

ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН И СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПЫЛЬЦЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В МЕСТАХ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

Садакова К.А., Колясникова Н.Л.

ФГБОУ ВПО Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д. Н. Прянишникова, Пермь, Россия, (614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 23), e-mail: gd@parmail.ru

Впервые проведено исследование содержания тяжелых металлов в пыльце *Pinus sylvestris* L. атомно-абсорбционным методом. Выявлены аномалии и определены фертильность и жизнеспособность пыльцевых зерен *Pinus sylvestris* L. в зависимости от района произрастания общепринятыми цитологическими методиками с использованием ацетокармина, раствора Люголя и питательной среды на основе агара для проращивания пыльцевых зерен. Фертильность пыльцы снижается в загрязненном районе. Процент и спектр аномалий увеличивается в неблагоприятной экологической обстановке. Выявлена корреляция между появлением некоторых аномалий пыльцевых зерен и концентрацией тяжелых металлов в пыльце. Снижается жизнеспособность и возрастает количество пыльцевых зерен, пораженных грибным мицелием, в импактной зоне.

Ключевые слова: пыльцевые зерна, тяжелые металлы, аномалии, фертильность, *Pinus sylvestris* L.

FERTILITY OF POLLEN GRAINS AND CONTENT OF HEAVY METALS IN PINE POLLEN GROWING IN PLACES WITH DIFFERENT ANTHROPOGENIC LOAD

Sadakova K.A., Kolyasnikova N.L.

Perm State Agricultural Academy, Perm, Russia (614000, Perm, Petropavlovskaya, 23), e-mail: gd@parmail.ru

For the first time a study of heavy metals in the pollen *Pinus sylvestris* L. atomic absorption method. Identified anomalies and identify fertility and viability of pollen grains of *Pinus sylvestris* L., depending on the growing area by conventional cytological techniques using acetocarmine, Lugol's solution, and nutrient agar medium based on germination of pollen grains. Pollen fertility declines in the contaminated area. Percentage and range of abnormalities increases in adverse environmental conditions. The correlation between the appearance of some of the anomalies of pollen grains and the concentration of heavy metals in the pollen. Reduced viability and increases the number of pollen grains affected by fungal mycelium in the impact zone.

Keywords: pollen grains, heavy metals, anomalies, fertility, *Pinus sylvestris* L.

Загрязнение окружающей среды негативно сказывается на продуктивности растений. Основное количество загрязняющих веществ накапливается в вегетативных органах, но репродуктивная система также подвергается значительному негативному воздействию, в результате чего остро встают вопросы лесовосстановления хвойных пород деревьев. Мужская генеративная сфера растений может служить показателем экологического благополучия: под воздействием аэротехногенных поллютантов снижается жизнеспособность и качество пыльцы [2,4,6]. Пыльцевые зерна хвойных характеризуются узкими границами изменчивости [10], в условиях загрязнения у ели сибирской, в частности, часто встречаются гипертрофированные и мелкие пыльцевые зерна [4], повышается процент аномальной пыльцы [8]. У голосеменных хорошо выражен крахмальный тип пыльцы [5], в связи с чем фертильность пыльцевых зерен возможно определить при помощи йодной реакции: фертильные окрашиваются полностью или частично, стерильные не окрашиваются.

Одним из опаснейших загрязнителей является группа тяжелых металлов. В окружающую среду тяжелые металлы попадают за счет интенсивных выбросов золы, шлака, дыма, пыли, других отходов промышленных предприятий, различных средств для ухода за дорогами, деятельности цементных заводов и т.д. [3]. Тяжёлые металлы относятся к приоритетным загрязняющим веществам, наблюдения за которыми обязательны во всех средах, так как они являются высокотоксичными веществами и отвечают за мутагенные эффекты [9].

К тяжелым металлам относятся свыше 40 элементов, имеющих атомную массу больше 50 [1]. Наиболее распространенными из них являются следующие: Pb, Cd, Hg, Cu, Zn, Sn, V, Cr, Mo, Mn и Ni.

Вычленение какого-либо конкретного вещества, вызывающего развитие аномалий в генеративной сфере, затруднительно, т.к. негативное воздействие вещества и ответная реакция растения значительно разнесены во времени [6].

