

Возможности применения палиноиндикационного метода для исследования состояния окружающей среды

Елькина Надежда Александровна, кандидат биологических наук, доцент;
Карпова Екатерина Евгеньевна, студент
 ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет (г. Петрозаводск)

В настоящее время можно считать общепринятым, что основным индикатором устойчивого развития является качество среды обитания. Биологический контроль состояния окружающей среды включает две основные группы методов: биоиндикация и биотестирование. Биоиндикация — обнаружение и определение экологически значимых природных или антропогенных нагрузок на основе реакций на них живых организмов непосредственно в среде их обитания. Биотестирование — установление токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций. Комплексный подход в проведении биомониторинга при систематическом наблюдении позволяет судить о перспективах изменения структуры сообществ, продуктивности популяций и устойчивости экосистем по отношению к изменяющимся природным или антропогенным факторам [3].

Биоиндикаторы (от био и лат. *indico* — указываю, определяю) — организмы, присутствие, количество или особенности развития которых служат показателями естественных процессов, условий или антропогенных изменений условий среды обитания. Биологическая система реагирует на воздействие среды в целом, а не только на отдельные факторы, и именно ответную реакцию определяют методы биоиндикации [1].

Считается, что физико-биохимические методы позволяют отслеживать самые ранние этапы изменения структур организмов еще при отсутствии видимых морфологических нарушений. Однако использование физических, физико-химических, химических методов обследования при их высокой точности не может создать полной картины экологической ситуации. Это связано как с ограниченным числом точек на исследуемой территории, так и с собственно точечным характером полученной информации [7].

Преимуществом биоиндикационных методов перед физико-химическими является интегральный характер ответных реакций организмов, которые суммируют все биологически важные данные об окружающей среде и отражают ее состояние в целом; фиксируют скорость происходящих в среде изменений; выявляют тенденции развития природной среды. В условиях хронической стрессовой нагрузки биоиндикаторы могут реагировать на очень слабые воздействия в силу аккумуляции влияния, что позволяет выявлять наличие комплексного действия различных факторов. Используемые виды-биоиндикаторы должны быть характерны для природной зоны, где располагается изучаемый объект, иметь высокую численность в данном экотопе. Биология видов-индикаторов должна быть хорошо изучена [1,3].

В последнее время широко обсуждается проблема биоиндикации техногенного загрязнения с использованием растений промышленных зон и городской среды. Дополнение объективной информации химического и физико-химического контроля данными биомониторинга сможет приблизить нас к адекватной оценке экологической ситуа-

ции в современном городе и проведению его экологического зонирования [7].

В качестве объектов для биомониторинга могут быть использованы пыльцевые зерна древесных и травянистых растений. Изучением морфологических характеристик пыльцевых зерен, как индикаторов состояния окружающей среды палинологи стали заниматься относительно недавно. Установлено, что в условиях экологического неблагополучия меняются многие показатели растений, в частности обмен веществ, что негативно сказывается на процессах микроспоро- и гаметогенеза и растения продуцируют большое количество аномальных (тератоморфных, уродливых) и стерильных пыльцевых зерен. При этом, чем хуже экологическая обстановка, тем выше процент патологически развитых пыльцевых зерен и наоборот. Отмечено, что количество тератоморфных пыльцевых зерен значительно увеличивается вблизи крупных промышленных центров [6]. Показатели аномальности пыльцевых зерен можно использовать для оценки экологической пластичности и толерантности репродуктивных механизмов растений [4]. Об ухудшении состояния растений могут свидетельствовать высокая изменчивость морфологических характеристик пыльцы [15]. Данные исследования особенно интересны с той точки зрения, что пыльца как носитель генетической информации, казалось бы, должна обладать устойчивыми видовыми признаками, но полученные результаты свидетельствуют об обратном [11].

