

УДК 582.47

Л.П. Хлебова, О.В. Ерещенко

**Изменчивость признаков пыльцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях Барнаула**

L.P. Khlebova, O.V. Ereschenko

**The Variability of *Pinus sylvestris* L. Pollen Indications under Conditions of Barnaul City**

Представлены результаты изучения пыльцы сосны обыкновенной, произрастающей в различных районах Барнаула. Изучены фертильность, стерильность, размеры и морфологические характеристики пыльцы. Обсуждается вклад различных факторов в изменчивость данных признаков.

**Ключевые слова:** сосна обыкновенная, пыльца, цитологический анализ, фертильность, стерильность, факторы среды, загрязнение, дисперсионный анализ.

The work presents results of the research of *Pinus sylvestris* L. pollen grown in different parts of Barnaul. Fertility, sterility, sizes and morphological characteristics of the pollen are studied. The influence of different factors on variability of the given parameters is discussed.

**Key words:** *Pinus sylvestris* L., pollen, cytological analysis, fertility, sterility, environmental factors, pollution, variance analysis.

Неблагополучная экологическая обстановка на территории ряда городов России, в том числе Барнаула, определяет необходимость биологического мониторинга состояния окружающей среды. Фитоиндикация, составляющей частью которой является пыльцевой анализ, — доступный, надежный, относительно простой и вместе с тем эффективный способ оценки качества среды [1]. Древесные растения — это удобный объект для проведения подобных исследований, поскольку они многолетние, что позволяет их изучать в течение нескольких лет, и широко используются при озеленении городов [2–4].

Пыльца характеризуется целым набором различных варьирующих признаков, использование которых не всегда возможно в биоиндикационных целях.

Целями нашей работы явились изучение изменчивости различных признаков пыльцы сосны обыкновенной в условиях Барнаула и оценка возможности их применения для биоиндикации урбанизированных территорий.

Сбор материала (мужские шишки) проводили в 2010–2011 гг. на различных площадках Барнаула в период массового цветения объекта. Контролем служил район Южно-Сибирского ботанического сада, расположенный в лесном массиве. Оценивали морфологические признаки (размеры, форму, количество воздушных мешков) и фертильность пыльцы. Пыльцевой анализ осуществляли на микроскопе «МикМед-1» с увеличением 10х15х40 на временных цитологических препаратах после окрашивания раствором Люголя [5]. Фертильные и стерильные пыльцевые зерна отличаются по содержанию крахмала, что выявляется цитологически после окра-

шивания их йодным раствором. Выделяли три группы пыльцы по интенсивности окрашивания: неокрашенная, слабоокрашенная и сильноокрашенная пыльца. Неокрашенную пыльцу считали стерильной, среднеокрашенную — полуфертильной и сильноокрашенную — фертильной. Долю пыльцевых клеток определенного типа находили как процент от общего количества просмотренных пыльцевых зерен. Размеры пыльцы определяли по диаметру тела без учета воздушных мешков с помощью программы Scope Photo. Было исследовано по 2000 пыльцевых зерен с каждой точки сбора. В данных точках также осуществлялся мониторинг загрязнения атмосферы выхлопами автотранспорта путем подсчета плотности потока автомобилей. Загрязнение атмосферного воздуха отработанными газами автомобилей рассчитывали по формуле оценки концентрации окиси углерода [6]. Статистический анализ данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007.

Цитологический анализ пыльцы сосны обыкновенной в различных точках Барнаула выявил следующие нарушения ее морфологии. Так, обнаружены клетки, характеризующиеся наличием аномально-го числа воздушных мешков (четыре) по сравнению с нормой (два). Распространенной аномалией являлось асимметричное расположение мешков. Некоторые клетки имели нетипичную форму, преимущественно подковообразную. У части пыльцевых зерен вообще отсутствовали воздушные мешки, что практически исключает возможность их участия в опылении. Различные формы нарушений внешнего вида пыльцы объединены в общую группу «дефектная пыльца» (рис. 1).

