

УДК 633.16:631.453:546.56:581.3

## ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ ЯЧМЕНЯ В ОНТОГЕНЕЗЕ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВ МЕДЬЮ

Цыгвинцев П.Н., Гончарова Л.И., Рачкова В.М.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»,  
Обнинск, e-mail: rirae70@gmail.com

Медь является одним из биологически значимых и незаменимых микроэлементов для растений, однако при повышенных концентрациях может вызывать токсическое действие. Исследования влияния меди на рост и различные биохимические показатели растений проводятся, как правило, в водной или гидропонной культуре, в упрощенных по сравнению с естественной средой обитания для большинства растений модельных системах. Целью нашей работы являлось изучение ответной реакции растений ячменя в онтогенезе при воздействии различных концентраций меди в вегетационном эксперименте на двух типах почв. Контроль окислительно-восстановительного гомеостаза растений в ходе эксперимента показал, что внесение меди в дерново-подзолистую почву и чернозем в концентрациях соответственно до 200 и 400 мг/кг, не вызвал заметного стресса у ячменя. Установлено, что реакция растений на действие меди зависит от фазы развития, концентрации металла и типа почвы. Внесение меди в почву вызвало заметную задержку в развитии растений, по сравнению с контролем. Отмечена прямая зависимость длительности органогенеза от содержания меди в почве, наиболее выраженная для дерново-подзолистой почвы. Для развития биомассы растений на дерново-подзолистой почве стимулирующим оказался диапазон 50–150 мг/кг содержания меди в почве, при превышении этого уровня, начиная с ранних стадий развития растений (30 суток), наблюдается резкое преимущественное увеличение биомассы корней и снижение надземной биомассы. Для растений, культивируемых на черноземе, отмечено зависимое от уровня содержания меди в почве снижение как надземной, так и корневой биомассы, при содержании меди в почве свыше 150 мг/кг.

**Ключевые слова:** ячмень, онтогенез, медь, почвы, ростовые и биохимические показатели

## RESPONSE REACTION OF BARLEY IN ONTOGENESIS FOR POLLUTION BY COPPER

Tsygvintsev P.N., Goncharova L.I., Rachkova V.M.

Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, e-mail: rirae70@gmail.com

Copper is one of the biologically significant and irreplaceable microelements for plants, however, at elevated concentrations it can cause toxic effects. Studies of the effect of copper on growth and various biochemical parameters of plants are carried out, as a rule, in aquatic or hydroponic culture, in a simplified model system compared to the natural habitat for most plants. The aim of the study was the response research of barley plants in ontogenesis under the influence of different copper concentrations in a vegetation experiment on two types of soils. Control of the oxidation-reduction plant homeostasis during the experiment showed that the introduction of copper into sod-podzolic soil and chernozem in concentrations of 200 and 400 mg / kg, respectively, did not cause significant stress in barley. It is established that the reaction of plants to the copper influence depends on the phase of development, the concentration of the metal and the type of soil. The introduction of copper into the soil caused a significant delay in the development of plants, in comparison with the control group. A direct dependence of the duration of organogenesis on the copper content in the soil is noted, most pronounced for sod-podzolic soil. For the development of plant biomass on sod-podzolic soil, the range of 50–150 mg / kg of copper content in the soil turned out to be stimulating. When this level is exceeded, starting from the early stages of plant development (30 days), a sharp predominant increase in root biomass and a decrease in aboveground biomass was observed. For plants cultivated on chernozem, a decrease in both above-ground and root biomass, depending on the level of copper content in the soil, was observed, when the content of copper in the soil exceeded 150 mg / kg.

**Keywords:** barley, ontogeny, copper, soils, growth and biochemical indicators

Медь является одним из биологически значимых и незаменимых микроэлементов для растений [1], однако при повышенных концентрациях может вызывать токсическое действие [2–4]. Медь, входя в состав ферментов, регулирует фотосинтез и концентрацию ингибиторов роста, водный обмен и перераспределение углеводов [5]. Недостаток меди вызывает у растений задержку роста [6]. Избыток меди вызывает ответную реакцию антиоксидантной защиты. В результате индуцируемого медью оксидативного стресса происходит усиленное

образование свободных радикалов и активных форм кислорода, вызывающих перекисное окисление липидов (ПОЛ), инактивацию энзимов и нарушение в структуре ДНК. В реализации защитного потенциала растений от избытка тяжелых металлов (ТМ) важная роль отводится системе антиоксидантной защиты (синтез низкомолекулярных соединений, индукция пероксидаз, свободного пролина и т.д.). При высоком содержании меди в почве отмечается снижение роста и продуктивности как диких [7–9], так и культурных растений [10–12].