Палинологический метод, учитывающий соотношение нормальных и аномальных, фертильных и стерильных пыльцевых зерен, является одним из инструментов биомониторинга.

Цель наших исследований – изучить фертильность пыльцевых зерен, аномалии строения и содержание тяжелых металлов в пыльце сосны обыкновенной, произрастающей в условиях разной антропогенной нагрузки.

Материал и методы исследований

Исследовали древостои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в сосняках – зеленомошниках. Районы, где произрастают деревья, участвовавшие в исследовании, были условно разделены на 3 категории: условно-чистый район, без признаков атмосферного загрязнения (Красновишерский район Пермского края), условно-чистый, но под возможным влиянием атмосферных выбросов близ расположенного города (поселок городского типа Полазна) и загрязненный, с хорошо развитой промышленностью и сетью автодорог, город (г. Пермь). В 2010–2013 гг. на всех указанных участках собирали образцы пыльцы с 10 деревьев на каждом участке.

Микростробилы собирали на высоте 3–4 метра с северной и северо-восточной стороны дерева. Микростробилы фиксировались в уксуснокислом спиртовом растворе (фиксатор Кларка), затем переводились в 80 % этиловый спирт на хранение. Содержание крахмала в пыльцевых зернах определяли в растворе Люголя по степени окрашивания в 4-балльной системе: неокрашенные, слабо окрашенные, средне окрашенные и сильно окрашенные пыльцевые зерна. В целом, неокрашенные пыльцевые зерна – стерильные,

окрашенные в разной степени – фертильные. Для исследования фертильности пыльцы из каждого образца (микростробилы одного дерева) изготавливали 10 препаратов, все препараты просматривали в 10 полях зрения. Проращивание пыльцы проводили в 15 %-ном растворе сахарозы на агаровом субстрате при температуре 26 °С, через 7 дней подсчитывали число проросших пыльцевых зерен [7]. В целом было приготовлено и изучено 2000 препаратов. Для определения содержания тяжелых металлов в пыльце атомно-адсорбционным методом микростробилы собирали в конверты из фильтровальной бумаги, высушивали и просеивали через фильтр.

Математическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Microsoft Excel 2010.

Результаты

Анализ фертильности пыльцевых зерен показывает, что в 2010–2012 гг. процент фертильности был достаточно высок, варьировал от 69,6 до 89,8 % (г. Пермь) и от 73,9 до 97,5 % (пос. Полазна) (табл.1). Надо отметить, что фертильность пыльцы у сосны обыкновенной, произрастающей в относительно чистом районе – недалеко от пос. Полазна, была на 4–10 % выше, чем у деревьев в г. Перми.

В 2013 г., в отличие от предыдущих лет исследований, обнаружено значительное снижение фертильности до 11,5 % (г. Пермь) и 31,2 % (пос. Палазна). Также при проращивании пыльцы только в 2013 г. полностью отсутствовал рост пыльцевых трубок во всех опытах. При этом у 15 % исследованных пыльцевых зерен с деревьев г. Перми и у 6 % – из пос. Полазна наблюдали заражение грибным мицелием. По-видимому, это можно объяснить ухудшением погодных условий в 2013 г., более влажной и холодной весной.

Таблица 1

**Фертильность пыльцевых зерен сосны обыкновенной
(йодная методика) в 2010–2013 гг.**

Район исследования, год	Всего	Не окрашенные п.з.	Слабо окрашенные п.з.	Средне окрашенные п.з.	Сильно окрашенные п.з.	Всего окрашенные
Пермь, 2010	998	234	695	58	11	764
%		23,4	69,6	5,8	1,2	76,6
Пермь, 2011	1152	350	771	25	6	802
%		30,4	66,9	2,2	0,5	69,6
Пермь, 2012	1059	108	762	129	60	951
%		10,2	72,0	12,2	5,6	89,8

Пермь, 2013	1480	1310	55	70	45	170
%		88,5	3,7	4,7	3,1	11,5
Полазна 2010	1526	215	1003	233	75	1311
%		14,1	65,7	15,3	4,9	85,9
Полазна 2011	1293	337	637	176	143	956
%		26,1	49,3	13,6	11	73,9
Полазна 2012	1242	31	960	197	54	1211
%		2,5	77,3	15,9	4,3	97,5
Полазна 2013	1114	766	52	92	204	348
%		68,8	4,7	8,3	18,3	31,2

В результате исследований морфологии пыльцевых зерен было выявлено 9 аномалий (табл. 2). Аномалии, когда у пыльцевого зерна развивалось четыре воздушных мешка или пыльцевое зерно было нормального размера, но с мелкими воздушными мешками, наблюдались только в выборке из загрязненного района (г. Пермь). В то же время пыльцевые зерна с тремя воздушными мешками были обнаружены во всех выборках.

