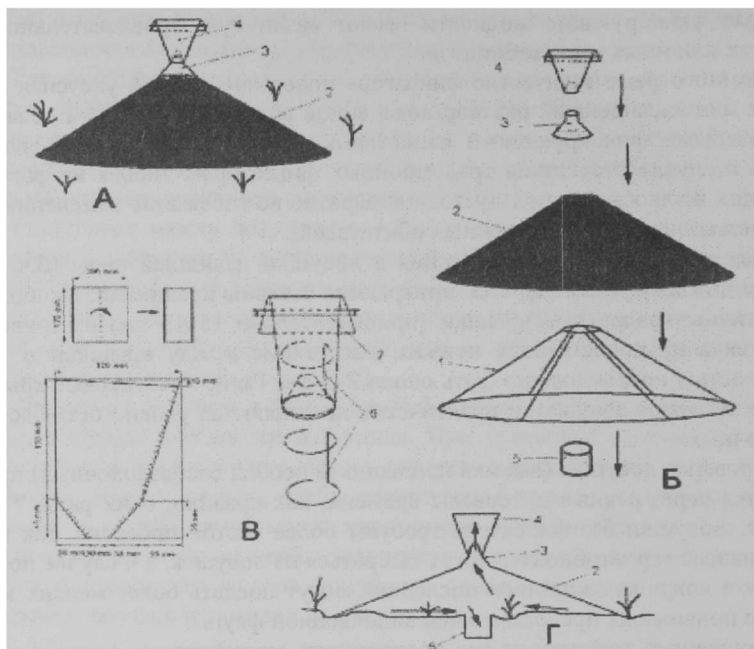


Рис. 5. Почвенная ловушка – контейнер

Далее нужно произвести разрезы по внешним краям линий сплавления, после чего необходимо узкий край полученной конструкции завернуть внутрь и расправить, чтобы получился направленный узким концом внутрь конус. В пакет можно поместить вставку (6), назначение которой – сохранение внутреннего объема. Вершинный край пакета-накопителя складывается вдвое и фиксируется скрепкой (7) произвольной конструкции.

Крепление пакета-накопителя с воронкой проще всего осуществлять при помощи энтомологической булавки. Для этого в 15–20 мм от узкого края горловины воронки (3) проделываются (параллельно плоскости края) 2 отверстия диаметром 2 мм. Далее съемный пакет надевается на трубку и прокалывается булавкой на уровне обоих отверстий. Такое кре-

пление даже во время сильного ветра, не позволяет пакету смещаться, и сохраняет собранный материал.

Перед началом исследования в почве необходимо сделать углубление в которое следует погрузить емкость (5) таким образом, чтобы ее верхний край был вровень с поверхностью земли. Затем остальную часть ловушки нужно установить так, чтобы центр воронки (3) находился над центром емкости (5). Действует ловушка следующим образом. Вышедшие из почвы (дерна, подстилки) беспозвоночные двигаясь к свету или попадают в емкость (5) или взлетая вверх скапливаются в пакете-накопителе (4).

В настоящее время применение почвенных ловушек, несмотря на массовую гибель в них беспозвоночных, является одной из самых распространенных методик исследования герпетобионтов. С целью замены этой методики сбора на более безопасную для беспозвоночных, была предложена почвенная ловушка нового типа (Цуриков, 1997). Ловушка представляет собой цилиндрический пластиковый сосуд высотой 20 см и диаметром 9 см (рис. 6). Сверху в сосуд вставлена пластиковая прозрачная воронка, а внутренний объем разделен на три равные части двумя горизонтальными сетками. Верхняя сетка имеет ячейки размером 4 мм, а нижняя – 2 мм. На дно сосуда, а также на каждую из сеток были помещены сложенные «гармошкой» ленты из бумаги, служащие беспозвоночным в качестве укрытия. Данная конструкция почвенной ловушки сепарирует беспозвоночных по их размерам, что не позволяет крупным экземплярам находиться в одном секторе с мелкими, в результате чего гибель беспозвоночных резко сокращается.

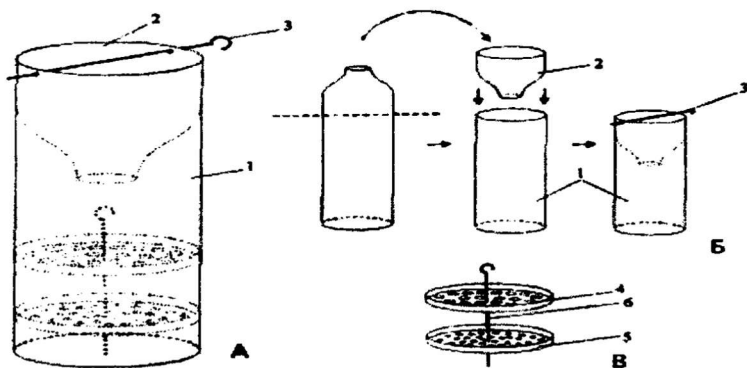


Рис. 6. Почвенная ловушка с сепаратором

Благодаря системе сепарирования, интервалы между учетами можно увеличить до 5 суток. Почвенные ловушки с сепаратором показали наибольшую эффективность для отлова имаго и личинок Coleoptera, имаго Collembola, Aranei, Acari, Hymenoptera, Heteroptera и Homoptera.

