

INFLUENCE OF EMISSIONS FROM ROAD TRANSPORT ON PINE PINE AND SEEDS

Vasiliev D.V. (Russian Federation) Email: Vasiliev520@scientifictext.ru

*Vasiliev Denis Vladimirovich - Candidate of Biological Sciences, Senior
Researcher,*

*LABORATORY OF RADIOLOGY AND ECOTOXICOLOGY OF
AGRICULTURAL PLANTS,
FEDERAL STATE BUDGETARY SCIENTIFIC INSTITUTION
ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE OF RADIOLOGY AND
AGROECOLOGY, OBNINSK*

Abstract: *the quality of pollen and seed progeny of pine plantations, growing in conditions of airborne pollution by road transport on the M3 highway, was investigated. It was found that the levels of air and soil pollution by emissions from vehicles do not lead to obvious violations of the quality of seed progeny in Scots pine. No significant changes in the morphology and energy of seed germination were revealed. But the quality of plant pollen decreases and an increased number of cytogenetic disturbances is observed in seed progeny of pine.*

Keywords: *pine, pollen, seeds, vehicles.*

ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ АВТОМОБИЛЬНОГО ТРАНСПОРТА НА ПЫЛЬЦУ И СЕМЕННОЕ ПОТОМСТВО СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ Васильев Д.В. (Российская Федерация)

*Васильев Денис Владимирович – кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник,*

*лаборатория радиологии и экотоксикологии сельскохозяйственных
растений,*

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и
агроэкологии, г. Обнинск*

Аннотация: *исследовано качество пыльцы и семенного потомства сосновых насаждений, произрастающих в условиях аэротехногенного загрязнения автомобильным транспортом на трассе М3. Установлено, что уровни загрязнения воздуха и почв выбросами автотранспорта не приводят к явным нарушениям качества семенного потомства у сосны обыкновенной. Не выявлено достоверных изменений морфологии и энергии прорастания семян. Но снижается качество пыльцы растений и наблюдается повышенное число цитогенетических нарушений у семенного потомства сосны.*

Ключевые слова: сосна, пыльца, семена, автотранспорт.

1. Введение. 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 автомобильного транспорта. К такому воздействию особенно чувствительны хвойные растения, а поскольку они часто являются видами эдификаторами, то их гибель или угнетение оказывает существенный эффект на функционирование экосистем.

Целью настоящей работы являлась оценка влияния выбросов автотранспорта на репродуктивную функцию сосны обыкновенной.

Материалы и методы. Исследовались деревья сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающие вдоль автомобильной трассы М3 (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 собирали в начале декабря 2019 г. На каждом из участков в пределах гомогенного древостоя собирали по 20-50 шишек с каждого из 7-10 деревьев на высоте 1.5-2 метра от поверхности земли. Для созревания и стратификации шишки выдерживали вне помещения до конца февраля. Затем их доставляли в лабораторию и хранили при комнатной температуре и низкой влажности до раскрытия и высыпания семян, которые обескрыливали вручную. При этом определяли число нормальных и абортивных (невыполненных, сухих, недоразвитых) семян.

Для анализа качества пыльцы проводилось ее окрашивание водным раствором йода (1:5). После чего под микроскопом определялось число наиболее распространённых тератоморфных форм: разноразмерные воздушные мешки (вм); сжатые пм; отсутствие 1 пм; отсутствие пм; деформировано тело пыльцевого зерна; редуцировано тело зерна; редуцированы пм, с тремя пм; 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 определяли всхожесть (на 7 день) и энергию прорастания (на 14 день). Для цитогенетического анализа использовались проростки семян с корешками длиной 7-10 мм, в период пика первых митозов [1, 2]. Корешки фиксировали в ацето-алкоголе (1:3), окрашивали ацетоорсеином и готовили временные давленные препараты. В каждом из препаратов анализировались все ана-телофазные клетки (1170-2260 ана-телофаз на вариант опыта) и рассчитывалась доля клеток с цитогенетическими нарушениями. При анализе спектра нарушений определялись 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.