В целом процент пыльцевых зерен с нарушениями в строении в условиях г. Перми был в 2–3 раза больше, чем в условиях Красновишерского района (условно чистый район).

Таблица 2

Аномалии пыльцевых зерен сосны обыкновенной в 2010–2013 гг.

Аномалии пыльцевых зерен	Район исследования									
	Пермь				Полазна				Красновишерск	
	2010	2011	2012	2013	2010	2011	2012	2013	2010	2011
Всего просмотренных пыльцевых зерен	7483	5594	5998	6240	2463	4510	5742	10590	3163	3022
С 4 воздушными мешками	3	4	2	1	-	-	-	-	-	-
С 3 воздушными мешками		3	1		2	2	1	2	2	2
Мелкие п.з. с нормально развитыми воздушными мешками	2	-	3	20	-	-	1	8	-	-
Мелкие п.з. с мелкими воздушными мешками	110	111	102	122	19	50	70	85	21	23

П.з. с нормальным и гигантским воздушным мешком	34	13	29	5	9	14	17	35	4	4
Пыльцевые зерна с мелкими воздушными мешками	2	-	1	5	-	-	-	-	-	-
Пыльцевые зерна с 1 нерасправленным воздушным мешком	27	29	33	45	4	13	7	40	2	4
П.з. с 2 нерасправленными воздушными мешками	14	12	19	6	6	3	5	19	-	-
Пыльцевые зерна без ядер	21	16	-	19	3	6	4	24	1	10
Всего аномалий	213	192	190	223	43	88	105	213	30	43
Процент аномалий	2,85	3,43	3,17	3,57	1,75	1,95	1,83	2,01	0,95	1,42

Содержание тяжелых металлов в исследованной пыльце сосны заметно колебалось из года в год, например, количество магния в образцах из г. Перми в 2010 году составляло 3669,89 мкг/г, но в 2011 этот показатель был равен 912,97 мкг/г. В 2010 году пробы не отличались достоверно по содержанию кобальта, в 2011 году выборки из Красновишерского района и г. Перми не отличались достоверно по количеству железа и марганца (табл. 3).

Таблица 3

Содержание тяжелых металлов в пыльце сосны обыкновенной

Место сбора, год	Макро- и микроэлементы в пыльце сосны обыкновенной, М±m, мкг/г									
	Mg	Fe	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Красн-й р-н, 2010	1042,62 ±59,4	28,54 ±1,62	0,24 ±0,01	77,66 ±4,42	0,82 ±0,04	2,31 ±0,13	1,85 ±0,1	42,68 ±2,43	-	0,81 ±0,04
Пермь, 2010	3669,89 ±209,18	172,41 ±9,82	1,84 ±0,11	217,0 ±12,37	1,7 ±0,42	23,23 ±1,32	7,89 ±0,45	107,51 ±6,13	-	2,75 ±0,16
Красн-й р-н, 2011	758,61 ±26,36	43,08 ±11,62	0,25 ±0,06	101,18 ±4,6	0,18 ±0,05	5,41 ±0,69	4,53 ±0,49	48,2 ±1,3	0,77 ±0,04	2,16 ±0,29

Полазна, 2011	819,51 ±34,24	26,96 ±5,19	0,28 ±0,12	123,53 ±11,37	0,51 ±0,1	2,82 ±0,68	4,11 ±0,93	45,38 ±0,85	0,86 ±0,11	1,85 ±0,24
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Пермь, 2011	912,97 ±25,94	57,06 ±17,2	0,71 ±0,13	78,33 ±11,3	0,58 ±0,12	6,61 ±0,4	5,78 ±0,73	47,77 ±1,75	1,08 ±0,16	1,14 ±0,22
Полазна, 2012	718,75 ±17,0	16,86 ±1,03	0,33 ±0,17	357,29 ±170,1 8	0,12 ±0,06	5,01 ±1,8	5,72 ±1,08	49,51 ±2,3	0,24 ±0,12	0,26 ±0,18
Пермь, 2012	938,18 ±61,56	47,53 ±7,36	5,52 ±1,09	1027,0 6 ±69,61	3,61 ±0,38	42,65 ±4,95	19,05 ±6,64	45,72 ±2,9	0,86 ±0,11	1,53 ±0,33

