

Последствия аэротехногенного загрязнения выбросами автомобильного транспорта для придорожных насаждений сосны обыкновенной

Васильев Д.В.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии

Аннотация. Исследовано влияние аэротехногенных поллютантов на качество пыльцы и семенное потомство сосновых насаждений, произрастающих в условиях аэротехногенного загрязнения автомобильным транспортом на трассе М3.

Ключевые слова: сосна, семена, автотранспорт

DOI: 10.5281/zenodo.4072038

Введение

Развитие автотранспорта вызвало увеличение аэротехногенного загрязнения, негативно отразившегося на придорожных лесных экосистемах. Зеленые насаждения и леса вдоль автотрасс балансируют газовый состав воздуха и уровень его загрязнённости, снижают шумовое воздействие. Но эффективность выполняемых ими функций может сильно снижаться в результате воздействия токсичных выбросов транспорта в результате угнетения развития растений, снижения биоразнообразия экосистем и их устойчивости к стрессам. К такому воздействию особенно чувствительны хвойные растения благодаря своей высокой чувствительности к химическому загрязнению. А поскольку хвойные растения часто являются видами эдификаторами, то их массовая гибель или угнетение развития оказывает существенный эффект на функционирование экосистем [1].

На европейской территории России одним из наиболее распространенных видов хвойных является сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) являющаяся классическим объектом популяционной генетики и экологии благодаря своей высокой чувствительности, к действию химических и радиационных факторов.

Целью настоящей работы являлась оценка влияния выбросов автотранспорта на придорожные насаждения сосны обыкновенной.

Материалы и методы

Объектом исследования была Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) – являющаяся основным лесообразующим видом – эдификатором в центральных районах России. Имея высокую чувствительность к антропогенному загрязнению, она стала одним из видов наиболее часто используемых для биологического мониторинга [2, 3]. Исследования, выполненные на сосне [4, 5, 6] позволили выделить ряд тест-систем, пригодных для индикации эффектов воздействия токсикантов. Установлено, что к действию неблагоприятных факторов наиболее чувствительны репродуктивные органы хвойных растений, имеющие сложную организацию и длительный генеративный цикл.

Исследовались деревья, произрастающие вдоль автомобильной трассы М3. Исследовалась популяция деревьев сосны обыкновенной произрастающая

вдоль дорожного полотна (Т). Контроль (К) был собран в экологически чистом месте в 500 метрах от трассы.

Пыльца сосны собиралась в середине мая по 10–30 стробилов с дерева, и хранилась в холодильнике. Шишки были собраны в начале декабря 2019 г. На каждом из участков в пределах гомогенного древостоя собиралось по 20–50 шишек с каждого из 7–10 деревьев на высоте 1.5–2 метра от поверхности земли. Для созревания и стратификации шишки выдерживались вне помещения до конца февраля. Затем они доставлялись в лабораторию и хранились при комнатной температуре и низкой влажности до раскрытия и высыпания семян. У семян удалялись крылышки, определялось число нормальных и abortивных (невыполненных, сухих, недоразвитых) семян.

Для анализа качества пыльцы проводилось ее окрашивание водным раствором йода (1:5). После чего под микроскопом определялось наличие и число наиболее распространенных тератоморфных форм: разноразмерные воздушные мешки (вм); сжатые вм; отсутствие 1 вм; отсутствие вм; редуцированы вм, с тремя вм; деформировано тело пыльцевого зерна; редуцировано тело зерна; воротничковая; гипертрофированное (диплоидное) пыльцевое зерно.

Для анализа качества семенного потомства семена сосны проращивались в термостате при 24 °С в чашках Петри на смоченной дистиллированной водой фильтровальной бумаге. При проращивании определялась всхожесть (на 7 день) и энергия прорастания (на 14 день). Для цитогенетического анализа использовались проростки семян с корешками длиной 7–10 мм, в период пика первых митозов [7, 8]. Корешки фиксировались в ацето-алкоголе (1:3), окрашивались ацеорсеином и готовились временные давленные препараты. В каждом из препаратов анализировались все ана-телофазные клетки и рассчитывалась доля клеток с цитогенетическими нарушениями. При анализе спектра нарушений выделялись хроматидные (одиночные) и хромосомные (двойные) мосты и фрагменты, многополюсные митозы, а также отставания хромосом.