Пыльцевой анализ — это метод исследования, позволяющий определять репродуктивный потенциал растений по характерным морфологическим особенностям пыльцевых зерен: размеру, рисунку экзины пыльцевого зерна, его фертильности и жизнеспособности. При проведении палиноиндикационных исследований обычно оценивается доля нормально развитой и дефектной пыльцы, так же могут определяться показатели метаболизма пыльцевых зерен. Выявление неполноценной пыльцы осуществляется окрашиванием пыльников ацетокармином на предметном стекле при лёгком нагревании [13]. Тератоморфная, стерильная пыльца не окрашивается или слабо окрашивается кармином. У нормально сформированной, фертильной пыльцы цитоплазма зернистая и окрашена в густо карминовый цвет. Преимуществами данного метода анализа являются быстрота выполнения опытов и возможность скрининга большого объема проб. Имеются и недостатки: необходимо четкое соблюдение сроков отбора проб, возможно влияние специфических погодных условий года, сильно выраженная сезонная приуроченность для большинства видов [7].

Проблема образования различного рода аномалий пыльцевых зерен активно обсуждается в литературе. Качество пыльцевых зерен — один из важнейших факторов репродуктивной биологии, во многом определяющий способность амфимиктично размножающихся растений к формированию полноценных семян. Микроспоро- и гаметогенез оценивают как функционально-адаптивные про-

цессы, в числе прочих обеспечивающих надежность воспроизводства популяций растений [2].

Если растение обитает в нормальных условиях и не является гибридным, то почти вся образующаяся пыльца будет нормально развитой и фертильной. Но в зрелом пыльнике, даже у растений с высокой репродуктивной способностью, помимо нормальной пыльцы имеется определенное количество аномальных пыльцевых зерен. Нарушение нормального развития пыльцевого зерна — ответная реакция растительного организма на воздействие неблагоприятных внешних факторов [9]. Под влиянием неблагоприятных внешних условий (плохая погода с чрезмерно низкими или высокими температурами, с большой или малой влажностью, стрессовые условия обитания, например, в условиях приливно-отливной зоны и др.), под влиянием искусственного воздействия различными реагентами (химические вещества, облучение) нормальное развитие пыльцы может нарушиться, что приводит к образованию тератоморфной и стерильной пыльцы. Нарушения в развитии пыльцы могут происходить на очень ранних стадиях формирования пыльцевого зерна (мейоз), в результате образуются дополнительные микроядра и вместо тетрад, образуются пентады, октады и т.д. В других случаях несколько ядер заключаются в одну и ту же крупную клетку, образуется многоядерная пыльца, которая чаще всего бывает стерильной и дегенерирует на ранних стадиях развития. Большинство мейотических мутаций приводит к нарушению сегрегации и редукции числа хромосом в гаметах, вызывая образование неполноценных клеток с несбалансированным числом хромосом (стерильная пыльца). Такая пыльца часто характеризуется уменьшенными размерами, измененной формой, сморщенным ядром и отстающей цитоплазмой. Нормальное формирование пыльцы может нарушаться и на более поздних стадиях ее развития. Известно о нарушениях в делении генеративной клетки, ведущих к образованию микроспермиев.

Особый тип нарушения нормального хода развития пыльцы связан с патологической вакуолизацией цитоплазмы развивающихся пыльцевых зерен. Мелкие вакуоли не сливаются в одну большую, и цитоплазма приобретает пенный вид, постепенно отмирает, ядро разрушается и от пыльцевого зерна сохраняется только оболочка [6]. Морфологическая изменчивость оболочек пыльцевых зерен зависит от воздействия таких факторов, как пожары, радиация, засоленность, повышенная концентрация тяжелых металлов и других вредных веществ. В частности, засоление почвы вызывает стерильность пыльцы у растений, снижает ее жизнеспособность и тем самым нарушает прорастание пыльцевых трубок [16].

