

Анализ и отбор генотипов

УДК 635.656:631.522/.524

doi: 10.15389/agrobiologia.2017.3.597rus

СОРТА ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*Pisum sativum* L.) С НИЗКОЙ АККУМУЛЯЦИЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ***Я.В. ПУХАЛЬСКИЙ¹, М.А. ВИШНЯКОВА², С.И. ЛОСКУТОВ¹, Е.В. СЕМЕНОВА²,
Э.А. СЕКСТЕ¹, А.И. ШАПОШНИКОВ², В.И. САФРОНОВА¹, А.А. БЕЛИМОВ¹,
И.А. ТИХОНОВИЧ^{1, 3}**

Тяжелые металлы — один из самых распространенных загрязнителей сельскохозяйственных земель. Очистка (ремедиация) таких территорий затруднительна или невозможна. Перспективным подходом для получения экологически чистой продукции растениеводства на загрязненных почвах может быть селекция сортов с пониженной аккумуляцией тяжелых металлов. Целью представленной работы было изучение изменчивости гороха посевого (*Pisum sativum* L.) по способности аккумулировать и транспортировать из побега в семена тяжелые металлы и отбор сортов с низкой аккумуляцией тяжелых металлов из загрязненных почв. Объектом исследований стали 30 образцов из коллекции ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург). Вегетационный опыт проводили в летний период в теплице с естественными освещением и температурой (Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург). Семена гороха поверхностно стерилизовали и скарифицировали концентрированной H_2SO_4 в течение 30 мин, после чего проращивали течение 3 сут при 22 °С в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге. Проростки (по 5 шт.) высаживали в сосуды (3 сосуда на каждый генотип) с 5 кг дерново-подзолистой залежной почвы. За 10 сут до посева семян почву обогащали тяжелыми металлами в форме хлоридов (мг/кг): Cd — 5, Co — 25, Cr — 60, Cu — 10, Ni — 15, Pb — 100, Sr — 50, Zn — 50. Одновременно с этим вносили удобрения (мг/кг): NH_4NO_3 — 15, KNO_3 — 200, KH_2PO_4 — 200, $MgSO_4$ — 30, $CaCl_2$ — 20, H_3BO_3 — 3, $MnSO_4$ — 3, $ZnSO_4$ — 3, Na_2MoO_4 — 1,5. Растения выращивали до фазы созревания семян, высушивали и размалывали до порошкообразного состояния. Образцы (отдельно побеги и семена) сжигали в смеси концентрированной азотной кислоты и 38 % H_2O_2 . Содержание тяжелых металлов и питательных элементов определяли на спектрометре ICPE-9000 («Shimadzu», Япония). Изученные образцы существенно различались по накоплению тяжелых металлов в побегах и семенах, что свидетельствует о высокой вариабельности гороха посевого по аккумуляции тяжелых металлов и их транспорту из вегетативных органов в репродуктивные. Значения вариабельности для побегов и семян были сопоставимы по величине, но не коррелировали друг с другом. Содержание в побегах или семенах тяжелых металлов, а также питательных элементов во многих случаях положительно коррелировало, что могло быть связано с многообразием молекулярных транспортных каналов у растений и их низкой специфичностью. Между количеством Cd, Co, Cr, Ni, P, Sr в побегах и семенах выявлена положительная корреляция, Zn и K — отрицательная. Полученные результаты свидетельствуют о специфичности механизмов, определяющих транспорт индивидуальных элементов из побега в семена, и барьера для транспорта абиогенных металлов из вегетативных органов в репродуктивные. Эффективность этих механизмов существенно зависит от генотипа растения. Показана возможность селекции сортов гороха с низким содержанием одновременно многих тяжелых металлов. Образцы гороха к-188, к-1027, к-1250, к-2593, к-3445, к-4788, к-5012, к-6468, к-8093 и к-8543 рекомендуется использовать в селекционных программах с целью получения экологически чистой продукции.

Ключевые слова: биоразнообразие, горох, загрязнение почв, тяжелые металлы, экологически чистая продукция.

При нарастающем антропогенном загрязнении среды особую актуальность приобретает поиск экологически безопасных и энергосберегающих подходов для развития устойчивого земледелия и обеспечения населения качественными продуктами питания. Тяжелые металлы (ТМ) (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn), относящиеся к высшему классу гигиенической опасности, — один из самых распространенных загрязнителей почвы. Общая площадь загрязненных ТМ сельскохозяйственных земель в России составляет около 150 тыс. га (1). В основном это почвы со средней или слабой загрязненностью ТМ, которая не оказывает токсичного действия на рост

* Работа выполнена при поддержке РНФ (экспериментальная часть — за счет проекта № 14-16-00137, статистическая и биоинформационная обработка данных — за счет проекта № 14-26-00094).

растений, но приводит к превышению предельно допустимого содержания ТМ для сельскохозяйственной продукции. Очистка (ремедиация) таких территорий чрезвычайно затруднительна, дорогостояща или невозможна. Перспективным подходом для получения экологически чистой продукции может быть селекция сортов с пониженной аккумуляцией тяжелых металлов (2-4) в противоположность технологиям фитоэкстракции (5).

Известно, что многие сельскохозяйственные культуры, включая бобовые (6-8), масличные (7, 8) и злаковые (9-11), значительно различаются по степени накопления ТМ. Описан также высокий внутривидовой полиморфизм по содержанию ТМ у нескольких культур, в том числе бобовых: существенные сортовые различия по способности накапливать Cd из загрязненной почвы выявлены у сои (6, 12), арахиса (6) и фасоли (6, 13), по Zn — у сои (14), Pb и Zn — у фасоли (13). Однако во многих экспериментах сравнивали ограниченное число сортов (от 2 до 20), которые не отражали всего разнообразия, истории и степени окультуривания вида, что снижает ценность таких исследований для изучения полиморфизма признака.

