

Номер 10

ISSN 0002-1881

Октябрь 2024



АГРОХИМИЯ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Номер 10, 2024

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Плодородие почв

- Динамика физических параметров почв лугового ряда Каменной степи
Ю. И. Чевердин, Т. В. Титова, И. Ф. Поротиков 3
- Десорбция калия и магния серой лесной почвой
В. Н. Якименко 15
- Агромелиоративные приемы сохранения плодородия черноземных почв плодовых насаждений в условиях орошения минерализованными водами
Т. Г. Фоменко, В. П. Попова, О. В. Ярошенко, Ж. В. Арутюнян 23

Регуляторы роста растений

- Изменение антиоксидантной системы прорастающих семян и проростков гороха при использовании мицелярно-субстратного экстракта вешенки
С. С. Тарасов, Е. В. Михалёв, Е. К. Крутова 32

Пестициды

- Ольфакторные реакции оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* Westwood и ее паразитоида энкарзии *Encarsia formosa* Gahan на летучие соединения энтомопатогенных грибов рода *Lecanicillium*
Г. В. Митина, О. С. Кириллова, А. А. Чоглокова, М. А. Черепанова 42
- Особенности молекулярного связывания циклоксидима с ацетил-КоА карбоксилазой культурной сои и сорных растений
П. Д. Тимкин, А. А. Иваний, М. П. Михайлова, У. Е. Штабная, А. Е. Гретченко, Ю. О. Серебренникова, А. А. Пензин 50

Агроэкология

- Почвенная и листовая диагностика содержания азота при выращивании разных сортов различных экотипов ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.)
Т. Г. Голова, Л. А. Ершова, С. А. Кузьменко 57

Экотоксикология

- Сортовая дифференциация ярового ячменя по устойчивости к кадмию на основе морфометрических, биохимических показателей и продуктивности
А. В. Дикарев, Д. В. Дикарев, Д. В. Крыленкин 68
- Содержание химических элементов в листьях ивы Миябе (*Salix miyabeana* Seemen), произрастающей в районе хвостохранилища Дарасунского месторождения золота
В. П. Макаров 83

ОБЗОРЫ

- Управление микробным блоком биогеохимического круговорота хлорорганических пестицидов в агроэкосистемах. Сообщение 1. Микробная трансформация пестицидов
В. Н. Башкин, Р. А. Галиулина 94

Contents

No. 10, 2024

EXPERIMENTAL ARTICLES

Soil Fertility

- Dynamics of Physical Parameters of Soils of the Meadow Range of the Stone Steppe
Yu. I. Cheverdin, T. V. Titova, I. F. Poroptikov 3
- Desorption of Potassium and Magnesium by Gray Forest Soil
V. N. Yakimenko 15
- Agromeliorative Methods of Preserving Fertility of Chernozem Soils of Fruit Plantations under Conditions of Irrigation with Mineralized Water
T. G. Fomenko, V. P. Popova, O. V. Yaroshenko, Zh. V. Arutyunyan 23

Plant growth regulators

- Changes in the Antioxidant System of Germinating Seeds and Sprouts of Pea with the Use of Micellar-Substrate Extract of Oyster Mushrooms
S. S. Tarasov, E. V. Mikhalev, E. K. Krutova 32

Pesticides

- Olfactory Responses of the Greenhouse Whitefly *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and Its Parasitoid *Encarsia formosa* Gahan to Volatile Compounds of Entomopathogenic Fungi of the Genus *Lecanicillum*
G. V. Mitina, O. S. Kirillova, A. A. Chogloкова, M. A. Cherepanova 42
- Molecular Binding of Cycloxydim to Acetyl-CoA Carboxylase in Cultivated Soybeans and Weed Plants
P. D. Timkin, A. A. Ivaniy, M. P. Mikhaylova, U. E. Shtabnaya, A. E. Gretchenko, Yu. O. Serebrennikova, A. A. Penzin 50

Agroecology

- Soil and Leaf Diagnostics of Nitrogen Content in the Cultivation of Different Varieties of Various Ecotypes of Spring Barley (*Hordeum vulgare* L.)
T. G. Golova, L. A. Ershova, S. A. Kuzmenko 57

Ecotoxicology

- Varietal Differentiation of Spring Barley in Terms of Cadmium Resistance Based on Morphometric, Biochemical Parameters, and Productivity
A. V. Dikarev, D. V. Dikarev, D. V. Krylenkin 68
- Concentration of Chemical Elements in the Leaves of the *Salix miyabeana* Seemen, Growing in the Area of the Tailings Dam of the Darasun Gold Deposit
V. P. Makarov 83

REVIEWS

- Control of the Microbial Block of the Biogeochemical Cycle of Organochlorine Pesticides in Agroecosystems. Message 1. Microbial Transformation of Pesticides
V. N. Bashkin, R. A. Galiulina 94

УДК 631.34:631.434:631.435:631.434.5

ДИНАМИКА ФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПОЧВ ЛУГОВОГО РЯДА КАМЕННОЙ СТЕПИ

© 2024 г. Ю. И. Чевердин^{1*}, Т. В. Титова¹, И. Ф. Поротиков¹¹Воронежский федеральный аграрный научный центр им. В.В. Докучаева

397463 Воронежская обл., Таловский р-н, пос. 2-го участка Института им. Докучаева, кварт. 5, 81, Россия

*E-mail: cheverdin62@mail.ru

Провели сравнительный анализ физических свойств почв лугового ряда в агролесоландшафтах Центрального Черноземья за длительный промежуток времени. Исследование проводили на почвах сезонно-переувлажненного комплекса. По классификации 2004 г. эти почвы относятся к агрочерноземам гидрометаморфизованным и гумусово-гидрометаморфическим засоленным почвам. Гранулометрический состав почв зависел от характера увлажнения почв. В черноземах автоморфных отмечено снижение доли илистой фракции гумусовых горизонтов. Гидроморфные почвы характеризовались повышенным содержанием ила. В карбонатных горизонтах роль ила существенно возрастала. В структурно-агрегатном состоянии отмечено увеличение доли глыбистой фракции в годы с количеством осадков, превышающим среднемноголетние показатели. В составе агрономически ценных агрегатов фракцией-доминантом были агрегаты 5–10 мм. На долю мелких пылеватых отдельностей приходилась незначительная часть. Применение химических мелиорантов на луговых почвах улучшало структурное состояние луговых почв. Отмечен рост коэффициента структурности. Все изученные почвенные разности характеризовались высокой водопрочностью структурных отдельностей.

Ключевые слова: сезонно переувлажненные почвы, гранулометрический состав, физические параметры почвы, мелиоранты.

DOI: 10.31857/S0002188124100019, **EDN:** ANVEVW

ВВЕДЕНИЕ

Сезонно-переувлажненные почвы в настоящее время относятся к основным компонентам современных агроландшафтов степной части России [1–6]. Со второй половины прошлого столетия в Каменной степи начали отмечать прогрессирующие процессы усиления гидроморфности исходно автоморфных почв [1, 7–11].

Увеличение степени гидроморфизма сказывается на величине концентрации солей [12]. Потенциальную опасность на характеристики и свойства черноземов Каменной степи могут оказывать влияние сульфатно-натриевые грунтовые воды [9, 13].

Сельскохозяйственное использование черноземов приводит к существенным изменениям направленности почвенных процессов, что, в свою очередь, может служить одной из причин переувлажнения черноземов [14, 15].

В гидроморфных почвах отмечен отличительный гранулометрический состав по отношению к фоновым почвам, деструкция фракций [16–18]. Гранулометрический состав во многом определяет водно-физические, агрохимические, физико-химические свойства почв [19].

Проявление сезонного переувлажнения многие исследователи относят к негативным факторам, снижающим плодородие черноземов. Ведутся исследования оценки деградации почвенного покрова и поиск путей рационального использования этих почв в Краснодарском крае [20], Белгородской [21], Тамбовской [3, 22], Ростовской [5] обл.

В условиях усиления гидроморфизма наиболее быстро изменяются физические свойства почв [23]. Отмечено увеличение плотности, снижение пористости [24].

Изучение изменения структурно-агрегатного состояния сезонно-переувлажненных почв весьма актуально при оценке процессов агрегации в течение длительного временного периода. При этом необходимо дать объективную оценку физических показателей, отражающих их изменение в различных условиях увлажнения. Цель работы – изучение изменений физических параметров почв лугового ряда Каменной степи.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили в Воронежском ФАНЦ им. В.В. Докучаева (Каменная степь). Объектами

исследования служил комплекс сезонно-переувлажненных почв западнее лесополосы № 131 (рис. 1).

Опытный участок представлен следующими почвами, расположенными на приводораздельной верхней части склона к балке Таловая: 1 — лугово-черноземные почвы на выпуклой части склона, не затопляемой поверхностными водами весной (**Р-2**), 2 — черноземно-луговые солончаковатые слабозасоленные почвы на равнинном понижении на переходе от выпуклой к вогнутой части склона с коротким периодом поверхностного затопления (**Р-1**), 3 — черноземно-луговые солончаковатые слабозасоленные почвы в ложбинообразном понижении на вогнутой части склона, подвергающемуся длительному сезонному затоплению (**Р-3**).

По классификации 1977 г. название объектов исследования следующее: Р-2 — лугово-черноземная среднемошная среднегумусная легкоглинистая почва на лессовидных глинах, подстилаемых коричневатобурыми плотными покровными глинами, Р-1 и Р-3 — черноземно-луговая среднемошная среднегумусная солончаковатая слабозасоленная легкоглинистая пахотная почва на лессовидных глинах, подстилаемых коричневатобурыми плотными покровными глинами.

По классификации 2004 г. эти почвы относятся к агрочернознам гидрометаморфизованным (Р-2) и гумусово-гидрометаморфическим засоленным почвам (Р-1, Р-3).

Для изучения эффективности гипса и дефеката на почвенных разностях заложен полевой опыт для

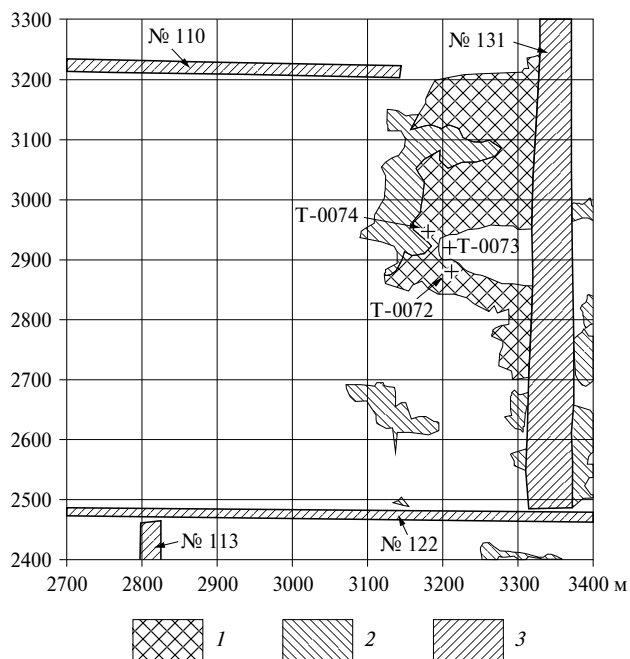


Рис. 1. Схема расположения объектов исследования [25], местоположение разрезов Т-0074 (Р-1), Т-0073 (Р-2) и Т-0072 (Р-3): 1 — ареалы, затопленные весной 2006 г., 2 — ареалы, переувлажненные весной 2006 г., 3 — лесополосы (указан номер).

изучения химической мелиорации. Варианты опыта: 1 — контроль, 2 — гипс 5 т/га, 3 — дефекат 5 т/га, 4 — гипс + дефекат по 2.5 т/га. Мелиоранты внесены осенью 2020 г. под вспашку. Площадь делянки 20 м² в трехкратной повторности.

Исследования и анализы проводили следующими методами: структурный состав почв определяли по Саввинову [26], водопрочность почвенных агрегатов — прибором Бакшеева. При анализе гранулометрического состава использовали пиррофосфатный метод [26]. Определяли содержание 6-ти фракций — 1–0.25, 0.25–0.05, 0.05–0.01, 0.01–0.005, 0.005–0.001, <0.001 мм по Качинскому [27, 28].

Средневзвешенный диаметр частиц при сухом просеивании определяли расчетным способом Хитрова по формуле: $D = \sum d_i a_i / \sum a_i$, где D — средневзвешенный диаметр частиц, a_i — содержание i -й фракции агрегатов, имеющих диаметр от $d_i \min$ до $d_i \max$, %; $d_i = (d_i \max - d_i \min) / 2$ — средний диаметр агрегатов i -й фракции, мм [29]. Экспериментальные данные подвергали статистической обработке с помощью прикладных формул Microsoft Excel.

Исследование проведено в различные по погодным условиям годы с 2005 по 2022 г. (табл. 1).

Период с 2007 по 2009 г. и 2014 г. можно характеризовать близкими к среднегодовым или более величинам по количеству выпавших осадков. В 2005, 2006, 2015 и 2022 г. величина атмосферного увлажнения существенно превышала климатическую норму. При этом за холодный период года количество осадков превышало средние показатели во все годы наблюдений. В теплый период года также можно отметить увеличение влажности в большинстве лет. Температурный режим отличался повышенным фоном во всем временном периоде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гранулометрический состав. Луговые почвы исследованных объектов характеризовались тяжелым гранулометрическим составом. Отмечена четкая дифференциация содержания крупной пыли и ила в зависимости от характера увлажнения. Можно отметить общую для этих почв закономерность постепенного увеличения с глубиной количества ила при соответствующем снижении доли крупной пыли. При этом выделялись обедненные илом гумусовые горизонты. В верхних гумусовых горизонтах количество илистой фракции отмечено в пределах 29–39%, в нижележащих карбонатных постепенно оно повышалось до 40–44% (табл. 2).

