

**ИЗУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ
STUDYING AND UTILIZATION
OF PLANT GENETIC RESOURCES**

УДК 632.15:502.175 DOI:10.30901/2227-8834-2015-2-163-176

**АНТРОПОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВЫ МЕДЬЮ И
ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАЗЛИЧНЫХ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ**

С. Г. Великсар¹, С. С. Лисник¹, Д. Н. Братко², С. И. Тома¹

¹Институт генетики, физиологии и защиты растений,

Республика Молдова, Кишинев, Молдова, e-mail: dechevas@rambler.ru

²Научно-практический институт садоводства, виноградарства и пищевых технологий,

Республика Молдова, Кишинев, e-mail: bratco@gmail.com

Реферат

Актуальность. Следствием многократного применения различных пестицидов для борьбы с болезнями и вредителями на многолетних насаждениях (сады и виноградники) является аккумуляция избыточных концентраций меди (Cu) и других тяжелых металлов в почве и в органах растений. В золе всех органов старых виноградных кустов и в почве обнаружена избыточная аккумуляция Cu, намного превышающая допустимые концентрации элемента в тканях растений. Почвы с такой высокой концентрацией меди после раскорчевки многолетних насаждений не могут быть использованы для выращивания других культур без предварительной подготовки. **Материалы и методы.** В условиях водной и почвенной культуры проведено изучение некоторых морфофизиологических параметров ряда растений в видовом и сортовом аспекте, необходимых для уточнения особенностей механизмов адаптации растений при высоких концентрациях Cu и разработки способов ее фитоэкстракции. **Основные результаты.** Избыток Cu в питательной среде повышает его содержание в органах растений, препятствует транспорту Fe, Mn и Zn в надземные органы, ингибирует рост и развитие растений. Основная часть поступившей в растения меди аккумулируется в корнях. Токсичность Cu значительно более выражена в условиях водной культуры, чем почвенной, что можно объяснить высокими буферными свойствами почвы, значительным накоплением металла в корнях и слабым транспортом его в надземную часть растений. Избыток Cu приводит к изменениям в метаболизме растений: снижению количества фотосинтетических пигментов в листьях, повышению пероксидазной активности, количества пролина, появлению дисбаланса микроэлементов, следствием чего является снижение продуктивности растений.

Выводы. Выявлена относительная толерантность календулы, сои и рапса к избытку Cu в среде; выделены два сорта сои, более толерантных к избытку Cu – ‘Доринца’ и ‘Хорбоянка’, которые можно выращивать на почвах с повышенным содержанием меди (после раскорчевки многолетних насаждений).

Ключевые слова: антропогенное загрязнение, избыток меди, микроэлементы, фитоэкстракция.

ANTHROPOGENIC POLLUTION OF SOIL WITH COPPER AND THE PHYTOREMEDIATION POTENTIAL OF DIFFERENT AGRICULTURAL CROPS

S. G. Velksar¹, S. S. Lisnik¹, D. N. Bratco², S. I. Toma¹

¹Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection,
Kishinev, Moldova, e-mail: dechevas@rambler.ru

²Institute of Horticulture, Kishinev, Moldova, e-mail: bratco@gmail.com

Abstract

Background. The consequence of repeated application of different pesticides to control pests and diseases on perennial plantations (orchards and vineyards) is the accumulation of excessive concentrations of copper (Cu) and other heavy metals in the soil and plant organs. Soils with a high concentration of Cu after stubbing of perennial plants cannot be used for growing of other crops without pretreatment. **Objective.** to study some morphological and physiological parameters of a number of plants from various species and varieties, needed to clarify the features of adaptation mechanisms of plants at high concentrations of Cu and procedure of Cu phytoextraction development. **Materials and methods.** The experiments were carried out under conditions of water and soil culture. Calendula, canola, clover, sainfoin and 6 cultivars of soybean were studied. Increasing doses of Cu were added to the culture medium. **Results.** Excess of Cu in the medium increases its content in plant organs, inhibits transport of Fe, Mn and Zn to the surface organs, and growth and development of plants. The main part of the Cu was accumulated in the roots. Toxicity of Cu is much more pronounced in the aquatic culture than in the soil. It can be attributed to the high buffering capacity of the soil, a significant accumulation of the metal in the roots and its weak transport to the aerial parts of the plants. Excess of Cu leads to decrease of the quantity of photosynthetic pigments in leaves, increase of peroxidase activity and the quantity of proline, occurrence of an imbalance of trace elements, resulting in a decrease in plant productivity. **Conclusion.** It was revealed that there is relative tolerance of calendula, soybean and canola to an excess of Cu in the medium; two soybean cultivars, more tolerant to Cu excess were identified.