В целом, пыльца из Красновишерского района и пыльца из пос. Полазна не отличались достоверно по содержанию тяжелых металлов. Содержание 8 из 11 обнаруженных тяжелых металлов в пыльцевых зернах сосны обыкновенной из г. Перми значительно превышало их концентрацию в пыльце из пос. Полазна.

В ходе исследования была выявлена также сильная положительная связь между появлением мелких пыльцевых зерен с нормально развитыми воздушными мешками и концентрацией в пыльце хрома, марганца, кобальта, никеля и меди (при $p = 0,99$). Содержание никеля и появление пыльцевых зерен с двумя нерасправившимися воздушными мешками также находятся в сильной положительной связи. Появление пыльцевых зерен нормального размера с мелкими воздушными мешками вызывают высокие концентрации магния, железа и цинка.

Выводы

1. Фертильность пыльцевых зерен сосны обыкновенной из г. Перми оказалась ниже на 4–10 %, чем в условиях условно-чистого района (пос. Полазна).
2. Стерилизация пыльцевых зерен связана с нарушениями строения и заражением грибным мицелием.
3. Выявлено 9 аномалий пыльцевых зерен сосны обыкновенной. Пыльца с увеличенным числом воздушных мешков и мелких размеров наблюдалась только в г. Перми.
4. Максимальная концентрация исследованных элементов в пыльце отмечена для магния (719,75–3669,89 мкг/г) и марганца (77,66–1027,06 мкг/г), минимальное содержание характерно для кобальта (0,12–3,61 мкг/г) и свинца (0,26–2,75 мкг/г).

Список литературы

1. Алексеев, Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю. В. Алексеев. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 142 с.
2. Валетова, Е.А. Влияние техногенного загрязнения на репродуктивную способность сосны обыкновенной: автореф. дис... канд. биол. наук /Е.А. Валетова. – Барнаул, 2009. – 25 с.
3. Васильев, А.А. Тяжелые металлы в почвах города Чусового: оценка и диагностика загрязнения / А. А. Васильев, А. Н. Чащин. – Пермь: ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА, 2011. – 188 с.
4. Калашник, Н.А. Аномалии пыльцы у ели сибирской в различных экологических условиях /Н.А. Калашник // Научные ведомости Белгородского гос. ун-та. – Серия: Естеств. науки. – 2011. – № 3-1(98). – С. 105–109.
5. Поддубная-Арнольди, В. А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений / В. А. Поддубная-Арнольди. – М.: Наука, 1976. – Т.1. – 508 с.
6. Солнцева, М. П. Влияние промышленного и транспортного загрязнения среды на репродукцию семенных растений /М.П. Солнцева, К.П. Глазунова // Журнал общей биологии. – Т. 71. – 2010. – № 2. – С. 163–175.
7. Третьякова, И.Н. Пыльца сосны обыкновенной в условиях экологического стресса / И.Н. Третьякова, Н.Е. Носкова // Экология. – 2004. – № 1. – С. 26–33.
8. Тужилова, Л.И. Использование *Pinus sylvestris* L. в фитоиндикации загрязнения территорий в местах уничтожения химического оружия: автореф. дис... канд. биол. наук /Л.И. Тужилова. – Пенза, 2009. – 18 с.
9. Чикенева, И.В. Исследование опасностей антропогенного влияния Орско – Новотроицкого промышленного узла / И.В. Чикенева // Известия ОГАУ. – 2012. – № 3 (35). – С. 236–240.
10. Kurmann, M. H. Palynological evidence of conifer evolution / М.Н.Kurmann // 15th Int. Bot. Congr. – Yokogama, 1993. – С. 30.

Рецензенты:

Еремченко О.З., д.б.н., профессор, зав. кафедрой физиологии растений и микроорганизмов ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь;

Переведенцева Л.Г., д.б.н., профессор кафедры ботаники и генетики растений ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь.