

Аккумуляция кадмия и цинка регенерантами ячменя на провокационном почвенном фоне с кадмием

DOI: 10.30901/2227-8834-2021-4-117-125
УДК 631:581.1

Поступление/Received: 05.07.2021

Принято/Accepted: 16.09.2021



О. Н. ШУПЛЕЦОВА^{1*}, Е. В. ТОВСТИК²

¹ Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, 610007 Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166а
* ✉ olga.shuplecova@mail.ru

² Вятский государственный университет, 610000 Россия, г. Киров, ул. Московская, 36
✉ tovstik2006@inbox.ru

Accumulation of cadmium and zinc in barley regenerants on a provocative soil background with cadmium

O. N. SHUPLETSOVA^{1*}, E. V. TOVSTIK²

¹ Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, 166a Lenina St., Kirov 610007, Russia
* ✉ olga.shuplecova@mail.ru

² Vyatka State University, 36 Moskovskaya St., Kirov 610000, Russia
✉ tovstik2006@inbox.ru

Актуальность. Эффективным способом получения стресс-толерантных к кадмию генотипов ячменя (*Hordeum vulgare* L.) с низким уровнем аккумуляции токсичных ионов в зерне является отбор клеток в селективных системах *in vitro* на основе соматклональной изменчивости, способствующей формированию специфических и неспецифических адаптивных механизмов.

Материал и методы. Объектом исследований служил сорт '999-93', созданный методом отбора из гибридной комбинации ярового ячменя (Luly × Conrad) × 2867-80, и его регенерантные формы в семенной репродукции 3–5-го поколения, индуцированные в процессе клеточной селекции на средах с кадмием, алюминием и полиэтиленгликолем. Растения выращивали в обычных почвенных условиях и на провокационном фоне по кадмию.

Результаты. Выявлена незначительность вклада средообразующей активности корней исследуемых генотипов в инактивацию токсичных ионов. На провокационном фоне суммарный вынос кадмия растениями повышался в 2,5 раза, достигая 5,8–10,3 мг/кг сухой фитомассы при распределении по органам: корни (91,9–93,4%) > стебли (5,9–7,8%) > зерно (0,5–0,8%). Количество токсичного металла в зерне увеличивалось у исходной формы в 11 раз, у регенерантов – в 2,8–6,8 раза. Показано негативное влияние избыточного кадмия в почве на аккумуляцию цинка ячменем. Регенеранты, индуцированные на селективных средах с кадмием, имели наибольшие адаптационные преимущества к стрессу: выраженные барьерные функции корней, минимальное накопление токсичных ионов в надземных органах, высокую семенную продуктивность (превосходили исходный генотип по числу зерен и массе зерна с растения на 35,5%). Показана слабость приспособительных реакций, связанных с ограничением аккумуляции кадмия в растительных тканях регенерантов, полученных путем отборов *in vitro* с алюминием и осмотиком.

Ключевые слова: токсичность металлов, клеточная селекция, регенерантная линия, поглощение, органы растений, функциональный барьер, устойчивость.

Background. An effective way to obtain barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes stress-tolerant to cadmium, with a low level of toxic ion accumulation in grain, is the selection of cells in selective *in vitro* systems, based on somaclonal variability, which promotes the formation of specific and nonspecific adaptive mechanisms.

Materials and methods. The object of the study was cv. '999-93', developed by selection from a hybrid combination of spring barley (Luly × Conrad) × 2867-80, and its regenerated forms in seed reproductions of the 3–5th generation, induced in the process of cell selection on media with cadmium, aluminum and polyethylene glycol. The plants were grown under normal soil conditions and against a provocative background for cadmium.

Results. The contribution of the environment-forming activity in the roots of the studied genotypes to inactivation of toxic ions appeared insignificant. The total removal of cadmium by plants against a provocative background increased 2.5 times, reaching 5.8–10.3 mg/kg of dry phytomass when distributed among organs: roots (91.9–93.4%) > stems (5.9–7.8%) > grain (0.5–0.8%). The amount of toxic metal in grain increased 11 times in the original form and 2.8–6.8 times in regenerants. The negative effect of excess cadmium in the soil on the accumulation of zinc in barley was shown. There was no gradation in the importance of organs for zinc accumulation or any presence of functional barriers preventing this. Regenerants induced on selective media with cadmium had the greatest adaptive advantages to stress: pronounced barrier functions of roots, minimal accumulation of toxic ions in aerial organs, and high seed productivity (they exceeded the original genotype by 35.5%). Adaptive reactions associated with the limitation of cadmium accumulation in plant tissues of regenerants, obtained by *in vitro* selections with aluminum and an osmotic, were shown to be weak.

Key words: metal toxicity, cell selection, regenerant line, absorption, plant organs, functional barrier, resistance.

Введение

Многие современные почвы испытывают загрязнение тяжелыми металлами (ТМ), негативно влияющее на состояние биосферы. Наибольший вред оказывают подвижные формы элементов, легко поглощаемые растениями. Одним из наиболее опасных поллютантов по токсичности, подвижности и способности накапливаться в пищевых цепях является кадмий. Попадая в почву, кадмий ухудшает почвенное плодородие, изменяет биологические, химические и физические ее свойства; накапливаясь в растениях, негативно воздействует на метаболические процессы (фотосинтез, углеводный и азотный обмен), индуцирует окислительный стресс, нарушает водный баланс и поступление макро- и микроэлементов в растительные ткани, что в совокупности приводит к снижению продуктивности и качества растениеводческой продукции (Kaznina, Titov, 2013; Lisitsyn, Shikhova, 2016). Поступая в организм человека, кадмий изменяет работу пищеварительных ферментов, ингибирует углеводный обмен, вызывая гипергликемию и угнетение синтеза гликогена в печени (Chetverikova, Martsinevskaaya, 2013). Снижение фитотоксичности ТМ осуществляется препятствием («стратегия избегания») поступлению ионов в растение (связывание корневыми экссудатами, адсорбция на клеточной стенке), но чаще всего компартментацией в менее активные части разных тканей и органов (Titov et al., 2014; Seregin et al., 2015). В современных условиях задача снижения негативного влияния кадмия на жизнеспособность и экологическую безопасность сельскохозяйственных растений становится особенно острой.