Митотическая активность клеток корневой меристемы проростков семян оценивалась с помощью митотического индекса, выраженного в процентах.

Для этого в препаратах подсчитывалось число митозов и общее число клеток. Митотический индекс (MI) рассчитывался по формуле:

$$MI = \frac{P+M+A+T}{I+P+M+A+T} * 100,$$

где: P – количество клеток корневой меристемы на стадии профазы; M – количество клеток корневой меристемы на стадии метафазы; A – количество клеток корневой меристемы на стадии анафазы; T – количество клеток корневой меристемы на стадии телофазы; I – количество клеток корневой меристемы на стадии интерфазы.

Микрокопирование проводилось под микроскопами Nikon Eclipse 55i и Люмам И1.

Экспериментальные данные проверялись по критерию Диксона на наличие выбросов, которые исключались из дальнейшего рассмотрения. Данные обрабатывались методами вариационной статистики с использованием Microsoft Office Excel 2007. Для оптимизации объема выборки применялась методика статистического анализа эмпирических распределений [9]. Статистическая значимость отличий оценивалась по критерию Стьюдента.

Результаты исследования

Формирование у растений пыльников и пыльцы связано с большим количеством последовательно и быстро протекающих клеточных делений. Клетки в

процессе деления особенно чувствительны к стрессовым воздействиям способным благодаря этому, оказывать значительное влияние на жизнеспособности и морфологию пыльцевых зерен. В норме пыльцевое зерно сосны обыкновенной имеет тело и два воздушных мешка (в.м.), образующихся в результате расхождения слоёв экзины, пространство между которыми у нормально сформированного зерна заполнено воздухом. Мешки симметрично расположены и одинаковы по размеру. При изучении аномалий развития пыльцы сосны были выявлены следующие термоморфные формы:

- 1) разноразмерные в.м;
- 2) сжатые в.м;
- 3) отсутствие 1 в.м;
- 4) отсутствие в.м;
- 5) деформировано тело пыльцевого зерна;
- 6) редуцировано тело зерна;
- 7) редуцированы в.м,
- 8) с тремя мешками;
- 9) воротничковая;
- 10) гипертрофированное (диплоидное) пыльцевое зерно.

Установлено, что частота аномалий пыльцы у популяции сосны произрастающей вдоль автострады статистически значимо выше, чем в контроле (таблица 1).

Таблица 1. Частота встречаемости термоморфных форм пыльцы

Форма пыльцы	Вариант	
	К	Т
Нормальная	89,60±0,04	59,53±0,04
Разноразмерные в.м	1,32±0,01	11,92±0,01
Сжатые в.м	2,75±0,01	12,62±0,01
Отсутствие 1 в.м	1,54±0,01	3,13±0,01
Отсутствие п.м	0,61±0,01	1,74±0,01
Деформированное тело пыльцевого зерна	0,77±0,01	4,44±0,01
Редуцированное тело пыльцевого зерна	0,39±0,01	0,96±0,01
Редуцированные в.м	2,70±0,01	4,26±0,01
Воротничковая	0,06±0,01	1,22±0,01
3 в.м и более	0,22±0,01	-
Гипертрофированное (диплоидное) пыльцевое зерно	0,06±0,04	0,17±0,04

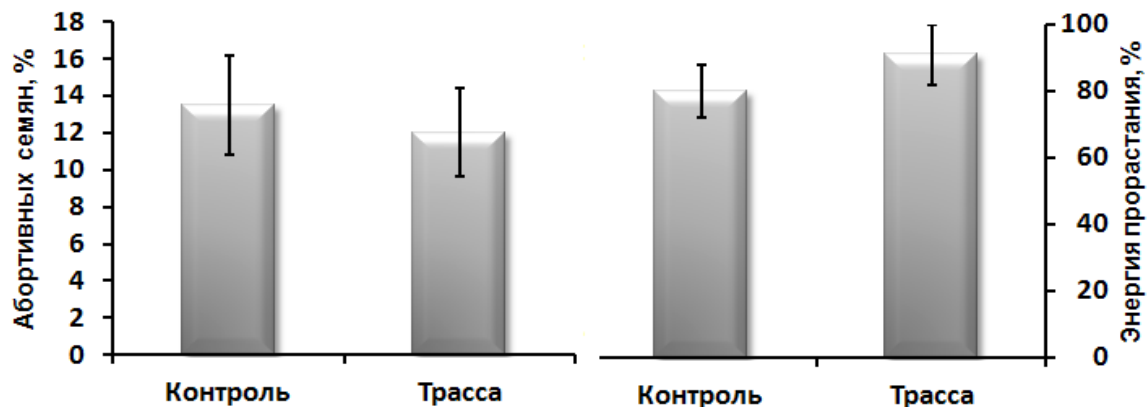


Рис. 1. Доля abortивных семян и энергия прорастания семян

Анализ морфологии и энергии прорастания семян растений произрастающих вдоль автомобильной трассы показал тенденцию к небольшому снижению