Мы впервые показали значительную внутривидовую вариабельность гороха посевного (*Pisum sativum* L.) по аккумуляции ТМ в побегах при сравнении 99 образцов (в основном примитивных и местных сортов) из коллекции ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург), выращенных на обогащенной смесью тяжелых металлов (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr, Zn) почве (15), и установили, что накопление этих металлов в побегах различалось кратно в зависимости от генотипа растения. В результате были выявлены образцы с низким содержанием нескольких ТМ в побегах, которые послужили объектом представляемого исследования.

В настоящей работе впервые проведен отбор исходного материала гороха посевного для селекции сортов, способных противостоять накоплению тяжелых металлов в биомассе на загрязненных почвах.

Нашей целью было изучение внутривидовой изменчивости гороха посевного по способности аккумулировать и транспортировать из побега в семена тяжелые металлы и выявление взаимосвязи этих процессов с потреблением растениями питательных элементов.

Методика. Объектом исследований стали 30 образцов гороха посевного (*Pisum sativum* L.) из коллекции ВИР, часть которых (к-188, к-1027, к-1250, к-1693, к-2593, к-3445, к-4788, к-5012, к-6468, к-6883, к-7131, к-8093, к-8543) характеризовались низким накоплением ТМ из загрязненной почвы (15). Кроме того, на основании оценочных баз данных коллекции ВИР были привлечены сорта и линии из разных стран, обладающие ценными агрономическими признаками (высокая продуктивность и содержание белка, многоплодность и др.): к-6935, к-8861, к-8862, к-9283, к-9384, к-9385, к-9386, к-9389, к-9465, к-9509, к-9510, к-9526, к-9540 и к-9566. Контролем служили образцы к-1658, к-1930, к-8274 с высоким содержанием ТМ в побегах при выращивании на загрязненной почве (15).

Вегетационный опыт проводили в летний период в теплице с естественным освещением и температурой (Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург). Семена гороха поверхностно стерилизовали и скарифицировали концентрированной H_2SO_4 в течение 30 мин, после чего проращивали течение 3 сут при 22 °С в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге. Проростки высаживали в сосуды (по 5 шт., 3 сосуда на каждый генотип), содержащие 5 кг дерново-подзолистой залежной почвы с содержанием $C_{\text{общ.}}$ 2,34±0,05 %, $N_{\text{общ.}}$ — 0,18±0,1 %, N_{NO_3} — 1,5±0,2 мг N/100 г, $P_{\text{подв.}}$ — 7,7±0,6 мг P/100 г, $K_{\text{подв.}}$ —

13,5±0,9 мг К/100 г; рН_{KCl} 6,6±0,1. Агрехимическую характеристику почвы определяли стандартными методами (16). За 10 сут до посева семян почву обогащали тяжелыми металлами в форме хлоридов (мг/кг): Cd — 5, Co — 25, Cr — 60, Cu — 10, Ni — 15, Pb — 100, Sr — 50, Zn — 50. Одновременно с этим вносили удобрения (мг/кг): NH₄NO₃ — 15, KNO₃ — 200, KH₂PO₄ — 200, MgSO₄ — 30, CaCl₂ — 20, H₃BO₃ — 3, MnSO₄ — 3, ZnSO₄ — 3, Na₂MoO₄ — 1,5. На протяжении эксперимента поддерживали влажность почвы 60-70 % от полной влагоемкости, добавляя воду (до одинаковой массы сосудов). Растения выращивали до фазы созревания семян, высушивали и размалывали до порошкообразного состояния; образцы (отдельно побеги и семена) сжигали в смеси концентрированной азотной кислоты и 38 % H₂O₂ при 70 °С в графитовой печи DigiBlock («LabTech», Италия). Содержание тяжелых металлов и питательных элементов определяли на спектрометре ICPE-9000 («Shimadzu», Япония) по методике производителя.

Статистическую обработку данных проводили методами дисперсионного, корреляционного и кластерного анализа с помощью программ Statistica 8.0 («StatSoft Inc.», США) и DIANA (17). Кластерный анализ стандартизированных значений (СЗ) содержания элементов осуществляли методом Варда с использованием квадратов евклидовых расстояний. Индекс содержания тяжелых металлов (ИСТМ) рассчитывали как среднюю величину стандартизированных значений содержания всех тяжелых металлов (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr, Zn) в побегах и семенах.

Результаты. Изученные образцы гороха (табл. 1) существенно различались по содержанию тяжелых металлов в побегах (табл. 2).

1. Образцы гороха посевного (*Pisum sativum* L.), оцененные по способности аккумулировать и транспортировать тяжелые металлы из побега в семена (коллекция ВИР — Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург)

№ в каталоге ВИР	Название	Происхождение	Направление использования
к-188	Махорг	Памир	Кормовое
к-1027	Без названия	Германия до 1949 года	Кормовое
к-1250	Местный	Таджикистан, Памир, Ярхыч	Кормовое
к-1658	Вейбуля	Швеция	Кормовое
к-1693	Без названия	Великобритания	Овощное
к-1930	Местный	Италия	Зерновое
к-2593	Местный	Кипр	Зерновое
к-3445	Без названия	Азербайджан	Зерновое
к-4788	Без названия	Монголия	Кормовое
к-5012	Ojo negro especial	Аргентина	Зерно-овощное
к-6468	Местный	Судан	Зерновое
к-6883	Местный	Узбекистан	Кормовое
к-6935	Preclamex	Франция	Овощное
к-7131	Местный	Тунис	Овощное
к-8093	Telephone	Мадагаскар	Овощное
к-8274	Vendevil	Франция	Зерно-овощное
к-8543	Fillbasket	Шри Ланка	Зерно-овощное
к-8861	Лучезарный	Россия, Кировская область	Зерновое
к-8862	Агат	Белоруссия	Кормовое
к-9283	Николка	Россия, Тюменская область	Кормовое
к-9384	Фаленский усатый	Россия, Кировская область	Зерновое
к-9385	Борей	Россия, Кировская область	Кормовое
к-9386	Г-16992	Россия, Кировская область	Зерновое
к-9389	Д-13560	Россия, Кировская область	Кормовое
к-9465	Тюменец	Россия, Тюменская область	Зерновое
к-9509	Влад	Беларусь	Овощное
к-9510	Лазурный	Беларусь	зерновое
к-9526	Azur	Германия	Зерновое
к-9540	ID 29001914	Австралия	Кормовое
к-9566	Kazar	Франция	Овощное

