

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный
санитарный врач

_____ М.И. Римжа

«28» декабря 2005 г.
Регистрационный № 111-1005

МЕТОДИКА АЭРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПЫЛЦЫ
РАСТЕНИЙ И СПОР ГРИБОВ ДЛЯ СОСТАВЛЕНИЯ
КАЛЕНДАРЕЙ ПЫЛЕНИЯ

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены», ГУ «Институт геохимии и геофизики» Национальной академии наук Беларуси

Авторы: доктор медицинских наук, профессор С.М. Соколов, кандидат медицинских наук Т.Е. Науменко, кандидат биологических наук Т.Д. Гриценко, кандидат геолого-минералогических наук В.П. Самодуров, кандидат биологических наук В.Л. Шалабода, С.Т. Андрианова, Л.М. Шевчук, А.Е. Пшегорода.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Разработчики проекта «Европейская сеть по астме и аллергии» прогнозируют, что к 2015 году европейским странам грозит эпидемия аллергических заболеваний. Известно, что аллергические заболевания часто связаны с воздействием биологических и химических составляющих атмосферных аэрозолей. Важнейшими аллергенами аэрозолей являются пыльца растений и споры грибов, которые вызывают поллинозы. За последние 10 лет резко возрос практический интерес к бронхиальной астме и поллинозам – наблюдается рост заболеваемости при достаточном понимании природы болезни и обилии противоастматических и противоаллергенных лекарств.

Установление причины поллиноза необходимо для правильного подбора диагностических и лечебных аллергенов, оптимальных сроков проведения специфической диагностики, профилактики и лечения. Начало заболеваний обычно совпадает по времени с цветением растений, являющихся аллергенами для человека и симптомы, как правило, повторяются ежегодно в одно и то же время. Аллергенная обстановка определяется не самим фактом цветения трав и деревьев, а количественным содержанием зерен пыльцы в 1 м³ воздуха в течение 24 часов. Постоянные аэропалеонтологические исследования необходимы для разработки системы оповещения населения и медицинских учреждений о концентрации пыльцы и спор в 1 м³ воздуха («пыльцевом дожде») т.е. для оценки аллергенной обстановки, что позволит людям, страдающим аллергией избежать или снизить тяжесть течения болезни. Решение этих вопросов связано с проблемой мониторинга аэропалеонтологического состояния атмосферы, с развитием постоянно действующей сети станций слежения за качественным и количественным составом пыльцевого дождя. Начало создания такой сети станций в Европе было положено в 70-х годах, а в конце 80-х аэропалеонтологи большинства европейских стран объединились для разработки единой программы исследований, создания международной службы и единого банка аэропалеонтологических данных. Общеевропейский банк аэропалеонтологических данных объединяет информацию более 100 национальных станций аэропалеонтологического мониторинга из большинства европейских стран. Начиная с 1993 года, банк данных предоставляет информацию о пылении разных растений на территории Европы и разрабатывает прогнозы пыления на основе текущих и многолетних аэропалеонтологических наблюдений и метеорологических данных. В нашей стране подобной аэропалеонтологической службы до настоящего времени не существует. Одним из важнейших моментов налаживания аэропалеонтологического мониторинга является разработка нормативно-методической базы проведения исследований.

Инструкция «Методика аэробиологических исследований пыльцы растений и спор грибов для составления календарей пыления» разрабатывается впервые и является обобщающим документом ранее проведенных исследований. На ее основании будут обоснованы основные положения ведения мониторинга пыльцы растений и спор грибов в составе аэрозолей, градация содержания пыльцевых зерен и спор грибов и система

информирования населения об опасных ситуациях в отношении “пыльцевого дождя” на примере города Минска.

Инструкция предназначена для осуществления аэропалинологических наблюдений и на первом этапе будет использоваться Республиканским научно-практическим центром гигиены и Институтом геохимии и геофизики Национальной академии наук Беларуси.

В задачи аэропалинологических исследований входит в первую очередь наблюдение за качественным и количественным составом пыльцевого дождя, выявление сезонной и суточной динамики пыления таксонов, изучение факторов, влияющих на формирование спорово-пыльцевых спектров и составление прогноза пыления. Аналитическая процедура по исследованию включает сбор пыльцы растений и спор грибов, содержащихся в воздухе, их идентификацию, количественное определение при визуальном подсчете в поле зрения оптического или (и) электронного микроскопа и разработку Календарей пыления.

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Аэропалинология – область современной биологии, изучающая состав и закономерности формирования пыльцевого дождя.

Гравиметрическая ловушка – осаждение частиц происходит под действием силы тяжести.

Импакторная ловушка – частицы перемещаются с потоком воздуха и сталкиваются с поверхностью. Бывают 2 видов: естественные (частицы перемещаются ветром) и волюметрические (принудительно прокачивается воздух с заданной скоростью)

Поллиноз – аллергическое заболевание, вызываемое пылью растений, проявляющееся клинически в виде сезонного аллергического ринита, конъюнктивита и иногда сопровождающееся развитием бронхиальной астмы и другими симптомами.

Пыльцевой дождь – совокупность пыльцы растений и спор грибов, циркулирующих в атмосфере.

PM (Particulate Matter) – международное обозначение мелкодисперстных частиц аэрозолей. Индекс в нижней части обозначает размер в микронах (PM_{2,5}, PM₁₀).

Таксон (биол.) – термин применяется для обозначения систематических единиц любого ранга, принят на Международном ботаническом конгрессе в 1950 г. (ед.ч. taxon, мн.ч. taxa).

Транссекта – пересекающая линия (в данном случае, линия, пересекающая препарат вдоль – продольная транссекта, линия пересекающая препарат поперек – поперечная транссекта)

Эталонный препарат пыльцы – пыльца растения, определенная специалистом и приготовленная для длительного хранения, многократного просмотра в микроскопе и сравнения с изучаемым материалом. Используется в качестве наглядного пособия для обучения специалиста – палинолога.

Эффективность ловушки - отношение числа захваченных пылинок к общему числу пылинок, сброшенных в щель.

ПРИБОРНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ АЭРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В настоящее время не существует универсальных ловушек, пригодных для исследования всех типов биологических частиц. Каждая область исследований (палинология, микология, вирусология и т.п.) требует своих методов отбора образцов, последующей обработки и идентификации материала. В основном используются два принципа улавливания биологических частиц: с помощью гравитации – гравитационные (взвешенные в воздухе частицы осаждаются под действием силы тяжести на горизонтальную поверхность) и импакторные (Impaction – столкновение) – взвешенные в воздухе частицы движутся вместе с потоком воздуха и осаждаются на поверхности различных типов и ориентации. Они в свою очередь бывают естественными (ветер) или искусственно созданными (различные насосы). Большинство импакторных ловушек относится к волюметрическому типу, поток воздуха в них создается принудительно, за счет работы воздушной помпы.

