



УДК 574.21:581.331.2:582.475

Хлебова Л.П.¹, Бычкова О.В.²**ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА
СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *PINUS SILVESTRIS* L. В УСЛОВИЯХ
ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ***Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия**E-mail: hlebova61@mail.ru¹, olga4ka_asu@mail.ru²*

Изучены особенности развития мужского гаметофита сосны обыкновенной в условиях урбоэкосистемы. Качество пыльцы оценивали в лабораторных экспериментах путем проращивания на питательной среде и посредством гистохимических реакций на наличие окислительно-восстановительных ферментов. Показано, что жизнеспособность пыльцы тесно связана с природно-климатическими и погодными условиями в период микроспорогенеза и массового пыления. Существенное воздействие оказывает атмосферное загрязнение. Пониженная температура и высокая влажность на фоне слабого потенциала самоочищения атмосферы приводят к снижению потенциальной жизнеспособности. Уменьшается способность пыльцевых зерен прорасти, увеличивается число аномальных пыльцевых трубок, уменьшается доля клеток, содержащих активные пероксидазы. Установлена тесная положительная корреляция между частотой проросших пыльцевых зерен и наличием активной пероксидазы и отрицательная зависимость между долей окрашенной пыльцы и частотой аномалий пыльцевых трубок, что подтверждает роль активной пероксидазы не только в индукции прорастания, но и формировании трубок.

Проведено ранжирование территории по напряженности действия неблагоприятных экологических факторов. Реакция мужского гаметофита сосны обыкновенной позволяет рассматривать его в качестве биоиндикатора неблагоприятной экологической обстановки в городской среде.

Ключевые слова: пыльца, сосна обыкновенная, жизнеспособность, пыльцевая трубка, активная пероксидаза, городская среда, экологический стресс.

L.P. Khlebova¹, O.V. Bychkova²**DEVELOPMENT OF *PINUS SYLVESTRIS* L. MALE GAMETOPHYTE
IN URBAN ENVIRONMENT***Altai State University, Barnaul, Russia**E-mail: hlebova61@mail.ru, olga4ka_asu@mail.ru*

The peculiarities of the development of the male gametophyte of *Pinus silvestris* L. in the urban environment were studied. Quality of pollen was evaluated by laboratory experiments through germination at the nutrient medium and by histochemical staining to determine the presence of redox enzymes. It was shown that pollen viability is closely linked to climatic and weather conditions during the period of microsporogenesis and mass pollination. Atmospheric pollution affected the pollen significantly. Low temperatures and high humidity in the

background of the weak capacity of self-purification of the atmosphere led to a reduction of the potential pollen viability. The ability of the pollen grains to germinate was reduced, the number of abnormal pollen tubes was increased, and the proportion of cells containing active peroxidase was decreased. We revealed a close positive correlation between the frequency of germinated pollen grains and the presence of active peroxidase, as well as a negative correlation between the percentage of colored pollen and the frequency of pollen tube anomalies, which confirmed the role of peroxidase activity not only in the induction of pollen germination, but also the formation of pollen tubes.

A ranking of the urban territory on the strength of unfavorable environmental factors has been carried out. The reaction of male gametophyte of pine allowed us to consider it as a biological indicator of unfavorable ecological situation in the urban environment.

Keywords: pollen, Pinus silvestris L, viability, pollen tube, active peroxidase, urban environment, environmental stress.

ВВЕДЕНИЕ

Экосистемы города испытывают огромную нагрузку хозяйственной и промышленной деятельности человека, под влиянием которой происходит трансформация природной среды (Rezanejad, 2009; Sénéchal *et al.*, 2015). Барнаул не является исключением, поскольку это достаточно крупный промышленный и административный центр Алтайского края, узел шоссейных и административных дорог. Весьма остро стоит в городе проблема загрязнения атмосферного воздуха, уровень которого в течение более десяти лет оценивается как высокий и очень высокий, что обусловило его включение в список городов России с наибольшим уровнем загрязнения атмосферы (Государственный доклад..., 2015). Основными источниками загрязнения воздуха города являются предприятия теплоэнергетики, машиностроения, нефтехимической, пищевой промышленности и автотранспорт. Кроме того, ситуация усугубляется тем, что Алтайский край расположен в зоне повышенного природного потенциала загрязнения атмосферы, который характеризуется частой повторяемостью штилей и приземных инверсий, что затрудняет рассеивание вредных веществ и способствует их накоплению в атмосфере (Шутова и др., 2015).

При оценке уровня загрязнения территорий используют разнообразные методы, среди которых биоиндикационные приобретают все большую значимость в силу их низкой стоимости, простоты, относительно высокой скорости и возможности характеризовать состояние среды за длительный промежуток времени (Ерещенко и др., 2013). Для подобного рода исследований чаще всего привлекают растительные организмы, у которых в условиях техногенеза наблюдаются нарушения стабильности развития, изменения листового аппарата, кроны деревьев и т.д. (Соколова, Тиньгаева, 2008; Ерещенко, Хлебова, 2013; Соколова, Клоус, 2014).



Одним из широко используемых направлений биомониторинга является изучение действия поллютантов на генеративную систему растений, определяющую успешность их репродуктивной деятельности (Хлебова, Ерещенко, 2012; Левченко, Силич, 2014; Chehregani *et al.*, 2004; Cuinica *et al.*, 2014). В связи с высокой уязвимостью мужской генеративной сферы большой интерес проявлен к исследованию процессов микроспорогенеза у различных хвойных видов. Авторами показано, что в условиях дестабилизации среды сокращается число стробилов на побеге, формируется пыльца низкого качества, изменяются ее размеры, снижается содержание крахмала в пыльцевых зернах и способность их прорасти на искусственных средах, возрастает количество хромосомных аномалий (Третьякова, Носкова, 2004; Бажина, 2005; Хлебова, Ерещенко, 2013; Gottardini *et al.*, 2008; Rezanejad, 2009).