Минимальные значения этого показателя для Cd, Co и Cr отмечали соответственно у образцов к-1027, к-4788 и к-9540. Образец к-1027 ха-

рактировался низким содержанием Co, Cr, Ni, Sr, Zn, образец к-4788 — Pb. В побегах у к-3445 обнаружили минимальные количества Cu, Ni, Pb, Sr, Zn, низкие — Cd, Co и Cr. У к-6468 было низкое содержание Cd, Cu и Sr, у к-8093 — Cu, Ni, Pb и Zn. Минимальные и максимальные количества тяжелых металлов в побегах различались для Cd в 12 раз (образцы к-1027 и к-9389), для Co — в 2,5 раза (к-1027 и к-6935), для Cr — в 2,5 раза (к-1027 и к-6935), для Cu — в 7,3 раза (к-3445 и к-9385), для Ni — в 2,8 раза (к-3445 и к-6935), для Pb — в 3,9 раза (к-3445 и к-9566), для Sr — в 2,9 раза (к-3445 и к-9566), для Zn — в 4,3 раза (к-3445 и к-9566) (см. табл. 2). Полученные результаты согласуются с данными о высокой вариабельности гороха посевного по аккумуляции ТМ в побегах (15). У образцов к-1658, к-1930, к-8274, принятых за контрольные, выявили высокое содержание тяжелых металлов в побегах, однако оно было несколько ниже или близким в сравнении с показателем у образцов к-6935, к-9389, к-9566.

2. Биомасса побега и содержание тяжелых металлов в побегах у гороха посевного (*Pisum sativum* L.), выращенного на загрязненной почве (вегетационный опыт)

№ в каталоге ВИР	Сухая масса побега, г/растение	Содержание, мг/кг сухой массы							
		Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	Sr	Zn
к-188	2,0	4,4	9,3*	7,5	29	9,8*	5,2*	449*	156
к-1027	2,2	1,1*	6,4*	6,3*	26	7,7*	5,5*	323*	108*
к-1250	2,2	6,4	9,3	7,4	25*	10,3	8,1	407*	170
к-1658 ^a	2,5	6,7	12,4	7,8	29	15,0	10,5	557	239
к-1693	1,6	1,9*	7,0*	7,8	25*	9,5*	5,7*	467	169
к-1930 ^a	1,1	6,9	13,3	9,1	30	11,7	10,3	561	180
к-2593	2,0	4,0	7,9*	6,7*	21*	9,4*	5,1*	392*	140
к-3445	2,2	2,0*	6,2*	6,0*	14*	6,7*	3,5*	288*	60*
к-4788	2,1	2,0*	6,0*	6,5*	26	9,8*	4,4*	411*	140
к-5012	1,5	3,5*	8,9*	6,6*	31	10,6*	6,1*	471	192
к-6468	1,8	2,5*	9,7	7,1	17*	8,8*	5,7*	326*	135*
к-6883	1,3	2,5*	8,5*	7,7	29	12,1	6,3*	440*	154
к-6935	1,5	8,5	15,9	14,6	28	18,6	9,9	680	180
к-7131	2,0	5,2	9,5	8,0	26	11,2	10,3	547	213
к-8093	1,9	2,8*	7,9*	6,5*	15*	7,6*	5,4*	375*	83*
к-8274 ^a	0,8	7,8	10,8	10,6	30	11,2	7,4	674	153
к-8543	1,9	3,5*	7,6*	6,8*	26	8,9*	4,5*	320*	131*
к-8861	1,9	6,0	10,5	7,4	58	12,6	7,0	418*	143
к-8862	1,8	3,9*	11,2	9,5	36	14,4	6,8	556	99
к-9283	2,0	4,5	10,8	8,0	67	14,2	6,9	407*	191
к-9384	1,6	8,8	11,8	7,0	63	14,8	6,7	520	121*
к-9385	1,6	6,5	9,7	6,6*	74	13,5	5,9*	421*	150
к-9386	1,3	9,9	13,0	7,3	18*	15,0	7,7	657	159
к-9389	1,7	13,2	12,9	6,5*	14*	14,8	10,2	652	174
к-9465	1,5	6,6	11,2	6,2*	50	12,9	8,1	578	171
к-9509	1,9	5,6	12,6	6,6*	38	15,9	8,7	640	222
к-9510	1,8	10,2	12,2	6,4*	26	13,7	10,0	572	215
к-9526	1,1	9,4	17,3	7,7	55	16,8	10,4	734	171
к-9540	2,0	5,7	11,9	5,9*	27	11,9	7,0	550	147
к-9566	2,2	10,2	14,7	8,6	22*	18,6	13,8	827	257
Среднее	1,8	5,7	10,5	7,5	33	12,3	7,4	496	161
Cv, %	28	53	26	22	60	27	32	27	31
НСР _{0,05}	0,47	1,52	1,31	1,05	7,3	1,93	1,51	64	12,3

Примечание. Образцы из коллекции ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург); а — образцы с высоким содержанием тяжелых металлов, использованные в качестве контроля; звездочкой для каждого элемента обозначены значения, которые были меньше разницы между средней для всех образцов и доверительным интервалом при анализе представленных в таблице средних; Cv — коэффициент вариации.