Минимальное количество крупной пыли в луговых почвах прослежено в ложбинообразном понижении, которого было по всему профилю <30%, в то

Таблица 1. Метеорологические показатели в годы исследования

Год исследования	Осадки, мм			Температура, °С		
	за год	холодный период (сентябрь–апрель)	теплый период (май–август)	Среднегодовой показатель	холодный период (сентябрь–апрель)	теплый период (май–август)
2005	683	370	317	7.55	0.76	19.18
2006	611	312	264	6.45	0.16	18.75
2007	446	388	154	8.29	3.13	20.38
2008	441	285	146	8.08	2.18	18.70
2009	405	256	169	7.76	2.09	18.85
2014	455	359.8	229.3	7.43	2.49	19.02
2015	562	254.6	237.7	8.26	1.58	19.60
2022	750	355.0	245.0	7.89	2.38	19.08
1894–1959	433.2	218.6	220.2	5.2	–1.0	17.8
1894–2019	471.4	261.3	213.2	5.9	–0.2	18.1

время как в почвах равнинного понижения и повышения оно превышало этот показатель.

Для луговых почв при схожем гранулометрическом составе можно отметить различия в вертикальном распределении количества илистой фракции в зависимости от подтипа почв и расположения в мезо рельефе. В черноземно-луговых и лугово-черноземной солонцеватых почвах наблюдали выраженный эффект элювиально-иллювиального перераспределения ила. В агрочерноземе такой четкой закономерности не установлено. Увеличение фракции ила в нижних почвенных горизонтах являлось одной из причин проявления гидроморфизма луговых почв.

В агрочерноземах, не подверженных сезонному переувлажнению, можно отметить обеднение илистой фракцией, особенно четко прослеженное в гумусовом горизонте. Существенное увеличение ила начинало проявляться с глубины 70 см и ниже. По количеству крупной пыли эти почвы характеризовались заметным меньшим количеством по сравнению с гидроморфными. В черноземе сегрегационном содержание крупной пыли отмечено на уровне 17.1–29.0% с более высокими показателями в гумусовой толще. В луговых почвах фракция крупной пыли достигала при этом 27.8–33.8%.

Более высоким количеством средней пыли характеризовался агрочернозем сегрегационный (автоморфный) с максимумом в гумусовой толще – 12.4–18.3%. В переувлажненных почвах количество средней пыли было заметно меньше и составляло 9.1–13.2%. По количеству мелкой пыли также можно отметить преимущество непереувлажненного чернозема, ее содержание изменялось в пределах 18.4–20.6%. Более высокие показатели были характерны для верхних горизонтов. В почвах лугового ряда количество мелкой пыли уступало автоморфному чернозему.

Фракция крупного песка (1–0.25 мм) в исследованных почвах составляла 0.3–0.8%. Заметных различий этого показателя от степени увлажнения не установлено. Более существенные различия можно отметить в содержании мелкого песка (0.25–0.05 мм). В луговых почвах его содержание уступало автоморфному чернозему.

По объему физической глины (частиц <0.01 мм) преимущество имел автоморфный сегрегационный чернозем. Ее величина варьировала в пределах 60.7–71.0%, в то время как в почвах лугового ряда в гумусовых почвенных горизонтах – в пределах 58.8–64.5%. В карбонатных горизонтах луговых солонцеватых почв доля физической глины увеличивалась до 62.7–67.4%, причем более высокие показатели были характерны для почв понижений. Таким образом, эти почвы преимущественно можно отнести к классу средней и тяжелой глины [28]. Автоморфный чернозем классифицировали как почву с легкоглинистым гранулометрическим составом. По международной классификации анализированные почвенные разности относятся к пылевой глине [30].

Утяжеление гранулометрического состава переувлажненных почв в верхних гумусовых горизонтах в условиях повышенной влажности, близкой к предельно-полевой (ППВ), приводит к недостатку воздуха и угнетению культурных растений [31].

Гранулометрический состав луговых почв Каменной степи свидетельствовал о наличии признаков профильного перераспределения фракций, обусловленных фактором избыточного увлажнения и близкого уровня грунтовых вод (УГВ). Актуальным остается вопрос гранулометрической дифференциации некоторых почвенных горизонтов в условиях продолжающегося антропогенного влияния и изменения условий увлажнения в рукотворных агролесоландшафтах.

Таблица 2. Гранулометрический состав почв сезонно переувлажненных комплексов

Слой почвы, см	Диаметр фракции, мм								
	Песок		Пыль			Ил	Физическая глина	Сумма песка	Сумма пыли
			крупная	средняя	мелкая				
	1–0.25	0.25– 0.05	0.05–0.01	0.01– 0.005	0.005– 0.001	<0.001	<0.01	1–0.05	0.05– 0.001
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная на равнинном понижении									
0–20	0.5	5.1	33.8	12.4	16.8	31.5	60.7	5.6	63.0
20–40	0.2	6.8	32.1	11.9	9.8	39.3	61.0	7.0	53.8
40–60	0.5	7.6	30.4	10.8	9.9	40.8	61.6	8.1	51.1
80–100	0.4	3.1	30.9	15.4	12.5	37.8	65.6	3.5	58.8
140–160	0.5	5.0	31.5	10.5	10.8	41.7	63.0	5.5	52.8
180–200	0.8	6.2	26.5	10.6	17.6	38.3	66.6	7.0	54.7
Лугово-черноземная на равнинном повышении									
0–20	0.4	10.8	29.8	9.1	15.7	34.2	59.0	11.2	54.6
20–40	0.4	8.9	32.7	11.5	14.6	31.9	58.0	9.3	58.8
40–60	0.3	7.4	27.8	13.4	13.5	37.6	64.5	7.7	54.7
80–100	0.3	6.7	30.2	11.0	20.8	30.9	62.7	7.0	62.0
140–160	0.4	4.3	32.2	7.8	13.9	41.4	63.1	4.7	53.9
180–200	0.3	10.1	24.8	5.4	15.7	43.7	64.8	10.4	45.9
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная в ложбиннообразном понижении									
0–20	0.5	11.7	29.0	13.2	11.2	34.4	58.8	12.2	53.4
20–40	0.6	9.9	29.4	11.9	18.7	29.4	60.0	10.5	60.0
40–60	0.5	8.9	29.0	11.0	12.0	38.5	61.5	9.4	52.0
80–100	0.5	9.0	27.0	7.9	16.4	39.1	64.4	9.4	51.3
140–160	0.5	4.4	27.9	12.3	17.0	37.8	67.2	4.9	57.2
180–200	0.6	8.2	27.3	8.4	19.5	36.0	63.9	8.8	55.2
	Агрочернозем сегрегационный								
0–10	1.4	14.6	23.3	15.3	20.6	24.9	60.7	16.0	59.2
10–20	0.6	10.7	23.0	18.3	8.3	39.0	65.7	11.3	49.6
20–30	0.5	7.6	29.0	12.4	20.2	30.2	62.8	8.1	61.6
30–40	0.8	7.9	28.6	12.6	19.0	33.1	64.7	8.7	60.2
40–50	0.6	6.7	26.4	11.0	18.4	37.0	66.3	7.3	55.8
50–60	0.4	14.1	17.1	16.0	19.6	32.7	68.3	14.5	52.7
60–70	0.5	10.5	18.1	17.9	18.8	34.2	71.0	11.0	54.8
70–80	0.6	9.0	21.0	10.8	18.6	39.9	69.4	9.6	50.4
80–90	0.3	6.7	27.0	11.4	18.7	35.9	66.0	7.0	57.1
90–100	0.4	6.3	27.4	7.1	20.6	38.2	65.8	6.7	55.1

Структурный состав. Качественный структурный состав относится к основным показателям плодородия. Он обеспечивает удержание влаги в межагрегатных порах, тем самым сохраняя хорошую обеспеченность растений влагой.

Проведенная оценка изменения структурного состояния сезонно-переувлажненных почв Каменной степи в течение длительного периода позволила выявить изменения, обусловленные характером увлажнения конкретного года. Необходимо отметить быструю перестройку соотношения основных

агрегатов в изученных почвах. Это проявлялось в существенном увеличении доли глыбистых агрегатов (>10 мм) в годы с повышенным уровнем атмосферного увлажнения. За счет этого, естественно, снижалось количество агрономически ценных структурных отдельностей. В лугово-черноземной почве равнинного понижения и повышения доля глыбистой фракции во влажные годы варьировала в основном в пределах 25.0–35.2% (табл. 3).

В годы с уровнем осадков, близким к среднеголетним показателям, доля глыбистой фракции не

Таблица 3. Структурный состав черноземно-луговой солончаковатой слабозасоленной почвы на равнинном понижении (Р-1), лугово-черноземной почвы на равнинном повышении (агрочернозем гидрометаморфизованный) (Р-2) и черноземно-луговой солончаковатой слабозасоленной почвы в ложбинообразном понижении (Р-3) (2005–2022 гг.)

Фракции, мм	Годы исследования							
	2005	2006	2007	2008	2009	2014	2015	2022
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва на равнинном понижении (Р-1)								
>10	31.5	19.5	19.1	9.4	19.2	24.1	35.2	30.1
10–5	28.0	27.4	27.6	23.5	31.9	21.0	20.2	19.1
5–3	15.7	21.6	18.8	23.3	17.4	10.0	16.3	10.5
3–2	9.8	15.7	15.9	20.9	14.1	13.9	13.1	14.5
2–1	11.5	13.2	14.7	16.4	10.6	14.3	12.0	13.3
1–0.5	1.0	0.8	2.1	1.8	3.9	9.7	1.0	6.4
0.5–0.25	1.5	1.2	1.1	3.5	1.6	3.7	1.4	4.2
<0.25	1.0	0.7	0.7	1.3	1.3	3.4	0.8	2.0
$\Sigma 10-0.25$	67.6	79.9	80.2	89.4	79.5	72.5	64.1	68.0
$\Sigma 10 + <0.25$	32.4	20.1	19.8	10.6	20.5	27.5	35.9	32.0
Kc^*	2.1	4.0	4.1	8.4	3.9	2.6	1.8	2.1
Лугово-черноземная почва на равнинном повышении (агрочернозем гидрометаморфизованный) (Р-2)								
>10	25.0	18.2	17.4	14.2	11.6	12.3	16.9	32.5
10–5	25.1	28.8	27.4	26.5	18.9	16.6	11.4	16.4
5–3	17.1	18.0	18.8	20.7	24	11.4	12.5	9.6
3–2	11.3	16.9	16.2	17.3	26.6	22.8	15.9	14.0
2–1	16.2	14.6	15.9	15.5	15.4	23.1	25.8	15.6
1–0.5	1.4	1.2	1.8	2.6	3.1	8.6	3.1	7.7
0.5–0.25	2.5	1.5	2.1	2.2	0.2	1.7	9.5	3.3
<0.25	1.4	0.9	0.6	1	0.2	3.4	4.9	1.0
$\Sigma 10-0.25$	73.6	81.0	82.1	84.8	88.2	84.3	78.2	66.5
$\Sigma >10 + <0.25$	26.4	19.1	17.9	15.2	11.8	15.7	21.8	33.5
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва в ложбинообразном понижении (Р-3)								
>10	14.5	18.4	13.7	5.9	12.6	37.5	18.8	31.4
10–5	20.0	43.1	26.3	15.4	24.7	17.9	18.7	20.7
5–3	20.8	17.7	18.1	15.8	19.7	10.1	14.5	10.1
3–2	14.2	11.9	19.1	20.4	22.1	12.7	15.9	12.3
2–1	17.0	7.9	19	28.3	18.2	14.1	22.9	13.9
1–0.5	2.4	0.4	1.3	4.8	1.4	4.0	2.5	4.9
0.5–0.25	6.7	0.5	1.7	5.4	0.8	1.9	4.9	4.4
<0.25	4.5	0.2	0.8	4	0.5	1.9	1.9	2.4
$\Sigma 10-0.25$	81.0	81.3	85.5	90.1	86.9	60.6	79.4	66.2
$\Sigma 10 + <0.25$	19.0	18.7	14.5	9.9	13.1	39.4	20.6	33.8
Kc^*	4.3	4.4	5.9	9.1	6.6	1.5	3.8	2.0

* Kc – коэффициент структурности. То же в табл. 4.

превышала 19.2%. В черноземно-луговой солончаковой слабозасоленной почве в ложбинообразном понижении, не смотря на внешнее ярко выраженное худшее физическое состояние поверхности, количество крупных агрегатов (>10 мм) на протяжении всего периода исследования было меньше. В основном их величина изменялась в пределах 11.6–25.0% (табл. 3). В этом случае проявлялась диспергирующая роль минерализованных вод с высоким содержанием солей. По наши данным, величина минерализации увеличивалась в отдельные годы до 3–5 г/л [32]. Доля мелкой фракции <0.25 мм (пыли) была незначительной и не зависела от таксономической принадлежности почв. В основном ее содержание не превышало 1.5–2.2 %. Можно отметить тенденцию к увеличению этой фракции в годы с избыточным увлажнением. Количество пыли повышалось до уровня $>4.0\%$.

В составе агрономически ценных агрегатов фракцией-доминантом служат структурные отдельности 5–10 мм. Более низкий уровень их содержания был характерен для лугово-черноземной почвы равнинного повышения. В почвах понижений (равнины и ложбины) количество агрегатов этой размерности увеличивалось. Аналогично изменялась и величина фракции в интервале 3–5 мм. Общей закономерностью для этих двух важных фракций почвенной структуры было постепенное их уменьшение за рассмотренный временной промежуток во всех почвенных разностях.

В нормальные по увлажнению годы повышалась доля агрегатов 1–3 мм. В годы с большим количеством атмосферных осадков их количество, как правило, снижалось. Содержание агрегатов фракции <1 мм было незначительным и не оказывало влияние на структурное состояние почв.