Ловушки пылицы не выпускаются в странах СНГ. Американские и канадские исследователи пользуются в основном ловушками, выпускаемыми в исследовательских центрах США, в Европе пользуются ловушками фирм Burkard (Англия) и Lanzoni (Италия), при явном преобладании пыльцеуловителей фирмы Burkard. Это довольно дорогостоящие приборы, и на оформление их покупки уходит много времени, при этом конструкция пыльцеуловителя относительно проста и воспроизводима. Поэтому одной из задач налаживания исследований явилась разработка и апробирование опытной модели пыльцеуловителя для анализа аэрозолей в условиях Беларуси.

Для построения пыльцеуловителя, адаптированного к условиям города Минска, была выбрана схема ловушки Буркарда. Преимущество ловушки этого типа состоит в том, что это impact-волюметрическая ловушка с прокачкой воздуха, удобным обслуживанием, подготовкой проб к анализу в микроскопе и хранению препаратов.

Разработка пыльцеуловителя Буркарда включает следующие этапы: проведение обзора конструкций ловушек различного типа; обоснование выбора оптимальных параметров конструкции; составление технической документации для выполнения опытной модели пыльцеуловителя; конструирование и построение опытного экземпляра ловушки; проведение апробирования и градуировки прибора (анализ РМ и пылицы).

На рисунке 1 представлена принципиальная схема ловушки Буркарда аналогичная образцам, представленным в справочниках [1, 2].

Оптимальные требуемые параметры при конструировании ловушки Буркарда:

- Входная щель 2x14 мм
- Скорость прокачки воздуха 10 л/мин
- Сбор пылицы на прозрачную ленту Melinex tape
- Скорость вращения барабана от 1 суток до 1 недели или 2 мм/час
- Длина ленты на барабане 48 мм.

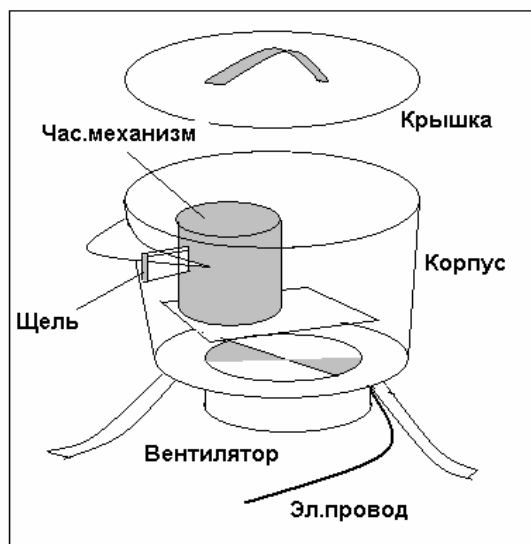


Рисунок 1 – Схема ловушки

Принципиальная схема такова – корпус ловушки выполняют из пластика, крышка закрепляется герметически и весь поток воздуха идет через входное отверстие. Прокачка воздуха осуществляется вентилятором. Внутри расположен барабан, на поверхность которого прикреплена прозрачная лента с липким слоем. Барабан вращается с постоянной скоростью. Известно, что средний объем воздуха, потребляемого при дыхании, составляет 10 л/мин, и волюметрический пылеуловитель должен быть отрегулирован и приведен к этой величине. Часовой механизм, вмонтированный в ловушку, имеет ход со скоростью 1 оборот в неделю так, чтобы один замер составлял 7 суток сбора пыли, при сборке использован стандартный часовой механизм МЧН (механизм часовой недельный), применяемый в термографах и барографах с недельным циклом наблюдений. Скорость вращения 1,75 мм /час



Рисунок 2- Пылеуловитель

Слева – ловушка в сборе, в центре – крышка ловушки снята для смены ленты, справа – часовой механизм.

На рисунке 2 представлен опытный образец пылеуловителя, постройка которого была выполнена на базе Института геохимии и геофизики НАНБ. Апробация пылеуловителя проводилась использованием пыли сосны и злаков.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЫЛЬЦЕУЛОВИТЕЛЯ

Пыльцеуловитель является физическим прибором для определения концентрации пыльцы в 1 м^3 воздуха. В идеальном случае все пылинки, проходя в приемную щель прибора, должны прилипнуть на клеящую поверхность приемного барабана. На практике, однако, не вся пыльца захватывается прибором. Часть ее пролетает сквозь прибор и не фиксируется. Эффективность пыльцеуловителя является параметром, который показывает, какой процент пыльцы фиксируется ловушкой. Эффективность ловушки зависит от многих параметров: конфигурации щели, скорости прокачки воздуха, клеящей среды приемного барабана.

Определение эффективности ловушки проводится путем вылавливания отдельных пылинок из массового пыльцевого препарата с помощью препировальной иглы. С помощью этой иглы 100 пылинок сбрасывают во входную щель ловушки, работающей в стандартных условиях. Работа ведется с помощью двух бинокулярных линз. Одна линза используется для отбора отдельных пылинок из массового препарата, а вторая – для сбрасывания пылинок в щель прибора. После сбрасывания 100 пылинок в приемную щель прибора, фиксирующая клеящая лента достается из прибора, и проводится подсчет пылинок, захваченных прибором. Отношение числа захваченных пылинок к общему числу пылинок, сброшенных в щель, показывает эффективность ловушки.

Для определения эффективности прибора используется известная и широко распространенная пыльца (например, сосны). Эффективность пыльцеуловителя является достаточно высокой в том случае, если после сброса ста пылинок в щель прибора на фиксирующей ленте ловушки обнаружены свыше восьмидесяти пылинок. Так, если на фиксирующей ленте ловушки обнаружено 83 пылинки, то эффективность пыльцеуловителя составляет 83%.

УСТАНОВКА ПЫЛЬЦЕВОЙ ЛОВУШКИ

Высота установки пыльцеуловителя имеет первостепенное значение для выявления состава пыльцевого дождя. В большинстве случаев пыльцевые ловушки устанавливаются на высоте 10-20 м над уровнем земли, как правило, на крыше зданий. Состав пыльцевого спектра на уровне земли или на уровне человеческого роста (~ 1,5 м) отличается от состава спектра на больших высотах в первую очередь повышенным содержанием пыльцы травянистых растений. Так, концентрация пыльцы полыни на уровне человеческого роста в 11,5 раз превышает содержание пыльцы полыни на высоте 15 м, злаков в 4,4 раза, соответственно. Для пыльцы деревьев столь значимая разница концентраций не отмечается – содержание пыльцы березы, ольхи, тополя, дуба, сосны, ивы на уровне человеческого роста лишь в 1,5, редко в 2 раза превышает концентрацию пыльцы этих таксонов на больших высотах. Мониторинг аэропалинологического состояния атмосферы на высоте человеческого роста дает и более точную информацию о начале пыления травянистых растений. Так, появление отдельных пыльцевых зерен полыни и злаков регистрируется на уровне земли на 1-2 недели раньше, чем на высоте 15 метров [3]. В

медицинских целях слежение за составом пыльцевого спектра необходимо проводить на двух уровнях: на высоте 10-20 м – для получения общей региональной динамики пыльцевого дождя и на уровне человеческого роста – для уточнения начала пыления и определения периода, опасного с аллергенной точки зрения.