Известно, что пыльцевые зерна содержат огромное разнообразие различных ферментов и изоферментов, которые присутствуют в клеточной стенке, пластидах, рибосомах и других органеллах (Stanley, Linskens, 1974). Исследования энзиматической активности в различных фазах развития пыльцы, включающие как количественную оценку содержания ферментов путем их прямой экстракции, так и качественную посредством гистохимических реакций, составили некоторое представление об их участии в индукции прорастания и росте пыльцевых трубок. Установлена чрезвычайно важная роль различных окислительно-восстановительных ферментов, среди которых особое значение отводят пероксидазам, обеспечивающим жизнеспособность пыльцы и формирование клеточной стенки в процессе прорастания и развития пыльцевой трубки (Stanley, Linskens, 1974; Parui *et al.*, 1998). Оценка активности пероксидазы в зрелых пыльцевых зернах лежит в основе качественной реакции определения жизнеспособности пыльцы. Показателем ферментативной активности является изменение окраски клеток при действии реактивов, содержащих бензидин, за счет их восстановления (Stanley, Linskens, 1974). Однако в ряде работ показано, что для некоторых видов растений не всегда активность пероксидазы коррелирует с прорастанием пыльцы (Heslop-Harrison *et al.*, 1984), что может быть предметом дальнейшей дискуссии и исследования.

Целью нашей работы явилась оценка жизнеспособности пыльцы и различных типов аномалий пыльцевых трубок сосны обыкновенной, произрастающей в условиях экологического стресса на территории г. Барнаула.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования служили микростробилы *Pinus silvestris* L. с уже созревшей пылью перед началом массового пыления. Сбор пыльцы осуществлялся с 15 по 19 мая 2014 года из средней части кроны 5-6 деревьев.

Для отбора пыльцевых проб были определены семь площадок в черте города, различающиеся по степени антропогенной нагрузки. В качестве контрольной использована условно «чистая» территория, расположенная в нагорной части города в лесном массиве в районе Южно-Сибирского ботанического сада.

Жизнеспособность пыльцы определяли проращиванием на искусственной питательной среде (2% агар, 15% раствор сахарозы с добавлением 0,003 % борной кислоты) в термостате при температуре +26 °С методом «влажной камеры». Проросшей и жизнеспособной считали пыльцевые зерна, трубки которых по длине превышали диаметр тела пыльцевого зерна с воздушными мешками (Паушева, 1988). Наблюдения вели в течение 7 суток. Фиксировали количество проросшей пыльцы каждые сутки в 12.00 часов и различные аномалии пыльцевых трубок. Исследовано по 400 клеток каждой пробы в 4 повторениях. Кроме того, проводили качественную реакцию на активность пероксидазы, основанную на способности пыльцевого зерна, содержащего данный фермент, в присутствии бензидина окрашиваться в темно-красный цвет, что указывает на его потенциальную жизнеспособность (Паушева, 1988; Stanley, Linskens, 1974).

Пыльцевой анализ проводили на микроскопе AXIO ZEISS Imager.Z1 с увеличением 10x15x90 на временных цитологических препаратах, фотосъемку – с помощью камеры AxioCamMRc5. Достоверность различий полученных результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента и методом однофакторного дисперсионного анализа, взаимосвязь различных признаков – методом корреляционного анализа. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 и StatPlus 2009.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проращивание пыльцы *in vitro* на искусственной питательной среде является, одним из наиболее точных способов оценки жизнеспособности мужского гаметофита растений. Наличие контролируемых условий (температура, освещение, влажность) позволяет оградить пыльцевые зерна, выдержавшие стрессовое давление, от неблагоприятных воздействий во время прорастания. Однако при экстраполяции лабораторных данных следует учитывать, что в естественных условиях на пыльцу и растущие пыльцевые трубки оказывают непосредственное влияние ткани пестика и окружающая среда. В научной литературе известны многочисленные примеры успешного использования описанного метода в различных исследованиях хвойных, например, для сравнения условий прорастания ели сибирской на разных территориях (Владимирова и др., 2008), при изучении влияния болезней на жизнеспособность пыльцы пихты сибирской (Бажина, 2005) и др. Применяют метод проращивания пыльцы и в работах по биотестированию, в частности,

для оценки воздействия тяжелых металлов на мужской гаметофит (Лях и др., 2004).

Важным условием использования пыльцы определенного вида для выявления токсичности и мутагенности среды является невысокий уровень ее спонтанной абортивности. Исследования, выполненные нами ранее, показали, что в течение нескольких лет уровень пылевой стерильности изучаемого объекта на «условно чистой» территории составлял 0,65 – 2,6% (Хлебова, Ерещенко, 2013; Пронина, 2015), что не превышало допустимый 5% порог. Следовательно, использование сосны обыкновенной в качестве биоиндикаторного вида в условиях Барнаула можно считать вполне корректным.

На рис. 1 представлены результаты лабораторного эксперимента по проращиванию пылевых зерен тест-объекта, отобранных в 7-ми локациях, включая контроль. При изучении жизнеспособности пыльцы фиксировали начало ее прорастания, а затем оценивали динамику прорастания в течение 7 суток.

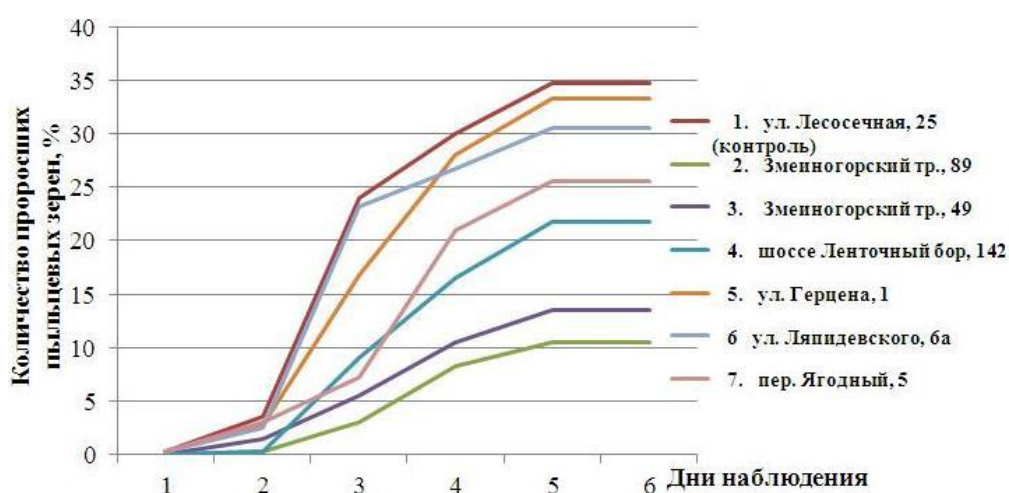


Рис. 1. Жизнеспособность пыльцы сосны обыкновенной в условиях города Барнаула

В первые сутки начало прорастания пыльцы зафиксировано в пробах, отобранных с 4 площадок, в том числе и в контрольной (№ 1, 5, 6, 7). В последующем в этих же пробах отмечали наибольший процент проросших пылевых зерен.

В точках 2, 3 и 4 (по адресу Змеиногорский тр., 89; Змеиногорский тр., 49; шоссе Ленточный бор, 142) прорастание начиналось позже – на вторые сутки, в результате процент жизнеспособной пыльцы оказался ниже контроля в 1,6–3,3

раза. Тем не менее, во всех пробах наблюдали положительную динамику прорастания и стабилизацию значений на 6 сутки. На 7 сутки эксперимента уровень признака не изменился, поэтому на Рис. 1 представлены результаты 6-ти дней наблюдения. Все пробы, за исключением № 5 (ул. Герцена, 1), достоверно отличались от контрольного значения при уровне $P \leq 0,05$.

Средний уровень жизнеспособности составил 22,5%, значительно варьируя в зависимости от исследуемой локации. Минимальные значения зафиксированы для проб, отобранных вдоль Змеиногогорского тракта, являющегося одной из оживленных магистралей города с интенсивным трафиком (Государственный доклад «О состоянии ...», 2015).

Низкий уровень жизнеспособности мужского гаметофита, как правило, был обусловлен тем, что пыльцевые зерна набухали, происходило небольшое выпячивание цитоплазмы в районе апертуры, однако рост пыльцевой трубки блокировался, и ее размер так и не превышал в длину диаметр тела самого зерна (Рис. 2).

При этом пыльцевые трубки часто были «забиты» каллозными пробками, что препятствовало перемещению ядра вегетативной клетки и генеративной клетки в трубку: цитоплазма вегетативной клетки располагалась у апикального конца трубки, соединяясь с содержимым пыльцевого зерна тонким цитоплазматическим тяжом. Такие пыльцевые трубки в дальнейшем, как правило, лизировали.

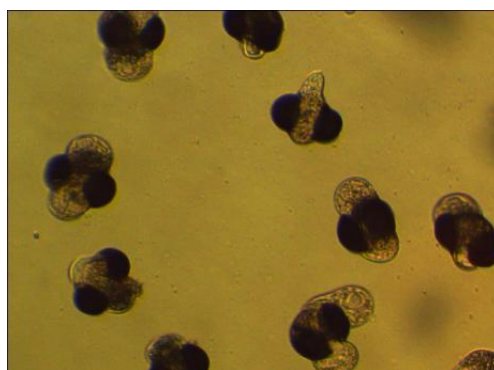


Рис. 2. Прорастание пыльцы сосны обыкновенной пробы № 2 (6-й день)

Изучение динамики процесса прорастания пыльцы выявило большое разнообразие форм роста и ветвления пыльцевых трубок. Основные морфологические типы нарушений представлены на рис. 3, 4. Наряду с характерным для сосны дихотомическим ветвлением встречались различные вариации многократного ветвления, в том числе, по типу так называемых «оленьих и лосиных рогов» (Рис. 3-1).

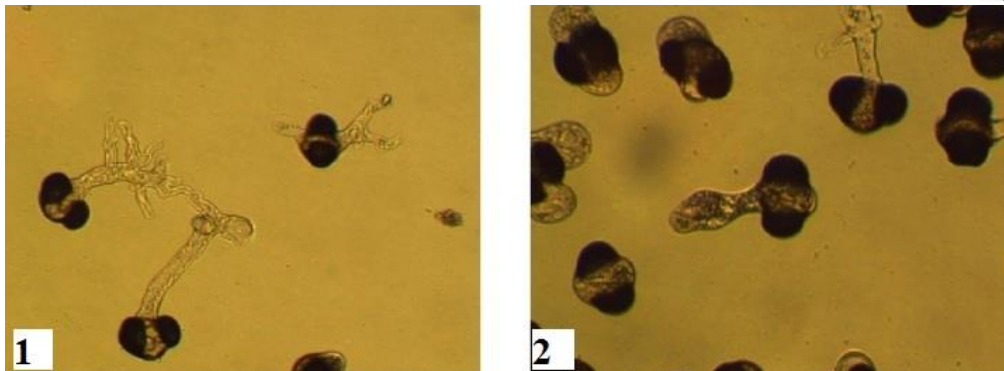


Рис. 3. Пыльца сосны обыкновенной: 1- с различными типами ветвления пыльцевой трубки; 2- с расширенной пыльцевой трубкой

Подобные аномалии описаны для сосны, подвергшейся воздействию ионизирующей радиации в районе аварии Чернобыльской АЭС в 1986 г. (Барабин, 2010). Наибольшим разнообразием морфологических аномалий при прорастании пыльцы отличались насаждения сосны на участках 2, 3, 4. Следует отметить, что часть подобных вариаций ветвления пыльцевых трубок обнаружена и в контроле, но значительно реже. Наиболее распространенной аномалией являлось раздвоение пыльцевой трубки и ее гипертрофированное утолщение. Кроме того, встречалась пыльца, проросшая с обеих сторон (рис. 4-1) Нормой считали прямые не разветвленные, не изогнутые, без утолщений пыльцевые трубки (рис. 4-2).