Key words: anthropogenic pollution, Cu surplus, trace elements, phytoextraction.

Введение

Одной из причин аккумуляции избыточных концентраций меди (Cu) и других тяжелых металлов в почве и в органах растений является многократное применение медьсодержащих соединений для борьбы с мучнистой росой на многолетних насаждениях (сады и виноградники). Результаты анализа проб почвы, отобранных при экспедиционных обследованиях в Центральной зоне Молдовы, показали, что накопление подвижной Cu в почве возрастает по мере увеличения возраста насаждений (Veliksar et al., 2005; 2009). При этом Cu интенсивно накапливается не только в поверхностном слое почвы (20,2–89,5 мг/кг почвы), но и в горизонте 15–30 см (16,1–81,4 мг/кг почвы). Такие концентрации для многих видов растений токсичны. Кроме того, почвы с такой высокой концентрацией меди после раскорчевки многолетних насаждений не могут быть использованы для выращивания других культур без предварительной подготовки. В золе всех органов старых виноградных кустов обнаружена избыточная аккумуляция Cu, намного превышающая допустимые концентрации элемента в тканях растений (70–900 мг/кг сухой массы), что отрицательно сказывается на качестве продукции (винограда, соков, вина). Известно, что аккумуляция тяжелых металлов в растениях провоцирует избыточное генерирование активных кислородных радикалов, ведущих к деструкции клеточной структуры (Stohs, Bagehi, 1995). В ответ на действие тяжелых металлов в растении включаются различные механизмы адаптации, которые все еще недостаточно изучены (Grots, Guerinot, 2006).

Медь (Cu), как и некоторые другие микроэлементы, имеет очень узкий интервал действия и при незначительном превышении оптимального содержания в среде обитания становится токсичной для растений. Токсичность меди по ее действию на рост корней превышает токсичность других тяжелых металлов, она может быть представлена следующим рядом: Cu > Cd > Ni > Pb > Al > Zn (Taran et al., 2004). Она обусловлена ингибированием транспорта электронов, фотосинтеза, синтеза РНК, усилением окислительных процессов, связыванием протеинов, снижением содержания сахаров в органах растений (Farago, Mullen, 1979; Fang, Kao, 2000; Fathi et al, 2005).

В данной работе приведены результаты изучения некоторых морфофизиологических параметров растений в видовом и сортовом

аспекте, необходимых для уточнения особенностей механизмов адаптации растений в условиях возрастающих высоких концентраций Си и разработки способов ее фитоэкстракции.

Материал и методы.

Опыты в водной культуре. Семена календулы (сорт ‘Диана’), рапса (сорт ‘Антей’), клевера (сорт ‘Полис’), эспарцета (сорт ‘Южно-Украинский’) и шести сортов сои (‘Аура’, ‘Колина’, ‘Ингра’, ‘Зодиак’, ‘Доринца’, ‘Хорбовянка’) перед посевом стерилизовали 10% раствором перекиси водорода в течение 10 минут, многократно промывали дистиллированной водой и прорашивали в чашках Петри на фильтрованной бумаге, смоченной дистиллированной водой. Однаковые по форме и размеру проростки пересаживали в полиэтиленовые сосуды объемом 500 мл раствора. На фоне полной питательной смеси Хогланда-Арнона по макро- и микроэлементам (контроль) вносили возрастающие дозы меди: 50; 100; 200; 300 и 400 мкМ. В каждом сосуде выращивали по шесть проростков. Питательный раствор менялся каждые 8–10 дней.

Опыты в почвенной культуре. Семена двух местных сортов сои ‘Доринца’ и ‘Хорбовянка’, отобранных по результатам скрининга шести сортов сои в водной культуре как более устойчивые к избытку меди в питательном растворе, высевали в пластиковые сосуды, вмещающие 6 кг почвы. Почва – чернозем карбонатный слабосуглинистый. При закладке опыта в почву вносили фоновое удобрение (нитроаммофоска с содержанием NPK по 16% – из расчета 0,1 г д. в. каждого из элементов на 1 кг воздушно сухой почвы). Медь в виде CuSO_4 вносили по 300 (повышенная доза) и 900 (токсичная доза) мг/кг почвы. Контроль – почва без Си. Влажность почвы поддерживали на уровне 70% от полной влагоемкости. Растения выращивали до плодоношения.