В стандартных аэропалинологических исследованиях пыльцевые ловушки устанавливают на высоте 10-20 м над уровнем земли на крыше зданий вдали от стен и других укрытий. Следует избегать также близости парков, ботанических садов и крупных промышленных предприятий. Во всех аэропалинологических работах высота установки ловушки должна быть оговорена.

ПОДГОТОВКА СРЕД ДЛЯ УЛАВЛИВАНИЯ ЧАСТИЦ

Улавливающая поверхность в пыльцеуловителе Буркарда представляет собой предметное стекло или прозрачную ленту шириной 14 мм («Melinex tape» – тонкая не клейкая лента), поверхность которых покрыта смесью вазелина и воска (18 г вазелина и 2 г воска). Состав смесей и методы их приготовления цитируются по методическим указаниям «Принципы и методы аэропалинологических исследований»[2].

Приготовление смеси № 1 (для ленты «Melinex tape»)

1. Очищенный от пыльцы воск поместить в фильтровальную воронку с бумажным фильтром.
2. Воронку поместить на небольшой термостойкий химический стакан.
3. Стакан с воронкой поставить в муфельный шкаф и греть при температуре 60°С, очищенный воск фильтруется в стакан и скапливается на дне.
4. Разогреть 18 г вазелина, поставить на аналитические весы и добавить 2 г жидкого воска.
5. Все аккуратно размешать и остудить при комнатной температуре. Смесь готова к употреблению.

Работа с лентой «Melinex tape»

Для того, чтобы на барабан пыльцеуловителя прикрепить ленту «Melinex tape» используется любая лента с двухсторонней клейкой поверхностью, которая приклеивается к барабану узкими поперечными полосками в начале каждого суточного деления. Поверх нее на барабан пыльцеуловителя по окружности наклеивают ленту «Melinex tape». Для нанесения смеси воска и вазелина на ленту используют колонковую кисточку (ширина кисточки равна или превышает ширину ленты). Барабан пыльцеуловителя и саму смесь слегка разогревают. Вращая барабан, кисточкой наносят смесь, не допуская повторного смазывания. Барабан готов к работе и устанавливается в пыльцеуловитель.

За неимением ленты «Melinex tape» и других лент шириной 14 мм разработана методика использования заменяющей ленты. Можно использовать одностороннюю клеящуюся ленту шириной 15 мм (желательно применение

ленты шире отверстия ловушки от 15 мм до 20 мм). Лента крепится на барабане ловушки при помощи подогнутых краев. В качестве среды для изготовления препаратов следует использовать глицерин-желатиновую смесь, которую готовят по следующему рецепту:

Приготовление смеси № 2 (для ленты с односторонней клеящейся поверхностью и ленты «Melinex tape»)

Потребуется: глицерин - 70 мл; желатин - 10 г; дистиллированная вода - 60 мл; фенол (для подавления роста грибов) - 0,1 г; фуксин или сафранин.

1. Желатин замачивают в дистиллированной воде до набухания.
2. На небольшом огне разогревают смесь до полного растворения желатина.
3. В горячую смесь добавляют глицерин и фенол.
4. Смесь разделяют на две части (2а, 2б).
5. Смесь 2а хранят отдельно от смеси 2б.
6. В смесь 2б добавляют фуксин или сафранин.

Присутствующий в среде краситель (фуксин или сафранин) окрашивает все живые пыльцевые зерна в красный цвет разной интенсивности, облегчая обнаружение и подсчет пыльцы в препарате. Насыщенность цвета и оттенок его окраски могут служить в некоторых случаях и диагностическими признаками.

Работа с односторонней клейкой лентой

На барабан пыльцеуловителя наклеивают ленту с односторонней клейкой поверхностью наружу. На эту поверхность наносят смесь № 2б. Для нанесения смеси на ленту используют колонковую кисточку. Перед нанесением смесь № 2б слегка разогревают вместе с кисточкой. Вращая барабан, кисточкой наносят смесь, повторное смазывание допускается. Закрашивающие движения производят по всей поверхности ленты с захватом краевых участков, что позволят одновременно приклеить ленту. При остывании смеси барабан готов к работе и устанавливается в пыльцеуловитель.

После окончания одного цикла работы как экспериментальной, так и стандартной ловушки и смены барабана вся лента разрезается лезвием на участки, каждый из которых соответствует одним суткам работы ловушки. Если пыльцеуловитель отрегулирован на работу в течение одной недели, то длина такого участка составит 42 мм в экспериментальной ловушке (48 мм в стандартной ловушке фирмы «Буркард»).

Каждый кусочек ленты наклеивается на предметное стекло. Для наклеивания как стандартной, так и экспериментальной ленты используется смесь № 2а. Для этого разогретая смесь наносится кисточкой на предметное стекло, поверх нее укладывается пленка образцом кверху (клейкой стороной) таким образом, чтобы не образовались воздушные пузырьки.

Рекомендуемый способ: пинцетом придерживают за тот край, который по времени соответствует ночному экспонированию, и противоположный короткий край медленно опускают на предметное стекло. Визуально контролируют наличие воздушных пузырьков. Если они появляются, образец приподнимают и повторяют наклеивание. Сверху образец покрывается тонким

покровным стеклом, на нижнюю поверхность которого наносится кисточкой тонкий слой смеси № 2б (т.е. поверхность, смазанная смесью, должна укладываться на поверхность образца «лицом к лицу»). При этом не допускать образования воздушных пузырьков.

Образец снабжается этикеткой. Этикетка наклеивается на предметное стекло справа от образца. На этикетке указывается дата и временной интервал, соответствующий данному участку ленты. Например: 24.03 – 25.03.2005, 9.00 – 9.00. Подготовленный так образец готов к просмотру и длительному хранению.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН И СПОР ГРИБОВ

Для определения и идентификации пыльцы растений и спор грибов применяются следующие пособия-определители:

- Бобров А.Е., Куприянова Л.А., Литвинцева М.В., Тарасевич В.Ф. Споры папоротникообразных и пыльца голосеменных и однодольных растений флоры европейской части СССР. Л., 1983. -208 с.
 - Bucher E., Kofter V., Vorwohl G., Zieger E. Das Pollen der Südtiroler Honige. Stuttgart, 2004. -678 p.
 - Куприянова Л.А. Палинология сережкоцветных. М-Л. 1965 -216 с.
 - Куприянова Л.А., Алешина Л.А. Пыльца и споры растений флоры европейской части СССР. Т.1, Л., 1972. -172 с.
 - Куприянова Л.А., Алешина Л.А. Пыльца и споры растений флоры европейской части СССР. Т.2, Л., 1978. -184 с.
 - Каратыгин И. В., Азбукина З. М. Семейство устилаговые // Определитель грибов СССР. Порядок Головневые. Вып.1. Л., 1989. -290 с.
 - Новожилов Ю. К. Класс Миксомицеты // Определитель грибов России. Отдел слизевики. Вып.1. СПб., 1993. -288 с.
 - Winkler H., Ostrowski R., Wilhelm M. Pollenbestimmungsbuch der Stiftung Deutscher Polleninformationsdienst. Paderborn, 2001. -80 p.
- Также можно использовать базы данных «PalDat» и «ARMRU».