Оборудование и материалы для учета динамической плотности поверхности активных животных

1. Пластиковые стаканы.
2. Крышки для ловушек.
3. Совок или почвенный бур.
4. Полиэтиленовые пакеты для кратковременного хранения и транспортировки содержимого ловушек.
5. Маркер.
6. Сетка для фильтрования содержимого стаканов.
7. Емкости для приготовления и транспортировки фиксирующих жидкостей.
8. Пинцет.
9. Фиксирующая жидкость (формалин, пропиленгликоль и т.п.).
10. Этилацетат для замаривания живых беспозвоночных.
11. Этиловый спирт 70%.

Контрольные вопросы

1. Какие фиксирующие жидкости лучше использовать для почвенных ловушек?
2. Какие сита следует применять при учете беспозвоночных в подстилке?
3. Для каких целей можно использовать ловушки без фиксатора?

5. МЕТОДЫ ФИКСАЦИИ И ХРАНЕНИЯ ПОЧВЕННО-ЗООЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

5.1. Методы фиксации почвообитающих беспозвоночных

Большая часть почвообитающих беспозвоночных может быть идентифицирована лишь после их фиксации, и только для энхитреид и некоторых групп моллюсков разработаны методы прижизненного определения. Качество собранного материала и точность его определения во многом зависит от его правильной фиксации. Соответственно, для каждой группы почвенных животных необходимо подобрать наиболее подходящий фиксатор.

Для фиксации большинства представителей почвенной фауны (за исключением простейших) чаще всего применяется 70–80%-ный этиловый спирт и 4%-ный раствор формальдегида (формалин). При разведении спирта и формалина для приготовления фиксатора необходимо использовать дистиллированную, дождевую или несколько раз прокипяченную воду. В случае разведения этих реактивов жесткой водой часто наблюдается выпадение хлопьевидного осадка, который портит фиксированный материал. Не допускается также использовать воду, окрашенную окислами тяжелых металлов, которая может изменить окраску и структуру покровов животных. Как фиксаторы, этиловый спирт и формалин имеют ряд специфических особенностей.

Особенности спирта как фиксатора: при длительном хранении в спирте животные теряют упругость покровов и размягчаются, кроме того, могут терять окраску за счет экстракции пигментов спиртом. Животными, хранящимися в спирте, достаточно легко манипулировать, не боясь разрушения их тела.

Особенности формалина как фиксатора: при хранении в формалине животные становятся хрупкими и легко ломаются, что затрудняет обработку материала, сопровождаемую необходимостью манипулирования отдельными частями тела животного (например, во время определения или анатомирования). В то же время, формалин сохраняет естественную окраску животных.

Для отдельных групп почвенных беспозвоночных разработаны специфические методы фиксации с учетом особенностей покровов и струк-

туры тела животных. Большинство фиксирующих смесей составляется на основе растворов спирта или формалина.

Фиксация взрослых насекомых

Точность определения энтомологического материала во многом зависит от его сохранности, обеспеченной правильной фиксацией. В большинстве случаев насекомых помещают для умерщвления в морилку, представляющую собой стеклянную банку с плотно пригнанной пробкой, внутри которой вставлена небольшая пробирка, в которой находится ватный тампон, смоченный летучим фиксирующим веществом (как правило, уксусным эфиром). На дно морилки кладутся полоски фильтровальной бумаги для удаления излишней влаги, а также для предохранения покровов насекомых от нарушений.

Погибших насекомых с жесткими покровами вынимают из морилки и раскладывают для сушки и хранения на тонкие (0,5–1 см) ватные слои – матрасики, либо в сухие пробирки, прижав их ко дну ватным тампоном, чтобы избежать поломки. Насекомых и других членистоногих с мягкими покровами (тли, клещи, пауки, трихограммы, трипсы, червецы), а также всех мелких членистоногих (менее 3–5 мм) лучше хранить в 70% спирте. Помещать в спирт можно, как только что заморенных, так и живых особей, а также членистоногих из водных ловушек.

Ватные матрасики и ватные тампоны не должны быть рыхлыми, так как мелкие и хрупкие насекомые запутываются между волокнами и легко ломаются.

Размещать насекомых на матрасиках или в пробирках следует по возможности по отрядам, или даже по семействам. Если в одной пробирке (или на одном матрасике) будут представители сходных групп насекомых, это облегчит работу специалиста-систематика и позволит ускорить обработку материала. На матрасик насекомых кладут на брюшко или на бок, но не на спинку, подгибая им ножки и усики, чтобы они были ближе к телу, это сохранит высохший материал от поломки. Укладывают их ровными рядами, но так чтобы отдельные экземпляры не касались друг друга.