Анализ растений. Тolerантность и устойчивость растений к повышению концентрации Си в среде определяли по *биометрическим показателям* (всхожесть семян, длина корня и высота проростков), накоплению биомассы, некоторым физиологическим показателям. *Фотосинтетические пигменты* из высечек листьев экстрагировали 80% ацетоном и определяли их количество на спектрофотометре SP-8001. *Активность пероксидазы* в листьях растений (ПОД) определяли по методу Бояркина (Boyarkin, 1987). Навеску листьев массой 300–500 мг растирали в фарфоровой ступке с ацетатным буфером с pH 5,4 и переносили в мерную колбу на 50 мл. После 10 мин отстаивания вытяжку

центрифугировали при 4000 об/мин или фильтровали. Для измерения активности в инкубационную смесь вносили: 0,5 мл ферментного экстракта, 0,5 мл ацетатного буфера pH 5,4, 0,5 мл бензидина и 0,5 мл 0,1% перекиси водорода. В контрольную кювету вместо перекиси водорода вносили эквивалентное количество дистиллированной воды. Измерение активности проводили при 590 нм после внесения перекиси водорода через 20, 40 и 60 сек на SPEKOL-11. В условиях почвенной культуры активность ПОД определяли в фазах ветвления, бутонизации, начала цветения, налива зерна и созревания семян сои в конце вегетации. Содержание *свободного пролина* в листьях определяли по Bates et al. (1973). К навеске листьев (200 мг) в пробирках добавляли 10 мл кипящей дистиллированной воды и на 10 мин. помещали в кипящую водяную баню; после фильтрации к 2 мл полученного экстракта добавляли 2 мл ледяной уксусной кислоты и 2 мл нингидринового реактива; смесь инкубировали 1 час на кипящей водяной бане и затем быстро охлаждали; интенсивность окраски определяли на спектрофотометре SP-8001. Содержание пролина определяли по калибровочной кривой, которую строили с использованием пролина фирмы «Serva». Для определения содержания *микроэлементов* Cu, Fe, Mn, Zn в органах растений воздушно-сухую навеску сжигали в муфельной печи при 450°C, золу заливали 3 мл смеси HNO₃ и HCl на 12 часов, потом приливали 20 мл 6N HCl и выпаривали 1 час на песчаной бане; после остывания растворы количественно переносили в колбочки на 50 мл; количество микроэлементов определяли в растворах на атомно-абсорбционном спектрофотометре Perkin Elmer 2280.

Результаты и обсуждение

Влияние Cu на рост и развитие растений. Учеты, проведенные после прорастания семян в чашках Петри, показали, что возрастающие дозы меди не оказали существенного влияния на прорастание семян, календулы, рапса, клевера, эспарцета и шести сортов сои. Разница проявляется на следующей фазе развития – развитие корней и появление листьев. У шестидневных проростков всех культур снижение роста корешков наблюдается уже при 50 мкМ концентрации меди, а при концентрации Cu в растворе 200 мкМ и выше рост корней снижается резко. Наиболее чувствительными оказались корни эспарцета и рапса. Отмечена неодинаковая реакция семян и проростков различных сортов сои на повышение количества Cu в среде. Проростки сорта ‘Зодиак’

оказались более чувствительными к высокой дозе Cu по сравнению с сортами 'Ингра', 'Доринца', 'Аура', 'Хорбовянка'.

В условиях водной культуры четко проявилась разница в накоплении биомассы растениями в зависимости от количества Cu в среде. Наиболее чувствителен к присутствию Cu в среде эспарцет (табл. 1). Во всех вариантах с медью рост и развитие растений (вес корней и надводной части, высота растений, длина корней) снижались до 7,5–70,1% по отношению к контролю (в зависимости от вида и сорта растений). В меньшей степени ингибиран рост рапса и клевера. При дозе Cu 400 мкМ на листьях появляются некротические пятна, особенно у календулы, свидетельствующие о необратимых изменениях в метаболизме растений. У всех сортов сои повышение концентрации Cu в среде до 100 мкМ и выше в большей степени ингибировало рост корней, чем побегов и листьев. Изучаемые в этом опыте сорта сои располагались в следующей нисходящей последовательности по накоплению органической массы в условиях высокой концентрации Cu: 'Хорбовянка' > 'Доринца' > 'Зодиак' > 'Колина'.