числа abortивных семян и росту энергии прорастания. Но достоверных отличий от контроля обнаружено не было (Рис. 1).

Наибольшая вероятность обнаружить биологические эффекты негативного влияния автомобильных выбросов имеется на клеточном уровне. Известно, что устойчивость растений к действию неблагоприятных факторов определяется во многом способностью их меристем сохранять клеточный состав и поддерживать темп деления клеток. Выхлопные газы, в состав которых входят тяжелые металлы, могут снижать митотическую активность клеток [10, 11].

Хоть у растений с автотрассы, не было выявлено статистически значимого снижения митотической активности, но выявлена тенденция к ее снижению (рис. 2). Применение же методов цитогенетического анализа выявило статистически значимое ($p < 0.05$) увеличение числа хромосомных нарушений в корневой меристеме проростков семян у растений, с автотрассы (рис. 2).

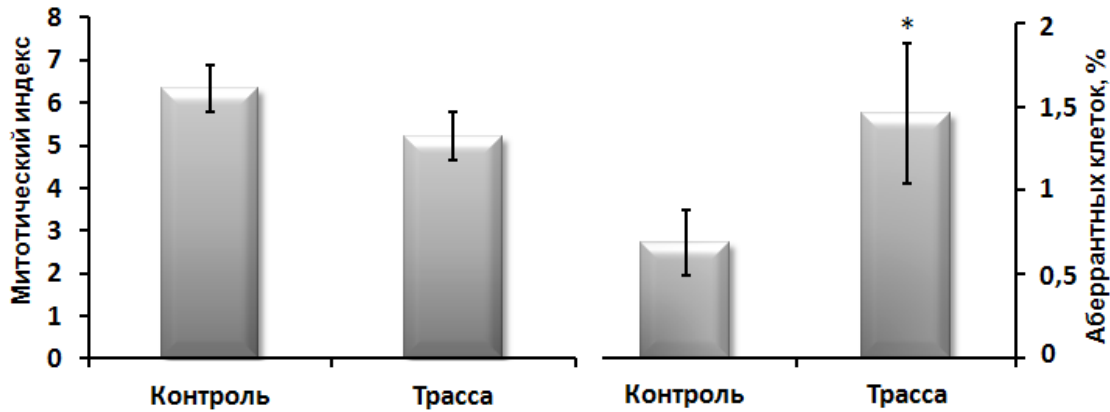


Рис. 2. Митотический индекс и частота аберрантных клеток * - отличие статистически значимо

Считается, что в случаях, когда не известен фактор, индуцирующий повышенную частоту цитогенетических нарушений, то о его природе можно судить по соотношению регистрируемых типов аберраций. Так как хоть техногенные поллютанты и не создают новые виды хромосомных аберраций, которые не могли бы наблюдаться и в контроле, но соотношение разных типов индуцируемых нарушений может значимо зависеть от природы действующего фактора

[12]. Так, тяжелые металлы, присутствующие в выхлопе автомобилей способны повышать долю геномных нарушений [13]. Анализ соотношения зарегистрированных в ходе исследования видов цитогенетических нарушений действительно выявил статистически значимое повышение доли геномных нарушений у семенного потомства растений произрастающих вдоль автотрассы (рис.3).