Насекомых собранных с целью определения заболевания или причины их гибели, ничем не замаривают и не фиксируют, а помещают в сухие пробирки или на матрасики.

Материал, предназначенный для диагностики, должен быть полноценным, то есть у насекомого должны быть в сохранности все важные при определении части тела. Насекомые без усиков, крыльев, ног, а также

грязные, сморщенные или не успевшие затвердеть и приобрести окраску, как правило, практически не определяются. Желательно при сборе материала охранять серию экземпляров, включая самок и самцов.

Если сухой материал необходимо отправить на определение, его следует проверить на зараженность вредителями коллекций – кожеедами и если таковые обнаружатся, провести его дезинфекцию.

Фиксация личинок насекомых

Личинок насекомых с сильно склеротизованными покровами, таких, как проволочники и ложнопроволочники, а также литобид, фиксируют 70%-ным спиртом с добавлением глицерина (2–3 %). Глицерин способствует сохранению эластичности покровов. Через 2–3 недели материал переносят в чистый 70%-ный спирт, в котором он сохраняется годами.

При фиксации личинок насекомых с более мягкими покровами (личинки мягкотелок, жужелиц большинства других жесткокрылых) рекомендуется добавлять в спирт некоторое количество формалина для предохранения покровов животных от мацерации. Для длительного хранения этих личинок необходимо через несколько недель после первичной фиксации перенести личинок в 70%-ный спирт.

Крупные личинки с белыми мягкими покровами (личинки пластинчатосых, долгоносиков, многих двукрылых) в спирте или формалине темнеют и теряют свою форму, вследствие микробиальных и аутолитических процессов, развивающихся в их кишечнике после фиксации, пока фиксатор не пропитает все внутренние органы. Поэтому их рекомендуется фиксировать кипятком. Личинок заливают кипящей водой, а после того, как они всплывают, помещают в спирт. При обваривании кипятком происходит свертывание белков, что способствует сохранению формы тела и окраски покровов. Крупных личинок следует поварить в кипятке 2–3 мин. При этом нужно следить, чтобы поверхность воды, в которой варятся личинки, была спокойной. При бурном кипении пузырьки воздуха, выделяющиеся из тканей животных, могут деформировать их тело. При обваривании кипятком у мягких личинок расправляются покровы и на них становятся видны различные структуры, которые трудно заметить на живых или зафиксированных другими способами животных. Часто эти внешние структуры имеют диагностическое значение. Поэтому в некоторых определительных таблицах описание строения животных дается по материалу, фиксированному кипятком. После фиксации кипятком личинок рекомендуется некоторое время держать в спирте с примесью формалина, а затем уже переносить их в чистый 70%-ный спирт.

Фиксация гусениц бабочек

Особые трудности представляет фиксация гусениц чешуекрылых. В большинстве своем это формы с мягкими покровами, требующие специальной обработки для сохранения формы тела. Фиксация кипятком либо формалином разрушает окраску и рисунок покровов, которые являются важными диагностическими признаками. Поэтому для фиксации гусениц предлагается специальная смесь следующего состава: спирт, салициловая кислота, поваренная соль (реактив), дистиллированная вода.

При приготовлении фиксатора 2 г салициловой кислоты растворяют в 100 мл 96%-ного спирта. Раствор смешивают с 100 мл 1%-ного раствора поваренной соли. Этот фиксатор может быть использован через 24 ч после приготовления. В него помещают живых гусениц. Уровень фиксирующей жидкости должен быть не менее чем на 0,5 см выше уровня фиксируемого материала. Фиксатор, как и фиксированный материал, должен храниться в темноте. При этом окраска гусениц сохраняется от 5–6 мес. до 5 лет.

Для личинок насекомых и многоножек со светлыми или прозрачными покровами рекомендуются также следующие смеси, в которых сохраняются окраска и структура покровов животных без предварительной обработки кипятком:

– этиловый спирт (96%-ный) – 6 мл, формалин (40%-ный) – 15 мл, ледяная уксусная кислота – 2 мл, дистиллированная вода – 30 мл (van Emdeп, 1958; Гиляров, 1964);

– этиловый спирт (96%-ный) – 750 мл, эфир – 250 мл, ледяная уксусная кислота – 30 мл, формалин (40%-ный) – 3 мл (Фасулати, 1971).

Фиксация моллюсков

Моллюсков перед фиксацией помещают в сосуд, до краев заполненный кипяченой водой и закрытый крышкой. При этом моллюски высовываются из раковин и в таком положении погибают от недостатка кислорода. После этого их фиксируют в спирте, сначала сильно разведенном, а затем переносят в растворы все повышающейся концентрации. После этого моллюски могут долго храниться в 70–80%-ном спирте. В их теле содержание воды очень высокое, поэтому если моллюсков поместить сразу в 70%-ный спирт они могут отдать всю воду, сморщатся и станут непригодными для определения.