В условиях почвенной культуры токсичность Cu проявляется гораздо меньше. При этом на ранних фазах развития растений (фаза ветвления) высокая доза меди в почве (300 мг/кг) способствовала даже повышению веса надземной массы и корней. Эффект избыточных доз меди в почве (900 мг/кг) лучше проявляется к концу вегетации растений в фазе налива зерна – отмечено небольшое снижение органической массы растений. К концу вегетации заметного снижения биомассы растений и числа плодов на 1 растение в вариантах с Cu не было обнаружено, однако масса семян на 1 растение у сорта 'Доринца' при Cu 900 снижалась по сравнению с контрольным вариантом сильнее, чем у 'Хорбовянки'.

Содержание фотосинтетических пигментов. О состоянии растений в стрессовых условиях произрастания и общей интенсивности обменных процессов в определенной степени можно судить по содержанию фотосинтетических пигментов в листьях. По нашим данным, снижение содержания хлорофилла в листьях в водной культуре начинается уже при относительно низких дозах меди (50 мкМ Cu) и прогрессирует по мере увеличения дозы элемента. При дозе Cu 200 мкМ и выше четко проявляется эффект ингибирования фотосинтеза, листья очень слабо развиты. Снижение количества пигментов с возрастанием дозы Cu в среде более выражено в листьях рапса по сравнению с другими видами растений. В почвенной культуре с двумя сортами сои, которые, по предварительным данным, оказались более толерантными к избытку Cu в

среде (сорта ‘Доринца’ и ‘Хорбовянка’), токсичность высоких доз Cu выражена слабее, в листьях обоих сортов понижено содержание хлорофилла *b* (табл. 2). Заметна тенденция к повышению количества каротиноидов в листьях, что может служить показателем повышения толерантности растений к Cu (Nenova et al., 2009).

Таблица 1. Влияние Cu на накопление биомассы 25-дневных проростков различных растений, водная культура

Растения	Варианты мкМ	Воздушная масса		Масса корней		Высота проростка		Длина корней	
		г/1 проросток	%	г/1 проросток	%	см	%	см	%
Соя ‘Хорбовянка’	контроль	3,21±0,12	100,0	1,42±0,03	100,0	31,57±1,01	100,0	13,23±0,63	100,0
	Cu 50	1,16±0,03	35,9	0,33±0,05	23,2	22,57±1,08	71,2	4,76±0,59	35,9
	Cu 100	1,10±0,05	34,1	0,24±0,01	17,1	21,71±0,37	68,7	4,06±0,40	30,6
	Cu 200	0,96±0,01	29,9	0,14±0,01	9,9	17,63±1,54	55,8	4,00±0,18	30,2
	Cu 300	0,91±0,19	28,5	0,25±0,03	17,6	11,48±1,23	37,6	3,93±0,33	29,7
	Cu 400	0,51±0,06	15,8	0,17±0,02	11,9	6,11±0,098	19,3	4,92±0,26	37,1
Соя ‘Колина’	контроль	1,46±0,04	100,0	0,49±0,01	100,0	39,31±1,76	100,0	10,29±0,23	100,0
	Cu 50	0,80±0,01	54,5	0,11±0,01	22,8	21,64±0,50	55,0	4,74±0,36	46,1
	Cu 100	0,78±0,08	53,2	0,12±0,01	24,1	17,15±0,95	43,6	4,74±0,036	46,1
	Cu 200	0,67±0,03	45,9	0,13±0,01	26,1	11,68±0,07	29,7	4,47±1,73	43,4
	Cu 300	—*	—	—*	—	—	—	—	—
	Cu 400	—*	—	—	—	—	—	—	—
Рапс	контроль	1,74±0,13	100,0	0,54±0,07	100,0	15,53±0,19	100,0	15,5±0,77	100,0
	Cu 50	1,17±0,17	70,6	0,44±0,02	81,4	11,92±0,14	76,75	13,85±0,56	89,4
	Cu 100	0,52±0,03	31,5	0,23±0,007	42,5	11,83±0,28	76,17	12,75±0,71	82,2
	Cu 200	0,35±0,02	22,8	0,18±0,010	31,4	9,83±0,55	63,29	10,48±0,26	67,6
	Cu 300	0,32±0,04	25,4	0,17±0,010	33,3	8,29±0,23	3,38	9,5±0,36	61,3
	Cu 400	0,24±0,029	15,3	0,12±0,015	20,3	6,59±0,38	2,43	8,2±0,19	52,9
‘Эспарнег’	контроль	0,65±0,020	100	0,52±0,055	100,0	16,02±0,16	100,0	24,0±2,58	100,0
	Cu 50	0,10±0,020	15,4	0,10±0,020	19,23	7,43±0,43	46,3	6,74±0,50	28,1
	Cu 100	0,09±0,001	13,5	0,02±0,002	3,84	6,17±0,57	38,5	6,41±0,77	26,7
	Cu 200	0,08±0,001	13,3	—*	—	5,42±0,76	33,8	—	—
	Cu 300	0,06±0,003	9,8	—	—	5,60±0,46	34,9	—	—
	Cu 400	0,05±0,001	7,5	—	—	4,48±0,35	27,9	—	—