Следствием изменения соотношения фракций почвенной структуры было изменение коэффициента

структурности (K_c) — отношения суммы агрономически ценных фракций (0.25–10.0 мм) к сумме глыбистых (>10 мм) и пылеватых (<0.25 мм) отдельностей. Более высокие коэффициенты структурности отмечены в годы с влажностью, близкой к среднегодовому показателю. При повышении атмосферного увлажнения K_c снижался. Эта закономерность прослежена во всех почвенных разностях. Можно отметить меньшую степень варьирования коэффициента структурности в лугово-черноземной почве равнинного повышения по годам. Величина K_c изменялась от 2.0 до 7.5. В черноземно-луговой почве равнинного понижения K_c был на уровне 1.8–8.4. Еще большей вариабельностью этого показателя характеризовалась черноземно-луговая почва ложбинообразного понижения — от 1.5 до 9.1. Таким образом, в почвах отчетливо прослежены особенности изменения структурного состояния от характера грунтового увлажнения.

В 2020 г. на почвах, подверженных сезонному переувлажнению, был заложен опыт изучения действия химической мелиорации. Для оценки изменения физических свойств почв в 2022 г. отобраны почвенные образцы для структурного анализа. Максимальное количество глыбистых частиц отмечено в варианте без применения мелиорантов не зависимо от почвенной разности. Варьирование доли структурных отдельностей >10 мм выявлено в пределах 30.5–32.5% (табл. 4).

Применение приемов химической мелиорации луговых почв существенным образом изменило соотношения фракций структурных отдельностей. Наиболее было заметно снижение глыбистой фракции при внесении гипса, ее количество снижалось до 17.3–23.4%. Минимальное содержание отмечено в лугово-черноземной почве равнинного повышения. В черноземно-луговой почве эффект применения

Таблица 4. Структурный состав луговых почв в вариантах мелиорации, %

Почва	Вариант	Фракции, мм					K_c^*
		>10	10–5	5–1	1–0.25	<0.25	
Черноземно-луговая солончаковая слабозасоленная почва на равнинном понижении	Контроль	30.5	19.1	37.3	11.1	2.0	2.1
	Гипс	23.4	19.8	37.6	17.0	2.2	2.9
	Дефекат	27.1	19.2	37.2	14.1	2.4	2.4
	Дефекат + гипс	22.2	14.3	40.7	20.3	2.5	3.1
Лугово-черноземная почва на равнинном повышении	Контроль	32.5	16.4	39.6	10.9	0.6	2.0
	Гипс	17.3	11.6	45.3	20.4	5.4	3.4
	Дефекат	25.8	19.9	39.9	12.1	2.3	2.6
	Дефекат + гипс	23.9	17.2	44.3	13.5	1.1	3.0
Черноземно-луговая солончаковая слабозасоленная почва в ложбинообразном понижении	Контроль	31.4	20.6	36.3	9.3	2.4	2.0
	Гипс	22.4	19.4	47.1	10.1	1.0	3.3
	Дефекат	25.3	22.1	38.8	12.0	1.8	2.7
	Дефекат + гипс	19.8	18.4	47.9	12.3	1.6	3.7

гипса был менее выражен. При использовании дефеката отмечено также снижение доли глыбистой фракции, но оно было меньше.

Среди агрономически ценных агрегатов лидирующее положение принадлежит фракции 1–5 мм. На ее долю приходилось 36.3–45.3%. Более высокие показатели отмечены в вариантах с применением гипса как в чистом виде, так и в комплексе с дефекатом. В то же время под воздействием мелиорантов увеличивалась доля мелкой фракции с размером частиц 0.25–1.0 мм. Не удалось установить четкой закономерности изменения содержания крупной фракции 5–10 мм. Во всех вариантах ее количество было близким.

Естественным результатом изменения соотношения фракций является повышение величины коэффициента структурности при мелиорации луговых почв. Более высокие показатели отмечены при использовании гипса и его сочетания с дефекатом. Структурообразующая роль последнего выражена в меньшем размере. По отношению к автоморфным черноземам Каменной степи коэффициент структурности был меньше нижнего порога, характерного для фоновых почв [13].

На основе анализа структурного состояния луговых почв можно отметить быструю дезинтеграцию, переорганизацию и изменение соотношения структурных отдельностей, обусловленную характером атмосферного увлажнения. В годы с количеством осадков, превышающим среднееголетние показатели, увеличивалась доля глыбистых частиц. Но при этом сезонно-переувлажненные почвы по существующей классификации характеризовались высокой структурностью. Сезонная изменчивость для агрегированности является решающим фактором, в отличие от агрогенного [33]. Структурообразованию способствуют лабильные гумусовые вещества, которые определяют биохимические процессы в почве [34]. По содержанию гумуса лугово-черноземные почвы Каменной степи характеризуются довольно высоким стабильным его содержанием (табл. 5).

Можно констатировать, что гумусовое состояние луговых почв пришло в равновесное состояние с условиями функционирования этих почв. Можно отметить более высокий уровень гумусированности

черноземно-луговой почвы ложбинообразного понижения с повышением содержания гумуса за период исследований на 0.42%. Довольно стабильное структурное состояние лугово-черноземных почв может быть также обусловлено структурообразующей ролью гуминовых кислот. Состав гумуса исследованных почв гуматный [13]. Гуминовые кислоты, как правило, имеют более высокий порог коагуляции и повышенную структурообразующую роль [34].

Установлено влияние условий увлажнения и таксономической принадлежности почвы на средневзвешенный диаметр агрегатов при сухом и мокром просеивании. В луговых почвах равнинного понижения и повышения увеличение размера агрегатов отмечено в годы с повышенным количеством атмосферных осадков. При снижении влагообеспеченности диаметр почвенных частиц, как правило, уменьшался. Исключением в этом ряду была черноземно-луговая почва ложбинообразного понижения. Четкой закономерности для этой почвы от количества осадков выявить не удалось. В данном случае проявлялась диспергирующая роль более высокой концентрации солей в грунтовых водах и составе водной вытяжки.

Использование приемов химической мелиорации способствовало изменению размера агрегатов во всех почвах. При сухом просеивании в лугово-черноземной почве равнинного повышения их линейный размер снижался с 5.76 до 3.98–5.29 мм, при мокром – с 1.69 до 1.44–1.58 мм (табл. 6).

Более высокая эффективность отмечена в вариантах с использованием гипса. Действие дефеката было менее выражено. В равнинном понижении черноземно-луговой почвы при сухом просеивании размер агрегатов снижался с 5.60 до 3.67–5.26 мм, мокром – с 1.75 до 1.63–1.70 мм. Аналогичная закономерность отмечена в черноземно-луговой почве ложбинообразного понижения, но при более высоких показателях средневзвешенного диаметра почвенных частиц. При сухом просеивании максимальный размер частиц в контроле (без мелиорантов) был равен 5.80 мм, при внесении гипса и его сочетания с дефекатом – снижался до 5.02 и 4.75 мм. В варианте с одним дефекатом отмечено формирование агрегатов размером 5.65 мм. При мокром просеивании размер агрегатов равнялся 1.82, 1.60, 1.46 и 1.61 мм соответственно варианту опыта. Таким образом,

Таблица 5. Содержание гумуса в слое 0–20 см почв, %

Почва	Год		
	1992	2006	2022
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва на равнинном понижении	7.42	7.58	7.28
Лугово-черноземная почва на равнинном повышении	7.42	7.50	7.27
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва в ложбинообразном понижении	7.75	7.85	8.17

Таблица 6. Средневзвешенный диаметр агрегатов, мм

Год	Вариант					
	Р-1		Р-2		Р-3	
	1	2	1	2	1	2
2005	6.37	1.44	6.48	1.61	3.23	1.57
2006	5.77	1.69	4.07	1.65	5.5	1.55
2007	5.41	1.57	5.23	1.75	4.88	1.10
2008	4.48	1.22	4.98	1.48	3.51	1.33
2009	5.63	1.57	4.47	1.64	4.76	1.51
2014	5.21	1.19	4.06	1.16	6.18	1.24
2015	6.25		3.20		4.73	
2022						
а	5.6	1.75	5.76	1.69	5.80	1.82
б	4.97	1.77	3.98	1.44	5.02	1.60
в	5.26	1.70	5.29	1.58	5.65	1.61
г	3.67	1.63	4.86	1.54	4.75	1.46

Примечания. 1. В графе 1 – сухое, 2 – мокрое просеивание. 2. Р-1 – черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва на равнинном понижении, Р-2 – лугово-черноземная почва на равнинном повышении (агрочернозем гидрометаморфизованный), Р-3 – черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва в ложбинообразном понижении (гумусово-гидрометаморфическая засоленная почва). 3. Варианты опыта с мелиорантами (на луговых почвах западнее л.п. № 131, 06.08.2022 г.): а – контроль, б – гипс 5 т/га, в – CaCO₃ 5 т/га, г – гипс + CaCO₃ (2.5 + 2.5 т/га).

химические мелиоранты в разных подтипах почв оказывали положительное влияние на уменьшение средневзвешенного диаметра агрегатов при сухом и мокром просеивании. Это свидетельствовало, с одной стороны, о снижении доли глыбистой фракции при структурном анализе, с другой, – об увеличении агрономически ценных структурных отдельностей, не разрушающихся при внешнем воздействии водой (при мокром просеивании).

Проведенный анализ статистической обработки экспериментальных данных показал существенное различие средневзвешенного диаметра при сухом и мокром просеивании при уровне вероятности $P = 0.95$. При сравнении влияния климатических особенностей года HCP_{05} равнялась 0.56 и 0.08 мм соответственно сухого и мокрого просеивания, при химической мелиорации почв HCP_{05} составил 0.31 и 0.04 мм.

Для оценки равномерности распределения агрегатов по фракциям был использован расчетный показатель энтропии. Более высокие показатели были характерны для условий сухого просеивания. В черноземно-луговых почвах понижения энтропия в контроле (без мелиорантов) при сухом просеивании равнялась 2.67 и 2.64 (табл. 7).

В лугово-черноземной почве равнинного повышения энтропия снижалась до 2.59. При мокром просеивании более высокий показатель энтропии отмечен, наоборот, в почве равнинного повышения – 2.48.

Снижение показателя энтропии распределения количества агрегатов при мокром просеивании могло свидетельствовать о повышении доли более мелких фракций. В вариантах с приемами мелиорации отмечено увеличение энтропии. В черноземно-луговой почве равнинного понижения в контроле (без мелиорантов) энтропия была равна 2.67, что на 2.6–6.0% меньше вариантов с сочетанием гипса и дефеката. В черноземно-луговой почве ложбинообразного понижения энтропия в контроле отмечена на уровне 2.64, под влиянием мелиорантов она повышалась на 1.9–4.2%. Более существенные изменения энтропии были характерны для лугово-черноземной почвы равнинного повышения. Энтропия в контроле составила 2.59, при внесении гипса и дефеката увеличивалась на 4.6–11.6%. Более высокая энтропия в лугово-черноземной почве свидетельствовала о повышении равномерности распределения агрегатов по фракциям.

Таким образом, складывавшиеся метеорологические особенности лет опыта приводили к изменению размера структурных отдельностей. Увеличение количества осадков, повышение увлажненности почвенного профиля, близкое стояние уровня грунтовых вод способствовали росту средневзвешенного диаметра агрегатов при мокром и сухом просеивании. Снижение атмосферного увлажнения уменьшало риски негативного влияния и благоприятно влияло на физическое состояние черноземов лугового ряда. Внесение гипса и дефеката нивелировало негативное

Таблица 7. Показатели энтропии при сухом и мокром просеивании

Почва	Вариант мелиорации	Эс	Эм
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва на равнинном понижении (Р-1)	Контроль	2.67	2.43
	Гипс	2.80	2.41
	Дефекат	2.74	2.45
	Дефекат + гипс	2.83	2.37
Лугово-черноземная почва на равнинном повышении (агрочернозем гидрометаморфизованный) (Р-2)	Контроль	2.59	2.48
	Гипс	2.89	2.50
	Дефекат	2.74	2.38
	Дефекат + гипс	2.71	2.43
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва в ложбинообразном понижении (гумусово-гидрометаморфическая засоленная почва) (Р-3)	Контроль	2.64	2.37
	Гипс	2.69	2.51
	Дефекат	2.72	2.49
	Дефекат + гипс	2.75	2.50

Примечание. Эс – энтропия при сухом, Эм – при мокром просеивании.

действие избыточного увлажнения и формировало почвенную массу с агрегатами меньшего размера. Это могло служить подтверждением доминантной роли агрегатов меньшего диаметра (в том числе при анализе структуры сухого просеивания) и агрегации большего количества агрономически ценных структурных отдельностей, которые формируются при оптимизации физических параметров почвы.

Оценку водоустойчивости структуры лугово-черноземных почв проводили по результатам мокрого просеивания (табл. 8).

Во всех вариантах структура обладала отличной водопрочностью (по Саввинову). Количество водопрочных агрегатов варьировало в пределах 80–85%. Более низкое содержание водоустойчивой структуры характерно для лугово-черноземной почвы равнинного повышения – 71–83%. В черноземно-луговой почве понижений оно отмечено на более высоком уровне – 82–87%. Применение мелиорантов не оказало существенного влияния на агрегацию почвенных частиц. Исключением была лугово-черноземная почва с тенденцией к снижению количества водопрочных

Таблица 8. Агрегатный состав почв при мокром просеивании, %

Почва	Вариант	Размер фракций, мм							
		>3	3–2	2–1	1–0.5	0.5–0.25	<0.25	>3–0.25	3–0.5
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва на равнинном понижении (Р-1)	Контроль	27	17	26	9	7	15	85	51
	Гипс 5 т/га	32	14	22	9	7	16	84	45
	Дефекат 5 т/га	26	17	25	8	8	16	84	50
	Дефекат 2.5 + гипс 2.5 т/га	16	21	34	6	8	15	85	62
Лугово-черноземная почва на равнинном повышении (агрочернозем гидрометаморфизованный) (Р-2)	Контроль	24	20	22	10	7	17	83	52
	Гипс 5 т/га	17	13	27	13	10	20	80	53
	Дефекат 5 т/га	26	18	14	8	5	29	71	40
	Дефекат 2.5 + гипс 2.5 т/га	22	13	27	9	7	22	78	49
Черноземно-луговая солончаковатая слабозасоленная почва в ложбинообразном понижении (гумусово-гидрометаморфическая засоленная почва) (Р-3)	Контроль	35	21	23	6	3	13	87	49
	Гипс 5 т/га	21	21	26	9	7	17	83	55
	Дефекат 5 т/га	30	16	22	8	7	17	83	46
	Дефекат 2.5 + гипс 2.5 т/га	18	20	29	8	8	18	82	56

агрегатов, минимальная величина которого отмечена в варианте с дефекатом — 71% (контроль — 83%).

Фракциями-доминантами, по результатам мокрого просеивания, были агрегаты размером >3 и 2–1 мм. Остальные агрегаты занимали подчиненное положение. Установлена высокая водопрочность почвенной структуры. Наличие значительного количества цементирующего материала (высокое содержание гумуса и обменных катионов) способствовало повышению устойчивости к разрушающему действию воды [35].

ВЫВОДЫ

Формирование сезонно-переувлажненных почв изменяло их гранулометрический состав. Отмечено перераспределение фракций, заметный рост доли физической глины за счет увеличения илистой фракции. В агрочерноземах гумусовая толща характеризовалась снижением доли ила и большим содержанием песчаной фракции.

Переувлажнение черноземных почв приводило к изменению структурного состояния и увеличению глыбистой части почвенных фракций. В годы с большим количеством атмосферных осадков отмечено снижение коэффициента структурности. Приемы химической мелиорации лугово-черноземных почв способствовали улучшению показателей структурного состояния. Более высокая эффективность в этом отношении отмечена при использовании гипса и его сочетания с дефекатом. Высокое содержание органического вещества способствовало сохранению водостойчивой структуры на уровне фоновых почв. Изменение агрегатного состояния при мокром просеивании происходило медленно и постепенно и было обусловлено реальными почвенными режимами.

Средневзвешенный диаметр агрегатов при мокром и сухом просеивании определялся условиями атмосферного увлажнения. Большие показатели характерны в годы с количеством осадков, превышающим среднемноголетние нормы. Внесение гипса и дефеката оптимизировало структурно-агрегатное состояние луговых почв и приводило к снижению средневзвешенного диаметра частиц.

Более высокие показатели энтропии после сухого просеивания были характерны для вариантов химической мелиорации луговых почв с высокой долей достоверности ($P = 0.95$): для вариантов с гипсом — 2.69–2.89, с дефекатом — 2.72–2.74, сочетания гипса и дефеката — 2.71–2.83. В контроле энтропия была равна 2.59–2.67, при мокром просеивании: 2.41–2.51, 2.38–2.49, 2.37–2.50 и 2.37–2.48 соответственно. Таким образом, фракции структурных отдельностей при химической мелиорации черноземно-луговых почв распределялись более равномерно по отношению к контролю.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ахтырцев А.Б.* Лугово-черноземные почвы центральных областей Русской равнины. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1981. 174 с.
2. *Минаков Р.Б., Ахтырцев А.Б.* Динамика гидроморфного процесса лесостепи Центрально-Черноземного региона // Вестн. Воронеж. ГАУ. 2011. № 2(29). С. 151–155.
3. *Зайдельман Ф.Р., Никифорова А.С., Степанцова Л.В., Красина Т.В., Красин В.Н.* Эколого-гидрологические и генетические особенности почв Тамбовской низменности // Почвоведение. 2014. № 4. С. 387–400.
4. *Новых Л.Л., Пелехоце Е.А., Смирнова Л.Г., Чуйкова Е.Г.* Вторичный гидроморфизм как актуальное направление трансформации черноземов // Научн. вед-ти БелгородГУ. Сер. Естеств. науки. 2016. № 25(246). С. 94–102.
5. *Новикова Н.М., Волкова Н.А., Назаренко О.Г.* К методике мониторинга локального переувлажнения агроэкосистем в степной зоне // Экосистемы: экол. и динамика. 2022. Т. 6. № 3. С. 48–67. DOI: 10.24412/2542-2006-2022-3-48-67
6. *Адерихин П.Г.* Происходит ли засоление почв в Каменной степи? // Почвоведение. 1953. № 6. С. 63–66.
7. *Исаев В.А., Баранова О.Ю.* Современные направления эволюции агроландшафтов Каменной степи // Мат-лы научн. сессии РАСХН “Научное наследие В.В. Докучаева и современное земледелие”. Ч. 1. М., 1992.
8. *Исаев В.А., Иванов А.Л.* Обзор исследований периодически избыточно-увлажненных почв Каменной Степи // Вестн. Рос. сел.-хоз. науки. 2020. № 1. С. 17–23. DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/17-23
9. *Исаев В.А., Белобров В.П., Юдин С.А., Воронин А.Я., Фомин Д.С., Ермолаев Н.Р., Духанин Ю.А., Иванов А.Л., Чевердин Ю.И., Беспалов В.А.* Почво-грунтовые воды (верховодка) в черноземах Каменной степи // Вестн. Рос. сел.-хоз. науки. 2021. № 3. С. 54–60. DOI: 10.30850/vrsn/2021/3/54-60
10. *Хитров Н.Б., Чевердин Ю.И.* Почвы Каменной Степи от времени В.В. Докучаева до наших дней // Жив. и биокосн. сист. 2016. № 16. URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-16/article-2>
11. *Хитров Н.Б., Чевердин Ю.И.* Сезонно переувлажненные черноземные почвы Каменной Степи. М.: АПР, 2012. С. 64–89.
12. *Муромцев Н.А., Панов Г.А., Шуравилин А.В., Семёнов Н.А.* Эволюция свойств чернозема выщелоченного под влиянием мелиорации в культурном ландшафте // Мелиорац. и водн. хоз-во. 2011. № 3. С. 9–12.

13. *Чевердин Ю.И., Титова Т.В.* Гидроморфные почвы Каменной Степи: Монография. Воронеж: Изд-во "Истоки", 2020. 253 с.
14. *Исаев В.А., Баранова О.Ю.* Влияние экологической обстановки на мелиорированные почвы Центрального Черноземья. М.: АПР, 1994. С. 196–200.
15. *Лебедева И.И.* Гидрологические профили южных черноземов и агрочерноземов // Почвоведение. 2004. № 7. С. 837–846.
16. *Щеглов Д.И., Семенова Л.А.* Влияние уровня грунтовых вод на свойства и плодородие почв // Перспективы науки. 2011. № 5(20). С. 18–20.
17. *Котова Е.В.* Влияние степени гидроморфизма на гранулометрический состав и соотношение фракций черноземов лесостепной части Воронежской области // Аграрные ландшафты, их устойчивость и особенности развития. Сб. научн. тр. по мат-лам Международ. научн. экол. конф. Сост.: Л.С. Новопольцева / Под ред. И.С. Белюченко. Краснодар: КубанГАУ им. И.Т. Трубилина, 2020. С. 92–95.
18. *Саинчук А.М., Стекольников К.Е.* Влияние антропогенной эволюции на потенциальное плодородие чернозема обыкновенного в условиях Каменной степи // Вестн. ВоронежГАУ. 2020. № 4(67). С. 220–227.
DOI: 10.17238/issn2071-2243.2020.4.220
19. *Кузиев Р.К., Собитов У.Т., Абдурахмонов Н.Ю., Мирсодиқов М.М.* Изменение почвенных свойств в орошаемом земледелии // Научн. обзор. 2020. № 3. С. 49–55.
20. *Власенко В.П., Костенко В.В.* Структура почвенного покрова Тимашевского района в условиях гидроморфной деградации почв // Научно-технологическое обеспечение агропромышленного комплекса России: проблемы и решения. Сб. тез. по мат-лам IV Нац. конф / Отв. за выпуск А.Г. Кошцаев. Краснодар: КубанГАУ им. И.Т. Трубилина, 2019. С. 23–24.
21. *Смирнова Л.Г., Тютюнов С.И., Лебедева И.И., Базыкина Г.С., Гребенников А.М., Исаев В.А.* Глубинный гидроморфизм миграционно-мицеллярных агрочерноземов Белгородской области // Аграрн. Россия. 2016. № 3. С. 9–15.
22. *Зайдельман Ф.Р., Никифорова А.С., Степанцова Л.В., Красин В.Н.* Методы количественной оценки степени гидроморфизма черноземовидных почв (на примере почв севера Тамбовской равнины) // Вестн. МГУ. Сер. 17. Почвоведение. 2012. № 1. С. 11–17.
23. *Зайдельман Ф.Р., Тюльпанов В.П., Ангелов Е.Н., Давыдов А.И.* Почвы мочарных ландшафтов (формирование, агроэкология и мелиорация). М.: Изд-во МГУ, 1998. 160 с.
24. *Красина Т.В., Степанцова Л.В., Красин В.Н.* Агрофизические свойства типичного чернозема, черноземовидных почв и солонцов черноземовидных юга Тамбовской равнины // Вестн. МичуринскГАУ. 2012. № 4. С. 42–48.
25. *Хитров Н.Б., Чевердин Ю.И.* Распространение сезонно переувлажненных и затопленных почв в Каменной Степи // Каменная Степь: проблемы изучения почвенного покрова: науч. тр. М.: Почв. ин-т им. В.В. Докучаева, 2007. С. 121–133.
26. *Вадюнина А.Ф., Корчагина З.А.* Методы исследования физических свойств почв. М.: Агропромиздат, 1986. 416 с.
27. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
28. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 223 с.
29. *Хитров Н.Б., Чечуева О.А.* Способ интерпретации данных макро- и микроструктурного состояния почв // Почвоведение. 1994. № 2. С. 84–92.
30. IUSS Working Group WRB. 2015. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources. Rep. № 106. Rome: FAO.
31. *Зайдельман Ф.Р., Никифорова А.С., Степанцова Л.В., Волохина В.П.* Темно-серые почвы на двучленных отложениях севера Тамбовской равнины: агроэкология, свойства и диагностика // Почвоведение. 2012. № 5. С. 515–529.
32. *Чевердин Ю.И., Беспалов В.А., Титова Т.В.* Особенности формирования солевого профиля сезонно переувлажненных почв Каменной Степи // Агрохимия. 2022. № 11. С. 13–25.
DOI: 10.31857/S0002188122110047
33. *Быстрицкая Т.Л., Герасимова М.И.* О годовом цикле современного черноземного процесса // Почвоведение. 1988. № 6. С. 5–15.
34. *Караваева Н.А., Лебедева И.И., Скворцова Е.Б., Герасимова М.И.* Географо-генетическая концепция пахотных горизонтов и опыт их типизации // Почвоведение. 2003. № 12. С. 1413–1421.
35. *Тищенко С.А., Безуголова О.С., Морозов И.В.* Особенности физических свойств почв локально переувлажненных ландшафтов Нижнего Дона // Почвоведение. 2013. № 3. С. 328–334.
DOI: 10.7868/S0032180X13030106
36. *Лебедева И.А., Чевердин Ю.И., Титова Т.В., Гребенников А.М., Маркина Л.Г.* Структурное состояние миграционно-мицеллярных (типичных) агрочерноземов Каменной Степи в условиях разновозрастной пашни // Почвоведение. 2017. № 2. С. 227–238.
DOI: 10.7868/S0032180X17020095

Dynamics of Physical Parameters of Soils of the Meadow Range of the Stone Steppe

Yu. I. Cheverdin^{a,#}, T. V. Titova^a, I. F. Porotikov^a

^a V.V. Dokuchaev Voronezh FASC, pos.2 division of the Dokuchaev Institute,
quart. 5, 81, Voronezh region, Talovsky district 397463, Russia

[#] E-mail: cheverdin62@mail.ru

A comparative analysis of the physical properties of meadow soils in agroforestry landscapes of the Central Chernozem region over a long period of time was carried out. The study was carried out on the soils of a seasonally waterlogged complex. According to the 2004 classification, these soils belong to hydrometamorphosed agrochernozems and humus-hydrometamorphic saline soils. The granulometric composition of the soils depended on the nature of soil moisture. In automorphic chernozems, a decrease in the proportion of the silty fraction of humus horizons was noted. Hydromorphic soils were characterized by an increased content of silt. Its role in carbonate horizons increased significantly. In the structural and aggregate state, an increase in the proportion of the lumpy fraction was noted in years with precipitation exceeding the long-term average. As part of the agronomically valuable aggregates, 5–10 mm aggregates were the dominant fraction. The share of small dusty aggregates accounted for an insignificant part. The use of chemical meliorants on meadow soils improved the structural condition of meadow soils. An increase in the structural coefficient was noted. All studied soil differences were characterized by high water resistance of structural separations.

Keywords: seasonally waterlogged soils, granulometric composition, physical parameters of the soil, meliorants.

ДЕСОРБЦИЯ КАЛИЯ И МАГНИЯ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВОЙ[§]

© 2024 г. В. Н. Якименко*

*Институт почвоведения и агрохимии СО РАН
630090 Новосибирск, просп. Лаврентьева, 8/2, Россия***E-mail: yakimenko@issa-siberia.ru*

Показали, что длительный дефицитный баланс калия в агроценозе снижает способность серой лесной почвы десорбировать этот элемент в почвенный раствор в гораздо большей степени, чем магниевый дефицит – десорбцию магния. Установлено, что подвижность катионов калия больше, чем магния, независимо от степени истощения почвы в отношении этих элементов: 0.1–0.5 М раствор ацетата аммония извлекал практически весь почвенный фонд обменного калия, тогда как магния – только 65–90%. При фракционном экстрагировании калия 0.001 М раствором ацетата аммония отличия между почвами с разной калийной обеспеченностью отмечали только в 2–3-х первых вытяжках; в последующих вытяжках содержание калия выравнивалось. Содержание магния в последовательных вытяжках снижалось постепенно и примерно одинаково в почвах с его различным исходным содержанием. Показано, что интенсивность и специфика десорбции почвой калия и магния хорошо отражает плодородие почвы в отношении этих элементов.

Ключевые слова: агроценоз, почва, калий, магний, десорбция.