Исследования влияния меди на рост и различные биохимические показатели растений проводятся, как правило, в водной или гидропонной культуре, в упрощенных по сравнению с естественной средой обитания для большинства высших растений модельных системах. В литературе нет единого мнения о механизмах действия меди на растения при выращивании на различных типах почв. Эффективность действия ТМ на сельскохозяйственные культуры зависит от степени окультуренности почв, возраста растений и т.д. [13]. Наибольшее значение для формирования урожая растений имеет фаза их интенсивного роста, когда происходит закладка продуктивных органов и основное накопление биомассы растений.

Цель работы: изучение ответных реакций растений ячменя в онтогенезе на фазе интенсивного роста при воздействии различных концентраций меди.

#### Материалы и методы исследования

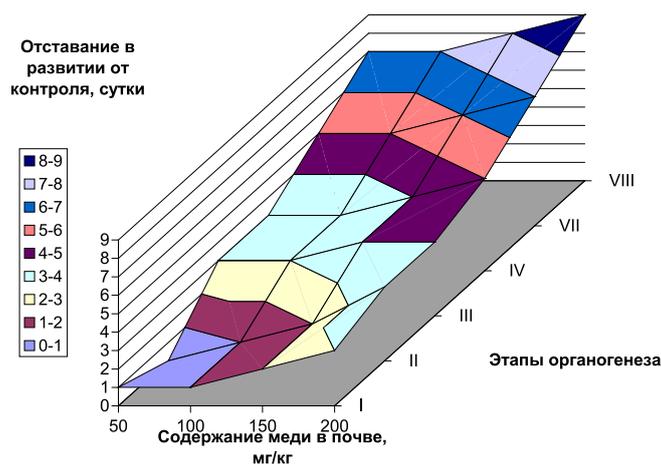
В вегетационном опыте объектом исследований служил ячмень *Hordeum vulgare* L., сорта Зазерский 85. Использовали два типа почв – дерново-подзолистую супесчаную и чернозем выщелоченный тяжелосуглинистый. Агрохимические характеристики почв составили соответственно:  $pH_{KCl}$  5,47 и 5,53; гумус – 1,7% и 4,8%; обменный  $K_2O$  – 64,7 и 134,3 мг/кг; подвижный  $P_2O_5$  – 805 и 214 мг/кг; гидролитическая кислотность – 2,7 и 3,0 мг-экв/100 г; сумма обменных оснований – 7,6 и 31,7 мг-экв/100 г. В контроле валовое содержание меди в почвах составляло 3,8 и 9,1 мг/кг. Для посева растений использовали вегетационные сосуды диаметром 22 см, высотой 20 см, с дренажем. За десять дней до посева медь добавляли в почву в виде водных растворов соли  $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$  в концентрациях, соответствующих её содержанию: в дерново-подзолистой супесчаной почве – 50; 100; 150; 200 мг/кг; в черноземе выщелоченном тяжелосуглинистом – 100; 150; 300; 400 мг/кг, что с учетом валового содержания давало превышение ориентировочно допустимой концентрации (ОДК) [14] от 1,6 до 6,2 раза. Фон азота в разных вариантах опыта после добавления нитрата меди выравнивали внесением  $NH_4NO_3$  до 200 мг/кг почвы по азоту. Полив растений осуществляли дистиллированной водой через дренажную трубку по мере высыхания почвы с контрольным взвешиванием сосудов. Ячмень выращивали в течение 60 суток. Плотность посева – 13 растений на сосуд, повторность опыта пятикратная.

Через 20, 30, 45 и 60 суток от даты всходов проводили анализ ростовых и биохимических показателей растений. Этапы органогенеза определяли по Ф.М. Куперман [15]. Массу надземной (без учета веса колоса) и корневой частей растений оценивали гравиметрическим методом для воздушно-сухого состояния. Спектрофотометрическим методом на приборе UNICO-1200 (Санкт-Петербург, РФ) определяли интенсивность ПОЛ по содержанию малонового диальдегида (МДА) и накопление свободного пролина согласно методике [16], повторность трехкратная. Данные в таблице приведены в виде средних и их стандартных ошибок. Достоверность различий вариантов устанавливали на основе двустороннего  $t$ -критерия для средних.