ПОДСЧЕТ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН И СПОР ГРИБОВ В ПРЕПАРАТЕ

Подсчет пыльцы проводится с использованием микроскопа [2]. В качестве рабочего журнала используется общая тетрадь высотой 30 см с линейной или клеточной разлинейкой. Заполнение страниц выполняется вручную простым карандашом. На рисунке 3 представлен макет страницы рабочего журнала.

В строке «№ образца» ставится тот номер образца, под которым он будет храниться в исследовательской лаборатории.

В строке «Заполнено» ставится дата экспонирования образца и время суток (если несколько измерений в сутки). Фамилия исследователя пишется в том случае, если журналом пользуются несколько человек.

В столбце «№» ставится порядковый номер таксона по мере регистрации.

№ образца _____

Заполнено “ _____ ”

числ о

месяц

год

время _____

время суток

Ф. И.О. исследователя _____

№	Наименование таксона	Подсчет количества	Сумма	Явление
1	Alnus	ШШШШШШШШШШ	20	дождь
2	Corylus	ШШШШШШШШ	16	
3	Populus	ШШШШШШ	11	
4			
5			
6				
ИТОГО		Древесные	47	
		Травы	--	
		Споры	--	
		Сумма	47	

Рисунок 3 - Макет страницы рабочего журнала

В столбце «Наименование таксона» пишется латинское имя таксона (это международная норма для палинологов):

- ◆ вид, если определение выполнено до вида,
- ◆ род, если определение выполнено до рода,
- ◆ семейство, если определено только семейство.
- ◆ морфологическая группа спор (для спор грибов, если другие определения невозможны)

Заготовка с названиями, выполненными заранее, неприемлема, так как в разные дни регистрируется пыльца разных таксонов по мере появления в воздухе.

Столбец «Подсчет количества» заполняется исследователями по своему усмотрению. Для кого-то удобнее ставить палочки, кто-то пишет цифры. Наиболее удобным, на наш взгляд, является подсчет количества в виде зачеркнутых квадратов. Вначале ставятся угловые точки квадрата (их 4), затем они соединяются линиями (еще 4) и перечеркиваются перекрестными линиями (их 2), таким образом получается 10 ☒ .

Столбец «Сумма» показывает суммарное содержание пыльцы или спор по каждому таксону.

Столбец «Явление» позволяет отмечать погодные и иные условия, которые могут влиять на количество пыльцы и спор (дождь, туман, появление пуха, сильная задымленность, и т.п.)

После подсчета образца заполняется итоговая колонка «ИТОГО», подсчет пыльцы и спор производится по растительным группам «Древесные», «Травы», «Споры».

В строку «Сумма» заносится итоговая сумма всех подсчитанных таксонов по растительным группам.

Для оценки содержания пыльцевых зерен в воздухе необходимо проанализировать не менее 20% от общей площади препарата.

Существует несколько способов подсчета пыльцевых зерен в образце:

1. отдельными полями зрения, хаотично расположенными по всей площади препарата, их должно быть не менее 500;
2. непрерывными транссектами, параллельными продольной оси препарата и расположенными регулярно (4 транссекты);
3. непрерывными транссектами, перпендикулярными продольной оси препарата и расположенными регулярно (12 транссект).

Последний (№3) способ, наряду с анализом суммарного содержания пыльцы в воздухе, дает возможность оценить и суточную ритмику пыления отдельных растений. Так, анализируя препарат 12 перпендикулярными транссектами, расположенными через 4 мм друг от друга, исследователь получает возможность выявить суточную ритмику пыления с интервалом 2 часа (на барабане экспериментальной ловушки это будет через 3,48 мм, скорость движения барабана 1,74 мм в час). Результаты анализа каждого препарата заносятся в сводную таблицу (рисунок 4). Наименование таксонов даются по-латыни.

Дата	Отбор проб						Исследователь						Фактор F
час суток	00-02	02-04	04-06	06-08	08-10	10-12	12-14	14-16	16-18	18-20	20-22	22-24	0,97
таксон													концентрация п.з/м ³
													Σ
Acer													
Alnus													
Artemisia													
Asteraceae													
Betula													
Carpinus													
Chenopodiaceae													
Corylus													
Cyperaceae													
Cupressaceae													
Ericaceae													
Fagus													
Fraxinus													
Fabaceae													
Juglans													
Larix													
Lycopodium													
Picea													
Pinus													
Plantago													
Poaceae													
Polypodiaceae													
Populus													
Quercus													
Rosaceae													
Rubiaceae													
Rumex													
Salix													
Sphagnum													

Tilia													
Ulmus													
Urtica													
Umbelliferae													
Undetermined													
Cladosporium													
Alternaria													
час суток	00.- 02.	02.- 04.	04.- 06.	06.- 08.	08.- 10.	10.- 12.	12.- 14.	14.- 16.	16.- 18.	18.- 20.	20.- 22.	22.- 24.	

Рисунок 4 – Бланк регистрации пыльцевых зерен и спор

Расчет концентрации (абсолютного содержания) пыльцевых зерен

При подсчете пыльцевых зерен в образце исследователь имеет дело с их относительным содержанием, а именно с числом пыльцевых зерен, зарегистрированных на определенной площади препарата. Во всех дальнейших расчетах используется абсолютное содержание пыльцевых зерен (концентрация), то есть число пыльцевых зерен в единице объема воздуха. Для вычисления поправочного коэффициента (фактора “F”) необходимо знать следующие параметры:

1. Общую площадь препарата – $S_{\text{общ}}$ (588 мм² для экспериментальной ловушки)
2. Проанализированную площадь препарата – $S_{\text{ан}}$

Если препарат анализировался 4 продольными транссектами, то проанализированная площадь препарата составит: $S_{\text{ан}}$ = длина ленты (42 мм) x ширина транссекты (диаметр поля зрения) x число транссект (4). $S_{\text{ан}}$ будет равно 42 мм².

1. Общий суточный объем воздуха (14,4 м³) – $V_{\text{общ}}$
 2. Проанализированный объем воздуха – $V_{\text{ан}}$
- $$V_{\text{ан}} = S_{\text{ан}} \times V_{\text{общ}} / S_{\text{общ}} \quad (1,028 \text{ м}^3 = 42 \text{ мм}^2 \times 14,4 \text{ м}^3 / 588 \text{ мм}^2) \quad (1)$$

Коэффициент пересчета концентрации рассчитывается как величина, обратная проанализированному объему воздуха:

$$F = 1 / V_{\text{ан}} \quad (0,97 = 1 / 1,028)$$

Фактор (F) соответствует поправочному коэффициенту пересчета концентрации и равен для наших условий 0,97 [2]

При необходимости, пыльца может быть сфотографирована через оптический микроскоп (рис. 5).

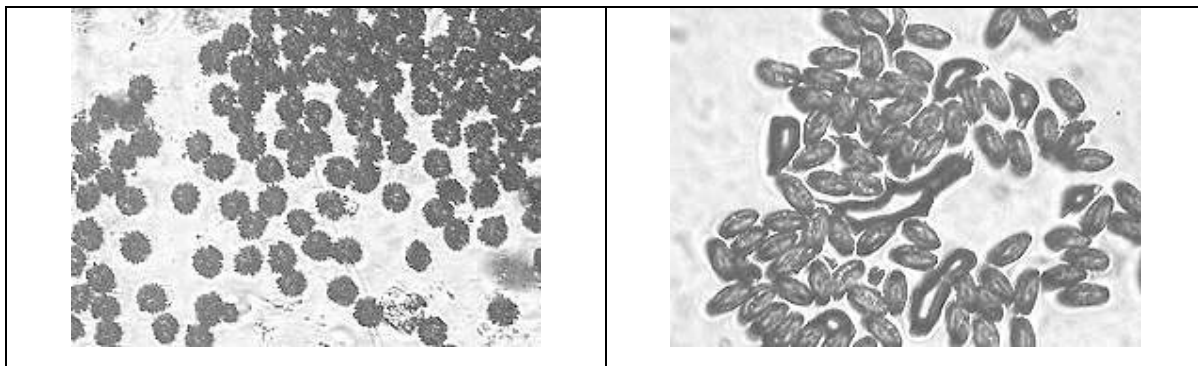


Рисунок 5 - Пыльца в оптическом микроскопе, ув X 135. Слева – пыльца астровых (Asteraceae), справа – пыльца бобовых (Fabaceae).

Полученные данные позволяют составить ряд графиков среднесуточной концентрации пылицы в 1 м^3 воздуха (рис.6). Для подсчета и построения графиков и календаря пыления используют программу «Microsoft Excel».

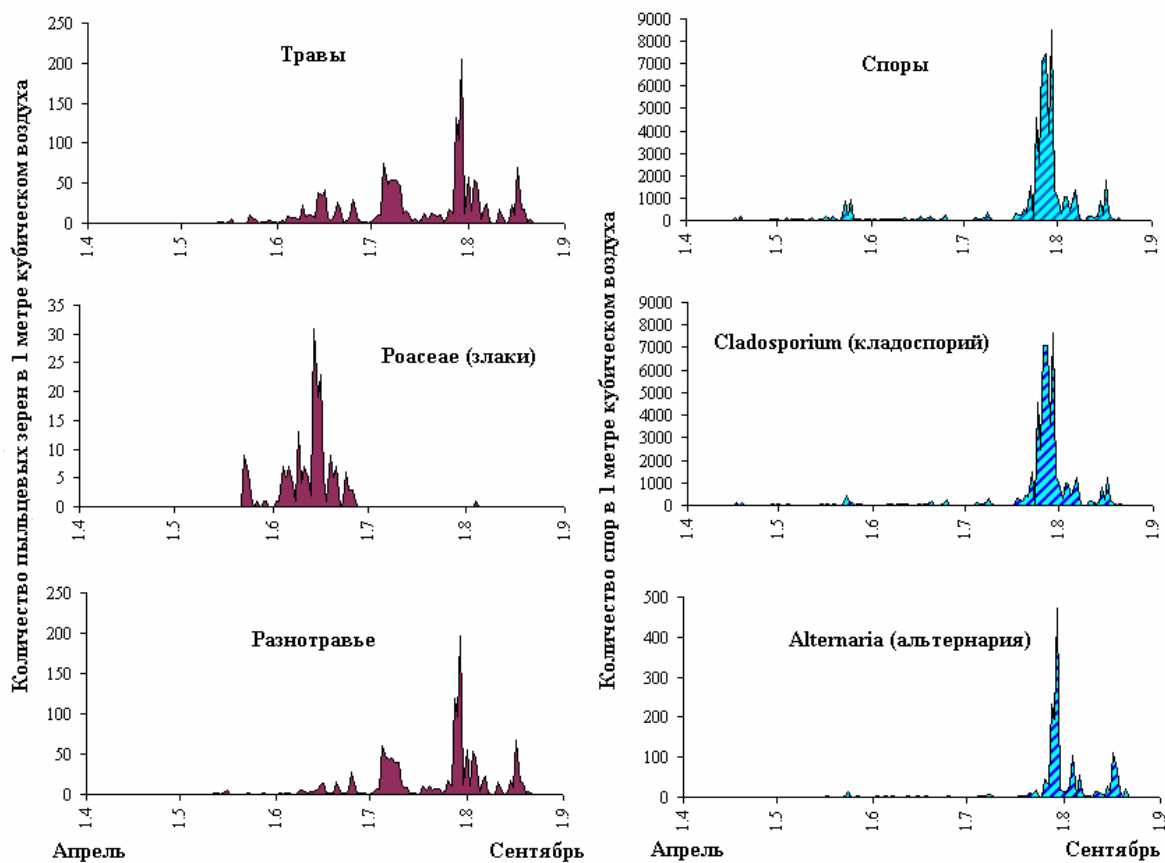


Рисунок 6 - Графики содержания пылицы трав и спор грибов в м^3 воздуха (сезон 2005 г.)

СОСТАВЛЕНИЕ КАЛЕНДАРЯ ПЫЛЕНИЯ

В основу разработки Календарей пыления должны быть положены рекомендации, изложенные в Allergy Service Giede in Europe [2, 4].

1. Число таксонов, входящих в состав Календаря пыления, не должно превышать 15.
2. Выбор таксонов должен быть обусловлен их аллергенными свойствами и частотой встречаемости.
3. Данные усредняются за декаду и представляются в виде столбчатой диаграммы, выполненной в логарифмическом масштабе.