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 [3]. Статистическая значимость отличий оценивалась по критерию Стьюдента.

Результаты исследования. При изучении аномалий развития пыльцы сосны были выявлены распространённые тератоморфные формы: разноразмерные вм; сжатые вм; отсутствие 1 вм; отсутствие 2 вм; деформировано тело пыльцевого зерна; редуцировано тело зерна; редуцированы вм, с 3 вм; воротничковая; 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 тероморфных форм пыльцы

Форма пыльцы	Вариант	
	К	Т
Нормальная	89,60±0,04	59,53±0,04
Разноразмерные вм	1,32±0,01	11,92±0,01
Сжатые пм	2,75±0,01	12,62±0,01
Отсутствие 1 вм	1,54±0,01	3,13±0,01
Отсутствие пм	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 вм	2,70±0,01	4,26±0,01
Воротничковая	0,06±0,01	1,22±0,01
3 вм и более	0,22±0,01	-
Гипертрофированное (диплоидное) пыльцевое зерно	0,06±0,04	0,17±0,04

Анализ морфологических характеристик и энергии прорастания семян растений произрастающих вдоль автомобильной трассы показал тенденцию к небольшому

снижению числа abortивных семян и росту их энергии прорастания. Но достоверных отличий от контроля обнаружено не было (Рис. 1 и 2).

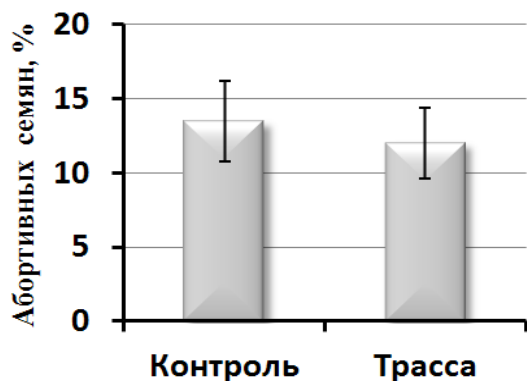


Рис. 1. Доля абортивных семян

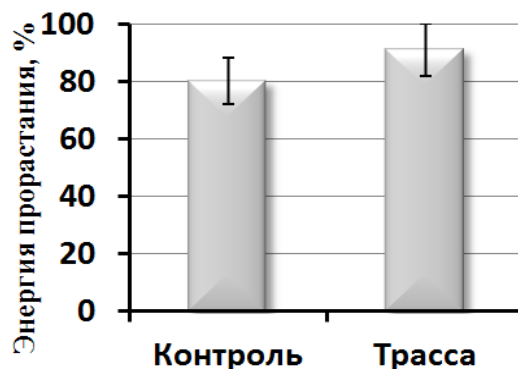


Рис. 2. Энергия прорастания семян

Наибольшая вероятность обнаружить биологические эффекты негативного влияния автомобильных выбросов имеется на клеточном уровне. Известно, что устойчивость растений к воздействию неблагоприятных факторов во многом определяется способностью их меристем сохранять клеточный состав и поддерживать нормальные темпы деления клеток. Выхлопные газы, в состав которых входят тяжелые металлы, способны снижать митотическую активность клеток [4, 5]. Хотя у растений, произрастающих вдоль автотрассы, статистически значимого снижения митотической активности не было выявлено, но имеется явная тенденция к ее снижению (рис. 3).

Применение методов цитогенетического анализа позволило выявить статистически значимое ($p < 0.05$) увеличение числа хромосомных нарушений в корневой меристеме проростков семян у растений, произрастающих вдоль автотрассы (рис. 4).