Анализ элементного состава семян также показал высокую вариабельность по содержанию ТМ (табл. 3). Минимальное количество Cd было обнаружено в семенах у образца к-1693, который, однако, имел близкое к средним содержание других металлов. Образец к-3445 характеризовался минимальным содержанием Co и Cr, низким — Cd, Ni, Sr; образец к-9566 минимальным — Cu, низким — Pb и Zn; образец к-188 минимальным — Ni, низким — Pb и Sr; образец к-8274 минимальным — Pb, низким — Co,

Ni, Sr, Zn. В семенах у других образцов (к-1250, к-1658, к-2593, к-6468, к-8543, к-9389) также оказалось низким содержание сразу нескольких тяжелых металлов. Минимальное и максимальное накопление тяжелых металлов в семенах различалось для Cd в 9 раз (образцы к-1693 и к-9384), для Co — в 4,2 раза (к-3445 и к-9283), для Cr — в 10 раз (к-3445 и к-1693), для Cu — в 3,3 раза (к-9566 и к-9384), для Ni — в 3,2 раза (к-188 и к-9283), для Pb — в 6,8 раза (к-8274 и к-9526), для Sr — в 4,1 раза (к-8543 и к-9509), для Zn — в 4,3 раза (к-8861 и к-8093). Ранее высокую вариабельность по содержанию в семенах тяжелых металлов, в основном Cd, отмечали у сои (12), арахиса (6, 18), кукурузы (19), риса (10), пшеницы и ячменя (9).

3. Биомасса семян и содержание тяжелых металлов в семенах у гороха посевного (*Pisum sativum* L.), выращенного на загрязненной почве (вегетационный опыт)

№ в каталоге ВИР	Сухая масса семян, г/растение	Содержание, мг/кг сухой массы							
		Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	Sr	Zn
к-188	1,3	0,50	2,8	0,35	23	3,4*	0,54*	16*	14
к-1027	1,1	0,37*	2,5*	0,56	25	4,1*	0,67*	24	20
к-1250	1,8	0,64	2,1*	0,24*	19	5,8*	0,57*	17*	15
к-1658 ^a	1,5	0,49*	1,9*	0,23*	16*	6,7	0,83	21	13
к-1693	1,2	0,22*	3,0	0,89	26	7,2	1,55	36	13
к-1930 ^a	1,2	0,89	2,8	0,28	28	5,5*	0,36*	22*	13*
к-2593	1,3	0,65	2,3*	0,18*	23	5,1*	0,47*	17*	23
к-3445	1,8	0,36*	1,5*	0,09*	20	5,2*	0,79	12*	31
к-4788	1,4	0,36*	1,9*	0,40	21	6,7	1,28	16*	9
к-5012	1,4	0,40*	2,8	0,30	16*	7,0	0,99	32	18
к-6468	1,0	0,28*	1,8*	0,21*	15*	5,8*	1,02	19*	25
к-6883	1,0	0,43*	2,5*	0,38	21	4,4*	0,68*	20	15
к-6935	1,2	1,12	4,8	0,61	24	8,3	1,27	88	12*
к-7131	1,1	0,41*	3,0	0,44	23	7,8	0,64*	28	16
к-8093	1,2	0,35*	2,6*	0,49	22	8,7	0,83	25	26
к-8274 ^a	0,9	0,73	2,0	0,58	18	3,9*	0,29*	16*	12*
к-8543	1,1	0,32*	2,0	0,23*	20	5,2*	1,10	11*	15
к-8861	2,0	0,61	2,7	0,31	14*	7,5	0,89	31	6*
к-8862	2,1	0,99	3,9	0,36	18	7,3	1,09	39	10*
к-9283	1,6	0,86	5,3	0,54	24	10,9	1,33	47	14
к-9384	1,5	1,99	5,7	0,54	39	8,4	1,76	70	14
к-9385	1,7	0,98	4,2	0,31	22	6,3	0,95	37	10*
к-9386	1,1	0,57	3,7	0,28*	17*	8,1	0,82	30	9*
к-9389	1,9	0,87	3,2	0,18*	14*	6,3	0,69	23*	9*
к-9465	1,7	0,49*	4,1	0,27*	15*	7,4	1,35	33	8*
к-9509	1,6	0,63	5,3	0,32	17*	7,9	0,87	45	13
к-9510	1,5	0,44*	4,4	0,27*	18	8,0	1,10	35	17
к-9526	1,3	0,69	5,0	0,26*	20	6,9	1,98	25	12*
к-9540	2,0	0,67	3,9	0,25*	14*	6,9	1,31	28	9*
к-9566	1,4	1,21	3,1	0,28	12*	7,3	0,69*	34	8*
Среднее	1,4	0,65	3,2	0,36	20	6,7	0,96	30	14
Cv, %	23	56	38	51	27	24	42	56	43
$HSP_{0,05}$	0,54	0,150	0,81	0,096	6,1	1,83	0,32	7,8	3,6

Примечание. Образцы из коллекции ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург); а — образцы с высоким содержанием тяжелых металлов, использованные в качестве контроля; звездочкой для каждого элемента обозначены значения, которые были меньше разницы между средней для всех образцов и доверительным интервалом при анализе представленных в таблице средних; Cv — коэффициент вариации.

Изменчивость по содержанию элементов в семенах гороха была выше или сопоставима с таковой у побегов, о чем свидетельствовали высокие коэффициенты вариации (см. табл. 2, 3). Однако корреляцию между Cv в побегах и семенах мы не обнаружили. Это свидетельствовало о различиях в механизмах транспорта металлов из побега в семена у изучаемых образцов. Содержание тяжелых металлов в семенах было в несколько раз меньше, чем в побегах, что согласуется с описанием бобовых как видов с низкой транслокацией металлов в системе корень—побег—семена (2, 5, 7, 20).

Обнаружена отрицательная корреляция между биомассой побегов и содержанием в них Cd ($r = -0,44$; $P = 0,015$), Co ($r = -0,51$; $P = 0,004$), Cr ($r = -0,40$; $P = 0,026$), Ni ($r = -0,41$; $P = 0,024$) и Sr ($r = -0,63$; $P = 0,001$),

что, вероятно, было связано с разбавлением металла биомассой в условиях его ограниченной доступности в сосудах с почвой. Однако наблюдаемый эффект мог быть обусловлен и свойствами растительных образцов, поскольку биомасса побега не коррелировала с накоплением других тяжелых металлов (Cu, Zn) и питательных элементов (P, K, Fe, Mn), а также не удалось выявить корреляции между биомассой семян и количеством в них ТМ или питательных элементов.

Во многих случаях наблюдалась положительная взаимозависимость между накоплением в побегах различных тяжелых металлов, а также питательных элементов (табл. 4) — например, Cd и Co, Mg, Ni, Pb, S, Sr, Zn. Та же закономерность проявлялась у семян (см. табл. 4). Так, количество Sr в них коррелировало с содержанием всех элементов, за исключением B, Fe, S. Наличие такой корреляции впервые обнаружено нами ранее (15). Настоящая работа подтверждает этот феномен и дополняет его описанием корреляционных связей для Co и питательных элементов, содержание которых ранее не измеряли. Полученные результаты согласуются с данными W. Cheng с соавт. (10), которые обнаружили положительную корреляцию между содержанием As, Cd и Pb; As и Zn; Cr и Ni в зерне у различных сортов риса, выращенных на загрязненных почвах. Вероятно, этот феномен связан с многообразием молекулярных транспортных каналов и их низкой специфичностью у растений (одни и те же каналы обеспечивают транспорт как питательных элементов, так и ТМ) (21-23).

4. Коэффициенты корреляции между содержанием химических элементов в семенах (1) и побегах (2) у гороха посевного (*Pisum sativum* L.), выращенного на загрязненной почве (вегетационный опыт)

1 \ 2	B	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Ni	P	Pb	S	Sr	Zn
B		0,30	0,13	0,11	0,45*	0,44*	0,30	-0,05	0,10	0,19	-0,01	0,19	0,07	0,17	0,26	0,12
Ca	0,32		0,61*	0,65*	0,46*	0,47*	-0,24	0,51*	0,36*	0,64*	0,58*	-0,42*	0,47*	-0,09	0,97*	-0,10
Cd	0,30	0,77*		0,57*	0,11	0,40*	-0,41*	0,46*	0,15	0,20	0,29	-0,46*	0,21	0,06	0,65*	-0,36*
Co	0,45*	0,81*	0,81*		0,24	0,28	-0,49*	0,87*	0,49*	0,45*	0,68*	-0,46*	0,58*	-0,04	0,75*	-0,37*
Cr	0,48*	0,45*	0,23	0,46*		0,53*	0,05	0,15	0,59*	0,23	0,22	0,11	0,25	0,30	0,46*	-0,11
Cu	0,49*	0,03	0,14	0,19	-0,03		0,23	-0,07	0,56*	0,40*	0,07	0,41*	0,24	0,27	0,38*	0,21
Fe	0,17	-0,27	-0,30	-0,18	0,32	0,01		-0,63*	-0,05	0,29	-0,33	0,69*	-0,30	-0,16	-0,36	0,64*
K	-0,41*	-0,25	-0,38*	-0,32	-0,06	-0,37*	-0,09		0,34	0,34	0,75*	-0,66*	0,53*	-0,16	0,65*	-0,52*
Mg	0,39*	0,88*	0,71	0,75*	0,52*	0,06	-0,05	-0,24		0,44*	0,40*	0,26	0,20	0,10	0,37*	0,02
Mn	-0,13	0,14	-0,05	-0,05	0,19	-0,26	0,47*	0,08	0,32		0,56*	-0,06	0,38*	-0,39*	0,55*	0,32
Ni	0,55*	0,72*	0,75*	0,88*	0,46*	0,34*	-0,03	-0,46*	0,68*	-0,08		-0,43*	0,53*	-0,23	0,63*	-0,21
P	-0,28	-0,23	-0,45*	-0,36	0,03	-0,11	0,28	0,52*	0,01	0,58*	-0,48*		-0,35	0,20	-0,52*	0,64*
Pb	0,26	0,79*	0,75*	0,81*	0,37*	-0,02	-0,09	-0,29	0,79*	0,27	0,76*	-0,25		-0,12	0,48*	-0,20
S	0,20	0,74*	0,43*	0,52*	0,47*	-0,01	-0,26	0,03	0,68*	0,12	0,40*	0,07	0,44*		-0,03	-0,22
Sr	0,29	0,94*	0,78*	0,85*	0,44*	0,01	-0,29	-0,29	0,81*	0,06	0,83*	-0,35	0,83*	0,64*		-0,27
Zn	0,17	0,61*	0,50*	0,54*	0,20	0,04	0,02	-0,14	0,57*	0,31	0,62*	-0,17	0,78*	0,36*	0,62*	

* Статистически достоверные коэффициенты корреляции (r) (для $r > 0,35$ — $P \leq 0,05$; для $r > 0,45$ — $P \leq 0,01$; для $r > 0,56$ — $P \leq 0,001$; $n = 30$).

Изученные образцы были сгруппированы в кластеры. В отдельные кластеры вошли те, которые имели низкое содержание тяжелых металлов Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr, Zn и питательных элементов B и Ca в побегах (рис. 1, А, кластер № 3), низкое содержание тяжелых металлов Cd, Co, Ni, Pb, Sr и питательных элементов Ca и K в семенах (см. рис. 1, В, кластер № 3), низкое содержание Cr, Cu, Zn в семенах (см. рис. 1, В, кластер № 2). Состав кластеров, объединявших образцы с низким содержанием большинства тяжелых металлов, был сходен для побегов и семян. Это согласовывалось с положительной корреляцией количества металлов в побегах и семенах для Cd ($r = +0,55$; $P = 0,002$), Co ($r = +0,57$; $P = 0,001$), Cr ($r = +0,41$; $P = 0,023$), Ni ($r = +0,48$; $P = 0,007$), Sr ($r = +0,37$; $P = 0,048$), а также для питательного элемента P ($r = +0,67$; $P < 0,001$). В то же время мы выявили