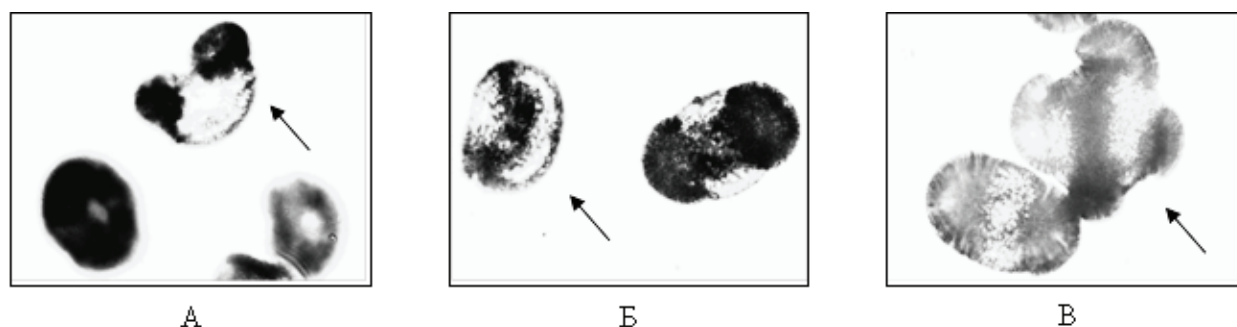


Рис. 1. Дефектные пыльцевые зерна сосны обыкновенной: А — асимметрично расположенные воздушные мешки; Б — отсутствие воздушных мешков; В — наличие четырех воздушных мешков

В 2010 г. количество дефектных пыльцевых зерен практически не отличалось от контрольного значения и в среднем составило 0,48%, варьируя от 0,20 (Змеиногорский тр., 89) до 1,10% (пр. Красноармейский, 133). В 2011 г. данный показатель оказался несколько выше (0,51%), изменяясь в пределах 0,20 (Лесной тр., 43, Ягодный пр., 5) — 1,20% (пр. Космонавтов, 12/1). В контроле доля дефектной пыльцы была несколько ниже по сравнению с предыдущим годом (0,10%) и в 75% случаев достоверно отличалась от показателя, установленного для различных районов города. Анализ степени варьирования признака в конкретных пробах показал, что в 2010 г. коэффициент вариации составил от 20 до 40%, а в 2011 г. — от 13 до 58%. Таким образом, уровень изменчивости признака «дефектная пыльца» средний либо значительный, но более низкий в 2011 г. Возможно, этим и объясняется недостоверность отличий от контрольного значения в 2010 г., выявлены различия в 2011 г. Предполагается, что обнаруженные аномалии в строении пыльцы сосны обыкновенной могут быть следствием полиплоидии или каких-либо мутаций. Указанием на полиплоидию являются большие размеры и округление форм пыльцевых зерен. Кроме того, известно, что качество пыльцы сильно меняется в зависимости от многих факторов: погодных условий, состояния и генотипических особенностей дерева, сроков сбора, чем, вероятно, и объясняются представленные выше результаты [7; 8].

Исследование морфометрических параметров пыльцы сосны обыкновенной, собранной в различных точках, обнаружило варьирование размеров от  $0,021 \pm 0,0002$  до  $0,026 \pm 0,0007$  мм и от  $0,021 \pm 0,0002$  до  $0,026 \pm 0,0007$  мм в 2010 и 2011 гг. соответственно. Однако все различия статистически не достоверны. Следует отметить, что коэффициент вариации в оба года исследования был низким и не превысил 3%, что характеризует данный признак как достаточно постоянный и слабо варьирующий, независимо от погодных условий и места произрастания объекта.