Фиксация дождевых червей

Дождевых червей фиксируют слабым раствором формалина, в котором они сначала очень активно двигаются, а затем погибают в скрученном состоянии. Сразу после того, как животные перестанут двигаться в растворе, их надо вынуть, расправить на фильтровальной бумаге и ваткой стереть слизь. Через несколько минут, когда черви несколько подсохнут и зафиксированы в расправленном состоянии, их помещают в длинные химические пробирки с 4%-ным раствором формалина, в котором они долго сохраняют форму тела и могут использоваться для морфологических исследований (Малевич, 1951).

Фиксация мермитид

Мермитиды, обнаруженные в почве, фиксируются в 40%-ном спирте, либо 3–4%-ном формалине, либо в специальной смеси – жидкости Барбагалла следующего состава: 100 мл дистиллированной воды, 30 мл 40%-ного формалина, 8 г поваренной соли (реактив). Эта смесь представляет собой изотонический раствор, в котором мермитиды сохраняют эластичность покровов и окраску. В почве эти черви встречаются в сильно скрученном состоянии. Поэтому перед фиксацией их необходимо расправлять. Расправление мермитид проводится в воде при нагревании до 40°C. (иногда с добавлением 1% хлоральгидрата). При этом мышцы червей расслабляются и черви растягиваются. Процедура растягивания длится около часа. У недостаточно расправленных червей покровы затвердевают и становятся хрупкими. Если они были зафиксированы в не расправленном состоянии, их следует растягивать в смеси 35–50%-ного спирта с молочной кислотой в отношении 1:1 в течение 18–24 ч. Затем червей отмывают от молочной кислоты спиртом (Положенцев, Артюховский, 1963).

Фиксация и приготовление препаратов мелких почвенных беспозвоночных

Мелкие беспозвоночные, относящиеся к микрофауне, фиксируются три экстракции из почвы 70%-ным этиловым спиртом. Нематоды фиксируются последовательно 5- и 10%-ным раствором формалина, в последнем они могут и храниться долгое время. Для определения и подсчета количества микроартропод и нематод, как правило, практикуется приго-

товление постоянных или временных препаратов на предметных стеклах. Для определения нематод, симфил и простигматических клещей рекомендуется приготовление временных препаратов с лактофенолом, который смешивается с поливиниловым спиртом в отношении 1:1. Этот состав одновременно просветляет покровы и тем самым облегчает определение (Wallwork, 1970).

Для панцирных клещей и коллембол, как правило, используется жидкость Фора-Берлезе, удобная для быстрого приготовления постоянных препаратов. В ее состав входят: гуммиарабик – 30 г, дистиллированная вода – 50 г, хлоральгидрат – 200 г, глицерин – 20 г. При приготовлении этой смеси гуммиарабик заливают сначала водой и выдерживают в термостате при 37°C до полного растворения. Затем добавляют глицерин и хлоральгидрат и эту смесь еще двое суток выдерживают в темном месте, а затем фильтруют через стеклянную вату. При использовании жидкости Фора-Берлезе в препараты можно заливать животных после первичной фиксации их спиртом без предварительного обезжизивания (Гиляров, 1987).

Постоянные препараты микроартропод, однако, редко полностью удовлетворяют требованиям систематиков. При микроскопическом изучении материала некоторые детали строения животных невозможно рассмотреть. Поэтому в последнее время все шире распространяется применение временных препаратов на предметных стеклах с выемкой. Выемка не полностью прикрывается покровным стеклом, и в это открытое пространство пипеткой вносят каплю молочной кислоты или глицерина. Животных помещают в эту каплю рядом с краем покровного стекла. При микроскопическом изучении животных их можно поворачивать легким движением покровного стеклышка, либо тонкой препаровальной иглой. После этого животных снова можно возвращать в спирт или другой постоянный фиксатор.

Коллекции клещей рекомендуется хранить в жидкости, состоящей из 1 части глицерина и 9 частей 70%-ного спирта. Клещей помещают в полиэтиленовые микропробирки, заполненные до краев этой жидкостью. Длительное хранение в молочной кислоте не рекомендуется, так как животные в ней становятся хрупкими и со временем у них могут отламываться щетинки, конечности и другие детали, необходимые для идентификации.

5.2. Документирование материала

Весь собранный материал должен быть соответствующим образом документирован – снабжен этикетками с записями. Материал без этикеток не имеет практически никакой научной ценности. Каждый образец следует снабдить как минимум двумя этикетками: географической и экологической.

В этикетках указываются:

- географический пункт или географические координаты точки сбора;
- характер станции (лес, луг, поле, огород и т.д.);
- характер рельефа (горная вершина, берег, овраг и т.д.);
- дата сбора;
- фамилия и инициалы коллектора.

Если сбор проведен в горах, указывается высота места над уровнем моря. Если собран важный вредитель, то по возможности следует указать его примерную численность на 1 м² и поврежденное растение.