отрицательную корреляцию между накоплением элемента в побегах и семенах для Zn ($r = -0,45$; $P = 0,012$) и K ($r = -0,59$; $P < 0,001$). Интересно, что у контрольных образцов к-1658, к-1930 и к-8274 содержание ТМ в побегах было высоким (см. табл. 2), а в семенах — низким (см. табл. 3), и они группировались в кластере № 3 (см. рис. 1, В). Образцы, входившие в кластеры с низким накоплением ТМ в побегах или семенах, имели высокое содержание соответственно К и Р или Fe, Р и Zn. Полученные нами результаты свидетельствуют о специфичности механизмов, обеспечивающих транспорт индивидуальных элементов из побега в семена, и барьера для транспорта абиогенных металлов из вегетативных органов в репродуктивные. Эффективность этих механизмов также существенно зависит от генотипа растения. Такое биоразнообразие и широкое практическое использование гороха (кормовые, зерновые и овощные сорта) указывают на необходимость учитывать содержание тяжелых металлов одновременно в побегах и семенах при реализации селекционных программ.

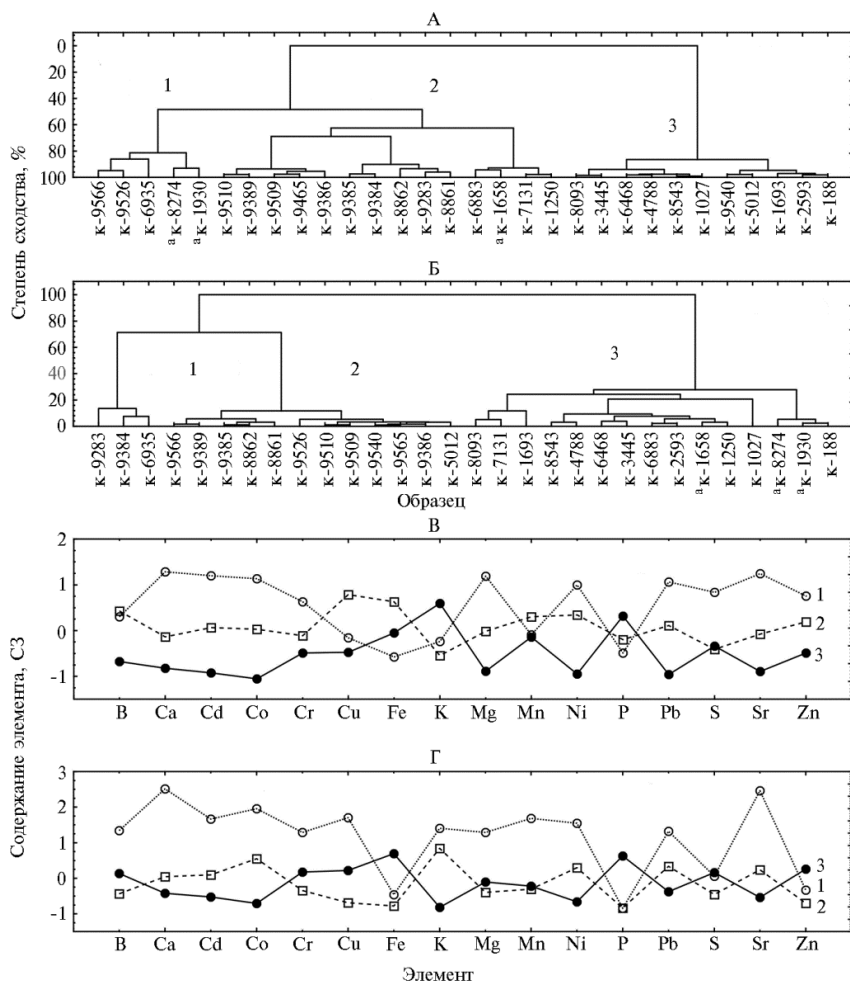


Рис. 1. Кластерные диаграммы, показывающие группировку образцов гороха посевного (*Pisum sativum* L.), выращенного на загрязненной почве, по содержанию тяжелых металлов и питательных элементов в побегах (А) и семенах (В), а также средние значения содержания элементов в побегах и семенах (Г): 1 — кластер 1, 2 — кластер 2, 3 — кластер 3; а — образцы с высоким содержанием тяжелых металлов, использованные в качестве контроля, СЗ — стандартизированные значения содержания элементов (вегетационный опыт).

Для обобщения полученных результатов был рассчитан индекс со-

держания всех тяжелых металлов (ИСТМ) в побегах и семенах, который позволил выделить образцы с минимальными средними значениями этого параметра (рис. 2). Большинство образцов с низким ИСТМ относились к охарактеризованным ранее формам с низким накоплением тяжелых металлов в побегах (15) — к-188, к-1027, к-1250, к-2593, к-3445, к-4788, к-5012, к-6468, к-8093, к-8543. Они представляли собой старые местные сорта, и их сравнение с современными сортами и линиями показало, что последние активнее аккумулируют тяжелые металлы в побегах и транспортируют их в семена. Это может быть результатом селекции сортов для интенсивных технологий с большими прибавками урожая на высоком агрофоне, то есть эффективно использующих минеральные удобрения. Вероятно, интенсивная ассимиляция и транспорт элементов минерального питания предопределяют и активное накопление биогенных элементов.

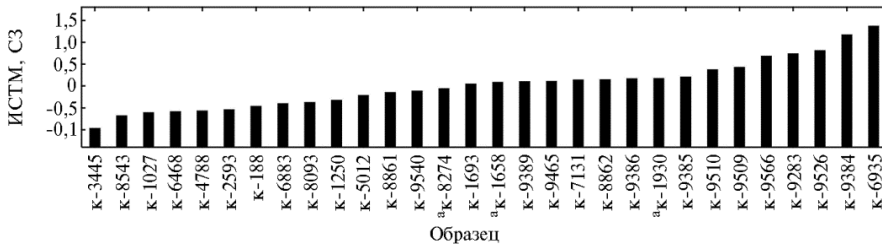


Рис. 2. Индекс содержания тяжелых металлов (ИСТМ) в побегах и семенах у гороха посевного (*Pisum sativum* L.), выращенного на загрязненной почве: а — образцы с высоким содержанием тяжелых металлов, использованные в качестве контроля, СЗ — стандартизированные значения содержания элементов (вегетационный опыт).