Ионная активность кадмия существенно зависит от кислотности среды, достигая наибольшего значения в кислых почвах в интервале 4,5–5,5 pH (Titov et al., 2014; Nagajyoti et al., 2010). Высокий уровень металла наблюдается в подзолистых и дерново-подзолистых почвах (0,7–1,3 мг/кг и выше), характерных для Нечерноземной зоны РФ (Gordeev, Romanenko, 2008). В частности, в почвах Кировской области валовое содержание кадмия выше, чем в целом по России. Для разных горизонтов дерново-подзолистых почв региона оно колеблется от 0,7 до 1,1 мг/кг; содержание подвижных форм находится в пределах от 0,01 до 0,3 мг/кг (Shikhova, Egoshina, 2004).

Высокая фитотоксичность кадмия объясняется его близостью по химическим свойствам к цинку, одному из важнейших растительных микроэлементов. Во многих биохимических процессах кадмий может выступать в роли цинка, тем самым нарушая работу жизненно важных ферментов, участвующих в белковом, нуклеиновом и углеводном обменах (Titov et al., 2014), что приводит к угнетению и возможной гибели растений. Кроме того, цинковая недостаточность снижает питательную ценность урожая сельскохозяйственных культур и его потенциал для использования в пищевой промышленности. Повышение уровня цинка в почве, в том числе внесением экзогенно, способствует уменьшению токсичности кадмия в зависимости от концентрации обоих металлов в среде, продолжительности их воздействия, генотипов и условий роста растений (Rizwan et al., 2019).

Изучение механизмов транслокации ионов ТМ как токсичного, так и эссенциального действия в растениях по-прежнему актуально. Остается нерешенным вопрос о существовании связи между устойчивостью организмов и накоплением в них ТМ. В некоторых случаях отмечено отсутствие зависимости между аккумуляцией ме-

талла в растениях и его содержанием в почве (Belyaeva, 2009; Gorban, Yurgenson, 2016). Для получения экологически безопасной зерновой продукции необходимо минимизировать накопление токсичных элементов в зерне. Поэтому создание генетической базы зерновых культур, адаптированных к неблагоприятным почвенным условиям и способных произрастать на загрязненных землях без значительной потери урожая, необходимо сочетать с селекцией сортов с низким уровнем аккумуляции токсичных ионов. Широко распространенной и востребованной культурой в сельскохозяйственном производстве является ячмень (*Hordeum vulgare* L.) (Shchennikova, 2015; Sakellariou, Mylona, 2020), который среди зерновых культур характеризуется наибольшей чувствительностью к почвенным стрессорам, обусловленной слаборазвитой корневой системой с низкой способностью к хелатообразованию (Kosareva, 2012; Đalović et al., 2010).

Для повышения эффективности и сокращения периода селекционного процесса используют соматоклональную изменчивость, вызванную дестабилизацией генетической и эпигенетической программы в клетках растений при культивировании на искусственных питательных средах. Внесение в среду селективных агентов, моделирующих воздействие природных стрессоров, и отбор устойчивых каллусных культур (соматоклонов) позволяют использовать регенерированные из них растения в качестве перспективного селекционного материала. Следует отметить, что каллусные клетки, находясь в состоянии физиологического стресса на селективных фонах *in vitro*, проявляют избыточную активность метаболизма, что приводит к возможному формированию общих адаптивных механизмов к неблагоприятным воздействиям (Jaleel et al., 2009) и, как следствие, появлению устойчивости к стрессору, который не входит в конкретную направленность клеточной селекции. Наряду с проявлением неспецифической устойчивости на уровне изолированной ткани, возможна активизация этого механизма на уровне взрослого растения-регенеранта.

Таким образом, для изучения связи между устойчивостью растений и накоплением в них кадмия целесообразно использовать как регенеранты, полученные в процессе клеточной селекции целевой направленности, так и регенерантные генотипы, отобранные в селективных системах со стрессорами иной природы. Представляет практический интерес оценка взаимовлияния токсичного и эссенциального металлов при их аккумуляции в растительных тканях.

Цель исследования – сравнительный анализ способности аккумулировать кадмий и цинк на провокационном почвенном фоне по кадмию регенерантами ячменя, индуцированными в различных селективных условиях *in vitro*.

Объекты и методы

Объектами исследования служили генотипы ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.): исходная форма – сорт '999-93', созданный методом отбора из гибридной комбинации [(Luly × Conrad) × 2867-80], характеризующийся низкой полевой устойчивостью к кислым почвам; его регенерантные линии (RA) 3–5-го поколения, индуцированные в каллусной культуре по разработанным ранее методам (Shupletsova et al., 2020) на средах со следующими селективными агентами: линия RA_{Al} – 40 мг/л Al³⁺; линия RA_{ПЭГ} – 15-процентный полиэтиленгликоль (ПЭГ) в качестве осмотика; линия RA_{Cd} – 15 мг/л Cd²⁺.

В условиях вегетационного опыта оценивали продуктивные признаки растений и накопление в них ионов кадмия и цинка. Семена высевали в вегетационные емкости (три растения на сосуд объемом 5 л, шесть сосудов в каждом варианте) с дерново-подзолистой почвой, типичной для Кировской области. Схема опыта включала два почвенных фона: 1) контрольный ($pH_{\text{KCl}} = 6,0$); 2) провокационный (с добавлением 5 мг/кг почвы ионов Cd^{2+} при $pH_{\text{KCl}} = 5,2$). Для создания провокационного фона с кадмием в природную кислотную почву вносили $Cd(CH_3COO)_2$, затем ее регулярно увлажняли до 80% от полной влагоемкости и перемешивали в течение месяца для закрепления кадмия в почвенном поглощающем комплексе. Оценивали содержание цинка на обоих почвенных фонах (табл. 1).

Таблица 1. Содержание металлов в почвенных пробах (мг/кг почвы) до посева семян

Table 1. The content of metals in soil samples (mg/kg of soil) before sowing

| Форма | Контроль | | Провокационные условия по кадмию | |
|-----------|-----------------|----------------|----------------------------------|-----------------|
| | Cd^{2+} | Zn^{2+} | Cd^{2+} | Zn^{2+} |
| Подвижная | $0,18 \pm 0,03$ | $4,5 \pm 0,4$ | $4,2 \pm 0,4$ | $5,7 \pm 0,5$ |
| Валовая | $0,44 \pm 0,03$ | $26,8 \pm 2,2$ | $5,9 \pm 0,6$ | $49,9 \pm 13,0$ |

Растения выращивали при естественном освещении до получения семенного потомства. По мере созревания растения извлекали из почвы, отмывали корни, сушили и делили на структурные компоненты (корни, стебель, зерно). В каждом варианте проводили анализ структуры продуктивности растений.

Содержание подвижных и кислоторастворимых (валовых) форм цинка и кадмия в пробах почвы, отобранных в области ризосферы, проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии на приборе «СПЕКТР-5-4». Для этого воздушно-сухие почвенные образцы предварительно экстрагировали ацетатно-аммонийным буфером ($pH = 4,8$) и азотной кислотой при кипячении соответственно (Kuznetsov et al., 1992). Несмотря на то что экстракция металлов из почвы азотной кислотой не всегда позволяет оценивать полученные значения как валовые, применение данной вытяжки характерно при оценке уровня загрязнения почв тяжелыми металлами. В пробах почвы, отобранных в области ризосферы, а также в свободной от корневой системы зоне определяли pH солевой вытяжки из почв потенциометрическим методом в соответствии с ГОСТ 26483-85 (ГОСТ 26483-85..., 1985).

Предварительную подготовку растительных проб для исследования на содержание ТМ осуществляли путем сухой минерализации. Концентрацию ионов цинка и кадмия в растительных тканях ячменя определяли методом инверсионной вольтамперометрии (Collection of methods..., 2004).

Для установления генотипической специфики в поглощении металлов растениями ячменя рассчитывали коэффициент биогеохимической подвижности (КБХП) (индекс аккумуляции – количественный показатель перехода химических элементов из почвы в растение) по формуле:

$$КБХП = \frac{C_p}{C_{пф}}$$

где C_p – содержание ТМ в воздушно-сухой массе органов растения; $C_{пф}$ – содержание подвижных форм ТМ в почве (Tovstik et al., 2020).

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли методом дисперсионного анализа с использованием встроенного статистического пакета Excel (MS Office 2007). В таблицах и на рисунках приведены средние значения из трех аналитических повторений и их квадратичные отклонения (различия значимы при $p \geq 0,95$).

Результаты и обсуждение

Представленные в статье результаты являются продолжением исследований влияния условий культивирования каллусной ткани ячменя на формирование хозяйственно ценных признаков регенерантов. Ранее проведена сравнительная оценка на нейтральном и провокаци-

онных (с алюминием и кадмием) почвенных фонах регенерантных линий ячменя, полученных на основе общего исходного генотипа на селективных средах *in vitro* с ионами металлов и водным дефицитом. Растения-регенеранты характеризовались низким проявлением симптомов окислительного стресса (по уровню перекисного окисления липидов и содержанию фотосинтетических пигментов) на обоих стрессовых фонах, что обеспечило этим генотипам в условиях стресса более высокую семенную продуктивность и адаптивные преимущества по сравнению с исходным генотипом (Shupletsova et al., 2020). В рамках настоящего исследования оценивали аккумуляцию кадмия и цинка растениями ячменя этого же набора генотипов.

Важнейшим фактором, влияющим на подвижность металлов в почве, является кислотность почвенного раствора. Одной из составляющих механизма устойчивости растений к ионной токсичности может быть наличие средообразующей (экскреторной) функции корней, приводящей к подщелачиванию среды и выделению хелатирующих органических кислот. Создание pH-барьера в ризосфере снижает подвижность тяжелых металлов в почве, приводит к их полной или частичной детоксикации, тем самым уменьшая степень ристингирования среды (Sokolova et al., 2012). Анализ кислотности солевых вытяжек из почв, пробы которой были отобраны в области ризосферы и свободной от корневой системы зоне, позволил установить уровень средообразующей активности генотипов ячменя, выращенных на провокационном и контрольном фонах. Результаты предыдущих исследований показали существенное повышение (относительно контроля) уровня pH в зоне ризосферы в кислой почве с алюминием у регенерантной линии RA_{Al} и в меньшей степени у $RA_{пзг}$ (Shupletsova et al., 2020). Однако в присутствии кадмия все исследуемые генотипы снижали интенсивность подщелачивания почвы по сравнению с контрольным фоном: исходный генотип – на 0,8 ед. pH, и менее существенно растения-регенеранты – на 0,4–0,65 ед. pH (значения pH в зоне ризосферы растений

в контрольных условиях выращивания не приведены). На рисунке 1 показано изменение кислотности в почве с кадмием под действием корневых выделений растений. В этих условиях интенсивность подщелачивания почвы регенерантными линиями была незначительной (RA_{Cd} – на уровне исходного генотипа; $RA_{пЭГ}$ – на 0,18 ед. рН выше) или полностью отсутствовала (RA_{Al}). Полученные результаты позволяют предположить, что толерантность к кадмию, приобретенная регенерантным генотипом RA_{Cd} в результате отбора в каллусной культуре, обусловлена механизмами, не связанными со средообразующей активностью корней.

концентрации не превышало 5–7% от первоначального уровня по обоим формам.