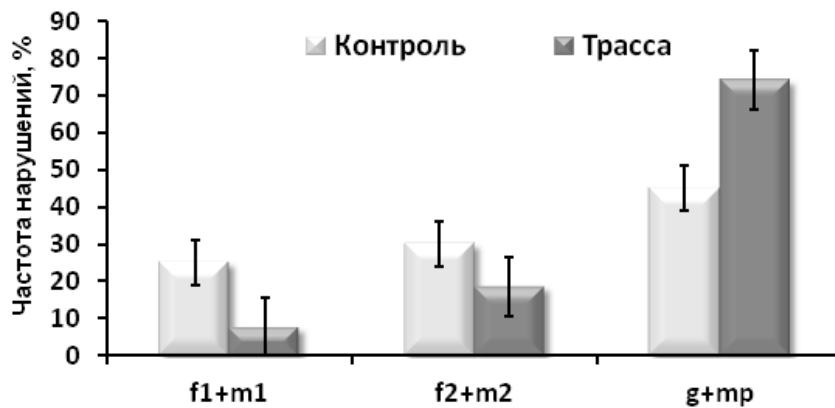


Рис. 3. Частота встречаемости разных типов аберраций * - отличие статистически значимо

Выводы

Исследование показало, что уровни загрязнения воздуха и почв выбросами автотранспорта в районе автотрассы М3 не приводят к явным нарушениям качества семенного потомства у сосны обыкновенной.

Нет достоверных изменений морфологии и энергии прорастания семян. Но наблюдается снижение качества пыльцы и мутагенное действие на семенное потомство.

Литература:

1. Ellison A.M., Bank M.S., Clinton B.D., Colburn E.A., Elliott K., Ford C.R., Foster D.R., Kloeppe B.D., Knoepp J.D., Lovett G.M., Mohan J., Orwig D.A., Rodenhouse N.L., Sobczak W.V., Stinson K.A., Stone J.K., Swan C.M., Thompson J., Holle B.V., Webster J.R. Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems // *Frontiers Ecology Environment*. 2005. V. 3, P. 479-486.
2. Буторина, А. К., Калаев, В. Н., Миронов, А. Н. Цитогенетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной // *Экология*. 2001. - № 3. - С. 198-209.

3. Sparrow, A. H. Research uses of the gamma field and related radiation facilities at Brookhaven National laboratory // *Radiat. Bot.* 1966. – V. 6. – Pp. 377–405.
4. Эрн А., Паук Ю., 1986. Хвойные деревья индикаторы техногенной нагрузки в промышленном ландшафте // *Изв. АН ЭССР. Сер. биол.* Т. 35. № 2. С. 131–141.
5. Козубов Г.М., Таскаев А.И. Радиобиологические и радиозоологические исследования древесных растений. С.-П.: Наука, 1994. 256 с.
6. Кальченко В.А., Федотов И.С. Генетические эффекты острого и хронического воздействия ионизирующих излучений на *Pinus sylvestris* L., произрастающих в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС // *Генетика.* 2001. Т. 37. № 4. С. 427–447.
7. Geraskin S.A., Dikarev V.G., Dikareva N.S., Vasiliyev D.V., Oudalova A.A., Alexakhin R.M., Zimina L.M., Zimin V.L., Blinova L.D. Bioindication of the anthropogenic effects on micropopulation of *Pinus sylvestris* L. in the vicinity of a plant for the storage and processing of radioactive waste and in the Chernobyl NPP zone // *Journal of Environmental Radioactivity.* 2003. Т. 66. № 1–2. P. 171–180.
8. Шевченко В.А., Печуренков В.Л., Абрамов В.И. Радиационная генетика природных популяций. М.: Наука, 1992. 221 с.
9. Гераськин С.А., Фесенко С.В., Черняева Л.Г., Санжарова Н.И. Статистические методы анализа эмпирических распределений коэффициентов накопления радионуклидов растениями // *Сельскохозяйственная биология.* 1994. № 1. С. 13–37.
10. Ибрагимова Э. Э. Митотическая активность клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. при совместном действии пестицидов и тяжелых металлов / *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* Том 27 (66). 2014. № 1. С. 56–63.
11. Калаев В.Н., Буторина А.К., Шелухина О.Ю. Оценка антропогенного загрязнения районов г. старый оскол по цитогенетическим показателям семенного потомства березы повислой // *Экологическая генетика*, том IV, № 2, 2006 г., С. 9–21.
12. Евсеева Т. И., Гераськин С. А., Вахрушева О. М. Оценка вклада факторов радиационной и химической природы в формирование биологических эффектов в популяции горошка мышиного с территории складирования отходов радиевого производства (пос. Водный, Республика Коми) // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014. Т. 54. № 1. С. 85–96.
13. Micieta K., Murin G. Three species of genus *Pinus* suitable as bioindicators of polluted environment // *Water, Air, Soil Pollution.* 2008. V. 104. P. 413–422.