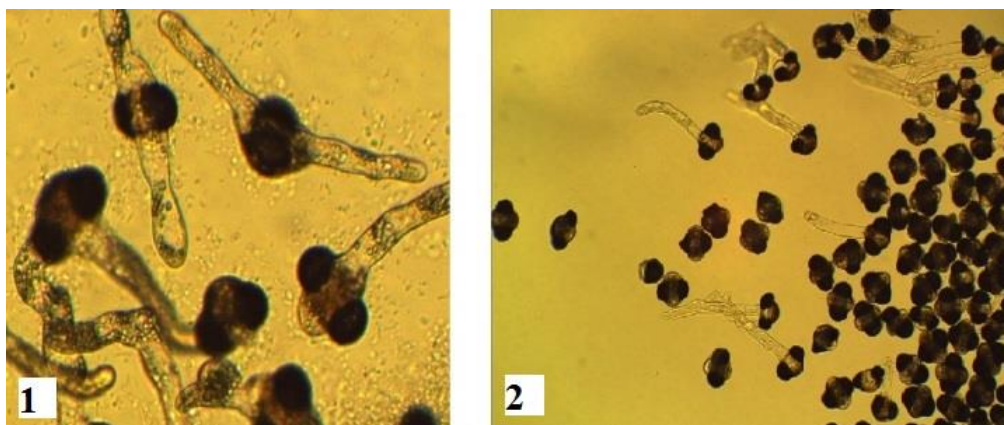


Рис. 4. Пыльца сосны обыкновенной: 1 - с двумя пыльцевыми трубками; 2 - с нормально развитыми трубками (контроль)

Общая частота аномалий пыльцевых трубок варьировала в пределах от $27,4 \pm 0,98$ до $60,9 \pm 1,02\%$, в то время как в контроле данный показатель оказался равным $23,0 \pm 0,67\%$. Среднее значение пыльцевых трубок с нарушенным морфотипом составило 43,5%. Максимальная частота нарушений выявлена в пробе с площадки № 4 по адресу шоссе Ленточный бор, 142 (60,9%), а минимальная – с площадки № 7 (пер. Ягодный, 5). Следует напомнить, что проба № 7 обнаружила жизнеспособность пыльцы на уровне контроля (рис. 1). Процент аномальных трубок в материале, отобранном в районе Змеиногогорского тракта, в среднем превысил контрольное значение примерно в 2,5 раза (рис. 5).

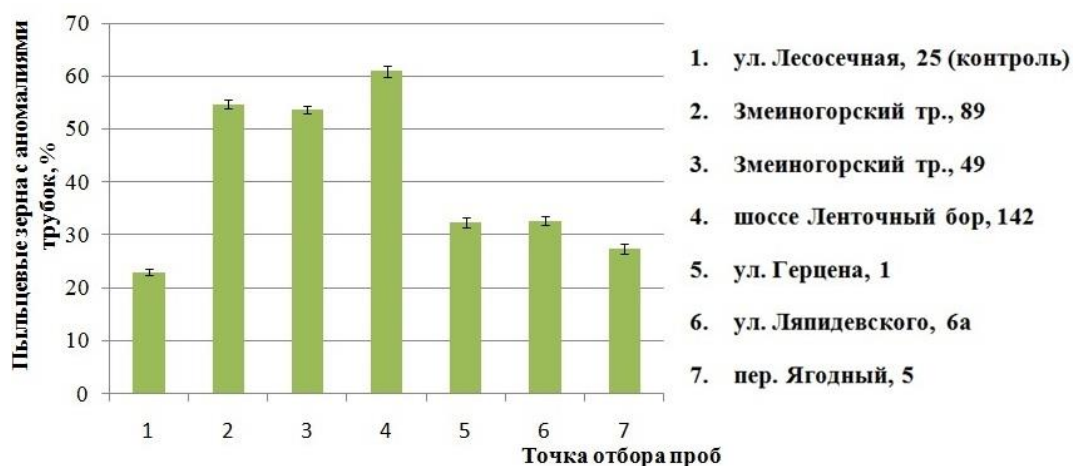


Рис. 5. Количество проросшей пыльцы сосны обыкновенной с аномальными пыльцевыми трубками, %

Оценка корреляционных связей между уровнем жизнеспособности пыльцы на различных территориях города и уровнем аномальных трубок при ее прорастании показала существенную отрицательную взаимосвязь ($r = -0,817$), что позволяет предположить некоторые общие факторы, индуцирующие указанные нарушения.

Гистохимическая реакция пыльцы сосны обыкновенной на наличие активной пероксидазы позволила выявить долю клеток, содержащих данный фермент, что, по мнению ряда авторов, является необходимым условием их прорастания и формирования нормальных пыльцевых трубок (Stanley, Linskens, 1974; Parui *et al.*, 1998). Установлено, что в среднем 49,5% исследованной зрелой пыльцы не окрашивалась в присутствии бензидина, а, следовательно, не содержала активную пероксидазу. На контрольной территории (№ 1) условия формирования пыльцы оказались более благоприятными – доля клеток, содержащих активный фермент, составила $70,5 \pm 4,23\%$ (рис. 6). Как и при оценке жизнеспособности мужского гаметофита по

уровню прорастания пыльцы, данный метод выявил существенное варьирование признака в пробах, отобранных с различных локаций. На участках, расположенных вблизи или вдоль Змеиногогорского тракта (№ 2, 3, 4), показатель составил лишь 58,1% к контролю, в то время как на остальных территориях – 87,9%.



Рис. 6. Количество пыльцевых зерен сосны обыкновенной, содержащих активную пероксидазу, %

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сравнительный анализ различных подходов к оценке жизнеспособности пыльцы свидетельствует, что доля не проросших пыльцевых зерен существенно превысила частоту клеток, не содержащих активную пероксидазу (Рис. 1, 6). Так, например, в контроле разница составила 2,2 раза, а в точке № 2 – 1,3 раза. В литературе имеются сведения, указывающие на несколько завышенные результаты оценки жизнеспособной пыльцы по гистохимическим реакциям, что подтвердилось настоящим исследованием. Однако корреляционный анализ выявил практически прямую положительную зависимость между двумя показателями. Коэффициент корреляции составил + 0,98.