На следующем этапе исследований оценивали аккумуляцию металлов в вегетативных и репродуктивных органах растений. На обоих почвенных фонах кадмий накапливался в основном в корневых тканях ячменя. Содержание токсичного металла последовательно снижалось при переходе в стебель и зерно (табл. 2). Распределение кадмия по органам растений в зависимости от генотипа изменялось следующим образом: на провокационном фоне – корни (91,9–93,4%) > стебли (5,9–7,8%) > зерно (0,5–0,8%); при сохранении этой же тенденции

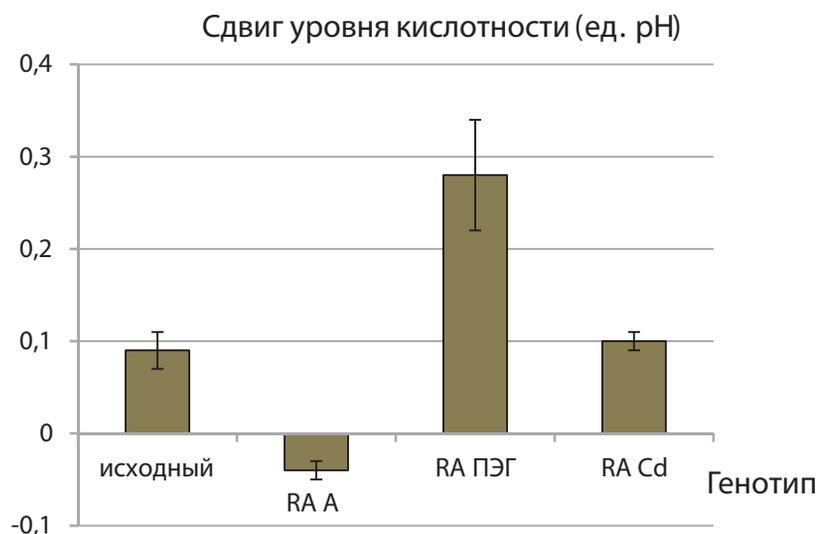


Рис. 1. Величина изменения уровня рН в зоне ризосферы растений ячменя при культивировании на почвенном фоне с кадмием в условиях вегетационного опыта

Fig. 1. The magnitude of the change in pH in the rhizosphere of barley plants during cultivation on soil backgrounds with cadmium under the conditions of a plant growth experiment

По окончании вегетации растений помимо кислотности в почвенных пробах определяли остаточное количество кадмия и цинка. Содержание кадмия в контрольных условиях менялось незначительно по сравнению с начальным уровнем (до посева семян). На провокационном фоне при сохранении уровня валовых форм изменялась концентрация подвижных соединений (в мг/кг почвы): значительно – у исходного генотипа ($1,87 \pm 0,56$), регенерантных линий RA_{Al} ($1,69 \pm 0,50$) и $RA_{пЭГ}$ ($1,52 \pm 0,75$), в меньшей степени – у RA_{Cd} ($3,24 \pm 0,56$). Снижение подвижного кадмия провокационного фона свидетельствовало об активном выносе ионов растениями в кислой почвенной среде на фоне высокой концентрации металла.

Исследуемые почвенные образцы характеризовались содержанием цинка значительно ниже установленного значения ПДК, на уровне нижней допустимой границы подвижных соединений в почве сельхозугодий (не менее 4–6 мг/кг), и тем самым были отнесены к классу низкообеспеченных почв. В контрольных условиях в результате выноса растениями концентрация цинка снижалась относительно первоначального уровня и достигала значений в зависимости от генотипов ячменя: 13,5–21,0 мг/кг для валовых форм (снижение на 21,7–49,7%) и 3,06–4,02 мг/кг для подвижных соединений (снижение на 11,2–32,0%). На провокационном фоне вынос цинка растениями происходил менее активно, снижение его

в контроле – корни (78,5–83,2%) > стебли (13,2–19,7%) > зерно (1,4–5,5%). Количество металла в зерне ячменя, выращенного на провокационном фоне, увеличивалось по сравнению с контролем у исходной формы в 11 раз и в меньшей степени у регенерантов – от 2,8 до 6,8 раз. Следует отметить, что содержание кадмия в зерне регенерантных генотипов RA_{Cd} (0,041 мг/кг) и RA_{Al} (0,036 мг/кг), прошедших отбор в кислых средах *in vitro* с ионной токсичностью металлов, было ниже по сравнению с исходным генотипом (0,055 мг/кг) и $RA_{пЭГ}$ (0,075 мг/кг). Если на контрольном фоне суммарный вынос кадмия растениями колебался в небольших пределах (0,25–0,39 мг на 1 кг сухой фитомассы), то на почве с избыточным кадмием различия между генотипами были значительные (мг на 1 кг сухой фитомассы): исходный генотип – 6,2; RA_{Al} – 7,2; $RA_{пЭГ}$ – 10,3 и RA_{Cd} – 5,8; в целом аккумуляция металла проходила активнее в 10–15 раз по сравнению с контролем. Расчет значений коэффициента биогеохимической подвижности (КБХП) подтвердил наблюдаемую специфику в поглощении токсичного металла органами растений. Отчетливо прослеживалось функционирование физиологических барьеров на границах «корень – стебель» и в меньшей степени – «стебель – репродуктивные органы». Так, КБХП, рассчитанные для корней на контрольном (1,9–3,2) и кадмиевом (2,5–3,9) фонах, последовательно на порядок снижались при переходе от корня на следующие функциональные уровни

Таблица 2. Содержание (мг/кг) / КБХП цинка и кадмия в вегетативных и репродуктивных органах ячменя
Table 2. Content (mg/kg) / biogeochemical mobility coefficient of zinc and cadmium in vegetative and reproductive organs of barley