DOI: 10.31857/S0002188124100028, **EDN:** ANTLGI

ВВЕДЕНИЕ

Эффективное плодородие почвы в отношении, например, калия или магния определяется не только общим почвенным запасом форм этих элементов, но и их качественным состоянием, степенью подвижности – способностью к переходу почвенных ионов из более прочно ассоциированного с матрицей состояния на позиции с меньшей прочностью связи. Основная часть от общего количества поглощаемого растениями калия или магния транспортируется к корням массопотоком и диффузией [1, 2], поэтому от возможности почвы обеспечивать адекватный уровень этих элементов в почвенном растворе напрямую зависят условия питания растений.

Трансформация форм калия или магния в почве заключается в способности этих катионов занимать различные по прочности связи с почвой позиции; в ее основе лежат 2 противоположно направленных и обратимых процесса – адсорбция (фиксация) и десорбция (мобилизация) [3, 4]. В этой связи изучение природы, механизмов и факторов адсорбции–десорбции питательных элементов наряду с исследованием их форм создает фундамент для научно обоснованного регулирования плодородия почвы.

[§] Работа выполнена в рамках государственного задания ИПА СО РАН.

Под процессом десорбции обычно понимают переход катионов из обменно-поглощенного или необменного состояния в почвенный раствор, например в случае снижения их концентрации при потреблении растениями [3, 4]. Отметим, что изучению десорбционной способности почв, в отличие от фиксирующей, посвящено значительно меньшее количество работ. Начало подобным исследованиям было положено в трудах [5–7], использовавших для этих целей растворы уксуснокислого аммония возрастающих концентраций: считалось, что чем слабее экстрагент, тем подвижнее извлекаемый им калий и тем доступнее он растениям.

В последующих исследованиях была показана зависимость десорбции калия почвами от их гранулометрического состава, типа почвообразования, степени насыщенности почвенного поглощающего комплекса этим катионом. В опытах [8] песчаные и супесчаные дерново-подзолистые почвы отличались большей подвижностью калия по сравнению с их суглинистыми разновидностями. В исследовании [9] установлено, что скорость десорбции калия при непрерывном фракционировании из супесчаных дерново-подзолистых почв примерно на порядок больше, чем из тяжелосуглинистых, а внесение калийных удобрений существенно повышало скорость десорбции. По мнению [10], подвижность калия в почвах сильно зависит от их минералогического

состава. В работе [11] было показано, что при близком гранулометрическом и минералогическом составе почв обменный калий в подзолистых почвах более подвижен, чем в почвах гумусово-аккумулятивно-го типа почвообразования. Согласно данным [12], подвижность калия в серых лесных почвах в 2 раза больше, чем в более гумусированных черноземах.

Анализ имеющихся литературных материалов показал, что довольно немногочисленные в целом работы, оценивающие десорбционную способность почв в отношении калия, проведены в основном на целинных почвах. Исследования почв агроценозов, в связи с различной интенсивностью применения калийных удобрений, единичны [7, 10, 13], при этом авторы прогнозируют повышение десорбционной способности при регулярном внесении высоких доз калийных удобрений. Научных работ, посвященных изучению десорбции почвами магния, в отечественной литературе нам обнаружить не удалось.

Многие явления и факторы трансформации форм калия в почвах различными исследователями оценивались неоднозначно. В значительной степени это связано с тем, что механизмы и количественные проявления тех или иных процессов могут существенно отличаться в зависимости от почвенно-климатических, агротехнических и других условий. Поэтому при разработке путей эффективного использования удобрений и оптимизации питательного режима почв изучение специфики трансформации форм элементов-биофилов необходимо для каждого близкого по генезису почвенных групп в различных природных регионах.

Цель работы — изучение специфики десорбции калия и магния серой лесной почвой агроценозов, в различной степени обеспеченной этими элементами.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение десорбционной способности почвы в отношении К и Mg проводили в лабораторных экспериментах с почвенными образцами, отобранными (слой 0–20 см) в различных вариантах длительного полевого и микрополевого опытов [14, 15], проведенных на научном стационаре ИПА СО РАН (Новосибирская обл., Искитимский р-н), а также расположенного рядом с опытами целинного участка. Исследованная серая лесная среднесуглинистая почва содержала 31% физической глины, 17% ила, 4% гумуса; емкость катионного обмена — 21 мг-экв/100 г. Проведенный ранее [4] анализ минералогического состава почвы показал, что почвенная фракция физического песка состоит из кварца, полевого шпата и амфиболов, а фракция физической глины содержит (в убывающем порядке) гидрослюда мусковитового типа (иллит), хлорит, каолинит, вермикулит и дисперсный смектит.

В указанных полевых опытах при выращивании картофеля ежегодно применяли следующие дозы удобрений (кг/га): N — 100, P — 60, K — 120, Mg — 50. В вариантах без внесения калийных и/или магниевых удобрений баланс этих элементов был перманентно сильнодефицитным; при систематическом использовании калия и/или магния формировался положительный их баланс.

В одном эксперименте определяли количество калия и магния, экстрагируемое из почв растворами $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ различной концентрации, предполагая, что чем слабее раствор, тем более мобильны извлекаемые им почвенные катионы. В другом лабораторном опыте проводили экстрагирование калия и магния из почвенных образцов последовательными вытяжками (период экспозиции между очередными вытяжками составлял 1 сут) 0.001 М раствора $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ до стабилизации извлекаемого количества катионов, полагая, что чем больше (и дольше) поступает калия и магния в раствор, тем выше десорбционная способность почвы в отношении этих элементов. Было проведено по 3 серии опытов в трехкратной повторности. Содержание калия и магния в указанных вытяжках определяли по методу [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Различный баланс калия и магния в вариантах полевых опытов отразился как на содержании обменной формы этих элементов в почве, так и на ее способности десорбировать катионы в почвенный раствор (табл. 1).

В вариантах опытов без внесения калийных удобрений (без удобрений и NPMg) почвенное содержание обменного калия существенно снизилось по сравнению с исходной целинной почвой — с 12 до 8–9 мг/100 г. В этом случае уровень обменного калия в данной почве достиг своего минимума и стал фактором, лимитирующим продуктивность растений; в частности, урожайность картофеля при внесении NP-удобрений не изменялась относительно контрольного варианта [17]. Этот минимальный уровень обменного калия в почве, вероятно, составляли катионы, интрамицеллярно поглощенные почвенным комплексом и межслоевым пространством глинистых минералов; селективность этих катионов к обменным позициям почвенной матрицы была выше, чем усваивающая способность выращиваемых культур. Данное количество обменного калия могло быть извлечено из почвы соответствующими химическими экстрагентами, но в питании растений оно, по-видимому, не участвовало.

Наглядным подтверждением и объяснением этого факта истощения плодородия почвы в отношении калия является резкое снижение ее способности десорбировать калийные катионы в почвенный раствор.

Таблица 1. Экстрагирование калия и магния из серой лесной почвы растворами ацетата аммония

Вариант	Концентрация ацетата аммония, М						
	0	0.001	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0
Калий							
Целина	<u>2.2</u> 18.3	<u>3.9</u> 32.5	<u>8.1</u> 67.5	<u>9.8</u> 81.7	<u>10.5</u> 87.5	<u>12.0</u> 100	<u>12.0</u> 100
Без удобрений	<u>0.3</u> 3.7	<u>0.7</u> 8.6	<u>3.7</u> 45.7	<u>5.5</u> 67.9	<u>6.3</u> 77.7	<u>8.1</u> 100	<u>8.1</u> 100
NPMg	<u>0.4</u> 4.4	<u>0.8</u> 8.9	<u>4.0</u> 44.4	<u>6.0</u> 66.7	<u>7.0</u> 77.8	<u>9.0</u> 100	<u>9.0</u> 100
NPK	<u>2.9</u> 16.3	<u>4.8</u> 27.0	<u>10.0</u> 56.2	<u>13.9</u> 78.1	<u>15.9</u> 89.3	<u>17.8</u> 100	<u>17.8</u> 100
NPKMg	<u>2.6</u> 16.3	<u>4.4</u> 27.5	<u>8.6</u> 53.8	<u>12.0</u> 75.0	<u>13.5</u> 84.3	<u>16.0</u> 100	<u>16.0</u> 100
Магний							
Целина	<u>1.6</u> 11.4	<u>2.4</u> 17.1	<u>5.4</u> 38.6	<u>9.0</u> 64.3	<u>10.0</u> 71.4	<u>11.6</u> 82.8	<u>14.0</u> 100
Без удобрений	<u>1.0</u> 10.0	<u>1.6</u> 16.0	<u>3.7</u> 37.0	<u>6.0</u> 60.0	<u>6.7</u> 67.0	<u>8.0</u> 80.0	<u>10.0</u> 100
NPK	<u>0.6</u> 7.1	<u>1.1</u> 13.0	<u>3.0</u> 35.7	<u>5.1</u> 60.7	<u>5.5</u> 65.4	<u>6.8</u> 80.9	<u>8.4</u> 100
NPMg	<u>2.2</u> 11.8	<u>3.9</u> 21.0	<u>8.2</u> 44.1	<u>13.8</u> 74.1	<u>16.0</u> 86.0	<u>16.6</u> 89.2	<u>18.6</u> 100
NPKMg	<u>2.4</u> 12.0	<u>4.1</u> 20.5	<u>8.0</u> 40.0	<u>14.4</u> 72.0	<u>16.2</u> 81.0	<u>18.0</u> 90.0	<u>20.0</u> 100

Примечание. Над чертой – содержание К или Mg, мг/100 г почвы, под чертой – % от обменного (1 М раствор).

Таблица 2. Количество калия и магния, извлекаемое из серой лесной почвы 0.001 М раствором CH₃COONH₄ при фракционном экстрагировании, мг/100 г

Вариант	Последовательные вытяжки										Сумма 2–10-й фракций
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Калий											
Целина	2.8	1.5	1.1	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	5.7
Без удобрений	1.2	0.7	0.7	0.5	0.5	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	3.8
NPMg	1.0	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.4	0.3	0.2	0.2	3.8
NPK	4.8	2.2	1.4	0.9	0.7	0.6	0.4	0.4	0.4	0.3	7.3
NPKMg	4.3	2.4	1.2	0.8	0.6	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	7.0
Магний											
Целина	2.4	2.0	1.8	1.4	2.1	1.4	1.3	1.3	1.3	1.2	13.8
Без удобрений	1.6	1.1	1.1	1.0	1.5	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0	9.8
NPK	1.2	1.0	1.0	0.9	1.4	0.9	0.8	0.8	0.8	0.7	8.3
NPMg	3.9	2.6	2.3	2.0	2.5	1.4	1.3	1.2	1.2	1.2	15.7
NPKMg	4.0	2.5	2.4	1.9	2.5	1.5	1.3	1.3	1.2	1.2	15.8

В вариантах с длительным дефицитным балансом калия в водную вытяжку переходило 0.3–0.4 мг К/100 г почвы, или примерно 4% всего обменного пула этих катионов, т.е. практически на порядок меньше, чем на плодородной целине и в вариантах с использованием калийных удобрений. Аналогичную ситуацию наблюдали и при экстрагировании почвенного калия слабыми растворами ацетата аммония. Эти катионы, являясь экстрамицеллярно поглощенными с относительно непрочной связью с почвенной матрицей, составляли наиболее мобильную фракцию почвенного калия и в наибольшей степени были вовлечены

в различные миграционные процессы, в т. ч. поглощение растениями. Интенсивность десорбции этих катионов и определяла, очевидно, текущие условия калийного питания культур и эффективное плодородие почвы.

Более концентрированные растворы ацетата аммония (0.1, 0.5 М) оказывали значительно более интенсивное воздействие на почву, экстрагируя практически весь калий, способный к обмену (табл. 1). Количественно пул этих катионов между вариантами опытов значительно различался (от 8 до 18 мг/100 г), но относительно общего содержания обменного калия в почве каждого конкретного варианта совокупность данных катионов составляла 90–100%. Вытяжка 1 М уксуснокислого аммония отражала общее содержание калия во всех типах обменных почвенных позиций — и экстра-, и интрамицеллярных (главным образом). Данные катионы составляют потенциальный запас обменного калия, который не всегда может характеризовать калийную обеспеченность выращиваемых культур этим элементом, прежде всего при его минимальном, истощенном уровне.

В многолетних полевых опытах, из вариантов которых была отобрана почва для рассмотренного лабораторного эксперимента, удельное потребление картофеля калия составляло 4.2 г/кг клубней (с учетом ботвы), магния — 0.23 г/кг, т. е. вынос магния урожаем был почти в 20 раз меньше, чем калия [17]. По этой причине, как нам представляется, почвенный фонд доступного растениям магния был истощен в значительно меньшей степени по сравнению с калийным фондом (в вариантах с дефицитным балансом этих элементов). Внесение магниевого удобрения на фоне NPK в опытах приводило к некоторому дополнительному повышению урожайности, однако далеко не столь значительному, как действие калия на фоне NP, т. е. магний, в отличие от калия, не являлся фактором, существенно лимитирующим урожайность растений.

Тем не менее, содержание обменного магния в почве вариантов с его дефицитным балансом заметно снизилось по сравнению с целиной — с 14 до 8–10 мг/100 г. При этом характер десорбции наиболее мобильных фракций обменного магния изменился мало. Относительное количество катионов, переходящих в водную и слабо солевую вытяжки, было практически одинаковым как в целинной почве, так и в вариантах без удобрений и NP. Очевидно, это свидетельствовало о сохраняющейся способности почвы этих вариантов опыта обеспечивать в целом нелимитированное магниевое питание растений.

При бездефицитном балансе магния в вариантах полевого опыта, наряду с увеличением почвенного пула его обменных катионов, возросла и способность почвы десорбировать магний в почвенный раствор (табл. 1). В вариантах NPMg и NPKMg количество десорбируемого магния как в абсолютных,

так в относительных величинах заметно превышало аналогичные показатели плодородной целинной почвы. Вероятно, внесенный с удобрениями магний, занимая в почвенной матрице неспецифические, планарные позиции, обладал большей подвижностью по сравнению с “природным” почвенным магнием.