Следует отметить, что данные, полученные в нашем эксперименте, не согласуются с выше представленным мнением о том, что потеря пыльцой способности прорасти обусловлена не полным отсутствием активной пероксидазы, а лишь ее некоторых изозимных форм. Иными словами, положительная гистохимическая реакция на общую активность пероксидазы не является индикатором ее жизнеспособности. На отсутствие корреляции между показателями активности пероксидазы пыльцы и ее способности прорасти указано в работе Heslop-Harrison *et al.* (1984). Возможно, указанные

противоречия объясняются видовыми особенностями объектов исследования. Подтверждением данного вывода является сводка видов растений, представленная Stanley, Linskens (1974), где приведены объекты, для которых метод окрашивания является вполне корректным. В данном списке на ряду с другими растениями указаны и хвойные. Изучение физиологии пыльцы и роста пыльцевых трубок сосны *Pinus roxburghii* также подтвердило повышение пероксидазной активности ее зрелой пыльцы (Mehan, Malik, 1976). Электорофоретический анализ изозимов пероксидазы незрелой и созревшей пыльцы 6 видов тропических растений показал тенденцию увеличения концентрации ферментов в процессе созревания пыльцы, а также появление новых изоформ. Однако у *Saccharum spontaneum* спектр изозимов не менялся, что свидетельствует о генотипических особенностях физиологических процессов, протекающих при созревании пыльцевых зерен (Parui *et al.*, 1998). Интересно отметить, что нами также установлена высокая отрицательная корреляция между долей окрашенной пыльцы и частотой аномалий пыльцевых трубок ($r = -0,86$), что подтверждает роль активной пероксидазы не только в индукции прорастания, но и формировании трубок.

Реакция отдельных видов растений на экологический стресс генетически детерминирована и отражает их адаптивные возможности и устойчивость к неблагоприятным воздействиям природных и техногенных факторов. Многочисленными исследованиями продемонстрировано, что стрессовые условия окружающей среды, несомненно, влияют на репродуктивные способности сосны обыкновенной, ведущая роль среди которых принадлежит погодно-климатическим условиям (Третьякова, Носкова, 2004; Ерещенко, Хлебова, 2012).

Описанный выше довольно низкий уровень формирования жизнеспособной пыльцы сосны обыкновенной, в том числе и на условно «чистой» территории (34,8%), объясняется в первую очередь, вероятнее всего, особенностями протекания мейоза и микрогаметогенеза в конкретных природно-климатических и метеорологических условиях. Известно, что в Сибири у сосны обыкновенной процесс формирования микроспорофилла заканчивается во второй половине лета, а процессы микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен протекают весной следующего года: при повышении среднесуточных температур клетки археспория дифференцируются, в микроспороцитах индуцируются мейотические деления, формируются пыльцевые оболочки, микроспоры претерпевают три проталлиальных деления. В результате, зрелая пыльца, представляющая собой мужской гаметофит, содержит генеративную и вегетативную клетку. Вегетативная клетка дает начало пыльцевой трубке, а генеративная – участвует в оплодотворении. Пыление обычно происходит в начале – середине июня при сумме эффективных температур 224-253 град.-дней (Носкова, Третьякова, 2011).

Исследования, выполненные в окрестностях г. Красноярска в течение 1999-2009 гг. показали, что погоднo-климатические особенности оказывают значительное влияние на биологию сосны обыкновенной. У представителей этого вида отмечено смещение сроков прохождения микроспорогенеза на осень предшествующего пылению года (а не весной года пыления) с последующим завершением его весной, что негативно повлияло на прохождение генеративного процесса: большая часть пыльцевых зерен не завершала гаметогенеза и оставалась в одноклеточном состоянии. Одноклеточная пыльца не формировала пыльцевые трубки, что в дальнейшем при опылении макростробилов пыльцой низкого качества приводило к снижению урожая шишек и семян (Носкова, Третьякова, 2011).

Учитывая погодные условия, складывающиеся в нашем регионе, нельзя исключить «осеннего запуска» мейоза, что обусловило многочисленные нарушения в ходе процессов формирования мужского гаметофита, в результате чего пыльца характеризуется большим числом аномалий и низкими показателями жизнеспособности.

Пыление сосны весной 2014 г. в Барнауле пришлось на период, начиная с середины мая. Повышенная температура конца апреля и начала мая (среднесуточная температура I декады мая – 13,4 °C) в сочетании с умеренной влажностью соответствовала пороговому значению запуска процесса редукционного деления (в пределах 10–12 °C). Эквационное деление проходило, вероятно, с задержкой, поскольку во второй декаде мая наблюдалось снижение среднесуточной температуры до 9,3 °C, что почти на 3 °C было ниже средне многолетнего значения (рис. 7). Это могло привести в ходе дальнейшего развития к деградации части мейоцитов и формированию из оставшихся большого количества аномальных пыльцевых зерен, не способных прорасти.

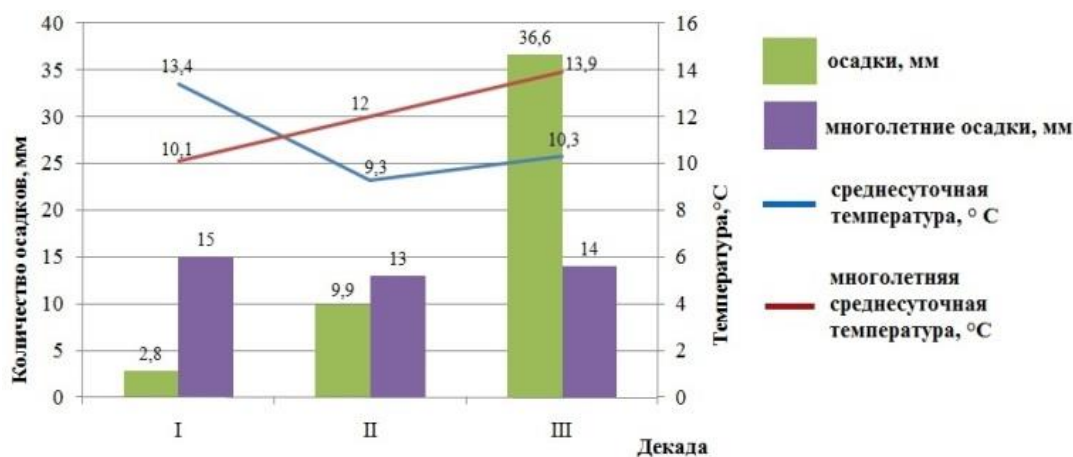


Рис. 7. Гидротермический режим в г. Барнауле в мае 2014 г.