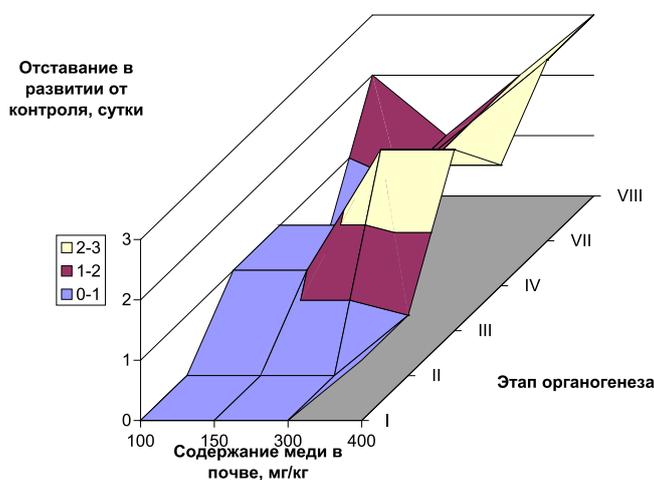
#### Результаты исследования и их обсуждение

Следует отметить, что внесение меди в почву вызвало заметную задержку в развитии растений, по сравнению с контролем (рис. 1). Можно отметить прямую зависимость длительности органогенеза от содержания меди в почве, наиболее выраженную для дерново-подзолистой почвы. VIII этап органогенеза (колошение) в данном случае наступал на 7–9 дней позже, чем у контроля, и данное отставание в развитии накапливалось постепенно, во все этапы органогенеза. Наблюдаемые закономерности хорошо согласуются с динамикой накопления меди корнями и наземной биомассы данных растений [17]. Однако наблюдаемый эффект зависит не только от содержания меди в растениях, но и от типа почвы, возможно в данном случае проявление эффекта задержки развития обусловлено также количеством гумуса в почве или другими агрохимическими характеристиками почвы.

Контроль окислительно-восстановительного гомеостаза растений в ходе эксперимента показал, что внесение меди в почву в данных концентрациях не вызывает заметного стресса у ячменя (рис. 2). Содержание МДА в листьях на раннем этапе развития растений находилось в пределах, 40–60 нМоль/г, снизившись в дальнейшем до 20–30 нМоль/г, и не зависело от концентрации меди. На позднем этапе роста растений (фаза цветения – колошения) можно отметить достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение (до 50 нМоль/г) содержания МДА в листьях растений, культивируемых на дерново-подзолистой почве при содержании меди в ней 100 мг/кг и выше, и на черноземе при концентрации меди 400 мг/кг (рис 2, А, Б).



А)



Б)

Рис. 1. Задержка в наступлении этапов органогенеза (по Ф.М. Куперман) в зависимости от валового содержания меди в дерново-подзолистой (А) почве и черноземе (Б)

Концентрация пролина в листьях растений не зависела от содержания меди в почве и в течение всего эксперимента находилась в пределах 0,5–0,7 мкМоль/г (рис. 2, В, Г). Активизация в накоплении пролина у растений в ответ на неблагоприятные факторы является особенностью биосинтеза и метаболизма этого соединения для поддержания клеточного гомеостаза и может проходить независимо от возраста растений. Поэтому относительно стабильный и не зависящий от концентрации меди в растениях уровень пролина свидетельствует об отсутствии стресса растений и подтверждает, что закономерности накопления меди ячменем, представленные в работе [17], получены на фоне нормального физиологического состояния растений.

В таблице приведены данные динамики биомассы надземной и корневой части растений ячменя в онтогенезе. Для дерново-подзолистой почвы можно отметить рост надземной биомассы растений по сравнению с контролем при валовом содержании меди в почве в районе 50–100 мг/кг и ее угнетение при уровне меди 200 мг/кг почвы. На черноземе эффекта увеличения надземной биомассы не наблюдалось, но отмечено достоверное ее снижение по сравнению с контролем на ранних (до 30 суток) и поздних (60 суток) этапах роста растений, при этом выраженность эффекта зависела от содержания меди в почве и отмечалась при уровнях 300–400 мг/кг почвы.

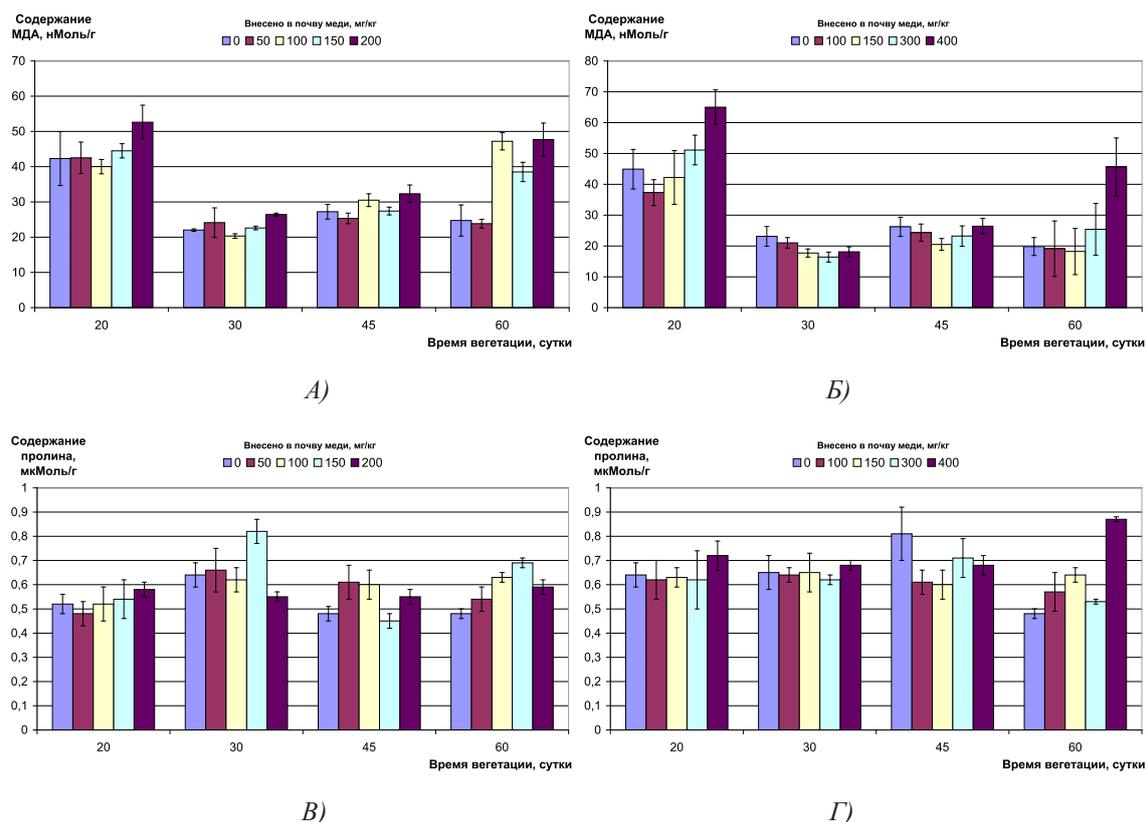


Рис. 2. Окислительно-восстановительный гомеостаз растений ячменя на различных типах почв при внесении различных доз меди: А) содержание МДА, нМоль/г (дерново-подзолистая почва); Б) содержание МДА, нМоль/г (чернозем); В) содержание пролина, мкМоль/г (дерново-подзолистая почва); Г) содержание пролина, мкМоль/г (чернозем)