| Генотип растений | Почвенный фон | | | |
|-------------------|--------------------------------|------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| | Контроль | | Провокационный по кадмию | |
| | Cd | Zn | Cd | Zn |
| Корни | | | | |
| Исходный генотип | $\frac{0,22 \pm 0,08}{1,9}$ | $\frac{9,2 \pm 3,6}{1,5}$ | $\frac{5,7 \pm 1,9}{3,4}$ | $\frac{22,0 \pm 9,0}{20,5}$ |
| RA _{Al} | $\frac{0,21 \pm 0,08}{1,5}$ | $\frac{13,9 \pm 5,4}{2,8}$ | $\frac{6,6 \pm 2,6}{3,9}$ | $\frac{8,5 \pm 3,3}{5,3}$ |
| RA _{пэг} | $\frac{0,38 \pm 0,15}{3,2}$ | $\frac{46,0 \pm 15,4}{8,9}$ | $\frac{9,5 \pm 2,7}{3,2}$ | $\frac{3,3 \pm 1,3}{1,5}$ |
| RA _{Cd} | $\frac{0,24 \pm 0,09}{2,0}$ | $\frac{42,0 \pm 15,0}{7,4}$ | $\frac{5,5 \pm 2,1}{2,5}$ | $\frac{1,9 \pm 0,8}{0,8}$ |
| Стебель | | | | |
| Исходный генотип | $\frac{0,058 \pm 0,023}{0,53}$ | $\frac{79,7 \pm 20,3}{13,3}$ | $\frac{0,45 \pm 0,18}{0,2}$ | $\frac{3,5 \pm 1,3}{3,2}$ |
| RA _{Al} | $\frac{0,033 \pm 0,013}{0,23}$ | $\frac{40,0 \pm 15,0}{7,8}$ | $\frac{0,56 \pm 0,20}{0,3}$ | $\frac{21,1 \pm 8,0}{13,3}$ |
| RA _{пэг} | $\frac{0,064 \pm 0,025}{0,53}$ | $\frac{34,0 \pm 13,0}{6,8}$ | $\frac{0,68 \pm 0,21}{0,2}$ | $\frac{3,9 \pm 1,5}{1,8}$ |
| RA _{Cd} | $\frac{0,047 \pm 0,018}{0,39}$ | $\frac{76,0 \pm 30,0}{13,4}$ | $\frac{0,35 \pm 0,14}{0,1}$ | $\frac{2,2 \pm 0,1}{0,1}$ |
| Зерно | | | | |
| Исходный генотип | $\frac{0,005 \pm 0,001}{0,04}$ | $\frac{60,1 \pm 23,6}{9,9}$ | $\frac{0,055 \pm 0,011}{0,03}$ | $\frac{11,9 \pm 2,1}{11,3}$ |
| RA _{Al} | $\frac{0,009 \pm 0,003}{0,06}$ | $\frac{12,2 \pm 4,8}{2,3}$ | $\frac{0,036 \pm 0,008^*}{0,02}$ | $\frac{9,2 \pm 3,6}{5,7}$ |
| RA _{пэг} | $\frac{0,026 \pm 0,010}{0,22}$ | $\frac{53,4 \pm 21,6}{10,4}$ | $\frac{0,075 \pm 0,019}{0,03}$ | $\frac{9,0 \pm 3,5}{4,1}$ |
| RA _{Cd} | $\frac{0,006 \pm 0,001}{0,04}$ | $\frac{19,8 \pm 8,2}{3,4}$ | $\frac{0,041 \pm 0,009}{0,02}$ | $\frac{6,1 \pm 2,4}{2,5}$ |

Примечание: ПДК в зерне Zn – 50,0; Cd – 0,1 мг/кг

Note: MPC in grain are 50.0 for Zn, and 0.1 mg/kg for Cd

(в стебель и зерно), составив значения много меньше 1 (доступных форм кадмия в почве больше, чем содержится в данном органе растения). Наименьшее значение КБХП для всех структурных компонентов отмечены у регенерантной линии RA_{Cd}.

Аккумуляция цинка ячменем, в отличие от токсичного металла, не имела характер последовательного снижения в системе «корень – стебель – зерно» и зависела от генотипа, органа и условий произрастания растений. При благоприятных условиях выращивания суммарное накопление цинка у сравниваемых генотипов колебалось в пределах 65,9–149,9 мг/кг сухой фитомассы. Металл перемещался из корней и накапливался в надземных частях (доля от общего содержания): в стебле (25,6–60,7%) и зерне (13,9–40,0%). В провокационных условиях общее количество цинка в растительных тканях сни-

жалось в 1,7–16,7 раз в зависимости от генотипа (мг/кг сухой фитомассы: исходный генотип – 37,4; RA_{Al} – 38,8; RA_{пэг} – 16,2 и RA_{Cd} – 10,2). Отмечены органы растений, где цинк накапливался в максимальном количестве: в корнях (исходный генотип – 58,7%), стебле (RA_{Al} – 54,1%), зерне (RA_{пэг} – 55,6% и RA_{Cd} – 59,8%). Внесение экзогенного кадмия в почву снижало содержание цинка в зерне всех растений по сравнению с контрольным фоном: в 5–6 раз у исходного генотипа и RA_{пэг}, в меньшей степени у RA_{Al} и RA_{Cd} (в 1,3 и 3,0 раза). Рассчитанные коэффициенты аккумуляции (КБХП > 1) подтвердили активный вынос цинка как корнями, так и надземными органами на обоих почвенных фонах. Исключением являлась регенерантная линия RA_{Cd}. Выявлено, что значения КБХП обоих металлов, рассчитанные для всех органов растений этой линии в провокационных условиях,

были минимальными по сравнению с остальными генотипами, что указывает на относительно слабую аккумуляцию как цинка, так и кадмия растительными тканями RA_{Cd} .

Особый интерес представляет вопрос о наличии связи между устойчивостью организмов и накоплением в них ТМ. Возможно, что устойчивость к металлам и способность к биоаккумуляции контролируются различными генетическими системами. Оценка стрессоустойчивости чаще всего базируется на анализе видимых изменений морфологии растений при воздействии критических доз токсикантов. Исходя из этого, проводили сопоставление продуктивных признаков при выращивании ячменя в контрольных и провокационных условиях. На благоприятном почвенном фоне регенерантная линия RA_{Al} имела преимущество перед $RA_{PЭГ}$ и RA_{Cd} в продуктивной кустистости (на 24 и 29,5%) и массе зерна с растения (20 и 36%), однако различие с исходным генотипом было недостоверным (рис. 2).

Присутствие избыточного кадмия в почве негативно сказывалось на формировании продуктивных признаков ячменя. Однако регенерантные линии, независимо от условий их отбора в каллусной культуре, достоверно превосходили исходный генотип по числу зерен (на 9,4–36,5%) и массе зерна с растения (на 9,7–35,5%). К токсичности ионов кадмия в почве в большей степени были адаптированы растения регенерантной линии RA_{Cd} , которые не снижали высоту и продуктивную кустистость в присутствии почвенного стрессора по сравнению с контрольными условиями, а по структурным показателям максимально среди регенерантных линий превышали исходный генотип.