Для паразитических насекомых необходимо указать хозяина (если он известен) и растение, на котором найден хозяин, а для хищника – жертву или приложить остатки жертвы к сбору для дальнейшего возможного определения. Для тлей и клещей, кроме того, нужно отметить кормовое растение, особенности повреждения, степень заражения растения и место нахождения вредителя на растении, (стебель, прикорневая часть, сторона листа и т.д.), для тлей также характер колонии – одиночные особи, плотные или рыхлые, прижизненную окраску, блеск, наличие или отсутствие воскового налета или пушка.

При этикетировке насекомых, предназначенных для определения их заболеваний, кроме географических и экологических данных указываются:

- видовое название насекомого (в случае если вид неизвестен нужно собрать здоровых особей этого насекомого);
- условия, предшествующие заболеванию: особенности погодных условий сезона, условия питания, численность насекомых на участке.

В полевых условиях этикетки для матрасиков заполняются шариковой ручкой или простым карандашом. На протяжении многих лет этикетки для наколотых насекомых было принято писать только тушью на прямоугольничках из плотной бумаги, размером 15–20 на 7–10 мм, (в среднем 8 на 20 мм). В настоящее время этикетки в основном подготавливаются на компьютере и затем распечатываются.

Для спиртового материала этикетки также могут быть распечатаны, написаны тушью или простым карандашом. Нельзя писать этикетки

для спиртового материала шариковой ручкой, так как пишущая паста растворяется в спирте. Та сторона этикетки, на которой должна быть сделана надпись, должна быть обращена к стенке пробирки или банки, так чтобы ее можно было прочесть не вынимая.

5.3. Монтировка энтомологического материала

Для подготовки насекомых к определению или при оформлении коллекции проводится монтировка материала.

Процесс коллекционной монтировки состоит из накалывания, расправления, высушивания и установки. Для сухого материала с матрасиков требуется еще размачивание. Перед накалыванием материала энтомологические булавки очищают от защитного парафинового слоя с помощью ветоши. Свежесобранный материал следует накалывать лишь после того, как пройдет трупное окаменение (особенно у крупных насекомых). Как только лапки начали хорошо подгибаться и сохранять положение, можно приступать к накалыванию и, если необходимо, к расправлению особей.

Большинство насекомых (мухи, бабочки, крупные перепончатокрылые и др.) прокалывают в середину груди, чуть правее средней линии, чтобы булавка проходила между тазиками ног (рис. 7), жуков, прямокрылых и богомолов – в верхний угол правого надкрылья, так чтобы, булавка вышла между тазиками первой и второй пары ног, а если требуется расправить крылья, то прокалывают в середину щитка. Клопов прокалывают в середину щитка, немного отступя от средней линии так, чтобы булавка не проходила через желобок на нижней поверхности груди, где помещается хоботок, и не смещала его из нормального положения. Накалывать насекомых нужно так, чтобы над спинкой головка булавки выступала на 1–1,5 см. Для этой цели можно использовать черенок препаровальной иглы, в деревянной части которой сделан желобок длиной в 1 см.

Ряд мелких насекомых не следует накалывать даже на самые тонкие булавки. Их наклеивают на кусочки плотной белой бумаги (меловая, ватман) которую нарезают в виде треугольников или прямоугольников. Как правило, наклеивают всех мелких клопов-слепняков, а также перепончатокрылых (размерами 2–5 мм), мелких мух и жуков, у которых брюшко при высыхании укорачивается и теряет форму. Перепончатокрылых с длинными ногами и усиками (ряд хальцид, некоторые ихневмониды и бракониды) наклеивают на картонный прямоугольник так, чтобы предохранить выступающие части от поломки.