Следует отметить меньшую в целом мобильность почвенного фонда обменного магния по сравнению с калием. Например, из целинной почвы в водную вытяжку переходило 18% обменного калия и только 11% — магния, а в слабый солевой раствор ацетата аммония — соответственно 33 и 17%. Та же закономерность прослежена и для почвы вариантов с бездефицитным балансом этих элементов. Весь обменный калий почвы, независимо от степени ее истощения в отношении этого элемента, извлекался 0.5 М раствором ацетата аммония, тогда как магний — только на 80–90%.

При оценке содержания обменного калия или магния в почве как индексов ее эффективного плодородия следует учитывать, что данные катионы являются частью общего катионного пула почвенно-поглощающего комплекса (ППК) и, следовательно, уровень содержания и степень их подвижности в почвах определяются свойствами ППК. По доле элемента в общей сумме обменных катионов можно уверенно судить о богатстве почвы его обменной формой, а изменение степени насыщенности ППК калием или магнием в процессе хозяйственного использования почв характеризует вектор трансформации почвенного плодородия в отношении этих элементов.

По нашим данным [4], доля калия в емкости катионного обмена (ЕКО) суглинистых почв лесостепи Западной Сибири меньше 1% соответствует предельному истощению в почве обменной формы элемента; оптимальные условия калийного питания растений складываются при насыщении обменным калием до 1.5–2.2% почвенной ЕКО. У использованной в лабораторном эксперименте почвы вариантов без удобрений и NP насыщенность ЕКО обменным калием составляла $\approx 1\%$; слабая способность этой почвы десорбировать калийные катионы подтверждала ее истощение в отношении калия. В целине и почве вариантов NPK и NPKMg доля калия в емкости поглощения находилась на уровне от 1.5 до 2.1%, десорбционная способность данных почв существенно возрастала.

В проводимых ранее полевых опытах [14, 17] содержание обменного магния в почве вариантов с его дефицитным балансом не опускалось меньше 7.2–7.5 мг/100 г при насыщенности им почвенной ЕКО $\approx 3\%$. Хотя и в этом случае магний не перешел в разряд лимитирующего фактора, тем не менее при внесении магниевого удобрения на фоне NPK отмечена явная тенденция к росту урожайности картофеля. Доля обменного магния в ЕКО почвы вариантов

лабораторного эксперимента без удобрений и NPK составляла 3.3–3.8%, при этом ее десорбционная способность мало отличалась от целинного аналога. Отметим, что в целине насыщенность ППК обменным магнием была на уровне 5.5%, а в почве вариантов NPMg и NPKMg – 7.2–7.7%. Можно предположить, что десорбционная способность исследованной почвы при насыщенности обменным магнием >3% ЕКО позволила обеспечивать продукционный процесс выращиваемых культур (по крайней мере при уровне урожайности, например, картофеля – 250–300 ц/га). Если доля магния в ЕКО почвы составляет 5–7%, магниевое питание растений не лимитировано.

Таким образом, была очевидной тесная взаимосвязь между насыщенностью ППК калием или магнием (долей в ЕКО) и интенсивностью процесса их десорбции. При насыщении ППК этими катионами значительно возрастала их подвижность; и, наоборот, снижение доли элементов в общем обменном катионном пуле резко ограничивает их активность. Повышенный (неистощенный) фонд определенного обменного катиона в почве обуславливает ее способность восстанавливать снижающуюся концентрацию этого элемента в почвенном растворе (например, при потреблении растениями), в то же время интенсивность процесса десорбции какого-либо катиона отражает текущее состояние его обменного фонда и в целом эффективное плодородие почвы в отношении данного элемента.

Способность почвы поддерживать определенную концентрацию какого-либо элемента в почвенном растворе на протяжении некоторого времени для обеспечения потребности растений можно оценить посредством фракционного (последовательного) экстрагирования (истощающая нагрузка) этого элемента водой или слабыми солевыми растворами (табл. 2).

Наибольшее количество легкообменного калия экстрагировалось из почвы всех вариантов опыта первой вытяжкой слабого раствора ацетата аммония, этот показатель обычно используют при диагностике почв, поскольку он довольно рельефно отражает различия в почвенном калийном состоянии. Например, из неистощенных в отношении калия почв (целина, NPK) первая вытяжка извлекала 3–5 мг К/100 г, тогда как из истощенных (без удобрений, NP) – 1–1.2 мг. В процессе последующего фракционного экстрагирования разница между вариантами постепенно сглаживалась, а с 5–6-й вытяжки количество калия, извлекаемого из почв разных вариантов, практически выравнивалось. Эти данные хорошо согласуются с ранее полученными результатами [18], свидетельствовавшими, что последствие калийных удобрений, даже при многолетнем положительном балансе калия в агроценозе, сохраняется не более 4–5 лет, за это время содержание обменного калия снижается до уровня не удобрявшейся почвы.

Тем не менее, очевидно, что почва с неистощенным калийным фондом (целина, NPK) могла определенное время восполнять количество калия в почвенном растворе после его удаления несколькими последовательными вытяжками. В то же время количество легкообменного калия, экстрагируемое из почв вариантов с его дефицитным балансом (без удобрений, NP), сразу же снижалось до относительно стабильного минимального уровня. Можно полагать, что десорбция калия в почвенный раствор взамен отчуждаемого происходила главным образом за счет ранее внесенного и закрепленного калия удобрений, обладавшего большей подвижностью по сравнению с природным.

Способность почвы десорбировать (мобилизовать) калий в почвенный раствор отражает не только (может быть, и не столько) первая вытяжка слабосолевого раствора, но и количество катиона, переходящее в последующие вытяжки до достижения некоторого равновесного состояния. Из почвы агроценоза с длительным дефицитным калийным балансом (варианты без удобрений, NP) дополнительно экстрагировалось (сумма 2–10-й фракций) 3.8 мг калия, тогда как почва агроценоза с бездефицитным его балансом (NPK) могла дополнительно мобилизовать 7.3 мг.

Количество калия, десорбируемое в почвенный раствор, в почве, плодородной в отношении этого элемента, было больше, чем в истощенной и в абсолютных, и в относительных величинах. Например, общее количество десорбируемого калия истощенной почвой составляло 50–60% от почвенного содержания его обменной формы (табл. 1), а в плодородной почве – 70%. Данное обстоятельство дополнительно свидетельствовало о преимуществах калийного питания растений на плодородных почвах.

Десорбция почвой магния при пролонгированном его вытеснении имела свою специфику по сравнению с калием (табл. 2), вероятно в связи с определенными отличиями позиций, занимаемых этими катионами в почвенных кристаллитах. Основным депо относительно подвижных запасов калия в почвах является иллит (содержание К – до 7%), магний же дислоцируется главным образом в хлорите (до 23% Mg), вермикулите (12–17%) и смектите (до 6%) [3]; все перечисленные минералы обладают трехслойной структурой, но с различной способностью к набуханию.

Проведенные исследования показали (табл. 2), что различия между вариантами почв с дефицитным и бездефицитным магниевым балансом по количеству экстрагируемого магния отчетливо наблюдали не только в первых вытяжках, но и на протяжении всего периода пролонгированного вытеснения. Снижение уровня содержания легкообменного магния при последовательном экстрагировании, в отличие от калия, проходило достаточно постепенно. Более того, в процессе экстрагирования отмечали еще один

пик (помимо первой вытяжки) концентрации вытесняемого магния (5-я вытяжка). Вероятно, в процессе последовательных обработок почвы раствором ацетата аммония произошла частичная распаковка почвенных агрегатов, а также увеличение степени гидролиза поверхностных слоев минералов, что способствовало дополнительной мобилизации магния. Достигнутое равновесное состояние по содержанию десорбируемого магния (1.0–1.2 мг) в конце эксперимента заметно превосходило аналогичное содержание калия (0.2–0.3 мг). Данное обстоятельство свидетельствовало о повышенных (по сравнению с калием) возможностях исследованной почвы восстанавливать концентрацию магния в почвенном растворе при его перманентном отчуждении.

В этой связи отметим, что общее количество возобновленного легкообменного магния (сумма всех вытяжек, за исключением первой) многократно превышало первоначальное (1-я вытяжка) содержание в почве данной фракции катиона (табл. 2). Обращает на себя внимание тот факт, что общее количество мобилизованного почвами легкообменного магния примерно равнялось исходным запасам его обменной формы (табл. 1), содержащейся в соответствующих почвенных вариантах в начале эксперимента. Сложно утверждать, что весь запас обменного магния переходит в почвенный раствор при последовательном вытеснении легкообменной фракции. Однако тесная прямая связь между способностью почвы поддерживать снижающийся уровень магния в почвенном растворе достаточно продолжительное время, с одной стороны, и имеющимся фондом обменной (а также необменной) формы этого элемента, с другой, очевидна. Благодаря эффективности трансформационных процессов и десорбционной способности почвы уровень наиболее мобильных фракций магния перманентно восполняется за счет более масштабных, но менее подвижных его резервов. Относительно высокая и стабильная десорбционная способность исследованной почвы в отношении магния объясняет в значительной мере сравнительно безлимитное питание растений этим элементом при достаточно длительном дефицитном его балансе в агроценозе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показали, что интенсивность и специфика десорбции почвой калия и магния хорошо отражают почвенное плодородие в отношении этих элементов. Различный баланс калия или магния в агроценозе, уменьшая или увеличивая насыщенность этими катионами ППК, соответствующим образом изменяет способность почвы к их десорбции в почвенный раствор, определяя таким образом условия питания растений.

Почва агроценоза с многолетним дефицитом калийного баланса могла десорбировать в водную и слабо солевую вытяжки лишь 4–9% имеющихся обменных катионов калия, при этом сам обменный калийный фонд находился в истощенном состоянии. Почва, плодородная в отношении калия, имеющая неистощенный фонд обменных катионов, десорбировала в водную и слабо солевую вытяжки 16–32% всего обменного калия, обеспечивая тем самым благоприятные условия калийного питания растений. Возможность достаточно быстрого истощения почвенных запасов наиболее подвижных фракций калия подтверждает факт экстрагирования из почвы практически всего запаса обменного калия 0.1–0.5 М растворами ацетата аммония.

Длительный дефицитный баланс магния в меньшей степени отразился на плодородии почвы по сравнению с калием. Слабо концентрированные экстрагенты извлекали из почвы с пониженным фондом обменного магния 7–16% его запаса, тогда как из плодородной почвы – 12–21%. Вероятно, прочность связи катионов магния с ППК исследованной почвы была больше по сравнению с калием, поскольку 0.1–0.5 М растворы ацетата аммония извлекали лишь 65–90% всего обменного магния, а не весь его фонд, как в случае с калием.

Полученные результаты свидетельствовали, что способность почвы поддерживать определенный уровень содержания легкоподвижного калия или магния при пролонгированном экстрагировании (равно как и интенсивной сельскохозяйственной нагрузке) зависела от имевшегося общего фонда формы-донора (обменная форма – для катионов почвенного раствора, необменная – для обменной) и специфики состояния катионов, обусловленной особенностями ППК.

При последовательном экстрагировании калия из почвенных образцов ощутимая разница в содержании элемента между удобренными и неудобренными вариантами почвы, обусловленная наиболее подвижными фракциями этого элемента, отмечена только в первых 2–3-х вытяжках, в дальнейшем уровень содержания десорбируемого калия в разных почвенных образцах, обеспечиваемый уже природными ресурсами, выравнивался. Внесенный с удобрениями калий (а также легкообменный калий в целинной почве) адсорбировался в основном на неспецифических позициях со слабой связью с минеральной основой почвы и в наибольшей степени был подвержен различным миграционным процессам. Почвенные запасы более прочно связанного интрамицеллярно поглощенного калия не всегда были способны своевременно удовлетворять текущие потребности растений.

Содержание легкоподвижного магния, экстрагируемого из почвы вариантов с различным его балансом, заметно различалось во всех последовательных

вытяжках, т.е. имеющийся фонд подвижного магния расходовался постепенно и с примерно одинаковой интенсивностью во всех вариантах. Почва агроценоза с длительным дефицитным балансом магния могла десорбировать заметное его количество в почвенный раствор в течение всего фракционного экстрагирования. Вероятно, в мобилизационных процессах участвовал не только магний ППК, но и в определенной степени межслоевой магний минералов с расширяющимся типом кристаллической решетки. Это свидетельствовало о повышенной способности исследованной почвы безлимитно обеспечивать потребности культур в этом элементе (тем более учитывая в целом небольшой его вынос/потребление).

Таким образом, от специфики десорбции катионов калия и магния, величины сформировавшегося в агроценозе их почвенного подвижного фонда зависела способность почвы стабильно поддерживать оптимальную для растений концентрацию этих элементов в почвенном растворе. Следовательно, характер и интенсивность процессов десорбции калия и магния в почвах целесообразно учитывать при оценке их эффективного плодородия и проведении мероприятий по его оптимизации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Barracclough P.B.* Modelling K uptake by plant from soil // Proc. 22-nd IPI Coll. Soligorsk, USSA, 1990. P. 217–230.
2. *Barber S.A., Walker J.M., Vasey E.H.* Mechanisms for the movement of plant nutrients from the soil and fertilizer to the plant root // Agric. Food Chem. 1963. V. 11. P. 204–207.
3. *Барбер С.А.* Биологическая доступность питательных веществ в почве. М.: Агропромиздат, 1988. 376 с.
4. *Якименко В.Н.* Калий в агроценозах Западной Сибири. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2003. 231 с.
5. *Синягин И.И.* Калий в почвах сероземной зоны // Почвоведение. 1940. № 11. С. 55–68.
6. *Синягин И.И., Сулейманова Н.Г.* Десорбция и поглощение калия некоторыми почвами // Сибир. вестн. с.-х. науки. 1972. № 2. С. 14–19.
7. *Жукова Л.М.* Изменение свойств основных типов почв и превращение в них калия при длительном применении удобрений // Агрохимия. 1967. № 7. С. 30–40.
8. *Носов В.В., Соколова Т.А., Прокошев В.В., Исаенко М.А.* Изменение некоторых показателей калийного состояния дерново-подзолистых почв под влиянием применения калийных удобрений в длительных полевых опытах // Агрохимия. 1997. № 5. С. 13–19.
9. *Барсова Н.Ю., Прокошев В.В., Соколова Т.А.* Кинетика десорбции калия из дерново-подзолистых почв // Агрохимия. 1992. № 10. С. 39–48.
10. *Забавская К.М., Панкова Н.К., Чебан В.М.* Подвижность калия в почвах при внесении калийных удобрений // Агрохимия. 1981. № 1. С. 26–32.
11. *Середина В.П.* Калий и почвообразование. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 2012. 354 с.
12. *Горбачева С.М.* Формы калия в почвах Красноярской лесостепи: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1977. 23 с.
13. *Соколова Т.А., Исаенко М.А., Носов В.В., Прокошев В.В.* Влияние длительного внесения калийных удобрений на катионный обмен калий-кальций в дерново-подзолистых почвах разного гранулометрического и минералогического состава // Агрохимия. 1999. № 4. С. 5–13.
14. *Якименко В.Н.* Баланс калия, урожайность культур и калийное состояние почвы в длительном полевом опыте в лесостепи Западной Сибири // Агрохимия. 2019. № 10. С. 16–24.
15. *Yakimenko V., Naumova N.* Tuning potassium and magnesium fertilization of potato in the south of West Siberia // Agronomy. 2021. V. 11. № 9. Art. 1877.
16. Практикум по агрохимии / Под ред. В.Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 1989. 304 с.
17. *Якименко В.Н.* Взаимовлияние калия и магния при выращивании картофеля на серой лесной почве // Агрохимия. 2021. № 6. С. 8–15.
18. *Якименко В.Н.* Действие и последствие калийных удобрений в полевом опыте на серой лесной почве // Агрохимия. 2015. № 4. С. 3–12.

Desorption of Potassium and Magnesium by Gray Forest Soil

V. N. Yakimenko[#]

*Institute of Soil Science and Agrochemistry,
Siberian Division, Russian Academy of Science,
prosp. Lavrentyeva 8/2, Novosibirsk 630090, Russia,
[#]E-mail: yakimenko@issa-siberia.ru*

It has been shown that a long-term potassium deficiency in the agrocenosis reduces the ability of gray forest soil to desorb this element into the soil solution to a much greater extent than magnesium deficiency – magnesium desorption. It has been established that the mobility of potassium cations is greater than that of magnesium, regardless of the degree of soil depletion in relation to these elements: 0.1–0.5 M ammonium acetate solution extracted almost the entire soil stock of exchangeable potassium, whereas magnesium – only 65–90%. During fractional extraction of potassium with 0.001 M ammonium acetate solution, differences between soils with different potash content were noted only in the first 2–3 extracts; in the following extracts, the potassium content was equalized. The magnesium content in successive extracts decreased gradually and approximately equally in soils with its different initial content. It has been shown that the intensity and specificity of soil desorption of potassium and magnesium well reflects soil fertility in relation to these elements.

Keywords: agrocenosis, soil, potassium, magnesium, desorption.

АГРОМЕЛИОРАТИВНЫЕ ПРИЕМЫ СОХРАНЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВ ПЛОДОВЫХ НАСАЖДЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ОРОШЕНИЯ МИНЕРАЛИЗОВАННЫМИ ВОДАМИ

© 2024 г. Т. Г. Фоменко^{1*}, В. П. Попова¹, О. В. Ярошенко¹, Ж. В. Арутюнян¹

¹Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия
350901 Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, 39, Россия

*E-mail: sad-fertigation@mail.ru

Изучили эффективность агромелиоративных приемов сохранения плодородия черноземных почв плодовых насаждений в условиях орошения минерализованными водами в условиях степной зоны плодового хозяйства Краснодарского края в орошаемых интенсивных насаждениях яблони сортов зимнего срока созревания на слаборослом подвое М9. Изучили влияние применения химических мелиорантов (фосфогипса), мульчирования почвы, внесения через систему капельного орошения водорастворимых органоминеральных удобрений и сочетание этих агроприемов на основные агрохимические и физико-химические свойства чернозема обыкновенного. В плодовых насаждениях при капельном орошении минерализованными водами применение комплекса агромелиоративных приемов способствовало нормализации реакции почвенной среды, снижению накопления водорастворимых солей натрия в корнеобитаемом слое чернозема обыкновенного на 39.7%, уменьшению содержания обменного натрия в зоне локального увлажнения почвы на 33–34%, повышению содержания подвижного фосфора в почве под капельницами на 18.9% по сравнению с традиционной зональной технологией возделывания.

Ключевые слова: плодовые насаждения, капельное орошение, агромелиоративные приемы, мелиорация почв, засоление почв, физико-химические свойства почв, чернозем обыкновенный.

DOI: 10.31857/S0002188124100033, **EDN:** ANSPUZ

ВВЕДЕНИЕ

Территория Кубано-Приазовской низменности характеризуется в основном как зона недостаточного и неустойчивого увлажнения. Основные источники воды для полива сельскохозяйственных культур отличаются преимущественно неудовлетворительным качеством. Воды степных рек имеют высокую минерализацию, по мере продвижения на север Краснодарского края минерализация их увеличивается. Воды артезианских скважин содержат меньше солей, но со значительным преобладанием катионов натрия (50% и более от суммы катионов), а в некоторых случаях отмечено наличие сероводорода. Нехватка водных ресурсов в регионе вынуждает использовать оросительные воды с повышенной минерализацией.

В условиях юга России получение стабильных урожаев плодов высокого качества возможно в условиях достаточной водообеспеченности. Применение фертигации оказывает положительное влияние на продуктивность и формирование товарной продукции [1, 2].

Однако установлено, что продолжительное увлажнение черноземных почв при капельном орошении

в садах, особенно с использованием воды с высоким содержанием вредных солей, снижает уровень их плодородия [3, 4]. Длительное орошение обуславливает увеличение щелочности почв, накопление токсичных солей, вымывание кальция, нарастание процесса осолонцевания, нарушение равновесия ионов в почвенно-поглощающем комплексе (ППК), сокращение численности микроорганизмов основных эколого-функциональных групп и подавление ферментативной активности почв [5–9].

Для устранения негативного воздействия капельного орошения минерализованными водами требуются научно обоснованные агромелиоративные приемы сохранения свойств черноземных почв. При возделывании плодовых насаждений наиболее распространенные агромелиоративные приемы – это применение химических мелиорантов, удобрительно-мелиорирующих компостов, органических удобрений, мульчирование почвы, внесение через систему капельного орошения водорастворимых органоминеральных и кальцийсодержащих удобрений.

Одним из важных агромелиоративных мероприятий повышения плодородия засоленных почв является внесение фосфогипса [10]. Применение

химического мелиоранта способствует замещению обменного натрия на кальций, что обеспечивает улучшение физико-химических свойств засоленных почв, их оструктуренность, водопроницаемость и микробиологическую активность [11–13]. Достаточно эффективно применение мелиорирующих компостов на основе фосфогипса, глауконита и органического удобрения (птичьего помета), использование которых способствует снижению солонцеватости почвы и оптимизации физических свойств деградированного чернозема [14].

Мульчирование растительными остатками обеспечивает сохранение продуктивной влаги в корнеобитаемом слое почвы, оптимизацию температурного режима, улучшение структуры почвы и сохранение биоразнообразия почвенной биоты [15]. Мульчирование почвы сокращает испарение воды с ее поверхности и снижает вторичное засоление за счет регулирования вертикального распределения солей [16]. Установлено, что совместное внесение гипса в сочетании с различными органическими материалами или полезными микроорганизмами оказывает более эффективное воздействие на мелиорацию засоленных почв, чем использование отдельных агроприемов [17, 18].

Удобрение сельскохозяйственных культур является одним из источников повышения концентрации водорастворимых солей в почве, поэтому на засоленных почвах рекомендуется избегать чрезмерного внесения питательных веществ и выбирать удобрения высокой чистоты, не содержащие хлоридов [19]. Отмечено, что внесение удобрений через систему капельного орошения (фертигация) может смягчить последствия солевого стресса, поскольку повышает эффективность использования удобрений, увеличивает доступность питательных веществ и позволяет контролировать их подачу в соответствии с потребностями растений [20, 21].

Несмотря на крайнюю необходимость применения приемов воспроизводства почвенного плодородия в условиях орошения минерализованными водами, до последнего времени системных исследований эффективности применения агромелиоративных приемов в плодовых насаждениях не проводили. В связи с вышеизложенным, цель работы – разработка комплекса агромелиоративных приемов по сохранению и воспроизводству почвенного плодородия черноземной почвы плодовых насаждений в условиях орошения минерализованными водами.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования являлись черноземы обыкновенные мощные слабогумусные легкогоглинистые и насаждения яблони сортов зимнего срока созревания Брэвэл и Гала в степной зоне плодородия Краснодарского края (ОА “Трудовое”). Капельное орошение насаждений яблони осуществляли со времени закладки сада.

Перед закладкой опыта был осуществлен отбор почвенных проб по проекции кроны в слое 0–30 см почвы. Почвы плодовых насаждений характеризовались слабощелочной реакцией почвенной среды (pH_{H_2O} 8.35 ед.), средним уровнем обеспеченности органическим веществом (3.45%), низким содержанием нитратного азота (5.3 мг/кг), средней обеспеченностью подвижным фосфором (27.6 мг/кг) и повышенной – обменным калием (394 мг/кг).

Воду для орошения насаждений яблони использовали из р. Сосыка (табл. 1).

Установлено высокое содержание водорастворимых солей в воде – 5.26 г/л, превышающее допустимый уровень для полива сельскохозяйственных культур. Следует отметить повышенное содержание ионов натрия – 42.7% от суммы катионов. Показатель

Таблица 1. Химический состав поливной воды, использованной для капельного орошения насаждений яблони (сентябрь 2020 г.)

Показатель	Величина	
pH	6.96	
Удельная электропроводность, мСм/см	6.43	
Ионный состав	мг-экв/л	мг/л
ионы бикарбоната (HCO_3^-)	4.70	287
ионы хлорида (Cl)	5.20	184
ионы сульфата (SO_4)	69.6	3340
ионы кальция (Ca^{2+})	14.9	298
ионы магния (Mg^{2+})	30.7	374
ионы натрия (Na^+)	33.9	780
Сумма солей, г/л	5.26	

натрий-адсорбционного соотношения указывал на очень высокую вероятность осолонцевания почв при регулярном орошении ($SAR = 21.3$).

В летний период капельное орошение проводили каждые 2–3 сут с поливной нормой 30–35 м³/га. В среднем за вегетационный период проведено от 36 до 44 капельных полива (в течение 2021–2022 гг.). Поливы назначали по результатам оценки влажности почвы термостатно-весовым методом при отборе почвенных образцов между капельницами. Влажность почвы в пределах контуров увлажнения поддерживали на уровне 80% НВ. Поливные нормы сокращали за 1 мес. до созревания плодов и влажность почвы поддерживали на уровне 65–70% НВ. Норма внесения удобрений при фертигации составила N21P40K16 в течение вегетационного периода.

Опыт по изучению влияния агроприемов, направленных на нивелирование воздействия минерализованных поливных вод на свойства орошаемых черноземных почв, включал следующие опытные варианты: 1 – контроль (без применения агромелиоративных приемов), 2 – внесение фосфогипса, 3 – мульчирование почвы приствольных полос, 4 – внесение фосфогипса с последующим мульчированием, 5 – применение удобрения Супернат 93 через систему капельного орошения, 6 – внесение

фосфогипса с последующим мульчированием и применением удобрения Супернат 93.

Внесение фосфогипса проводили в фазе распускания плодовых почек яблони в дозе 5 т/га разбросным способом в приствольную полосу плодовых насаждений. Для мульчирования почвы приствольных полос использовали солому слоем 15 см. Внесение водорастворимого органического удобрения Супернат 93 на основе гуминовых кислот (68.7%) и фульвокислот (24%) осуществляли через систему капельного орошения. За вегетационный период проведено 3 внесения в дозе по 5 л/га, первое – в фазе выдвижения бутонов и далее с интервалом в 21 сут.

Почвенные пробы отбирали в 2 срока: размер плода яблони “грецкий орех” и окончание вегетационного периода агрохимическим буром в слоях 0–30, 30–60 см непосредственно под капельницами, а также на расстоянии 20 см и 40 см от точки падения раствора питательных веществ по направлению к центру междурядий.

Лабораторные исследования выполняли в научном центре агрохимии и почвоведения СКФНЦСВВ на основе приборной базы Центра коллективного пользования “Приборно-аналитический”. В почвенных образцах определяли реакцию почвенной

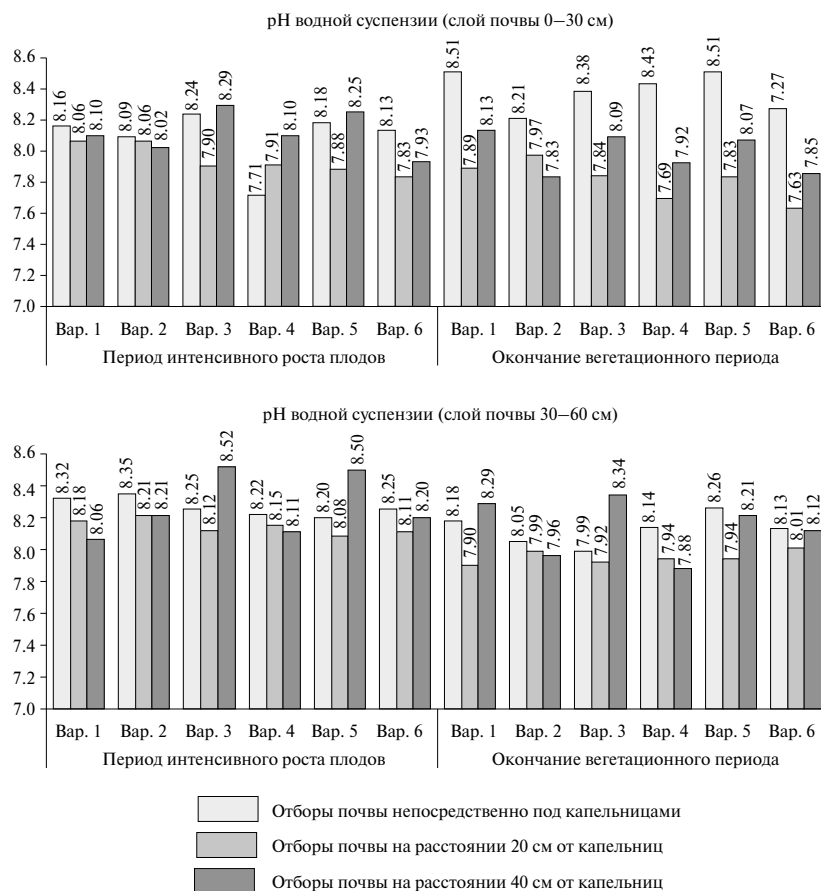


Рис. 1. Влияние агроприемов на изменение реакции почвенной среды орошаемого чернозема обыкновенного.