В результате исследования функциональных показателей образцов пыльцы сосны обыкновенной (рис. 2), взятой из различных районов Барнаула, выявлено, что в 2010 г. средний уровень фертильности составил 92,0%, варьируя от 86,7 (Змеиногорский тр., 49) до 95,0% (ул. Лесосечная). Достоверные различия по сравнению с контролем установлены для адресов: Змеиногорский тр., 49, и пр. Красноармейский, 133. В остальных точках значения были либо выше, либо ниже контроля, но статистически не значимы. Группа слабоокрашенной пыльцы характеризуется пониженным содержанием питательных веществ, которых, возможно, недостаточно для участия в оплодотворении. Поскольку анализ является качественным, а не количественным, мы посчитали целесообразным выделить такую пыльцу в отдельную группу. Доля этой пыльцы в среднем достигала 7,0% на экспериментальных площадках и 5,3% в контроле. Максимальное количество стерильной пыльцы (рис. 3) наблюдали по адресу: пр. Красноармейский, 133, где ее доля составила 8,3%. В 2011 г. доля стерильной пыльцы была от 1,3 (Змеиногорский тр., 89) до 3,6% (Заводской 9-й пр., 40, Змеиногорский тр., 49), достигая в среднем по всем точкам 2,2%. В контрольной точке данный признак составил 1,2%. Достоверные отличия от контроля обнаружены в следующих точках: Заводской 9-й пр., 40, ул. Молодежная, 54, Змеиногорский тр., 49, 77.

Изменчивость различных признаков пыльцы сосны обыкновенной в нашем исследовании была обусловлена погодными условиями (2010 и 2011 гг.), точкой сбора материала, характеризующей экологическое состояние воздушной среды города, их взаимодействием и случайными факторами. Факториальный анализ данных позволил оценить каждый фактор в отдельности и определить его вклад в общий уровень изменчивости признаков. Установлено, что для всех групп пыльцы (стерильная, полуфертильная, фертильная, дефектная) статистически значимы различия по фактору «точка сбора». «Условия года» повлияли на изменчивость

признаков в группах полуфертильной и дефектной пыльцы. На фертильность мужских гамет «условия года» не влияли. Однако взаимодействие факторов «точка сбора×условия года» является статистически

значимым для группы дефектной пыльцы, что свидетельствует об определенной роли погодных условий в проявлении признака в конкретном месте произрастания сосны обыкновенной.

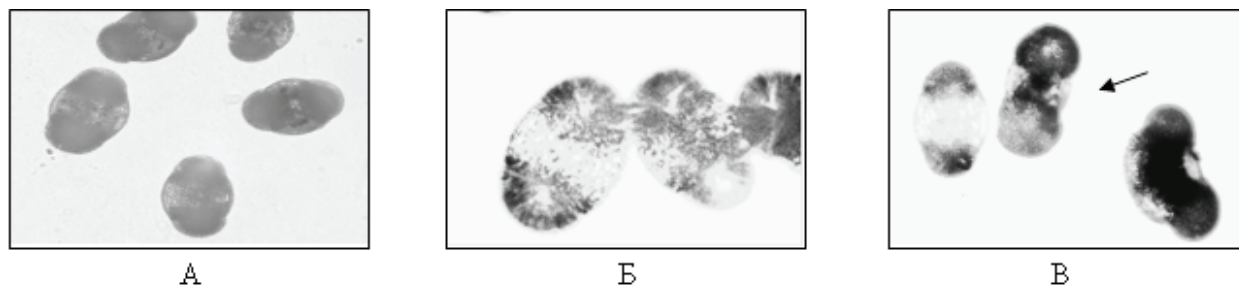


Рис. 2. Фертильное (А), стерильное (Б), полуфертильное (В) пыльцевое зерно сосны обыкновенной