#### Влияние меди на биомассу надземной и корневой части растений ячменя

Показатель	Внесено меди в почву, мг/кг	Время вегетации, сутки			
		20	30	45	60
Дерново-подзолистая супесчаная почва					
Надземная биомасса, г	0	1,17 ± 0,09	1,76 ± 0,07	4,27 ± 0,04	9,96 ± 0,04
	50	1,36 ± 0,02	2,19 ± 0,06*	5,12 ± 0,04*	11,18 ± 0,50
	100	1,42 ± 0,11	2,16 ± 0,03*	5,10 ± 0,05*	14,4 ± 0,52*
	150	1,43 ± 0,01	2,02 ± 0,02*	4,76 ± 0,07*	9,62 ± 0,05
	200	1,22 ± 0,06	1,57 ± 0,11	2,91 ± 0,03*	7,94 ± 0,54*
Масса корней, г	0	0,18 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,43 ± 0,04	0,7 ± 0,06
	50	0,18 ± 0,04	0,38 ± 0,05	0,39 ± 0,06	0,8 ± 0,04
	100	0,18 ± 0,01	0,38 ± 0,01*	0,44 ± 0,02	1,15 ± 0,09*
	150	0,24 ± 0,01	0,64 ± 0,07*	1,16 ± 0,01*	1,2 ± 0,01*
	200	0,26 ± 0,02	0,48 ± 0,11*	1,36 ± 0,10*	1,54 ± 0,20*
Чернозем выщелоченный тяжелосуглинистый					
Надземная биомасса, г	0	1,69 ± 0,02	2,68 ± 0,05	5,14 ± 0,18	13,5 ± 0,23
	100	1,46 ± 0,05	2,46 ± 0,04	4,55 ± 0,08	14,3 ± 0,11
	150	1,36 ± 0,10*	2,36 ± 0,02*	5,10 ± 0,28	10,6 ± 0,62
	300	1,34 ± 0,02*	2,15 ± 0,04*	5,23 ± 0,16	9,03 ± 0,09*
	400	1,38 ± 0,07	2,14 ± 0,25*	5,04 ± 0,07	8,56 ± 0,31*
Масса корней, г	0	0,18 ± 0,02	0,34 ± 0,01	0,53 ± 0,06	1,16 ± 0,02
	100	0,17 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,44 ± 0,02	1,25 ± 0,11
	150	0,16 ± 0,01	0,3 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,95 ± 0,08*
	300	0,16 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,42 ± 0,03	0,62 ± 0,08*
	400	0,19 ± 0,02	0,32 ± 0,01	0,55 ± 0,07	0,64 ± 0,03*

Примечание. Различия с контролем значимы при: \* $p < 0,05$ .

Аналогичная картина снижения биомассы при уровнях содержания меди 150–400 мг/кг чернозема наблюдалась и для корневой системы ячменя на позднем этапе роста (60 сутки). В то же время на дерново-подзолистой почве с увеличением концентрации меди до 150–200 мг/кг происходит увеличение коневой биомассы, до 2–3 раз, по сравнению с контролем. Данный, зависимый от содержания меди в почве, рост корней растений ячменя возможно следует рассматривать как адаптивную реакцию, направленную на снижение концентрации меди в корневой системе за счет эффекта «разбавления». Однако на черноземе при тех же концентрациях меди в корнях ячменя [17] данный эффект не наблюдается.

Отмеченные возрастные особенности формирования надземной и корневой части биомассы ячменя в зависимости от концентрации меди на изученных типах почв, по-видимому, обусловлены различиями в барьерных функциях, развивающихся в условиях загрязнения ТМ почв, обладающих различными буферными свойствами и уровнем плодородия [13].

### Выводы

1. Ответная реакция растений ячменя в ходе онтогенеза на возрастающие концентрации меди в почвах зависит от фазы развития и концентрации металла и в наибольшей степени проявляется на поздних этапах роста (фаза цветения и колошения).

2. Внесение меди в почву вызвало заметную задержку в развитии растений, по сравнению с контролем. Отмечена прямая зависимость длительности органогенеза от содержания меди в почве, наиболее выраженная для дерново-подзолистой почвы.

3. Контроль окислительно-восстановительного гомеостаза растений в ходе эксперимента показал, что внесение меди в дерново-подзолистую почву и чернозем в концентрациях соответственно до 200 и 400 мг/кг, не вызвал заметного стресса у ячменя. На позднем этапе роста растений (фаза цветения-колошения) можно отметить достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение содержания МДА в листьях растений (с 20 до 50 нМоль/г), культивируемых на дерново-подзолистой почве при содержании меди в ней 100 мг/кг и выше и на черноземе при концентрации меди 400 мг/кг.

4. Особенности формирования надземной и корневой части биомассы ячменя в условиях повышенной концентрации меди в почве могут существенно зависеть

не только от содержания меди в растениях, но и от типа почвы. Данные адаптивные реакции, по-видимому, обусловлены различиями в барьерных функциях, развивающихся в условиях загрязнения ТМ почв, обладающих различными буферными свойствами и уровнем плодородия.