*— проростки или корни погибли полностью или частично

Таблица 2. Влияние Си на содержание фотосинтетических пигментов в листьях сои (сортов ‘Доринца’ и ‘Хорбовянка’), мг/г сырого вещества

Варианты	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>	каротиноиды
Доринца				
Контроль	1,25±0,186	1,13±0,186	2,30±0,203	0,27±0,042
Cu 300	0,87±0,002	1,65±0,060	2,53±0,063	0,28±0,007
Cu 900	0,90±0,002	0,94±0,003	1,83±0,021	0,38±0,007
Хорбовянка				
Контроль	0,91±0,017	1,30±0,345	2,21±0,327	0,32±0,068
Cu 300	0,88±0,009	1,16±0,070	2,03±0,070	0,33±0,045
Cu 900	0,95±0,015	1,15±0,011	2,10±0,123	0,34±0,029

Активность пероксидазы. Участие пероксидазы в ответных реакциях растений на токсичность тяжелых металлов отмечают многие исследователи (Fecht et al., 2001; Parmar et al., 2002; Saffar et al., 2009). В таблице 3 представлены результаты определения динамики пероксидазной активности в листьях двух сортов сои (‘Доринца’ и ‘Хорбовянка’), выращенных в условиях почвенной культуры на двух уровнях концентрации Си в среде. У обоих сортов активность фермента возрастила с фазы ветвления и оставалась на более высоком уровне до фазы формирования бобов с последующим снижением к концу вегетации (табл. 3). Внесенная в почву Си (300 и 900 мг/кг почвы) индуцировала повышение активности пероксидазы в листьях обоих сортов сои на протяжении всех фаз вегетации. Выявлены различия в активности фермента между вариантами в течение вегетации растений: незначительное увеличение активности пероксидазы при увеличении количества внесенного в почву металла на ранних фазах развития растений у сорта ‘Хорбовянка’ (фаза ветвления и начало цветения) и более высокая активность фермента у сорта ‘Доринца’ в следующие фазы развития растений. Однако четкой корреляции между количеством элемента в почве и активностью фермента в листьях того или иного сорта сои нет, что косвенно свидетельствует о толерантности обоих сортов сои к избытку меди в почве.

Содержание пролина в листьях. Судя по многочисленным литературным источникам, изменение концентрации некоторых аминокислот, в частности пролина в органах растений является одним из важных защитных механизмов растений к действию стресс-факторов. Показана прямая положительная связь между аккумуляцией пролина и толерантностью хлореллы к избытку Си в среде (Fathi et al., 2005).

Защитную роль пролина объясняют хелатированием тяжелых металлов в цитоплазме (Farago, Mullen, 1997), снижением поглощения металла (Wu et al., 1998), регуляцией водного баланса (Schat et all, 1997), формированием комплексов пролина с металлом (Fathi, 2003). Стресс-зависимое изменение эндогенного содержания пролина может участвовать в регуляции активностей антиоксидантных ферментов в растениях (Radyukina et al., 2008). По нашим данным, в условиях водной культуры концентрация пролина в листьях календулы уже при самой низкой дозе Cu (50 мкМ) увеличивается на 66,1% по сравнению с контролем в растворе и продолжает расти одновременно с увеличением количества металла в среде (табл. 4). Предполагается, что в таких условиях пролин функционирует в качестве химического шаперона (Grinin et al., 2010).