Кроме того, повышенная влажность в третьей декаде, когда количество осадков в 2,6 раза превысило средне многолетнюю норму, также могла отрицательно сказаться на формировании жизнеспособной пыльцы. Так, согласно исследованиям И.Н. Третьяковой и Н.Е. Носковой (2004), обильное выпадение осадков в период, предшествующий пылению или в период пыления сосны обыкновенной, приводит к полной блокаде процесса прорастания пыльцы. Авторы связывают данный феномен с тем, что влажная пыльца получает наиболее сильное воздействие со стороны воздушных поллютантов.

Таким образом, наряду с природно-климатическими факторами, различные загрязнители атмосферы также оказывают заметное влияние на генеративные органы сосны (Третьякова, Носкова, 2004; Gottardini *et al.*, 2008; Rezanejad, 2009; Cuinica, 2014 и др.). Сравнительный анализ проб пыльцы, собранной с различных площадок г. Барнаула, свидетельствует о существенных различиях показателя ее жизнеспособности (рис. 1), что указывает, в том числе, и на техногенную природу нарушений. Минимальные результаты получены в образцах, отобранных вдоль Змеиногорского тракта – одной из наиболее загруженных автомагистралей города. Как указывалось выше, согласно ежегодно публикуемым официальным данным, касающимся состояния окружающей среды в г. Барнауле, одним из основных источников загрязнения атмосферного воздуха является автотранспорт (Государственный доклад «О состоянии ...», 2015). Вероятно, этот факт и привел к более сильному влиянию экологического стресса на процесс формирования пыльцы у деревьев, произрастающих в этом районе.

Кроме того, на наш взгляд, при рассмотрении картины загрязнения атмосферного воздуха Барнаула представляет интерес обсудить не только объем выброса загрязняющих веществ, но и метеорологические условия их накопления и рассеивания. В связи с этим, особую значимость приобретает такой показатель как климатический потенциал самоочищения атмосферы (КПСА), учитывающий гидротермические условия и ветровую ситуацию в конкретном регионе. По данным Шутовой и др. (2015) территория Барнаула относится к зоне низкого либо слабого потенциала самоочищения атмосферы как в теплый (апрель – сентябрь), так и холодный (октябрь – март) периоды года. Однако в холодный период КПСА периодически снижается до уровня минимальной возможности климата для самоочищения атмосферы (менее 0,1). Это объясняется тем, что в зимний период в Сибири условия рассеивания (накопления) примесей в приземном слое атмосферы определяются Азиатским антициклоном, формирующим холодную, тихую, малооблачную и малоснежную зимнюю погоду, когда создаются метеоусловия, неблагоприятные для рассеивания вредных примесей.



В свете выше сказанного, возможный запуск микроспорогенеза сосны обыкновенной на 6 месяцев раньше, чем обычно, а именно осенью предшествующего пылению года, совпадает с началом периода максимальной концентрации загрязняющих веществ в приземном слое атмосферы, что могло привести к более выраженному негативному воздействию на генеративную сферу. Это, в свою очередь, выразилось в ухудшении качества формирующейся пыльцы.

ВЫВОДЫ

Таким образом, стрессовые условия окружающей среды оказывают влияние на развитие мужского гаметофита сосны обыкновенной. Жизнеспособность пыльцы тесно связана с природно-климатическими и погодными особенностями в период ее формирования. На качество пыльцы существенное воздействие оказывает атмосферное загрязнение. В условиях урбоэкосистемы снижается способность пыльцевых зерен к прорастанию, увеличивается число аномальных пыльцевых трубок, уменьшается частота клеток, содержащих активные пероксидазы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бажина Е.В. Жизнеспособность пыльцы и изменчивость признаков побегов *Abies sibirika*, пораженных ржавчинным раком / Е.В. Бажина // Ботанический журнал. – 2005. – Т. 90. – № 5. – С. 696-702.
2. Барабин А.И. Генетика / А.И. Барабин // Архангельск: Северный (Арктический) федеральный университет, 2010. – 116 с.
3. Владимирова О.С. Пыльца ели сибирской, произрастающей в различных экологических условиях / О.С. Владимирова, Е.Н. Муратова, М.И. Седаева // Хвойные бореальной зоны. – 2008. – Т. 25. – № 1-2. – С. 98-103.
4. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды в Алтайском крае в 2014 году». Барнаул, 2015. – 150 с.
5. Ерещенко О.В. Влияние погодных условий на изменчивость признаков пыльцы березы повислой (*Betula pendula* Roth.) / О.В. Ерещенко, Л.П. Хлебова // Известия АГУ. – 2012. – № 3-2. – С. 17-20.
6. Ерещенко О.В. Изменение морфометрических параметров пластинки березы повислой *Betula pendula* Roth. в условиях Барнаула / О.В. Ерещенко, Л.П. Хлебова // Известия АГУ. – 2013. – № 3-2 (79). – С. 26-30.
7. Ерещенко О.В. Фитоиндикационная оценка современного экологического состояния городских экосистем / О.В. Ерещенко, Л.П. Хлебова, Г.Г. Соколова // Ломоносовские чтения на Алтае: сб. науч. статей междунар. молодеж. школы-семинар, Барнаул, 5-8 ноября, 2013 г.: в 6 частях / Под редакцией Е.Д. Родионова. - Барнаул, 2013. – С. 257-261.