### Список литературы / References

1. Stern B.R. Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: Overview, update and regulatory considerations. *J Toxicol Env Heal A*. 2010. 73(2): P. 114–127. DOI: 10.1080/15287390903337100.
2. Hendrik Küpper, Birgit Götz, Ana Mijovilovich, Frithjof C. Küpper, Wolfram Meyer-Klaucke. Complexation and Toxicity of Copper in Higher Plants. I. Characterization of Copper Accumulation, Speciation, and Toxicity in *Crassula helmsii* as a New Copper Accumulator. *Plant Physiology*. 2009. Oct. 151(2). P. 702–714. DOI: 10.1104/pp.109.139717.
3. Wang X., Ma Y., Hua L., McLaughlin M.J. Identification of hydroxyl copper toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) root elongation in solution culture. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2009. Vol. 28. № 3. P. 662–667. DOI: 10.1897/07-641.1.
4. White P.J., Brown P.H. Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann Bot*. 2010. Vol. 105. Issue 7. P. 1073–1080. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcq085>.
5. Hansch R., Mendel R.R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Bioljgy*. 2009. Vol. 12. Issue3. P. 259–266. DOI: 10.1016/j.pbi.2009.05.006.
6. Nair P.M., Chung I.M. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2014. Nov. 21 (22). P. 12709–12722. DOI: 10.1007/s11356-014-3210-3.
7. Junren Chen, Mohammad Shafi, Song Li, Ying Wang, Jiasen Wu, Zhengqian Ye Danli Peng, Wenbo Yan, Dan Liu. Copper induced oxidative stresses, antioxidant responses and phytoremediation potential of Moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*). *Scientific Reports*. 2015. 5. 13554. Published online 2015 Sep 4. DOI: 10.1038/srep13554.
8. Talukdar D. Studies on antioxidant enzymes in *Canna indica* plant under copper stress. *J. Environ Biol*. 2013. Jan. 34 (1). P. 93–98.
9. Andresa Lana Thome Bizzo, Aline Chaves Intorne, Pollyana Honorio Gomes, Marina Satika Suzuki, Bruno dos Santos Esteves. Short-term physiological responses to copper stress in *Salvinia auriculata* Aubl. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 2014. Vol. 26. No. 3. P. 268–277. DOI: 10.1590/S2179-975X2014000300006.
10. Manuel Azenha, Antonio F. Silva, Alexandra de Sousa, Ana Santiago, Pedro Ferraz, Jorge Teixeira. Copper-induced stress in *Solanum nigrum* L. and antioxidant defense system responses. *Food and Energy Security*. 2013. Vol. 2. Issue 1. P. 70–80. DOI: 10.1002/fes3.20.
11. Helene Lequeux, Christian Hermansa, Stanley Luttsb, Nathalie Verbruggen. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010. Vol. 48. Issue 8. P. 673–682. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.05.005.
12. Sanchez-Pardo B., Fernandez-Pascual M., Zornoza P. Copper microlocalisation, ultrastructural alterations and antioxidant responses in the nodules of white lupin and soybean plants grown under conditions of copper excess. 2012. *Environmental and Experimental Botany*. 2012. Vol. 84. P. 52–60. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2012.04.017.
13. Черных Н.А., Милащенко Н.З., Ладонин В.Ф. Экотоксикологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами. М.: Агроконсалт, 1999. 175 с.

Black N.A., Milashchenko N.Z., Ladonin V.F. Ecotoxicological aspects of pollution of soils heavy metals. M.: Агроконсалт, 1999. 175 p. (in Russian).

14. Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) тяжелых металлов и мышьяка в почвах. Гигиенические нормативы ГН 2.1.7.020-94. Госкомсанэпиднадзор России. М., 1995. 8 с.

The Approximately Admissible Concentration (AAC) of heavy metals and arsenic in soils. Hygienic standards of GN 2.1.7.020-94. State Committee on Sanitary and Epidemiology Surveillance of Russia. M., 1995. 8 p. (in Russian).

15. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. М.: Высшая школа, 1984. 240 с.

Kupperman of F.M. Morfofiziologiya of plants. M.: The higher school, 1984. 240 p. (in Russian).

16. Bates L.S., Waldern R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 1973. V. 39. № 1. P. 205–207. DOI: 10.1007/BF00018060.

17. Цыгвинцев П.Н., Гончарова Л.И., Манин К.В., Рачкова В.М. Определение оптимального содержания меди в почвах разного типа на основании динамической модели ее накопления в надземной биомассе и корнях растений (на примере ячменя *Hordeum vulgare* L.) // *Сельскохозяйственная биология*. 2018. Т. 53. № 3. С. 570–577. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.3.570rus.

Tsygvintsev P.N., Goncharova L.I., Manin K.V., Rachkova V.M. Estimation of the Optimal Cu Content in Different Soil Types Based of the Dynamic Model for Copper Accumulation in above Ground Parts and Roots (On the Example of Barley *Hordeum vulgare* L. PLants) // *Sel'skhozaystvennaya biologiya*. 2018. T. 53. № 3. P. 570–577 (in Russian).