Таблица 3. Активность пероксидазы в листьях сои в зависимости от содержания Cu в почве (услов. ед/мин/г сырого вещества)

Варианты	Фаза ветвления, 11 июня	Фаза цветения, 15 июля	Фаза формирования бобов, 27 июля	Фаза созревания, 18 августа
Сорт ‘Доринца’				
Контроль	31,7±0,3	56,1±2,8	233,0±5,2	45,3±1,2
Cu 300	34,9±0,2	56,9±0,8	239,6±7,7	53,4±9,8
Cu 900	39,1±0,3	58,8±0,5	251,2±8,3	59,2±1,4
Сорт ‘Хорбовянка’				
Контроль	31,8±0,7	59,5±2,2	220,6±7,7	43,8±1,4
Cu 300	38,2±1,1	52,3±0,5	218,8±1,1	44,5±1,6
Cu 900	42,1±0,5	50,2±0,2	194,1±5,8	46,9±1,9

Однако в почвенной культуре четкой зависимости между дозой Cu, внесенной в почву, и количеством пролина в листьях сои нет (табл. 5). Отмечено значительное снижение количества пролина в фазе цветения, особенно в вариантах с Cu. В других фазах значимой разницы нет. Таким образом, в условиях почвенной культуры в отличие от водной значительное увеличение количества меди в среде не активизирует накопление пролина в органах растений.

Это может быть связано с отсутствием стрессового напряжения у растений из-за буферности почвы или с тем, что пролин не всегда играет защитную роль в ответ на стресс-фактор. По мнению ряда ученых (Gagneul et al., 2007; Francois Robert Larher et al., 2009), некоторые

совместимые осмолиты, в том числе и пролин, не всегда накапливаются в должном количестве, необходимом для осмотического регулирования при абиотическом или биотическом стрессе.

Таблица 4. Влияние возрастающей дозы Си в питательной среде на концентрацию пролина в листьях календулы, сорт ‘Диана’, мкМ/г сырой массы (опыт в водной культуре)

Доза Си, мкМ	Контроль (без Си)	50	100	200	300	400
Концентрация пролина	0,033±0,003	0,054± 0,001	0,068± 0,002	0,096± 0,000	0,393± 0,040	0,306± 0,004

Таблица 5. Влияние Си на содержание пролина в листьях двух сортов сои по фазам вегетации, мкМ/г сырой массы (почвенная культура)

Варианты	Фаза ветвления, 11 июня	Фаза цветения, 15 июля	Фаза формирования бобов, 27 июля			
				‘Доринца’		
Контроль	0,201±0,003	0,048±0,0050	0,085±0,001			
Cu 300	0,239±0,012	0,026±0,0010	0,135±0,005			
Cu 900	0,185±0,010	0,019±0,0010	0,100±0,004			
‘Хорбоянка’						
Контроль	0,228±0,023	0,068±0,0007	0,106±0,001			
Cu 300	0,261±0,014	0,029±0,0060	0,121±0,005			
Cu 900	0,247±0,014	0,030±0,0040	0,100±0,001			

Содержание микроэлементов в растениях. В водной культуре в корнях календулы количество Си резко увеличивается, начиная с первой дозы внесенного в раствор элемента, – 50 мкМ и снижается при дозе 400 мкМ. Возрастает количество элемента и в воздушной массе, однако в значительно меньшей степени (табл. 6). При этом обращает на себя внимание резкое увеличение количества Си при самой высокой концентрации элемента в питательной среде, что совпадает со снижением его содержания в корнях и общим ухудшением состояния растений. Это явление можно объяснить тем, что при дозе 400 мг/л Си клеточные мембранны корневых клеток проростков календулы теряют способность действовать как барьер для переноса металлов в растительные клетки. Из-за этого значительно возрастает пассивный дальний транспорт Си,

которая, накапливается в надземных органах проростков в токсических количествах, вызывая необратимые изменения в обмене веществ, с последующим появлением некроза.