8. Левченко В.А. Оценка состояния пыльцы древесных растений в урботехногенных экосистемах города Кривой Рог / В.А. Левченко, И.А. Силич // Индикация состояния окружающей среды: теория, практика, образование: сб. тр. междунар. науч.-практ. конф. 17-19 апреля 2014 г. - М.: Буки-Веди, 2014. – С. 124-126.
9. Лях В.А. Влияние тяжелых металлов на жизнеспособность пыльцы некоторых древесных / В.А. Лях, Т.Н. Пересыпкина, Е.В. Дубовая // Научный вестник СумДУ. Серия: Технические науки. – 2004. – № 2 (61). – С. 177.
10. Носкова Н.Е. Репродукция сосны обыкновенной в условиях глобального изменения климата и стратегические пути сохранения вида / Н.Е. Носкова, И.Н. Третьякова // Хвойные бореальной зоны. – 2011. – Т. XXVIII. – № 1-2. – С. 41-46.
11. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. – М.: Агропромиздат, 1988. – 217 с.
12. Пронина Р.Д. Фертильность и жизнеспособность пыльцы сосны обыкновенной в условиях городской среды / Р.Д. Пронина // Сборник научных статей международной конференции «Ломоносовские чтения на Алтае: фундаментальные проблемы науки и образования», Барнаул, 20-24 октября 2015. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2015. – С. 1424-1428.
13. Соколова Г.Г. Биоиндикация загрязнения воздуха в Барнауле / Г.Г. Соколова, А.Ю. Тиньгаева // Известия АГУ. – 2008. – № 3. – С. 19-21.
14. Соколова Г.Г. Оценка стабильности развития листовых органов березы бородавчатой в условиях города Бийска / Г.Г. Соколова, Е.П. Клоус // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2014. – № 13. – С. 214-218.
15. Третьякова И.Н. Пыльца сосны обыкновенной в условиях экологического стресса / И.Н. Третьякова, Н.Е. Носкова // Экология. – 2004. – № 1. – С. 26-33.
16. Хлебова Л.П. Изменчивость признаков пыльцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях Барнаула / Л.П. Хлебова, О.В. Ерещенко // Известия АГУ. – 2013. – Т. 1. – № 3 (79). – С. 103-107.
17. Хлебова Л.П. Качество пыльцы березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в условиях Барнаула / Л.П. Хлебова, О.В. Ерещенко // Известия АГУ. – 2012. – № 3-1. – С. 89-92.
18. Шутова К.О. Климатический потенциал самоочищения атмосферы от загрязнения / К.О. Шутова, Н.Б. Максимова, С.С. Семикина // География и природопользование Сибири: сборник статей / под ред. проф. Г.Я. Барышникова. Барнаул, 2015. – Вып. 19. – С. 196-205.
19. Chehregani A.H. Effect of air pollution on some cytogenetic characteristics, structure, viability and proteins of *Zinnia elegans* pollen grains / A.H. Chehregani, A. Majde, M. Moin, M. M. Golami, M. Shariatzadeh, F. Mohsenzae // Pakistan Journal of Biological Sciences. – 2004. – V. 7(1). – P. 118-122. doi:10.3923/pjbs.2004.118.122



20. Cuinica L.G. Effect of air pollutant NO₂ on *Betula pendula*, *Ostrya carpinifolia* and *Carpinus betulus* pollen fertility and human allergenicity / L.G. Cuinica, I. Abreu, J. Esteves da Silva // Environmental Pollution. – 2014. – V. 186. – P. 50-55.
21. Dafni A. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implication / A. Dafni, D. Firmage // Pollen and pollination / Eds. A. Dafni, M. Hesse, E. Pacini. – Springer-Verlag Wien GmbH, 2000. – P. 113-132.
22. Gottardini E. Ambient levels of nitrogen dioxide (NO₂) may reduce pollen viability in Austrian pine (*Pinus nigra* Arnold) trees – Correlative evidence from a field study / E. Gottardini, A. Cristofori, F. Cristofolini, S. Maccherini, M. Ferretti // Science of The Total Environment. – 2008. – V. 402. – №. 2-3. – P. 299-305.
23. Heslop-Harrison J.S. The evaluation of pollen quality and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure / J.S. Heslop-Harrison, Y. Heslop-Harrison, K.R. Shivanna // Theor. Appl. Gen. – 1984. – V. 67. – P. 367-375.
24. Mehan M. Studies on the physiology of pollen and pollen tube growth. I. *Pinus roxburghii* / M. Mehan, C.P. Malik. // Acta. Histochem. – 1976. – V. 56. – P. 80-85.
25. Parui S. Peroxidase isozyme profiles of immature and mature pollen of seven tropical plants from eastern India / S. Parui, A.K. Mondal, S. Mandal // Grana. – 1998. – V. 37. – № 4. – P. 228-232. doi: 10.1080/00173139809362671
26. Rezanejad F. Air pollution effects on structure, proteins and flavonoids in pollen grains of *Thuja orientalis* L. (*Cupressaceae*) / F. Rezanejad // Grana. – 2009. – V. 48(3). – P. 205-213. doi:10.1080/00173130902949417
27. Sénéchal H. A review of the effects of major atmospheric pollutants on pollen grains, pollen content, and allergenicity / H. Sénéchal, N. Visez, D. Charpin // The Scientific World Journal. – 2015. – V. 2015. – 29 p. doi: 10.1155/2015/940243
28. Stanley R.G. Pollen Biology Biochemistry Management / R.G. Stanley, H.F. Linskens. – Springer-Verlag: Berlin - Heidelberg - New York, 1974. – P. 8184.

REFERENCES

- Barabin, A.I. (2010). Genetika. Arhangel'sk: Severnyi (Arkticheskii) federal'nyi universitet.
- Bazhina, E.V. (2005). Zhiznesposobnost' pyl'cy i izmenchivost' priznakov pobegov *Abiessibirika*, porazhennykh rzhavchinnym rakom. Botanicheskii zhurnal. 90 (5), 696-702.



Chehregani, A.H., Majde, A., Moin, M., Golami, M. M., Shariatzadeh, M.,

Mohsenzae, F. (2004). Effect of air pollution on some cytogenetic characteristics, structure, viability and proteins of *Zinnia elegans* pollen grains.

Pakistan Journal of Biological Sciences. 7(1), 118-122.

doi:10.3923/pjbs.2004.118.122

Cuinica, L.G., Abreu, I., Esteves da Silva, J. (2014). Effect of air pollutant NO₂ on

Betula pendula, *Ostrya carpinifolia* and *Carpinus betulus* pollen fertility and human allergenicity. Environmental Pollution. 186, 50-55.

Dafni, A., Firmage, D. (2000). Pollen viability and longevity: practical, ecological

and evolutionary implication. In Pollen and pollination. A. Dafni, M. Hesse, E. Pacini (Eds.). Springer-Verlag Wien GmbH.

Ereshenko, O.V., Hlebova, L.P. (2012). Vliyanie pogodnyh uslovii na izmenchivost'

priznakov pyl'cy berezy povisloi (*Betula pendula* Roth.). Izvestiya AGU. 3-2, 17-20 (in Russian).