Следует подчеркнуть, что многие тяжелые металлы (Co, Cu, Ni и Zn) необходимы растению в низких концентрациях. В нашем эксперименте они были внесены в дозах, превышавших ПДК для почв сельскохозяйственного использования. Однако эти концентрации оказались ниже токсичных для гороха, поскольку растения нормально развивались и не проявляли признаков поражения. Кроме того, наблюдалась положительная корреляция между содержанием некоторых питательных элементов (Ca, K, Mg, P, S), ТМ биогенной природы (Co, Cu, Ni, Zn) и биогенных элементов (Cd и Pb) в побегах и (или) семенах (см. табл. 4).

Таким образом, получена ценная информация о полиморфизме гороха по накоплению тяжелых металлов и обнаружены корреляционные связи между содержанием различных элементов (питательные макро-, микро- и биогенные элементы) в побегах и (или) семенах. Результаты демонстрируют сложность и многокомпонентность механизмов и процессов потребления растениями питательных и токсичных элементов, а также высокую внутривидовую изменчивость гороха по этим признакам. Показано, что параметры, характеризующие растения по активности потребления питательных элементов, могут служить дополнительными критериями для поиска генотипов с пониженным содержанием тяжелых металлов. Необходимо учитывать, что селекция на эффективное использование элементов минерального питания способна усиливать накопление растениями токсичных элементов на загрязненных почвах. В то же время возможна селекция на низкую аккумуляцию одновременно многих тяжелых металлов. Для этих целей перспективны старые местные сорта гороха из коллекции ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова) к-188, к-1027, к-1250, к-2593, к-3445, к-4788, к-5012, к-6468, к-8093, к-8543, а также современный селекционный материал (линии) к-9386, к-9389 (Кировская обл.) и к-9465 (сорт Тюменец, Тюменская обл.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Аристархов А.Н., Харитонов А.Ф. Состояние и методология прогноза загрязнения почв тяжелыми металлами. *Плодородие*, 2002, 3(6): 22-24. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25582337>. Без даты.
2. Prasad M.N.V., Hagemeyer J. Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1999 (doi: 10.1007/978-3-662-07745-0).
3. Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л., 1987. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=21696942>. Без даты.
4. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск, 2007. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19495991>. Без даты.
5. Handbook for Phytoremediation /I.A. Golubev (ed.). NOVA Sci. Publ., 2011. Режим доступа: https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=12714. Без даты.
6. McLaughlin M.J., Bell M.J., Wright G.C., Cruickshank A. Inter- and intraspecific variation in accumulation of cadmium by peanut, soybean, and navy bean. *Aust. J. Agr. Res.*, 1997, 48: 1151-1160 (doi: 10.1071/A97038).
7. Kuboi T., Noguchi A., Yazaki J. Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. *Plant Soil*, 1986, 92: 405-415 (doi: 10.1007/BF02372488).
8. Kumar P.B.A., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.*, 1995, 29: 1232-1238 (doi: 10.1021/es00005a014).
9. Pettersson O. Differences in cadmium uptake between plant species and cultivars. *Swed. J. Agr. Res.*, 1977, 7: 21-24.
10. Cheng W., Zhang G., Yao H., Wu W., Xu M. Genotypic and environmental variation in cadmium, chromium, arsenic, nickel, and lead concentrations in rice grains. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 2006, 7(7): 565-571 (doi: 10.1631/jzus.2006.B0565).
11. Grant C.A., Clarke J.M., Duguid S., Chaney R.L. Selection and breeding of plant cultivars to minimize cadmium accumulation. *Sci. Total Environ.*, 2008, 390, 301-310 (doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.10.038).
12. Arao T., Ishikawa S. Genotypic differences in cadmium concentration and distribution of soybeans and rice. *JARQ-Jpn. Agr. Res. Q*, 2006, 40: 21-30 (doi: 10.6090/jarq.40.21).
13. Zhu Y., Yu H., Wang J., Fang W., Yuan J., Yang Z. Heavy metal accumulations of 24 asparagus bean cultivars grown in soil contaminated with Cd alone and with multiple metals (Cd, Pb, and Zn). *J. Agr. Food Chem.*, 2007, 55: 1045-1052 (doi: 10.1021/jf062971p).
14. White M.C., Decker A.M., Chaney R.L. Differential cultivar tolerance in soybean to phytotoxic levels of soil Zn. I. Range of cultivar response. *Agron. J.*, 1979, 71: 121-126 (doi: 10.2134/agronj1979.00021962007100010031x).
15. Belimov A.A., Safronova V.I., Tsyganov V.E., Borisov A.Y., Kozhemyakov A.P., Stepanok V.V., Martenson A.M., Gianinazzi-Pearson V., Tikhonovich I.A. Genetic variability in tolerance to cadmium and accumulation of heavy metals in pea (*Pisum sativum* L.). *Euphytica*, 2003, 131: 25-35 (doi: 10.1023/A:1023048408148).
16. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М., 1970. Режим доступа: http://www.pochva.com/?book_id=0225&content=3. Без даты.
17. Воробьев Н.И., Проворов Н.А., Свиридова О.В. Программа для однофакторного дисперсионного анализа рендомизированных биологических данных. Программы для ЭВМ. Базы данных. Топологии интегральных микросхем: официальный бюллетень ФИПС, 2013, 2: 2013615092.
18. McLaughlin M.J., Bell M.J., Wright G.C., Cozens G.D. Uptake and partitioning of cadmium by cultivars of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Soil*, 2000, 222: 51-58 (doi: 10.1023/A:1004771712840).
19. Hinesly T.D., Alexander D.E., Redborg K.E., Ziegler E.L. Differential accumulations of cadmium and zinc by corn hybrids grown on soil amended with sewage sludge. *Agron. J.*, 1982, 74: 469-474 (doi: 10.2134/agronj1982.00021962007400030017x).
20. Zwarich M.A., Mills J.G. Heavy metal accumulation by some vegetable crops grown on sewage-sludge-amended soils. *Can. J. Soil Sci.*, 1982, 62: 243-247 (doi: 10.4141/cjss82-028).
21. Demidchik V., Davenport R.J., Tester M. Nonselective cation channels in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2002, 53: 67-107 (doi: 10.1146/annurev.arplant.53.091901.161540).
22. Rea P.A. Plant ATP-binding cassette transporters. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2007, 58: 347-375 (doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105406).
23. Belimov A.A., Malkov N.V., Puhalsky J.V., Safronova V.I., Tikhonovich I.A. High specificity in response of pea mutant SGECd¹ to toxic metals: growth and element composition. *Environ. Exp. Bot.*, 2016, 128: 91-98 (doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.04.009).