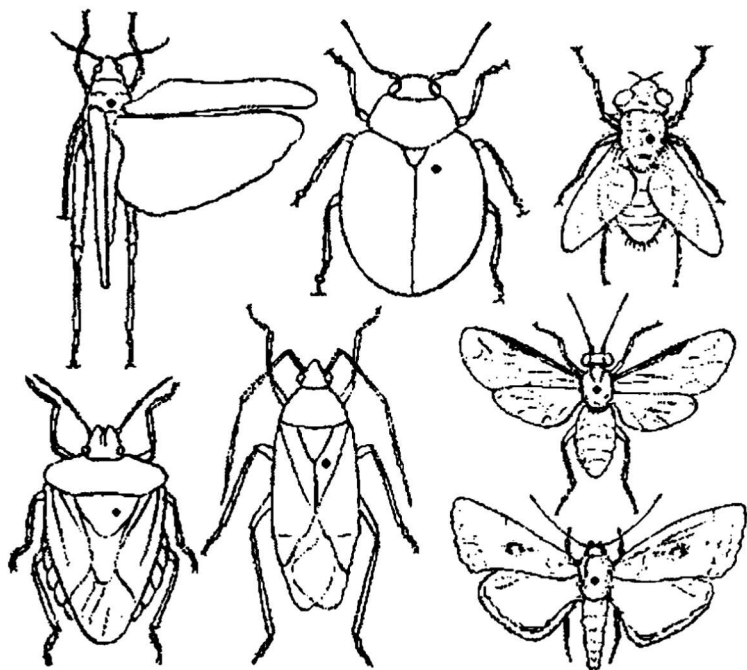


Рис. 7. Схема накалывания насекомых при составлении коллекций

Мелких ихневмонид (3–5 мм) удобно приклеивать боковой стороной прямо на булавку при помощи небольшой капельки клея. Важно, чтобы при наклейке части тела, которые служат для определения видовой принадлежности насекомого, оказывались не заслоненными и хорошо просматривались под бинокляром. Перепончатокрылых, мелких мух, комаров наклеивают на правый бок, ориентируя головой вперед или спинкой назад и головой налево. Клопов и других насекомых с плоским телом наклеивают на прямоугольники головой от булавки. Жуков следует наклеивать на треугольники так, чтобы нижняя сторона тела была доступна для осмотра. При наклеивании насекомых брюшной стороной, лапки и усики расправляют в стороны. Лучший клей готовят, растворяя оргстекло (лучше опилки оргстекла) в ацетоне или грушевой эссенции. Подобный клей можно получить растворением очищенной от эмульсии рентгенов-

ской пленки или фотопленки в грушевой эссенции или растворяя в воде кусочки застывшего сока вишневого дерева.

Сухой материал перед накалыванием или в связи с переносом в спирт необходимо размачивать в эксикаторе до приобретения насекомыми гибкости. Для этого в эксикатор насыпают хорошо промытый и прокаленный песок слоем до 10–20 см, увлажняют его кипяченой водой, кладут несколько кристаллов тимола или фенола для предохранения от плесени и накрывают слоями фильтровальной бумаги. Для мелких и средних насекомых с тонкими покровами вместо влажного песка достаточен, слой из 5–6 листов увлажненной фильтровальной бумаги. В этом случае вместо кристаллов добавляют 70% раствор тимола в спирту.

Насекомых помещают в эксикатор, не снимая их с ватного слоя матрасика. Если нужно размочить 1–2 экземпляра, их вырезают вместе с частью ватного матрасика. Время размачивания зависит от размеров насекомых и твердости хитина.

Некоторых насекомых (бабочки, стрекозы, поденки, ручейники, сетчатокрылые) расправляют на стандартных расправилках, состоящих из двух подвижных гладких дощечек, между которыми остается щель 0,5–1 см в зависимости от толщины брюшка и груди насекомого.

Тело расправляемого объекта опускается в щель, а крылья расправляют и закрепляют на дощечках, прикалывая булавками полоски кальки поверх крыльев. Перепончатокрылых, прямокрылых, бескрылых расправляют на мягких слоях пенопласта, прессованного торфа или прессованных опилок, обернутых калькой или пергаментной бумагой с помощью энтомологических булавок. При этом насекомых накалывают спиной вниз, предварительно делая отверстия для булавочных головок препаровальной иглой.

При изготовлении препаратов тлей используют гуммиарабиковую смесь (жидкость Фора-Берлезе): 60 г гуммиарабика (камедь суданской акации) помещают в стеклянную банку, заливают дистиллированной водой (100 см³), плотно закрывают и выдерживают в термостате при 60–70°C в течение двух-трех суток до полного растворения. Затем добавляют 400 г хлоралгидрата, а как только он растворится – 40 см³ химически чистого глицерина. Готовую смесь ставят на двое суток в термостат (при 60°C), затем фильтруют через стеклянную вату или же под вакуумом через стеклянный фильтр. Фильтрация ускорится, если смесь немного подогреть. Из-за летучести хлоралгидрата и разложения на свету смесь хранят в темноте в хорошо закрытой темной посуде.

В отдельных случаях при отсутствии гуммиарабика можно использовать камедь косточковых плодовых (черешни, вишни или абрикоса). На-

до выбирать только светлую и чистую камедь, которую сначала хорошо высушивают при 30–50°C, затем измельчают. При изготовлении жидкости из камеди косточковых берут дистиллированной воды в 3 раза больше, чем при использовании гуммиарабика (количество других компонентов прежние).

Для текущей работы смесь отливают небольшими порциями в маленькую баночку. Слишком густую жидкость слегка разбавляют раствором хлоралгидрата (400 г в 100 см³ воды) или (при небольших количествах жидкости) дистиллированной водой.

Данную фиксирующую жидкость можно использовать для быстрого приготовления препаратов из живых тлей даже в полевых условиях. Для этого на предметное стекло наносят каплю жидкости, нагревают ее на пламени спиртовки, не допуская ее кипения. Затем тлю помещают в жидкость, которая пропитывает ее тело (если тля крупная, то необходимо сделать препаровальной иглой несколько проколов брюшка) и осторожно накрывают покровным стеклом, удаляя пузыри воздуха. Препараты можно хранить в течение ряда лет, пригодными для диагностики.