Заключение

Проведенные исследования показали неодинаковый характер аккумуляции ионов токсичного и эссенциального металлов растительными тканями ячменя, завися-

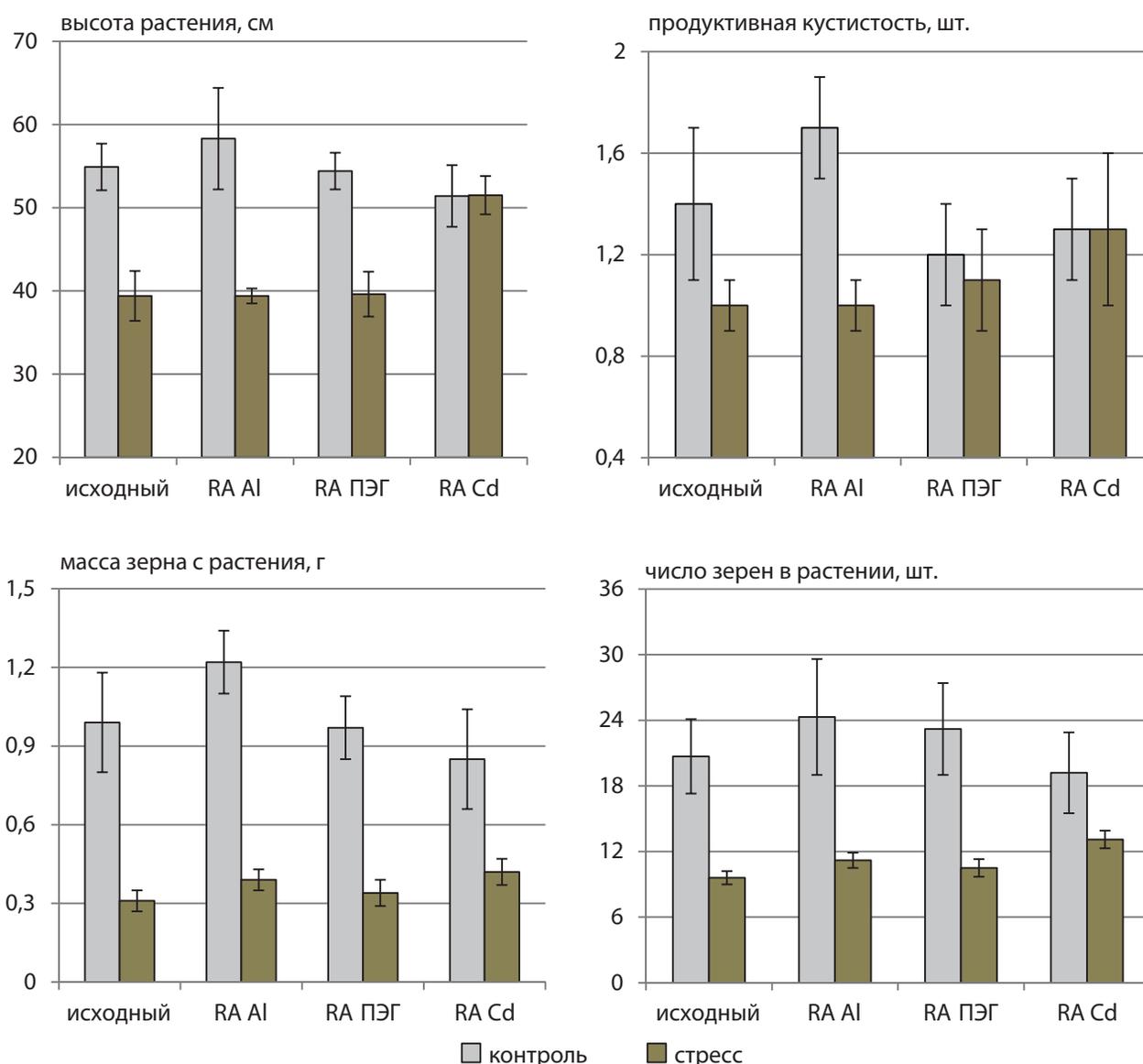


Рис. 2. Продуктивные признаки растений ячменя сорта '999-93' и его регенерантных форм в условиях вегетационного опыта в зависимости от почвенного фона

Fig. 2. Productive characters shown by barley plants of cv. '999-93' and its regenerants under the conditions of the growth experiment depending on soil backgrounds

ций не только от концентрации ионов в корнеобитаемой среде, но и от генетической специфики растений. Выращивание в почве с высоким содержанием подвижного кадмия привело к проявлению у растений приспособительных реакций, направленных на снижение его фитотоксичности. В условиях заявленной кислотности провокационного фона относительно слабая средообразующая активность корней как исходного генотипа, так и его регенерантных линий (максимальное подщелачивание в зоне ризосферы не превышало $0,28 \pm 0,6$ ед. рН) не позволяла говорить о значительном вкладе данного механизма в ослабление ростингибирующего действия токсичных ионов (в рамках «стратегии избегания») и тем самым препятствовать поступлению в растительные ткани.

Высокое содержание кадмия в почве усиливало его накопление во всех органах растений по сравнению с контрольными условиями. На обоих почвенных фонах основную барьерную функцию по инактивации токсичных ионов выполняли корни и в меньшей степени стебли растений, препятствующие проникновению металла в регенеративные органы, что вполне согласуется с литературными данными подобных исследований. Роль корней в ограничении поступления токсичного металла в надземные органы возрастала в условиях стресса. В провокационных условиях растения-регенеранты RA_{cd} накапливали токсичные ионы по сравнению с исходным генотипом и другими регенерантными линиями в меньшем количестве во всех органах и, как следствие, имели наименьший суммарный вынос металла. Кроме того, барьерные функции корневых тканей RA_{cd}, задерживающих кадмий (93,4%), были выражены в большей степени по сравнению с другими генотипами. В отсутствии почвенных стрессоров существенных различий между генотипами не выявлено.

Избыток кадмия в почве тормозил транслокацию цинка в растения ячменя, что вполне объясняется взаимозамещением этих металлов в метаболических процессах. На обоих почвенных фонах содержание цинка в растительных тканях зависело от генотипа растений. Однако не выявлено четкой градации по значимости того или иного органа в аккумуляции цинка и наличия функциональных барьеров, препятствующих этому процессу. Растения-регенеранты RA_{cd} в наибольшей степени были способны нивелировать тормозящий эффект кадмия на аккумуляцию цинка. Кроме того, регенеранты RA_{cd} и RA_{пэрг} характеризовались наименьшим выносом цинка в провокационных условиях. Однако именно эти генотипы основное количество поглощенного металла аккумулялировали в зерне, что имеет значение для сохранения качества зерновой продукции на почвах с цинковой недостаточностью.