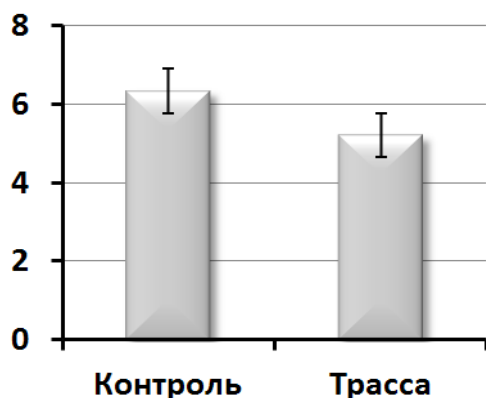


Рис. 3. Митотический индекс

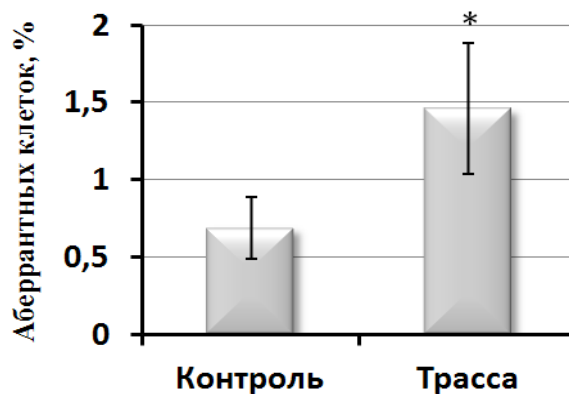


Рис. 4. Частота аберрантных клеток

* - 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 aberrаций. Хотя техногенные поллютанты и не создают новые виды хромосомных aberrаций, которые не могли бы наблюдаться и в контроле, но соотношение разных типов индуцируемых нарушений может зависеть от природы действующего фактора [6]. Так, тяжелые металлы способны повышать долю геномных нарушений [7]. Анализ соотношения зарегистрированных в ходе исследования разных видов цитогенетических aberrаций действительно выявил статистически значимое повышение доли геномных нарушений у семенного потомства растений произрастающих вдоль автотрассы (рис. 5).

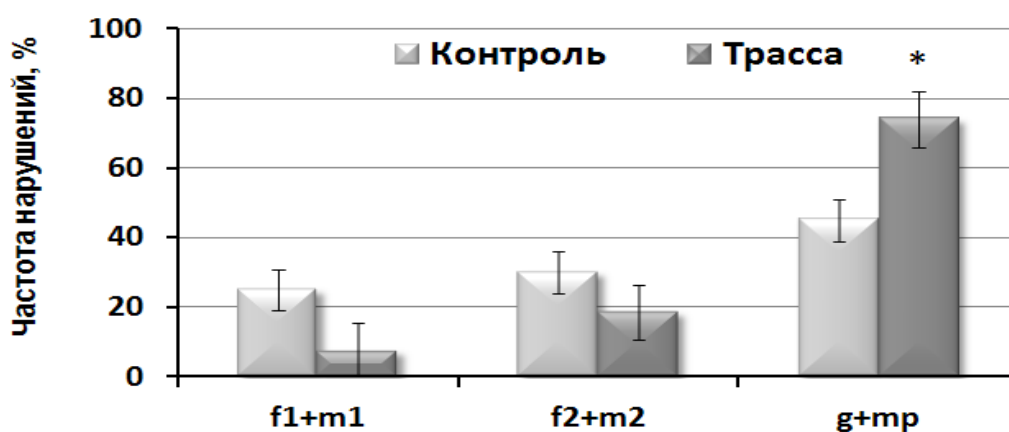


Рис. 5. Частота разных типов aberrаций.

* - отличие статистически значимо.

Выводы. На основании полученных результатов можно сказать, что уровни загрязнения воздуха и почв выбросами автотранспорта в районе автотрассы МЗ не приводят к явным нарушениям качества семенного потомства у сосны обыкновенной. Нет достоверных изменений морфологии и энергии прорастания семян. Но существующий уровень загрязнения снижает качество пыльцы растений и оказывает мутагенное действие на семенное потомство сосны.

Список литературы / References

1. 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.
2. Шевченко В.А., Печкуренок В.Л., Абрамов В.И. Радиационная генетика

природных популяций. М.: Наука, 1992. 221 с.

3. 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.
4. Ибрагимова Э.Э. Митотическая активность клеток корневой меристемы *Allium* сера 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.
5. 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. С. 9-21.
6. 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.
7. 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.