Таблица 6. Влияние возрастающей дозы Cu в питательной среде на концентрацию микроэлементов в растениях календулы, сорт ‘Диана’, мг/кг сухой массы (опыт в водной культуре)

Варианты	Cu	Mn	Zn	Fe
Корни				
Контроль	32,71±1,52	149,50±4,63	55,67±2,28	696,93±9,58
Cu 50	5901,42±12,88	91,83±3,22	120,19±1,95	1675,89±10,44
Cu 100	6810,59±16,21	89,90±5,87	104,20±3,07	2017,2±19,56
Cu 200	16365,04±18,33	85,07±2,39	74,25±2,12	1039,44±12,51
Cu 300	13237,18±14,35	60,04±7,00	97,92±1,93	1757,04±16,36
Cu 400	10559,72±13,41	17,31±22,0	36,93±1,62	672,81±8,13
Воздушные органы				
Контроль	10,96±0,33	211,46±3,56	68,36±1,88	91,36±3,28
Cu 50	104,43±2,58	155,99±6,13	39,99±4,44	94,03±7,91
Cu 100	69,60±2,62	137,34±3,68	33,77±3,87	36,52±1,84
Cu 200	230,94±17,92	140,69±11,67	36,96±2,04	76,97±3,96
Cu 300	225,53±17,56	133,37±8,80	28,49±1,83	40,98±0,91
Cu 400	2717,71±26,72	222,71±16,71	65,78±1,94	93,13±0,99

Были установлены и некоторые закономерности в распределении Zn, Mn и Fe при возрастающих дозах Cu в питательной среде. Содержание этих элементов в воздушных (надземных) органах проростков уменьшается по мере увеличения концентрации Cu, а при дозе 400 мг/л содержание Zn, Mn и Fe увеличивается, возможно, из-за частичной потери части клеточного гомеостаза этих растений. Это свидетельствует об антагонизме отдельных микроэлементов при высоких дозах Cu в среде. Аналогичные данные получены и по другим культурам, однако транспорт Cu в надземные органы был медленнее. Отмечена интенсивная аккумуляция Cu в растениях клевера, рапса, люцерны, особенно в корнях, гораздо меньше – в растениях эспарцета.

В почвенной культуре содержание микроэлементов в зависимости от внесенной в почву Cu определяли в органах двух сортов сои (‘Доринца’ и ‘Хорбовянка’) по фазам вегетации. Внесенная в почву медь накапливалась главным образом в корнях сои. Полученные данные показали наличие некоторых сортовых различий. Содержание микроэлементов в расчете на 1 кг сухого вещества у сорта ‘Хорбовянка’ в

надземной части растения и в корнях ниже, чем у сорта ‘Доринца’. Содержание цинка у сорта ‘Хорбовянка’ остается на более стабильном уровне в условиях загрязнения почвы медью, в то время как у сорта ‘Доринца’ его содержание значительно повышается; в отношении марганца и железа отмечена обратная зависимость. Содержание железа, марганца и меди в корнях выше, чем в надземной части у обоих сортов с той разницей, что у сорта ‘Доринца’ их содержание значительно выше, что свидетельствует о более высокой толерантности данного сорта к избытку меди в почве.

Выводы

Избыток Cu в питательной среде повышает его содержание в органах растений, препятствует транспорту Fe, Mn и Zn в надземные органы, ингибирует рост и развитие растений. Основная часть поступившей в растения меди аккумулируется в корнях.

Токсичность Cu значительно более выражена в условиях водной культуры, чем в почвенной, что можно объяснить высокими буферными свойствами почвы, значительным накоплением металла в корнях и слабым транспортом его в надземную часть растений.

Избыток меди приводит к изменениям в метаболизме растений: снижению количества фотосинтетических пигментов в листьях, повышению пероксидазной активности, количества пролина, появлению дисбаланса микроэлементов, следствием чего является снижение продуктивности растений.

Скрининг различных растений по основным параметрам, которые свидетельствуют о возможности использования их в качестве фитоэкстракторов меди (календулы, рапса, клевера, эспарцета и 6 сортов сои), выявил относительную толерантность растений календулы, сои и рапса к избытку этого металла в среде. Выделены два сорта сои, более толерантных к избытку меди в среде – ‘Доринца’ и ‘Хорбовянка’, которые можно выращивать на почвах с повышенным содержанием меди (после раскорчевки многолетних насаждений).

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РFFI – АН Молдовы (172. MRF, 2008-2009) и гранта МОН Украины – АН Молдовы (10.820.04.07/UA, 2010-2011).