Возникло несколько модификаций календаря пыления:

Календарь представлен в виде столбчатой диаграммы, выполненной в логарифмическом масштабе (рисунок 7, [2]);

Календарь представлен в виде таблицы, в которой ячейка представляет декаду и закрашивается в соответствии со среднесуточным уровнем пыльцы или спор за декаду – низкий, средний, высокий и очень высокий (рисунок 8);

В настоящее время наблюдается отход от такого построения. Применяется другой метод [5,6,7], когда вся пыльца за сезон пыления принимается за 100% и подсчитывается с нарастанием процент пыления за каждый день. Значения ниже 1% и выше 99% отбрасываются, так как связаны со случайным попаданием пыльцы в аэрозоль. Началом пыления считаются дни, когда пыльцы данного таксона составляют более 2,5%, концом пыления, когда отмечено 97,5% от всей пыльцы таксона за сезон. Пик пыления – 50% пыльцы данного таксона. Данные за декаду не усредняются. Таким образом, весь сезон пыления следует разделить следующим образом:

- 2,5% -- 12% -- начало пыления;
- 12% --25 % - нарастание пыления;
- 25% - 75% - середина пыления;
- 75% - 95% - угасание пыления;
- 95% - 97,5% - конец пыления.

Календарь пыления в данном случае представляет собой таблицу, в которой ячейка декады закрашивается не полностью, а только со дня порогового уровня. Это позволяет более точно отмечать изменение уровней, не усреднять их по всей декаде. Кроме того, сопоставление региональных календарей позволяет территориально проследить передвижение пыления. На рисунке 9 приведен такой календарь из работы немецких авторов [7].

Такой метод построения календаря, на наш взгляд, является более рациональным. Он позволяет конкретно отмечать начальные и пиковые периоды пыления и сравнивать различные регионы. Объединение данных различных станций (точек) аэропалеонтологического мониторинга осуществляется на основе их принадлежности к одной географической, климатической или «аэриобиологической» зоне.

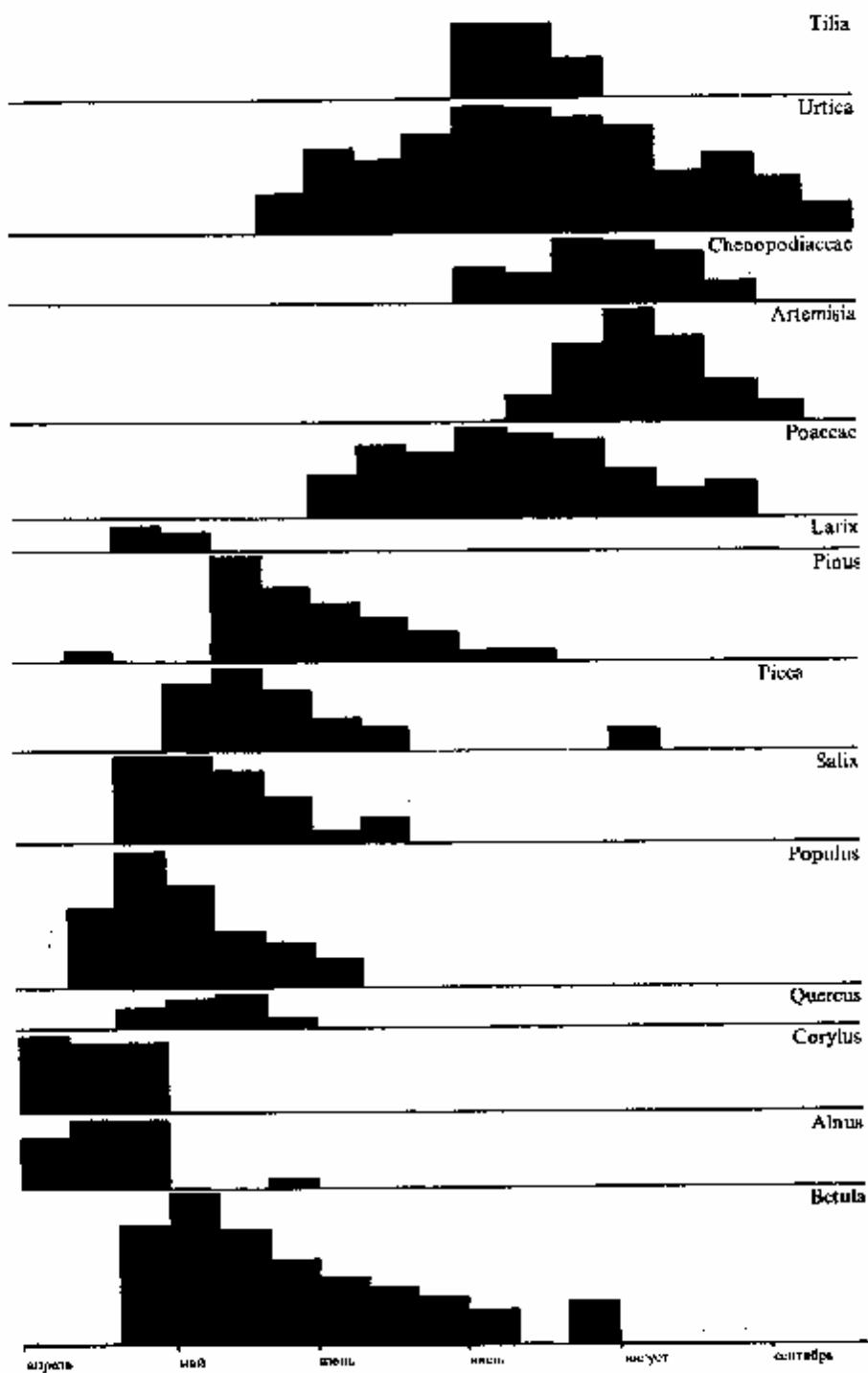


Рисунок 7 – Стандартный календарь пыления

Месяц	Март			Апрель			Май			Июнь			Июль			Август			Сентябрь			
	Декада	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
НАЗВАНИЕ																						
Общее количество																						
Древесные																						
Травы																						
Споры																						
Древесные																						
Ольха																						
Лещина																						
Тополь																						
Береза																						
Ива																						
Клен																						
Ясень																						
Сирень																						
Дуб																						
Бук																						
Сосна																						
Ель																						
Можевеловик																						
Розоцветные																						
Липа																						
Травы																						
Злаки																						
Осоковые																						
Астровые																						
Полынь																						
Золотарник																						
Капустные																						
Щавель																						
Крапива																						
Подорожник																						
Маревые																						
Бобовые																						
Споры																						
Сферические частицы > 1 мкм																						
Несовершенные грибы																						
Кладоспорий																						
Альтернария																						
Аспергилл/Пеницилл																						
Ботритис																						
Ржавчинные грибы																						
Телиоспоры																						
Эциоспоры																						
Урединиоспоры																						
Мучнисторосяные грибы																						
Споры																						
Дополнительные факторы																						
Дождливые дни																						
Дни с пухом																						

Среднедекадное содержание пыли и спор на ловушке (количество/см²/24 часа)



Рисунок 8 – Календарь пыления для г. Минска за 2004 г.