Среди исследованных генотипов регенерантная линия RA_{cd} имела наибольшую устойчивость к кадмию. Адаптационные преимущества RA_{cd}, по-видимому, были обусловлены соматоклональной изменчивостью, возникающей при проведении ячменя через культуру изолированной ткани и отборе устойчивых каллусов на селективных средах с токсичностью кадмия. Активизация этого адаптационного механизма уже у регенерированных растений, а впоследствии регенерантных линий, обеспечило RA_{cd} повышенную способность к ограничению поступления токсичных ионов в растительные ткани и позволило в условиях стресса сохранить или минимально снизить развитие продуктивных признаков по сравнению с контролем, что в конечном итоге подтверждает

эффективность данной селективной системы *in vitro* в получении устойчивых к кадмию генотипов. У регенерантных линий, полученных в процессе клеточной селекции иной направленности, подобные преимущества в стрессовых условиях были в большинстве случаев недостоверными (RA_{дл}) или полностью отсутствовали (RA_{пэрг}). Полученные результаты указывают на отсутствие приспособительных реакций неспецифического характера, связанных с повышением барьерных функций корней при поглощении кадмия регенерантами, полученными в процессе отборов *in vitro* со стрессорами другой природы.

Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального аграрного научного центра Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого по теме № 0767-2019-0093 «Разработка и реализация фундаментальных научно-методических подходов мобилизации, изучения, создания (в том числе с использованием биотехнологий) и поддержания уникальных природных и экспериментальных генетических ресурсов яровых зерновых культур (пшеница, ячмень, овес); моделей сортов с повышенной продуктивностью и устойчивостью к действию стрессовых биотических и абиотических факторов, с улучшенными селекционно-ценными признаками; технологии управления продукционным процессом с учетом эдафических и биотических стрессовых факторов европейского Северо-Востока России, локального и глобального изменения климата для решения актуальных задач обеспечения импортозамещения и улучшения качества питания населения».

The work was done within the framework of the State Task delegated to the Federal Agricultural Research Center of the North-East named after N.V. Rudnitsky, Project No. 0767-2019-0093 "Development and implementation of fundamental scientific and methodological approaches to mobilize, study, develop (including the use of biotechnology) and maintain unique natural and experimental genetic resources of spring cereal crops (wheat, barley, and oats); models of cultivars with increased productivity and resistance to biotic and abiotic stressor, with improved traits useful for breeding; technologies for managing the production process, taking into account edaphic and biotic stressors of the European Northeast of Russia, and local and global climate change, to solve urgent problems of ensuring import substitution and improving the quality of nutrition of the population".

References / Литература

- Belyaeva A.I. Resistance to the excess of heavy metals in cereal cultivars that differ in acidity resistance (Ustoychivost k izbytku tyazhelykh metallo sortov khlebynykh zlakov, otlichayushchikhsya po kisloutoychivosti). In: *Proceedings of the Annual Meeting of the Society of Plant Physiologists of Russia, International Scientific Conference "Physical and Chemical Mechanisms of Plant adaptation to Anthropogenic Pollution in the Far North."* (Apatity, June 07–11, 2009) (Sbornik materialov Godichnogo sobraniya Obshchestva fiziologov Rossii, Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii "Fiziko-khimochemskie mekhanizmy adaptatsii rasteniy k antropogennomu zagryazneniyu v usloviyakh Kraynego Severa" [Apatity, 07–11 iyunya 2009 g.]. Apatity; 2009. p.206-207. [in Russian] (Беляева А.И. Устойчивость к избытку тяжелых металлов