5.4. Хранение материала

При длительном хранении энтомологического материала необходимо помнить, что коллекция и сборы могут подвергнуться порче от вредителей и болезней. Существует несколько способов хранения материала. Самые распространенные – в сухом виде и в консервирующих жидкостях.

Сухие насекомые могут храниться на ватных матрасиках, в пробирках или коробках с мягким дном, наколотые на энтомологические булавки или наклеенные на картон. Для небольших насекомых удобно использовать двойные пробирки: стеклянные трубочки (длина около 9 см), разделенные по середине на две половины короткой пробкой. В пробирках (высота 3–4 см, диаметр 8–10 мм) можно хранить мокрецов, сетчатокрылых, комаров, мелких мух, т.е. насекомых с тонкими и слабыми ногами и усиками, которые при снятии с ваты часто ломаются. Таких насекомых, если есть возможность, лучше монтировать сразу после умерщвления.

Сборы чаще всего портятся от избытка влаги и от повреждений музейного жука из семейства кожеедов, поэтому хранить ватные матрасики лучше всего в плотно закрытых деревянных ящиках или картонных коробках в сухом помещении. В железных коробках насекомые загнивают. У демонстрационных коробок или ящиков щели между крышкой и осно-

ванием должны заклеиваться липкой полиэтиленовой лентой или просто полосками бумаги. Для отпугивания вредителей в коробки помещают небольшое количество нафталина или технической камфары.

Для предохранения от плесени предлагается использовать пароформ (осадок, выпадающий при длительном хранении формалина). Завернутый в марлевый мешочек и прикрепленный на дно коллекции, пароформ препятствует развитию грибов при оптимальных условиях влажности и температуры. Время испарения пароформа такое же, как у нафталина. Все долго хранящиеся коллекции ежегодно необходимо просматривать, очищать от пыли, обтирая коробки ветошью, внутри обметая мягкой кисточкой.

Дезинсекцию зараженного материала можно проводить в полиэтиленовом мешке. Открытая коробка с насекомыми вкладывается в мешок, куда впрыскивается из баллона аэрозоль-инсектицид. Мешок плотно завязывается и выдерживается 2–3 часа. Доставать коробку из мешка следует в вытяжном шкафу или на открытом воздухе.

Личинок насекомых с полным превращением хранят в фиксирующих жидкостях. Для разведения фиксаторов следует пользоваться обязательно дистиллированной, дождевой или кипяченой водой. Перед фиксацией личинки должны пройти тепловую обработку. Мелких личинок заливают кипящей водой и держат в ней несколько минут до 1–3 вскипания. Более крупных, мягких личинок необходимо варить в течение 2–3 минут. При варке нельзя допускать бурного кипения, т.к. выделяющиеся при этом из тканей личинок пузырьки воздуха могут их деформировать. Затем личинки фиксируются в 70–75% спирте или 4% растворе формалина. Но такой материал часто темнеет, сморщивается. М.С. Гиляров и др. (1987) рекомендуют после заваривания личинок в кипятке, хранить их 2–3 недели в 75% спирте + 5% формалин, а затем переносить в 70–75% спирт без формалина. На теле крупных личинок нужно сделать несколько наколов иглой, чтобы ткани быстрее пропитались фиксатором.

Хорошие результаты дает хранение личинок в следующем фиксаторе: концентрированный формалин (5–6 частей), ледяная уксусная кислота (2 части), дистиллированная вода (3 части). Эта жидкость хорошо фиксирует и без нагревания. Через 10 дней личинки переносятся в 80% спирт, который затем следует заменить свежим.

Для хранения спиртовых материалов удобно использовать пробирки (длина 3,5 см, диаметр 0,9 см). Пробирки со спиртом закрывают ватной пробкой так, чтобы в ней не было пузырьков воздуха. Пробка должна быть плотной, хорошо пригнанной к стенке пробирки, иначе в рыхлой пробке мелкие насекомые запутываются и ломаются. Пробирки с насе-

комы помещают в плотно закрывающуюся стеклянную банку со спиртом той же крепости, на дно которой кладут слой ваты. Спирт должен полностью покрывать пробирки.

Контрольные вопросы

1. В чем заключаются достоинства и недостатки этилового спирта как фиксатора?
2. В каком фиксаторе целесообразно хранить гусениц чешуекрылых насекомых?
3. Какая информация должна содержаться на этикетке, прилагаемой к смонтированному насекомому?
4. Как проводится дезинсекция коллекционного материала?