По мнению исследователей, практически все параметры внешней среды могут оказывать воздействие на мужскую генеративную сферу растений, вызывая нарушения микроспоро-, гаметофито- и гаметогенеза. Многие из этих факторов можно учесть и отделить аномалии пыльцы, вызванные внешними причинами, от генетически обусловленных для конкретного вида растения. Одни и те же воздействия внешней среды у разных видов приводят к различным результатам. Таким образом, в реакциях пыльцевых зерен на воздействия внешней среды проявляются биологические свойства вида, в том числе особенности его репродуктивной системы [8].

Большая часть работ, касающихся рассматриваемой проблемы, посвящена рецессивной пыльце растений, произрастающих в экологически неблагоприятных районах [5,6].

Показатели морфологических характеристик пыльцевых зерен широко используются при селекционных работах и в интродукции [16], а так же при изучении возможностей растений адаптироваться к динамическим и стрессовым условиям обитания [12,15].

Необходимость ранней диагностики состояния растений особенно остро возникает в тех районах, где складываются экстремальные для видов условия произрастания. Большой интерес представляет поиск простых и информативных признаков, маркирующих устойчивость и состояние растительных организмов. Как показывали исследования, именно морфометрические признаки пыльцы — одни из самых стабильных среди вегетативных и генеративных [15].

К постоянно динамичным местообитаниям можно отнести приливно-отливную зону. Исследования репродуктивной сферы растений, произрастающих в условиях приливно-отливной зоны Белого моря, начаты в 2012 году в окрестностях пос. Растьяналок Беломорского района Республики Карелии. Впервые получены данные о качестве пыльцы астры солончаковой (*Tripolium pannonicum* (Jacq.) Dobroc. subsp. *tripolium* (L.) Greuter, сем. *Asteraceae*), триостреника морского (*Triglochin maritimum* L., сем. *Yuncagenaceae*), глянуса морского (*Glaux maritima* L. сем. *Primulaceae*) — типичных облигатных галофитов приморских территорий [10]. Оказалось, что в экологически чистых условиях побережья Белого моря нарушения в развитии пыльцы у астры морской составляют от 5 до 15%, у глянуса морского — от 6 до 30%, а у триостреника морского — 18-42%. Наибольший процент нарушений приходится на изменения в цитоплазме, они представлены у всех видов. Для астры морской и триостреника морского наименьшее количество тератоморфной пыльцы отмечается у уреза воды, а глянуса морского — ближе к берегу, что вероятно связано с их способностью выносить разную степень заливания. По степени снижения адаптивного потенциала на уровне репродуктивной сферы, исследуемые виды составили следующий ряд: астра морская, глянук морской и триостреник морской [14].

Изучение состояния репродуктивных органов растений приливно-отливной зоны продолжено в 2014 году на берегу Кандалакского залива Белого моря в устье реки Кереть. Объектами исследования стали подорожник морской (*Plantago maritima* L., сем. *Plantaginaceae*), лисохвост тростниковидный (*Alopecurus arundinaceus* Poir. (*A. ventricosus* Pers.), сем. *Poaceae*) и астра солончаковая (*Tripolium pannonicum*, сем. *Asteraceae*). Анализ качества пыльцы показал, что нарушения развития пыльцы у астры морской составляют 9–25%, у лисохвоста тростниковидного — около 36%, а у подорожника морского от 42 до 59%. Чаще всего среди патологий развития встречаются пыльцевые зерна без содержимого — у всех видов. Изменения в строении экзины отмечены только для астры морской. Для лисохвоста тростниковидного и подорожника морского характерна аномалия развития — патологическая вакуолизация цитоплазмы. Для подорожника морского зафиксировано наличие очень крупных пыльцевых зерен без содержимого. У астры наименьшее количество патологически развитой пыльцы отмечено в зоне, подвергающейся периодическому заливанию. Для лисохвоста и подорожника морского увеличение количества нормально сформированной пыльцы характерно для участков, которые подвергаются заливанию на менее продолжительный период времени или не заливаются совсем. Очевидно, что полученные данные соотносятся с приспособленностью

растений к обитанию в зонах с разной степенью заливаемости и засоленности. Последующие исследования качества пыльцы прибрежных растений будут связаны с поиском соотношения степени влияния факторов окружающей среды и типа аномалии развития.