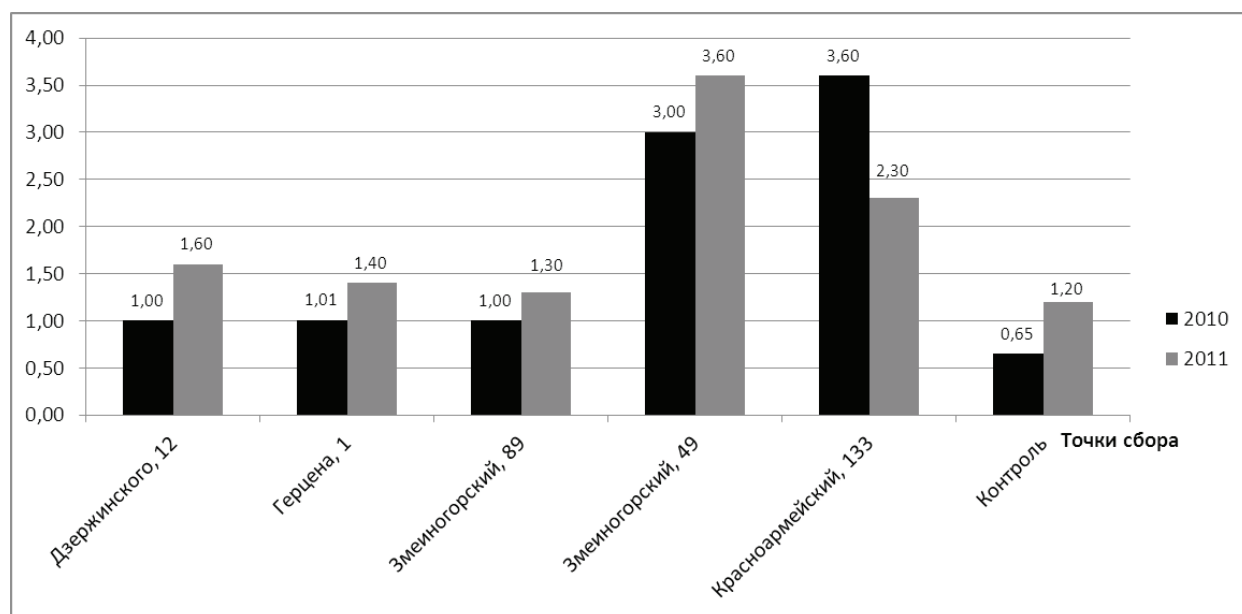


Рис. 3. Доля стерильной пыльцы сосны обыкновенной в условиях Барнаула, %

Доля влияния различных факторов представлена на рисунке 4. Ведущим для всех изученных признаков является фактор «точка сбора», его доля составила от 33 до 73%. Максимальный вклад данного фактора отмечен при формировании полуфертильной пыльцы (73%), минимальный — дефектной пыльцы (40%). Влияние условий года варьирует от 1 до 21%, достигая максимального значения по признаку «дефектная пыльца» (21%). Этот фактор также влиял на образование полуфертильной пыльцы (8%), но практически не воздействовал на признаки «фертильная» и «стерильная» пыльца, составляя всего лишь 1%. Несмотря на то, что доля вклада условий года оказалась мала, взаимодействие этого фактора и точки произрастания было в ряде случаев достаточно велико. Минимальный вклад обнаружен при формировании фертильной (0%) и стерильной (4%) пыльцы. При образовании полуфертильных пыльцевых зе-

рен около 13% приходится на долю данного фактора. Максимальная доля его вклада установлена по признаку «дефектная пыльца» и составила 28%.

Изучение Государственного доклада «О состоянии и об охране окружающей среды в Алтайском крае в 2010 году» показало, что Барнаул относится к группе территорий с высоким уровнем загрязнения атмосферы. В 2010 г. зафиксированы превышения ПДК по следующим показателям: взвешенные вещества (1,1 ПДК), диоксид азота (1,4 ПДК), сажа (0,7 ПДК), бенз(а)пирен (3,3 ПДК), формальдегид (3,7 ПДК), оксид углерода (1,8 ПДК), фенол (1,0 ПДК). Соотношение выбросов загрязняющих веществ в атмосферу стационарными источниками и автотранспортом составило 55,6 и 42,3 тыс. т соответственно [9]. Таким образом, доля выбросов автотранспорта в загрязнении атмосферного воздуха Барнаула незначительно уступает доле выбросов стационарных ис-

точников. Именно автотранспорт выбрасывает большое количество вредных компонентов, среди которых оксид углерода, оксид азота, диоксид серы, а также бенз(а)пирен, формальдегид, бензол, сажа и другие токсические вещества. В связи с этим нами было проведено исследование автотранспортной нагрузки в изучаемых точках Барнаула. Для этого точки сбора были объединены в группы по месторасположению.

Исследованные районы города обнаружили дифференциацию по интенсивности движения автотранспорта, что отразилось на уровне концентрации диоксида углерода. Наиболее благоприятным участком

по уровню загрязнения является район ЮСБС, где содержание  $\text{CO}_2$  в  $1 \text{ м}^3$  составило 5,00 мг, что классифицируется как низкий уровень. Максимальный показатель установлен в центральной части города ( $59,86 \text{ мг/м}^3$ ) — в районах пр. Красноармейского и Змеиногорского тракта ( $40,53 \text{ мг/м}^3$ ), он относится к классу высокой концентрации. Это основные транспортные магистрали города с интенсивным движением как легкового, так и грузового автотранспорта. Концентрация углекислого газа, выбрасываемого транспортом в районе пр. Космонавтов, относится к среднему уровню.

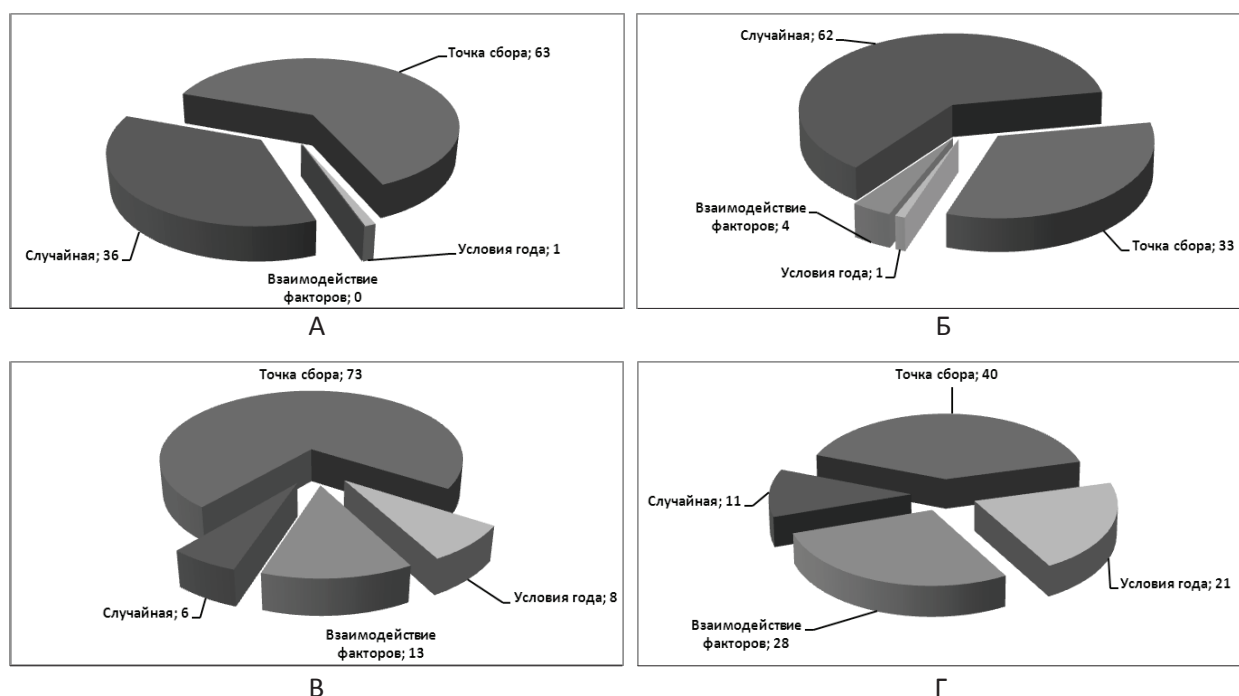


Рис. 4. Доля вклада различных факторов в формирование качества пыльцы сосны обыкновенной:  
А — фертильность пыльцы; Б — стерильность пыльцы; В — полуфертильность пыльцы; Г — дефектность пыльцы

Количество дефектной, стерильной и полуфертильной пыльцы минимально в районе Южно-Сибирского ботанического сада, что соответствует низкому уровню загрязнения. Районы с интенсивным движением автотранспорта характеризуются более низкими показателями фертильной и стерильной пыльцы. Так, на участках Змеиногорского тракта и центральной части города уровень фертильной пыльцы на 4,3 и 5,3% ниже, чем в районе ЮСБС, соответственно. Количество стерильной пыльцы, напротив, было максимальным (3,1 и 2,6%). Район пр. Космонавтов занял промежуточное положение (2,3% — стерильная, 88,1% — фертильная пыльца), что относится к среднему уровню выброса оксида углерода. Однако доля дефектной пыльцы в данном районе города оказалась максимальной — 1,1% (см. таблицу). Поскольку этот показатель является,

как правило, следствием генных и хромосомных нарушений при формировании мужских гамет, то, вероятно, его уровень повысился за счет мутагенных факторов, выделяемых другими источниками.