196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: belimov@rambler.ru;

²ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт

генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,

190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44;

³ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный

университет,

199034 Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2017, V. 52, № 3, pp. 597-606

PEA (*Pisum sativum* L.) CULTIVARS WITH LOW ACCUMULATION OF HEAVY METALS FROM CONTAMINATED SOIL

Ya.V. Puhalsky¹, M.A. Vishnyakova², S.I. Loskutov¹, E.V. Semenova²,
E.A. Sekste¹, A.I. Shaposhnikov¹, A.A. Belimov¹, I.A. Tikhonovich^{1, 3}

¹All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Federal Agency of Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail belimov@rambler.ru (corresponding author);

²Federal Research Center N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Federal Agency of Scientific Organizations, 42-44, ul. Bol'shaya Morskaya, St. Petersburg, 190000 Russia;

³Saint-Petersburg State University, 7-9, Universitetskaya nab., Petersburg, 199034 Russia

ORCID:

Puhalsky Ya.V. orcid.org/0000-0001-5233-3497

Sekste E.A. orcid.org/0000-0002-9753-8303

Vishnyakova M.A. orcid.org/0000-0003-2808-7745

Shaposhnikov A.I. orcid.org/0000-0003-0771-5589

Loskutov S.I. orcid.org/0000-0002-8102-2900

Belimov A.A. orcid.org/0000-0002-9936-8678

Semenova E.V. orcid.org/0000-0002-2637-1091

Tikhonovich I.A. orcid.org/0000-0001-8968-854x

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported by Russian Science Foundation (projects № 14-16-00137 and № 14-26-00094 for design and implementation of the experiments, and for bioinformatic processing, respectively)

Received October 21, 2016

doi: 10.15389/agrobiol.2017.3.597eng

Abstract

Heavy metals are among the most common contaminants of agricultural lands. Cleaning (remediation) of such territories is extremely difficult or impossible. A promising approach for the production of environmentally friendly products of crop industry in the contaminated soils can be a selection of varieties with reduced accumulation of heavy metals. The aim of this work was to study the variability of pea in accumulation and transport of heavy metals from shoots to seeds and to identify varieties with low accumulation of heavy metals from contaminated soils. The objects of research were 30 varieties of pea (*Pisum sativum* L.) from the collection of Federal Research Center N.I. Vavilov All-Russia Institute of Plant Genetic Resources (St. Petersburg). The pot experiment was carried out in summer in a greenhouse with natural light and temperature (All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg). Pea seeds were surface-sterilized and scribed with concentrated H₂SO₄ for 30 minutes and germinated for 3 days at 22 °C in Petri dishes with wet filter paper. The seedlings were planted in pots (5 seedlings per pot, 3 pots for each genotype) containing 5 kg of sod-podzolic fallow soil. Ten days before seed sowing the soil was enriched with heavy metals in the form of chlorides (mg/kg): Cd – 5, Co – 25, Cr – 60, Cu – 10, Ni – 15, Pb – 100, Sr – 50, Zn – 50. At the same time, fertilizers were applied (mg/kg): NH₄NO₃ – 15, KNO₃ – 200, KH₂PO₄ – 200, MgSO₄ – 30, CaCl₂ – 20, H₃BO₃ – 3, MnSO₄ – 3, ZnSO₄ – 3, Na₂MoO₄ – 1.5. The plants were grown until the seed maturing phase, dried and ground to a powder. Samples (separately shoots and seeds) were digested in a mixture of concentrated nitric acid and 38 % H₂O₂. The content of heavy metals and nutrients was determined using ICPE-9000 spectrometer (Shimadzu, Japan). The studied samples differed significantly in the content of heavy metals in shoots and seeds that indicated a high variability of pea in the accumulation of heavy metals and their transport from vegetative to reproductive organs. The variability values for shoots and seeds were comparable in magnitude, but did not correlate with each other. The shoots or seed contents of various heavy metals, as well as nutrients, in many cases positively correlated, which could be due to the diversity of molecular transport channels in plants and their low specificity. There was positive correlation between the content of elements in shoots and seeds for Cd, Co, Cr, Ni, P, Sr, and negative was found between the shoot and seed contents of Zn and K. The results indicate specific mechanisms of transport of individual elements from shoot to seed and the barrier for abiotic metal transport from vegetative to reproductive organs. The effectiveness of these mechanisms depends significantly on the plant genotype. The possibility of selection of pea varieties with a low content of many heavy metals simultaneously is shown. Pea varieties k-188, k-1027, k-1250, k-2593, k-3445, k-4788, k-5012, k-6468, k-8093 and k-8543 are recommended for use in selection programs for obtaining ecologically safe crop production.

Keywords: biodiversity, pea, soil contamination, heavy metals, environmentally friendly products.