В настоящее время Арктический регион еще практически не подвержен катастрофическому воздействию антропогенного вмешательства, что позволяет тщательно обследовать эту территорию. Но загрязнение постепенно охватывает все больше регионов нашей планеты и приводит к

значительному ухудшению прибрежной и морской среды. Наличие растений-индикаторов, морфологические характеристики пыльцевых зерен которых и их изменчивость в зависимости от того или иного фактора среды всесторонне исследованы, способны приблизить нас к адекватному пониманию процессов происходящих в приливно-отливной зоне и проводить экологическое зонирование территорий.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минобрнауки России (проект № 6.724.2014/к).

Литература:

1. Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И., Дабах Е.В., Кантор Г.Я., Огородникова С.Ю., Тимонок В.М., Кондаков И.А. Биоиндикация и биотестирование природных сред и объектов в организации экологического мониторинга на территории зоны защитных предприятий объектов уничтожения химического оружия // Информационно-аналитический сборник «Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия». Вып. 6, 2004. С. 115-120.
2. Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. и др. От микроспоры – к сорту. М.: Наука, 2010. 174 с.
3. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / [под ред. О.П. Мелеховой, Е.И. Егоровой]. М.: Академия, 2007. 287 с.
4. Бондарь Л.М., Частокотенко Л.В. Микроспорогенез как один из возможных биоиндикаторов загрязняющего воздействия автотрассы // Биологические науки, 2002. № 5. С. 79-84.
5. Дзюба О.Ф., Тарасевич В.Ф. Морфологические особенности пыльцевых зерен *Tilia cordata* Mill. в условиях современного мегаполиса // Пыльца как индикатор состояния окружающей среды и палеоэкологические реконструкции: Междун. Семинар. СПб, 2001. С. 79-90.
6. Дзюба О.Ф. Тератоморфные пыльцевые зерна в современных и палеопалинологических пыльцевых спектрах и некоторые проблемы палиностратиграфии // Нефтегазовая технология. Теория и практика, 2007. №2. С. 1-22.
7. Кавеленова Л.М. Экологические основы и принципы построения системы фитомониторинга урбосреды в лесостепи // Вестник СамГУ, естественнонаучная серия, 2003. второй спецвыпуск. С. 182-191.
8. Круглова А.Е. Оценка качества пыльцевых зерен в зрелых пыльниках остролодочника сходного в условиях интродукции // Вестник Удмуртского университета. Биология. Науки о Земле, 2011. Вып. 1, с. 67-75.
9. Куприянов П.Г. Соотносительная роль факторов, вызывающих появление дефектных пыльцевых зерен у растений в природе. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1983. 133 с.
10. Марковская Е.Ф., Сергиенко Л.А., Шкляревич Г.А., Сониная А.В., Стародубцева А.А., Смолькова О.В. Природный комплекс побережий Белого моря. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН, 2010. 84с.
11. Мельникова Т.А. Аномальная пыльца рода *Pinus* L. как индикатор палеоклиматических флюктуаций в позднем голоцене // Вестник ДВО РАН, 2004. №3. С. 178-182.
12. Носкова Н.Е., Третьякова И.Н. Влияние стресса на репродуктивные способности сосны обыкновенной // Хвойные бореальной зоны. №3, 2006. с. 54-63.
13. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1980. 304 с.
14. Сониная А.В., Елькина Н.А., Марковская Е.Ф. Оценка состояния пыльцевых зерен растений приливно-отливной зоны побережья Белого моря // Ученые записки ПетрГУ. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2013. С. 7-11.
15. Тихонова И.В. Морфологические признаки пыльцы в связи с состоянием деревьев сосны в сухой степи // Лесоведение. №1, 2005. С. 63-68.
16. Цаценко Л.В. Пыльцевой анализ в селекции растений // Научный журнал КубГАУ, №77(03), 2012 г. с. 21-32.