- сортов хлебных злаков, отличающихся по устойчивости. В кн.: *Сборник материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России, Международной научной конференции «Физико-химические механизмы адаптации растений к антропогенному загрязнению в условиях Крайнего Севера» (Апатиты, 07–11 июня 2009 г.)*. Апатиты; 2009. С.206-207).
- Chetverikova N.S., Martsinevskaya L.V. Cadmium in agricultural landscapes forest-steppe zone of Central Chernozem Region. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2013;7:69-70. [in Russian] (Четверикова Н.С., Марциневская Л.В. Кадмий в агроландшафтах лесостепной Зоны ЦЧО. *Достижения науки и техники АПК*. 2013;7:69-70).
- Collection of methods for measuring mass concentration of copper, lead, cadmium, zinc, bismuth, manganese, nickel and cobalt ions by voltammetry on the Ecotest-VA voltammetric analyzer (Sbornik metodik izmereniy massovoy kontsentratsii ionov medi, svintsa, kadmiya, tsinka, vismuta, margantsa, nikelya i kobalta metodom voltampermetrii na voltampermetricheskom analizatore "Ecotest-VA"). Moscow; 2004. [in Russian] (Сборник методик измерений массовой концентрации ионов меди, свинца, кадмия, цинка, висмута, марганца, никеля и кобальта методом вольтамперометрии на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА». Москва; 2004).
- Đalović I.G., Maksimović I.V., Kastori R.R., Jelić M. Ž. Mechanisms of adaptation of small grains to soil acidity. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke = Matica Srpska Journal for Natural Sciences*. 2010;118:107-120. DOI: 10.2298/ZMSPN1018107D
- Gorban D.N., Yurgenson G.A. Lead in system the soil – plant in the landscape of the Sherlovogorsky mining area on the example of *Polygonum angustifolium* Pallas (Poiygonaceae). *Advances in Current Natural Sciences*. 2016;12(2):375-379. [in Russian] (Горбань Д.Н., Юргенсон Г.А. Свинец в системе почва – растение в ландшафте Шерловогорского горнорудного района на примере *Polygonum angustifolium* Pallas (Polygonaceae). *Успехи современного естествознания*. 2016;12(2):375-379).
- Gordeev A.V., Romanenko G.A. (eds). Problems of degradation and productivity restoration of agricultural lands in Russia (Problemy degradatsii i vosstanovleniya produktivnosti zemel selskokhozyaystvennogo naznacheniya v Rossii). Moscow; 2008. [in Russian] (Проблемы деградации и восстановления продуктивности земель сельскохозяйственного назначения в России / под ред. А.В. Гордеева, Г.А. Романенко. Москва; 2008).
- GOST 26483-85. Soils. Preparation of salt extract and determination of its pH by CINAО method. Moscow: Standards Publishing House; 1985. [in Russian] (ГОСТ 26483-85. Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение ее pH по методу ЦИНАО. Москва: Издательство стандартов; 1985). URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200023490> [дата обращения: 01.06.2020].
- Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Al-Juburi H.J., Somasundaram R. et al. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2009;11(1):100-105.
- Kaznina N.M., Titov A.F. The influence of cadmium on physiological processes and productivity of Poaceae plants. *Advances in Current Biology*. 2013;133(6):588-603. [in Russian] (Казнина Н.М., Титов А.Ф. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Poaceae. *Успехи современной биологии*. 2013;133(6):588-603).
- Kosareva I.A. The study of crops and wild relatives collections for signs of resistance to toxic elements of acid soils. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;170:34-44. [in Russian] (Косарева И.А. Изучение коллекций сельскохозяйственных культур и диких родичей по признакам устойчивости к токсическим элементам кислых почв. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;170:34-44).
- Kuznetsov A.V., Fesyun A.P., Samokhvalov S.G., Makhonko E.P. Guidelines for the determination of heavy metals in farmland soils and crop production (Metodicheskiye ukazaniya po opredeleniyu tyazhelykh metallov v pochvakh selkhozugodiy i produktsii rasteniyevodstva). Moscow; 1992. [in Russian] (Кузнецов А.В., Фесюн А.П., Самохвалов С.Г., Махонько Э.П. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. Москва; 1992).
- Lisitsyn E.M., Shikhova L.N. Modification of barley's pigment complex structure by ions of lead and cadmium. *Agrarian Journal of Upper Volga Region*. 2016;(3):30-36. [in Russian] (Лисицын Е.М., Шихова Л.Н. Модификация структуры пигментного комплекса ячменя ионами свинца и кадмия. *Аграрный вестник Верхневолжья*. 2016;(3):30-36).
- Nagajyoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*. 2010;8(3):199-216. DOI: 10.1007/s10311-010-0297-8
- Rizwan M., Ali S., Ur Rehman M.Z., Maqbool A. A critical review on the effects of zinc at toxic levels of cadmium in plants. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019;26(7):6279-6289. DOI: 10.1007/s11356-019-04174-6
- Sakellariou M., Mylona P.V. New uses for traditional crops: The case of barley biofortification. *Agronomy*. 2020;10(12):1964. DOI: 10.3390/agronomy10121964
- Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., Zhukovskaya N.V., Schat H. Cadmium tolerance and accumulation in *Excluder Thlaspi arvense* and various accessions of hyperaccumulator *Nocca caerulea*. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015;62(6):837-846. DOI: 10.1134/S1021443715050131
- Shchennikova I.N. Models of spring barley's varieties for conditions of Volga-Vyatka region. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2015;6(49):9-13 [in Russian] (Щенникова И.Н. Модели сортов ярового ячменя для условий Волго-Вятского региона. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2015;6(49):9-13).
- Shikhova L.N., Egoshina T.L. Heavy metals in soils and plants of the North-East of European Russia (Tyazhelye metally v pochvakh i rasteniyakh Severo-Vostoka yevropeyskoy chasti Rossii). Kirov; 2004. [in Russian] (Шихова Л.Н., Егошина Т.Л. Тяжелые металлы в почвах и растениях Северо-Востока европейской части России. Киров; 2004).
- Shupletsova O.N., Ogorodnikova S.Yu., Nazarova Ya.I. Effects of nonspecific resistance of barley genotypes obtained by cell selection. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(4):192-199. [in Russian] (Шуплецова О.Н., Огородникова С.Ю., Назарова Я.И. Эффекты неспецифической устойчивости гено-

пов ячменя, полученных путем клеточной селекции. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(4):192-199). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-192-199

Sokolova T.A., Tolpeshta I.I., Trofimov S.Ya. Soil acidity. Acid-base soil buffering. Aluminum compounds in the solid phase of the soil and in the soil solution (Pochvennaya kislotnost. Kislотно-osnovnaya bufernost pochv. Soyedineniya aliuminiya v tverdoy faze pochvy i v pochvennom rastvore). 2nd ed. Tula: Grif & Co.; 2012. [in Russian] (Соколова Т.А., Толпешта И.И., Трофимов С.Я. Почвенная кислотность. Кислотно-основная буферность почв. Соединения алюминия в твердой фазе почвы и в почвенном растворе. 2-е изд. Тула: Гриф и К; 2012). URL: <http://soil.msu.ru/attachments/arti->

[cle/1366/Почвенная%20кислотность.pdf](http://soil.msu.ru/attachments/arti-cle/1366/Почвенная%20кислотность.pdf) [дата обращения: 27.07.2020].

Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. Heavy metals and plants (Tyazhelye metally i rasteniya). Petrozavodsk; 2014. [in Russian] (Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск; 2014).

Tovstik E.V., Popova A.A., Shupletsova O.N. Accumulation of zinc and cadmium in barley plants obtained by cellular selection method. *Ecobiotech*. 2020;3(2):292-297. [in Russian] (Товстик Е.В., Попова А.А., Шуплецова О.Н. Накопление цинка и кадмия в растениях ячменя, полученных методом клеточной селекции. *Экобиотех*. 2020;3(2):292-297). DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-2-292-297

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Шуплецова О.Н., Товстик Е.В. Аккумуляция кадмия и цинка регенерантами ячменя на провокационном почвенном фоне с кадмием. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2021;182(4):117-125. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-4-117-125

Shupletsova O.N., Tovstik E.V. Accumulation of cadmium and zinc in barley regenerants on a provocative soil background with cadmium. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2021;182(4):117-125. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-4-117-125

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2021-4-117-125>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID

Shupletsova O.N. <https://orcid.org/0000-0003-4679-0717>

Tovstik E.V. <https://orcid.org/0000-0003-1861-6076>