Ereshenko, O.V., Hlebova, L.P. (2013). Izmenenie morfometricheskikh parametrov

plastinki berezy povisloi *Betula pendula* Roth. v usloviyah Barnaula. Izvestiya AGU. 3-2 (79), 26-30 (in Russian).

Ereshenko, O.V., Hlebova, L.P., Sokolova, G.G. (2013). Fitoindikatsionnaya ocenka

sovremennogo ekologicheskogo sostoyaniya gorodskih ekosistem. Lomonosovskie chteniya na Altae: sb. nauch. statei mezhdunar. molodezh. shkoly-seminar. Barnaul (in Russian).

Gosudarstvennyi doklad «O sostoyanii i ob ohrane okruzhayushei sredy v

Altaiskom krae v 2014 godu». (2015). Barnaul (in Russian).



Gottardini, E., Cristofori, A., Cristofolini, F., Maccherini, S., Ferretti M. (2008).

Ambient levels of nitrogen dioxide (NO₂) may reduce pollen viability in Austrian pine (*Pinus nigra* Arnold) trees – Correlative evidence from a field study. Science of The Total Environment. 402, 2-3, 299-305.

Heslop-Harrison, J.S., Heslop-Harrison, Y., Shivanna, K.R. (1984). The evaluation of pollen quality and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure. Theor. Appl. Gen. 67, 367-375.

Hlebova, L.P., Ereshenko, O.V. (2012). Kachestvo pyl'cy berezy povisloi (*Betula pendula* Roth.) v usloviyah Barnaula. Izvestiya AGU. 3-1, 89-92 (in Russian).

Hlebova, L.P., Ereshenko, O.V. (2013). Izmenchivost' priznakov pyl'cy sosny obyknovnoy (*Pinus sylvestris* L.) v usloviyah Barnaula. Izvestiya AGU. 1, 3 (79), 103-107 (in Russian).

Levchenko, V.A., Silich, I.A. (2014). Ocenka sostoyaniya pyl'cy drevesnykh rastenii v urbotekhnogennykh ekosistemah goroda Krivoi Rog. Proceed. Int. Conf. Indikatsiya sostoyaniya okruzhayushei sredy: teoriya, praktika, obrazovanie. Moscow. Buki-Vedi (in Russian).

Lyah, V.A., Peresyapkina, T.N., Dubovaya, E.V. (2004). Vliyanie tyazhelykh metallov na zhiznesposobnost' pyl'cy nekotorykh drevesnykh. Nauchnyi vestnik SumDU. Seriya: Tehnicheskie nauki. 2 (61), 177 (in Russian).

Mehan, M., Malik, C.P. (1976). Studies on the physiology of pollen and pollen tube growth. I. *Pinus roxburghii*. Acta Histochem. 56, 80-85.



- Noskova, N.E., Tret'yakova, I.N. (2011). Reprodukciya sosny obyknovennoi v usloviyah global'nogo izmeneniya klimata i strategicheskie puti sohraneniya vida. Hvoinye boreal'noi zony. XXVIII, 1-2, 41-46 (in Russian).
- Parui, S., Mondal, A.K., Mandal, S. (1998). Peroxidase isozyme profiles of immature and mature pollen of seven tropical plants from eastern India. Grana. 37 (4), 228-232. doi: 10.1080/00173139809362671
- Pausheva, Z.P. (1988). Praktikum po citologii rastenii. Moscow. Agropromizdat (in Russian).
- Pronina, R.D. (2015). Fertil'nost' i zhiznesposobnost' pyl'cy sosny obyknovennoi v usloviyah gorodskoi sredy. Sbornik nauchnykh statei mezhdunarodnoi konferencii «Lomonosovskie chteniya na Altae: fundamental'nye problemy nauki i obrazovaniya». Barnaul. Altai state university (in Russian).
- Rezanejad, F. (2009). Air pollution effects on structure, proteins and flavonoids in pollen grains of *Thuja orientalis* L. (*Cupressaceae*). Grana. 48(3), 205-213. doi:10.1080/00173130902949417
- Sénéchal, H., Visez, N., Charpin, D. et al. (2015). A review of the effects of major atmospheric pollutants on pollen grains, pollen content, and allergenicity. The Scientific World Journal. 29. doi.org/10.1155/2015/940243
- Shutova, K.O., Maksimova, N.B., Semikina, S.S. (2015). Klimaticheskii potencial samoochisheniya atmosfery ot zagryazneniya. Geografiya i prirodopol'zovanie Sibiri: sbornik statei. 19, 196-205 (in Russian).



- Sokolova, G.G., Klous, E.P. (2014). Ocenka stabil'nosti razvitiya listovyh organov berezy borodavchatoi v usloviyah goroda Biiska. Problemy botaniki Yuzhnoi Sibiri i Mongolii. 13, 214-218 (in Russian).
- Sokolova, G.G., Tin'gaeva, A.Yu. (2008). Bioindikaciya zagryazneniya vozduha v Barnaule. Izvestiya AGU. 3, 19-21 (in Russian).
- Stanley, R.G., Linskens, H.F. (1974). Pollen Biology Biochemistry Management. Springer-Verlag: Berlin - Heidelberg - New York. 81-84.
- Tret'yakova, I.N., Noskova, N.E. (2004). Pyl'ca sosny obyknovennoi v usloviyah ekologicheskogo stressa. Ekologiya. 1, 26-33 (in Russian).
- Vladimirova, O.S., Muratova, E.N., Sedaeva, M.I. (2008). Pyl'ca eli sibirskoi, proizrastayushei v razlichnyh ekologicheskikh usloviyah. Hvoinye boreal'noi zony. 25, 1-2, 98-103 (in Russian).

Поступила в редакцию 19.02.2016

Как цитировать:

Хлебова, Л.П., Бычкова О.В. (2016). Особенности развития мужского гаметофита сосны обыкновенной *Pinus silvestris* L. в условиях городской среды. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*. 6 (1), 390-408. **crossref** <http://dx.doi.org/10.15421/201623>

© Хлебова, Бычкова, 2016

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 3.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/)