Regionaler Pollenflugkalender für Mittel- und Ostdeutschland (nach Pollenflugdaten von 1992 - 1994)

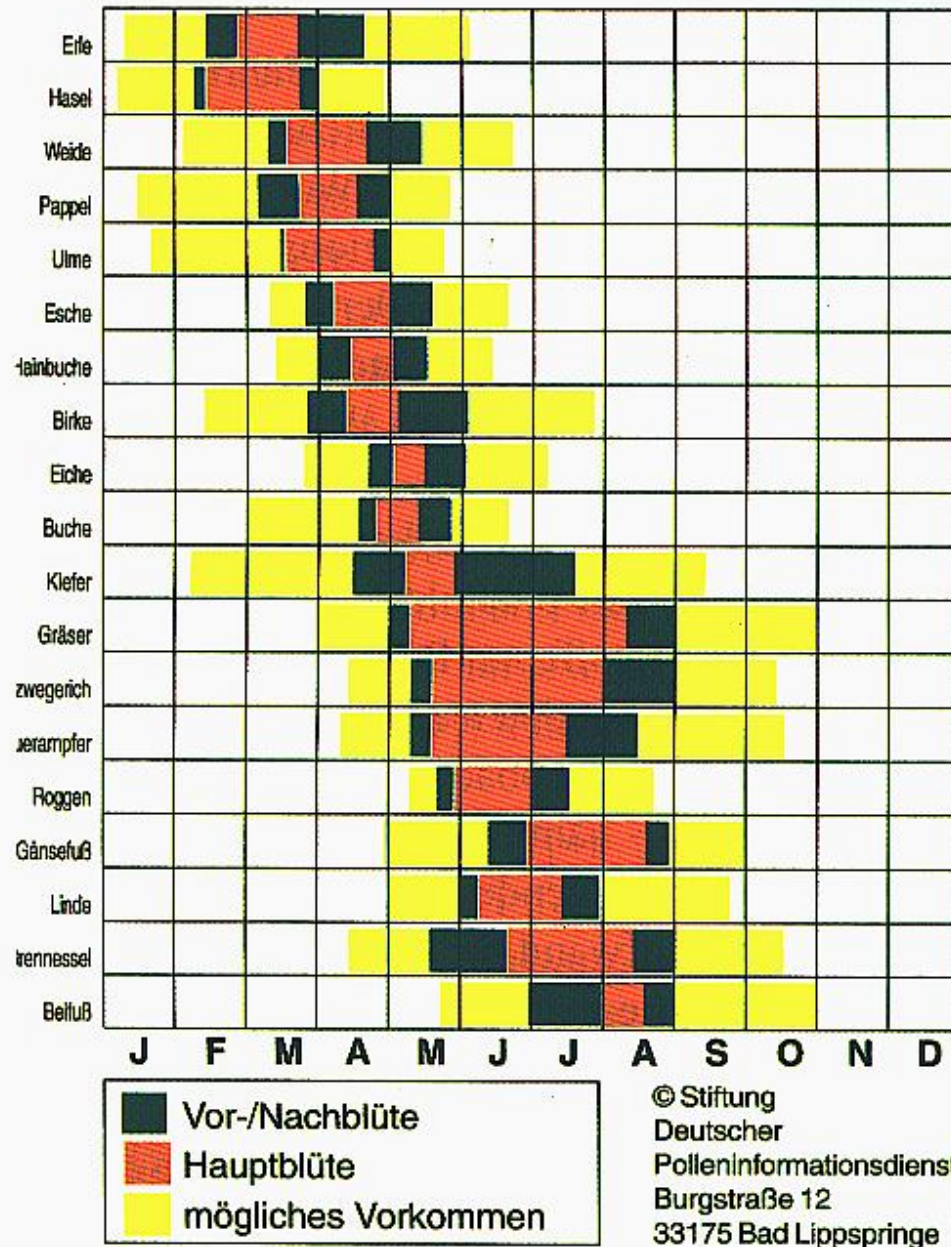


Рисунок 9 – Региональный пылевой календарь для Центральной и Восточной Германии.

Для Европейского региона рекомендуется осуществлять постоянное наблюдение за следующими таксонами (подчеркиванием выделены таксоны, произрастающие в Беларуси, в том числе в садах и парках):

1. Alnus (A.glutinosa, A.incana, A.viridis)
2. Corylaceae (Carpinus, Corylus, Ostrya)
3. Cupressaceae (Chamaecyparis, Cupressus, Juniperus, Taxus)
4. Oleaceae (Fraxinus, Olea, Jasminum, Syringa)
5. Betula (B.pendula, B.pubescens)
6. Pinaceae (Abies, Cedrus, Larix, Picea, Pinus)
7. Quercus (Q.ilex, Q.cerris, Q.robur, Q.rubra)
8. Poaceae
9. Rumex (R.acetosa, R.crispus, R.obtusifolius)
10. Plantago (P.coronopus, P.lanceolata, P.major, P.media)
11. Castanea (C.sativa)
12. Urticaceae (Parietaria judaica, P.officinalis, Urtica dioica)
13. Chenopodiaceae включая Amaranthaceae
14. Artemisia (A.annua, A.verlatorum, A.vulgaris)
15. Ambrosia (A.artemisiifolia, A.elatier)

Помимо перечисленных, в региональные и локальные календари пыления могут быть включены и другие таксоны. Для Минска нам представляется важным включить в состав календаря пыления сведения о пылении Acer, Populus, Salix, Ulmus, Brassicaceae, Solidago, пыльца которых также регистрируется в воздухе города. Таксоны в календарях пыления именуется или по – латыни или в соответствии с местными официальными ботаническими названиями.

Для упрощения работы при составлении Календарей пыления проведена верификация латинских и русских названий основных таксонов (таблица 1- 3).

Несмотря на относительное постоянство календаря пыления для данного региона, каждый конкретный сезон пыления имеет свои особенности. В значительной степени может измениться пыльцевая продуктивность отдельных таксонов, варьировать сроки и продолжительность пыления. Эти особенности обусловлены в первую очередь климатическими и метеорологическими условиями, а также многолетними биологическими ритмами развития растений. Выявление общих сезонных и многолетних закономерностей изменения качественного и количественного состава спорово-пыльцевого спектра лежит в основе разработки календаря пыления, аэропалинологических прогнозов и карт пыления, что позволяет с определенной долей достоверности прогнозировать наступление аллергенной обстановки в городе.