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Гиляров М.С.* Методы почвенно-зоологических исследований М.: Наука, 1975. 125 с.
2. *Количественные методы в почвенной зоологии* / Отв. ред. М.С. Гиляров, Б.Р. Стриганова. М.: Наука, 1987. 288 с.
3. *Козлов М.А., Нинбург Е.М.* Ваша коллекция. М.: Просвещение, 1971. 160 с.
4. *Покаряевский А.Д., Гонгальский К.Б., Зайцев А.С.* Методы исследования структуры, функционирования и разнообразия детритных пищевых цепей: Методическое руководство. М.: Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 2003. 100 с.
5. *Фасулати К.К.* Полевое изучение наземных беспозвоночных. М.: Высшая школа, 1971. 424 с.

Дополнительная

1. *Бабенко А.С.* Микроловушки для учета напочвенных беспозвоночных // *Защита растений*. 1984. № 11. С. 45–46.
2. *Веремеев В.Н.* Ловушка для почвообитающих животных // Патент РФ 2168895. Гомельский гос. ун-т. Заявлено 23.09.1996, опубликовано 20.06. 2001.
3. *Голуб В.Б., Негрбов О.П.* Методы сбора наземных беспозвоночных и составления коллекций: Методическое пособие для студентов 1 курса дневного отделения биолого-почвенного факультета. Воронеж: Изд-во Воронежского гос. ун-та, 1998. 27 с.
4. *Гонтаренко А.В.* К методике изучения напочвенных жесткокрылых при сборе ловчими банками // *Международная науч. конф.: Тез. докл.* Воронеж, 1996. Т. 2. С. 161–162.
5. *Грюнталь С.Ю.* К методике учета жуужелиц (Coleoptera, Carabidae) // *Вестник зоологии*. 1981. № 6. С. 63–66.
6. *Корганова Г.А.* Исследования почвенных простейших // *Методы почвенно-зоологических исследований*. М.: Наука, 1975. С. 54–65.
7. *Никитина Л.И.* Почвенные инфузории среднего Приамурья. Хабаровск: Изд. ХГПУ, 1997. 102 с.

8. *Присный А.В.* О возможностях использования ловушек Барбера в энтомологических исследованиях // Всесоюзное совещание по проблеме кадастра и учета животного мира: Тез. докл. Уфа, 1989. Т. 4. С. 238–240.
9. *Феоктистов В.Ф.* Эффективность ловушек Барбера разного типа // Зоол. журнал. 1980. Т. 59, вып. 10. С. 1554–1558.
10. *Цуриков М.Н.* Почвенная ловушка нового типа // Проблемы сохранения и оценки состояния природных комплексов и объектов: Тез. докл. Воронеж, 1997. С. 139–140.
11. *Цуриков М.Н.* Классификация методов отлова жуков и других беспозвоночных. 2003. Web-page. Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург. Режим доступа: <http://www.zin.ru/Animalia/Coleoptera/rus/tsurik4/htm>
12. *Durkis T.J., Reeves R.M.* Barriers increase efficiency of pitfall traps // Entomol. News. 1982. Vol. 99, № 1. P. 8–12.
13. *Heilman T.J., Gednalske J.V., Walgenbach D.D.* A simple washing method for extracting insect larvae from the soil // J. Kans. Entomol. Soc. 1983. Vol. 56, № 4. P. 496–498.
14. *Morill W.L.* Plastic pitfall trap // Environmental Entomology. 1975. Vol. 4, № 4. P. 696.
15. *Niemela J., Haime E., Haila Y.* Balancing sampling effort in pitfall trapping of carabid beetles // Entomologica Fennica. 1990. Vol. 1. P. 233–238.
16. *Raw F.* Estimating earthworms population using formalin // Nature. 1959. Vol. 184. P. 1661–1662.
17. *Reeves R.M.* Use of barriers with pitfall traps // Entomol. News. 1980. Vol. 91, № 1. P. 10–12.
18. *Obrist M.K., Duelli P.* Trapping efficiency of funnel- and cup-traps for epigeal arthropods // Bull. de la Soc. Ent. Suisse. 1996. Vol. 69. P. 361–369.
19. *Onder F.* A method for collecting some soil insects: pitfall step with ethylen glycol (Ethanediol) // Bitki koruma bull. Plant. Prot. Bull. 1979. Vol. 19, № 2. P. 103–109.
20. *Schinner F., Ohlinger R., Kandeler E., Margesin R.* Methods in soil biology. Berlin: Springer Verlag, 1996. 426 p.
21. *Shubeck P.P.* An alternative to pitfall traps in carrion beetle studies (Coleoptera) // Entomol. News. 1976. Vol. 87, № 5–6. P. 176–178.
22. *Van Straalen N., Rijninks P.* The efficiency of Tullgren apparatus with respect to interpreting seasonal changes in age structure of soil arthropods population // Pedobiologia, 1982. Vol. 24. P. 197–209.
23. *Waage B.* Trapping efficiency of carabid beetles in glass and plastic pitfall traps containing different solution // Fauna Norvegica, 1985. Vol. 32, № 1. P. 33–36.

Отпечатано на участке оперативной полиграфии
редакционно-издательского отдела ТГУ

Заказ № 34 от «4» марта 2010 г. Тираж 100 экз.