Литература/References

- Bates L. S., Waldren R. P., And I. D. Rapid determination of free praline for water-stress studies // Biol. Med. 1973. 18. P. 321–336.
- Boyarkin A. N. Quick method for determining peroxidase activity // Bioximia. 1951. P. 352–355. (in Russian)
- Fang W., Kao C. H. Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc // Plant Sci. 2000. Sep. 8: 158 (1-2). P. 71–76.
- Farago and Mullen. Plants which accumulate metals. IV. A possible copper proline complex from the roots of *Armeria maritima* // Chim. Acta. 1979. 32. P. 93–94.
- Fathi A. A., Zaki F. T. Role of proline level in ameliorating heavy metal toxicity in *Scenedesmus bijuga* // El-Minia Sci. Bull. 2003. 14. P. 155–167.
- Fathi A. A., Zaki F. T., Ibraheim H. A. Response of tolerant and wild type strains of *Chlorella vulgaris* to copper with special references to copper uptake system // Protistology, 2005. 4 (1). P. 73–78.
- Fecht M., Maier P., Horst J. Peroxidase activity in the leaf apoplast is a sensitive marker for Mn toxicity and Mn tolerance in vigna unguiculata (L) Walp // Plant nutrition. 2001. P. 264–268.
- Francois Robert Larher, Raphali Lughan, David Gagneul, Sylvain Guyot, Chantal Monnier, Yves Lespinasse, Alain Bouchereau. A reassessment of the prevalent organic solutes constitutively accumulated and potentially involved in osmotic adjustment in pear leaves // Environmental and Experimental Botany. 2009. 66. P. 230–241.
- Gagneul David, Abdelkader Алнouche, Claire Duhažй, Raphal Lughan, Francois Robert Larher, and Alain Bouchereau. A Reassessment of the Function of the So-Called Compatible Solutes in the Halophytic Plumbaginaceae *Limonium latifolium*. Plant Physiol. 2007. 144. P. 1598–1611.
- Grinin A. B., Xolodova V. P., Ivanova E. M., Kuznecov Vl. V. Proline functions as a chemical chaperone under the action of sodium chloride and copper // Abstracts of All-Russian symposium «Plants and stress». 2010. Moscow, P. 119. (in Russian)
- Grots N., Guerinot M. L. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. Biochimica et Biophysica Acta. 2006. 1763. P. 595–608.
- Nenova V., Merakchiyska M., Ganeva G. et al. Physiological Responses of Wheat (*Triticum aestivum* L.) –*Aegilops sharonensis* Introgression Lines to Excess Copper. Journal of Agronomy and Crop Science, 2009. 195. 3. P. 197–203.
- Parmar N. G., m Vithalani S. D., Chanada S. V. Alteration in growth and peroxidase activity by heavy metals in Phaseolus seedlings. Acta Physiological Plantarum. 2002. Vol. 24. N 1. P. 89–95.
- Radyukina N. L., Shashukova A. V., Shebyakova N. I., Kuznecov Vl. V. Participation of proline in the antioxidant defense system in salvia under the action of NaCl and paraquat // Fiziologija rastenii. 2008. Vol. 55. P. 721–730. (in Russian)

- Saffar A., Badherich M. B., Mianabadi M. Activity of Antioxidant Enzymes in Response to Cadmium in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Biological Sciences. 2009. Vol. 9 Iss 1. P. 44–50.
- Schat H., Sharmass Vooijs R. Heavy metal-induced accumulation of free proline in metal-tolerant and a non-tolerant ecotype of *Silene vulgaris* // Physiologia Plant. 1997. 101. P. 477–482.
- Stohs S. J., Bagehi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Free Rad. toxic copper in *Chlorella sp.* (Chlorophyceae) cells // J. Phycol. 1995. 1997. 34. P. 113–117.
- Taran N. Yu., Okanenko D. A., Baczmanova L. M., Musienko M. M. The secondary oxide stress as a part of the overall adaptive plant responses to unfavorable environmental factors // Fiziologia i bioximiya kul'turny'kh rastenii, 36., № 1, P. 3–14. (in Russian)
- Toma S., Kholodova V., Kuznetsov Vl., Bracto D., David T. Accumulation of heavy metals by different plant species in conditions of copper excess // Universitatea de etiincoe agricole ei medicinr veterinarr „Ion Ionescu de la Brad. Lucrri etiinioifice. Seria Horticultura. 2009. Vol. 52. Romania, Iasi.
- Veliksar S., Mihailescu C., Toma S., Lisnic S., Kreidman J. Purificarea ecologică a solurilor de surplusul de cupru dupr defriarea plantaiilor multianuale // Mediul Ambiant, 2005. 1(18). P. 1–5.
- Wu J. T., Hsieh M. T., How L. C. Role of proline accumulation in response to toxic copper in *Chlorella sp.* (Chlorophyceae) cells // J. Phycol. 1998. 34. P. 113–117.