Так, например, по данным Алтайского ЦГМС, в 2010 г. в апреле была зарегистрирована максимальная концентрация фенола (1,9 ПДК) в Ленинском районе, а в остальных районах его количество не достигало и 1 ПДК [9]. Как известно, фенол относится к группе веществ мутагенного действия, что, возможно, и послужило причиной большого числа дефектной пыльцы. Таким образом, уровень фертильности пыльцы сосны обыкновенной в условиях Барнаула соответствует показателям уровня загрязненности атмосферы, по крайней мере по содержанию окиси углерода, выбрасываемой транспортом.

Изменчивость морфологических показателей пыльцы сосны обыкновенной  
в зависимости от загрязнения воздуха автотранспортом (2010 г.)

Район города	Концентрация CO <sup>2</sup> , мг/м <sup>3</sup>	Признаки качества пыльцы, %			
		Дефектная	Стерильная	Полуфертильная	Фертильная
ЮСБС	5,00	0,2±0,03	1,6±0,16	6,4±0,61	91,6±0,118
Змеиногорский тр.	40,53	0,6±0,08	3,1±0,18	7,6±0,11	87,3±0,33
Центральная часть города	59,86	0,3±0,06	2,6±0,18	10,3±0,13	86,3±0,94
пр. Космонавтов	14,12	1,1±0,03	2,9±0,15	8,1±0,14	88,1±0,53

Выполненное исследование показало, что фертильность пыльцы сосны обыкновенной является умеренно варьирующим признаком и может использоваться как основной показатель для биоиндикации окружающей среды Барнаула. Дефектность пыльцевых зерен — высоко варьирующий признак (коэффициент вариации до 58%), что ограничивает его биоиндикационные возможности. Рекомендуется его использование как дополнительного к другим показателям пыльцы при высоких техногенных нагрузках

в благоприятных погодных условиях. Размер пыльцы сосны обыкновенной характеризуется как стабильный признак (коэффициент вариации не более 3%), обусловленный генотипическими особенностями вида, что затрудняет его применение в биоиндикационных целях в условиях Барнаула. Ведущим фактором формирования качества пыльцы сосны обыкновенной на территории города является место произрастания. Вклад данного фактора в общую фенотипическую изменчивость составил 33–73%.

## Библиографический список

1. Бессонова В.П. Состояние пыльцы как показатель загрязнения среды тяжелыми металлами // Экология. — 1992. — № 4.
2. Валетова Е.А. Влияние техногенного загрязнения на репродуктивную способность сосны обыкновенной : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Барнаул, 2009.
3. Калашник Н.А., Ясовиева С.М., Преснухина Л.П. Аномалии пыльцы хвойных видов деревьев при промышленном загрязнении на Южном Урале // Лесоведение. — 2008. — № 2.
4. Хлебова Л.П., Ерещенко О.В. Качество пыльцы березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в условиях Барнаула // Известия Алтайского государственного университета. — 2012. — № 3/1(75).
5. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М., 1988.
6. Федорова А.Н. Практикум по экологии и охране окружающей среды. — М., 2003.
7. Куприянов П.Г. Соотносительная роль факторов, вызывающих появление дефектных пыльцевых зерен у растений в природе // Апомиксис и цитозембриология растений. — Саратов, 1983. — Вып. 5.
8. Ерещенко О.В., Хлебова Л.П. Влияние погодных условий на изменчивость признаков пыльцы березы повислой (*Betula pendula* Roth.) // Известия Алтайского государственного университета. — 2012. — № 3/2(75).
9. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды в Алтайском крае в 2010 году». — Барнаул, 2011.