ВЕРИФИКАЦИЯ ЛАТИНСКИХ И РУССКИХ НАЗВАНИЙ ДЛЯ ПЫЛЬЦЫ РАСТЕНИЙ И СПОР ГРИБОВ

Таблица 1 - Деревья и кустарники

Латинские названия	Русские названия
<i>Betulaceae</i> S.F. Gray	семейство Березовые
<i>Alnus</i> Mill.	Ольха
<i>Betula</i> L.	Береза
<i>Corylaceae</i> Mirb.	семейство Орешниковые
<i>Carpinus</i> L.	Граб
<i>Corylus</i> L.	Лещина, орешник
<i>Salicaceae</i> Mirb.	семейство Ивовые
<i>Populus</i> L.	Тополь
<i>Salix</i> L.	Ива
<i>Cupressaceae</i> Bartl.	семейство Кипарисовые
<i>Juniperus</i> L.	Можжевельник
<i>Pinaceae</i> Lindl.	семейство Сосновые
<i>Abies</i> Mill.	Пихта
<i>Larix</i> Mill.	Лиственница
<i>Picea</i> A. Dietr.	Ель
<i>Pinus</i> L.	Сосна
<i>Oleaceae</i> Hoffm. & G.	семейство Маслиновые
<i>Fraxinus</i> L.	Ясень
<i>Jasminum</i> L.	Жасмин
<i>Syringa</i> L.	Сирень
<i>Fagaceae</i> Dum.	семейство Буковые
<i>Fagus</i> L.	Бук
<i>Quercus</i> L.	Дуб
<i>Aceraceae</i> Juss.	семейство Кленовые
<i>Acer</i> L.	Клен
<i>Ulmaceae</i> Mirb.	семейство Вязовые
<i>Ulmus</i> L.	Вяз
<i>Tiliaceae</i> Juss.	семейство Липовые
<i>Tilia</i> L.	Липа
<i>Rosaceae</i> Juss.	семейство Розоцветные
<i>Crataegus</i> L.	Боярышник
<i>Fragaria</i> L.	Земляника
<i>Geum</i> L.	Гравилат
<i>Malus</i> Mill.	Яблоня
<i>Potentilla</i> L.	Лапчатка
<i>Pyrus</i> L.	Груша
<i>Rosa</i> L.	Роза, шиповник
<i>Rubus</i> L.	Малина, ежевика, костяника
<i>Sorbus</i> L.	Рябина
<i>Hippocastanaceae</i> DC.	семейство Конскокаштановые
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Конский каштан

Таблица 2 - Травянистые растения

Латинские названия	Русские названия
<i>Asteraceae</i> Dumort.	семейство Астровые
<i>Ambrosia</i> L.	Амброзия
<i>Artemisia</i> L.	Полынь
<i>Centaurea</i> L.	Василек
<i>Solidago</i> L.	Золотарник
<i>Cichoriaceae</i> Juss.	семейство Цикориевые
<i>Cichorium</i> L.	Цикорий
<i>Taraxacum</i> Wigg.	Одуванчик
<i>Cannabaceae</i> Endl.	семейство Коноплевые
<i>Boraginaceae</i> Juss.	семейство Бурачниковые
<i>Myosotis</i> L.	Незабудка
<i>Pulmonaria</i> L.	Медуница
<i>Brassicaceae</i> Burnett	семейство Капустные
<i>Caryophyllaceae</i> Juss.	семейство Гвоздичные
<i>Chenopodiaceae</i> Vent.	семейство Маревые
<i>Atriplex</i> L.	Лебеда
<i>Cyperaceae</i> Juss.	семейство Осоковые
<i>Dipsacaceae</i> Juss.	семейство Ворсянковые
<i>Ericaceae</i> Juss.	семейство Вересковые
<i>Fabaceae</i> Lindl.	семейство Бобовые
<i>Liliaceae</i> Juss.	семейство Лилейные
<i>Plantaginaceae</i> Juss.	семейство Подорожниковые
<i>Poaceae</i> Barnhart	семейство Злаковые
<i>Polygonaceae</i> Juss.	семейство Гречишные
<i>Rumex</i> L.	Щавель
<i>Rubiaceae</i> Juss.	семейство Мареновые
<i>Urticaceae</i> Juss.	семейство Крапивные
<i>Urtica</i> L.	Крапива

Таблица 3 - Грибы

Smooth spherical particles > 1 μm (yeasts, grains of starch and etc.)	Гладкие сферические частицы (круглые частицы) > 1 мкм (дрожжи, зерна крахмала, и др.)
Латинские названия	Русские названия
Muchomycota	Отдел Слизевики
Spores	Споры
Mycota	Отдел Грибы
Ascomycetes	Класс Аскомицеты
Erysiphales	Порядок Эризифовые или Мучнисторосяные
Conidies	Конидии
Basidiomycetes	Класс Базидиомицеты
Teliomycetidae	Подкласс Телиоспоромицеты
Ustilaginales	Порядок Головневые
Ustilosporos	Устилоспоры
Uredinales	Порядок Ржавчинные
Aeciosporos	Эциоспоры
Teliosporos	Телиоспоры
Urediniosporos	Урединиоспоры
Basidiosporos	Базидиоспоры
Deuteromycetes (Fungi imperfecti)	Класс Дейтеромицеты (Несовершенные грибы)
Cladosporium	Кладоспорий
Conidies	Конидии
Alternaria	Альтернария
Conidies	Конидии
Penicillium	Пеницилл
Conidies	Конидии
Aspergillus	Аспергилл
Conidies	Конидии
Botrytis	Ботритис (серая гниль)
Conidies	Конидии

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Erdman's Handbook of Palynology Ed.: S. Nilsson, J. Pragłowski. – 2-nd edition. Copenhagen: Munksgaard, 1992 – 580p.
2. Принципы и методы аэропалинологических исследований. Под ред Н.Р. Мейер-Меликян, Е.Э. Северовой. М.: 1999 – 48 с.
3. Rantio-Lehtimäki A., Koivikko A., Kupias R., Mäkinen Y., Pohjola A. Significance of sampling height of airborne particles for aerobiological information // Allergy.- 1991. -V.46. –P.68-76.
4. Allergy Service Giede in Europe/ Eds.: S. Nilsson, F.Th.M. Spiekma. – Stockholm, 1994. – 123p.
5. Kasprzyk I., Uruska A., Szczepanek K., Lataowa M., Gawel J., Harmata K., Myszkowska D., Stach A. and Stępańska D. Regional differentiation of the dynamic of the pollen seasons of *Alnus*, *Corylus* and *Fraxinus* in Poland. Preliminary results// Abstract TESA 2003 –P.132.
6. Uruska A., Lataowa M., Szczepanek K., Gawel J., Harmata K., Kasprzak I., Myszkowska D., Stach A. and Stepalska D. Regional differentiation of the dynamics of the pollen seasons of *Betula*, *Quercus* and *Pinus* in Poland. Preliminary results// Abstract TESA 2003 -P.39.
7. Winkler H., Ostrowski R., Wilhelm M. Pollenbestimmungsbuch der Stiftung Deutscher Polleninformationsdienst. Paderborn, 2001 -80 p.