среды (pH_{H_2O}) по ГОСТ 26423-85, удельную электропроводность почвы ($EC_{1:5}$) – по ГОСТ 26423-85, содержание водорастворимых ионов хлорида и ионов натрия – с помощью ионоселективных электродов в водной суспензии при соотношении почва : раствор = 1 : 5, содержание обменного натрия – по ГОСТ 26950-86, содержание нитратов – ионометрическим методом по ГОСТ 26951-86, подвижных соединений фосфора и калия – по методу Мачигина в модификации ЦИНАО по ГОСТ 26205-91.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Применение фосфогипса в ранневесенний период не оказало продолжительного эффекта на изменение показателей реакции почвенной среды (рис. 1).

Реакция почвенной среды в слое 0–30 см почвы в фазе интенсивного роста плодов спустя 2.5 мес. после внесения мелиоранта характеризовалась как слабощелочная (pH_{H_2O} 8.02–8.09), что было близко к контрольному варианту (pH_{H_2O} 8.06–8.16). Внесение фосфогипса в ранневесенний период с последующим мульчированием почвы соломой способствовало

более продолжительному действию фосфогипса на почвенный раствор в верхнем слое 0–30 см почвы. В летний период в зоне увлажнения реакция почвенной среды была меньше контроля на 2.0–5.5% и составила pH_{H_2O} = 7.71–7.91.

В конце вегетационного периода во всех опытных вариантах отмечена тенденция к увеличению показателей реакции почвенной среды в увлажненной почве под капельницами (pH_{H_2O} 8.21–8.51). Связано это в большей степени с увеличением содержания обменного магния и натрия.

Существенной разницы между опытными вариантами в изменении реакции почвенной среды в слое 30–60 см почвы не установлено. К окончанию вегетационного периода отмечена тенденция к снижению реакции почвенной среды, особенно в образцах почвы, отобранных на расстоянии 20 см от капельниц (pH_{H_2O} 7.90–7.99) за счет значительного накопления вредных нейтральных солей.

Использование поливной воды с высоким содержанием вредных солей привело к накоплению водорастворимых солей в зоне локального увлажнения

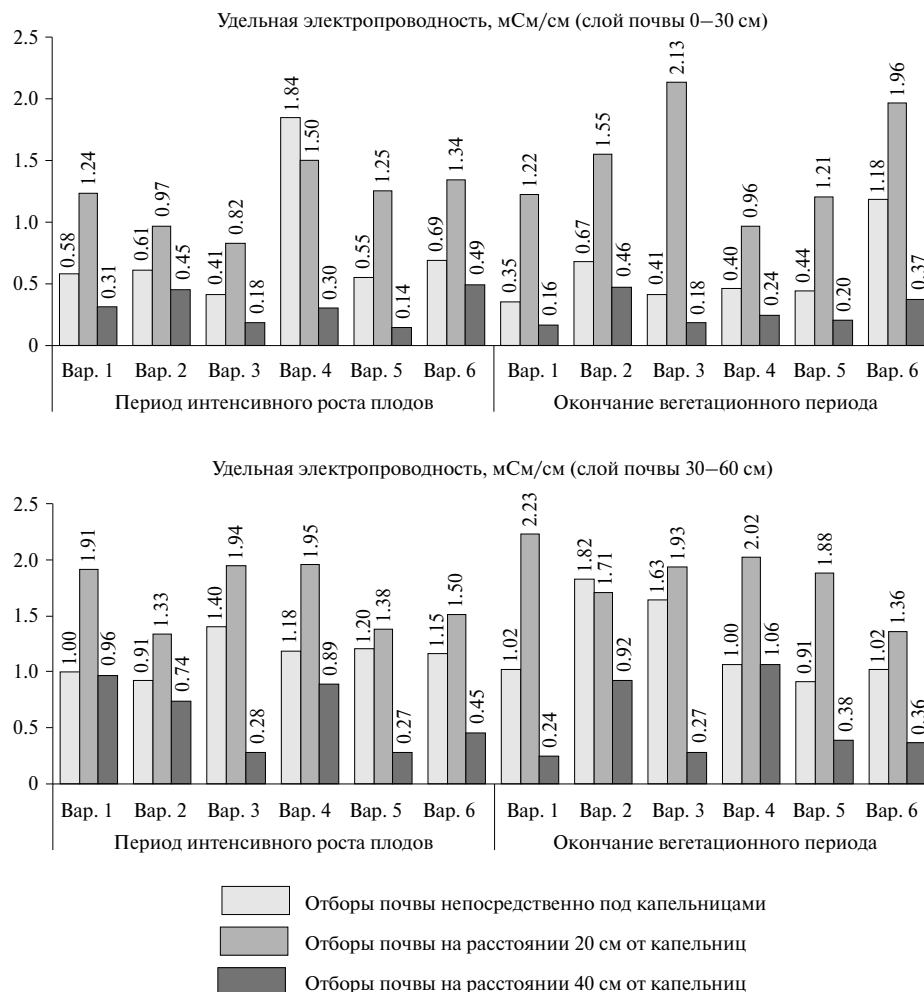


Рис. 2. Влияние агроприемов на изменение удельной электропроводности орошаемого чернозема обыкновенного.

почвы плодовых насаждений. В варианте с внесением фосфогипса с последующим мульчированием за счет более длительного сохранения мелиоранта показатель удельной электропроводности почвы ($EC_{1:5}$) в слое 0–30 см почвы был больше, чем в других вариантах, и составил 1.84 мСм/см под капельницами (рис. 2).

В середине вегетационного периода в варианте мульчирования почвы зафиксированы самые низкие показатели удельной электропроводности почвы (0.18–0.82 мСм/см). Можно предположить, что мульчирование почвы приствольных полос плодовых насаждений в засушливый летний период способствовало меньшему локальному накоплению водорастворимых солей в поверхностном слое почвы за счет уменьшения испарения воды с поверхности почвы и миграции солей за пределы основного корнеобитаемого слоя. Однако по окончании вегетационного периода наибольшее содержание водорастворимых солей на границе контура увлажнения почвы отмечено именно в варианте с мульчированием почвы ($EC_{1:5} = 2.13$ мСм/см), что, вероятно, было обусловлено более слабым вымыванием водорастворимых солей при выпадении осадков в осенний период.

Существенного влияния агроприемов на содержание хлорид-ионов в почве не выявлено. В слое

0–30 см их содержание на протяжении вегетационного периода во всех опытных вариантах было невысоким и составляло 0.037–0.092 мг-экв/100 г (табл. 2).

В середине вегетационного периода в опытном варианте с применением мульчирования почвы зафиксировано наименьшее содержание ионов натрия – 0.671 мг-экв/100 г, наибольшее – в контрольном варианте, 1.855 мг-экв/100 г. При окончании вегетационного периода наименьшая концентрация ионов натрия отмечена в варианте с применением фосфогипса с последующим мульчированием почвы и внесением через систему капельного орошения удобрения Супернат 93–1.621 мг-экв/100 г.

Выявлена значительная миграция водорастворимых солей в нижележащие слои почвы плодовых насаждений, что способствовало существенному увеличению содержания водорастворимых ионов натрия в слое 30–60 см по сравнению с поверхностным слоем почвы.

За счет содержания натрия в поливной воде увеличилось количество обменного натрия в зоне увлажнения почвы (рис. 3).

Внесение только мелиоранта не оказало заметного и продолжительного воздействия на снижение

Таблица 2. Влияние агроприемов на содержание водорастворимых ионов хлорида и натрия в орошаемом черноземе обыкновенном (отбор почвы на расстоянии 20 см от капельниц)

Вариант	Хлорид-ионы		Ионы натрия	
	мг-экв/100 г			
	Слой почвы			
	0–30 см	30–60 см	0–30 см	30–60 см
Период интенсивного роста плодов				
1	0.092	0.066	1.855	3.972
2	0.061	0.042	1.498	2.604
3	0.065	0.056	0.671	3.157
4	0.037	0.041	1.452	3.226
5	0.038	0.034	1.244	2.764
6	0.049	0.050	1.118	2.535
Окончание вегетационного периода				
1	0.068	0.173	1.722	5.059
2	0.090	0.165	2.071	3.769
3	0.074	0.148	1.806	4.803
4	0.064	0.128	1.707	3.175
5	0.073	0.112	1.889	4.547
6	0.047	0.086	1.621	2.622

Примечание. Варианты: 1 – контроль (без применения агромелиоративных приемов), 2 – внесение фосфогипса, 3 – мульчирование почвы приствольных полос, 4 – внесение фосфогипса с последующим мульчированием, 5 – применение удобрения Супернат 93 через систему капельного орошения, 6 – внесение фосфогипса с последующим мульчированием и применением удобрения Супернат 93.

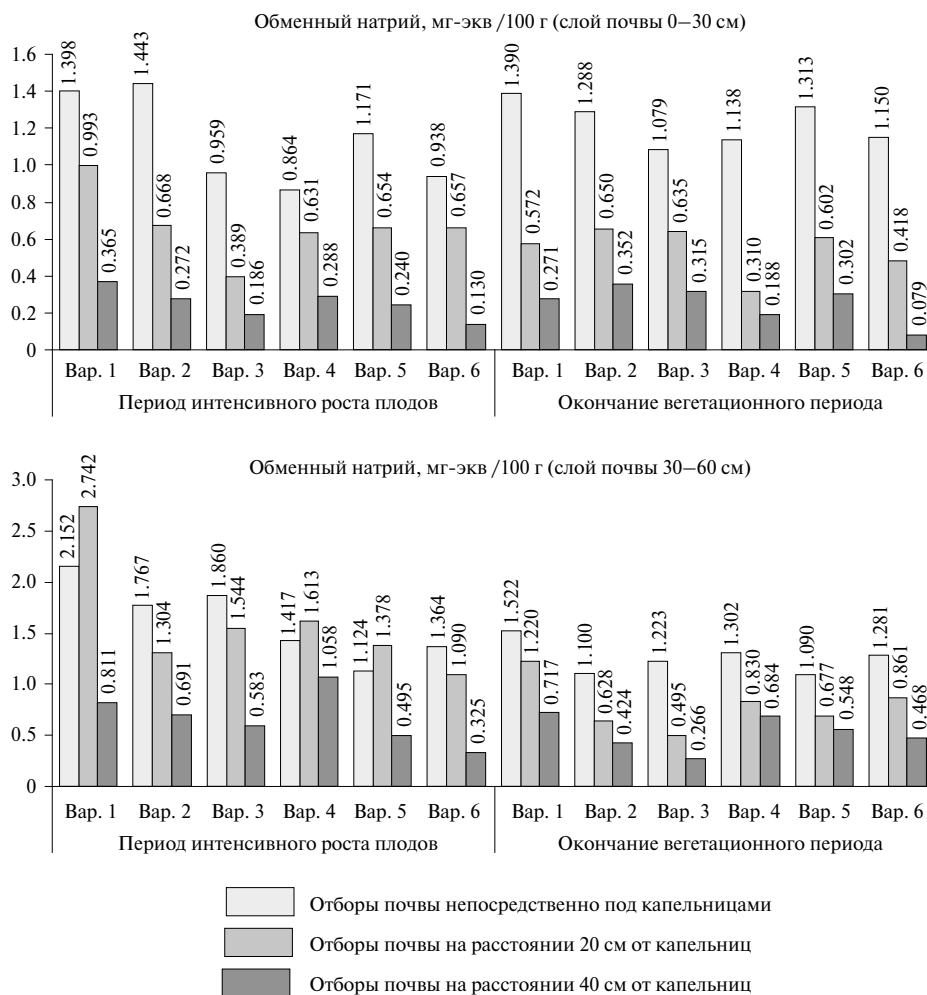


Рис. 3. Влияние агроприемов на содержание обменного натрия в орошаемом черноземе обыкновенном.

солонцеватости почвы, содержание обменного натрия в период интенсивного роста плодов было на уровне контроля. Применение фосфогипса и последующего мульчирования почвы способствовало снижению содержания обменного натрия на 36–38% в слое 0–30 см в зоне локального увлажнения почвы. Вариант применения фосфогипса с последующим мульчированием почвы и внесением через систему капельного орошения удобрения Супернат 93 также был эффективным и способствовал снижению содержания обменного натрия в почве на 33–34%. При окончании вегетационного периода различия между опытными вариантами были менее выраженными, при этом меньшая степень солонцеватости почвы под капельницами установлена в вариантах с применением мульчирования (варианты 3, 4, 6).

Установлено значительное увеличение солонцеватости почвы в слое 30–60 см. Следует отметить, что различия в содержании обменного натрия в образцах, отобранных в местах падения капель и на расстоянии 20 см к междурядьям сада, были менее выражены, что свидетельствовало об увеличении горизонтальной

миграции водорастворимых солей в основном контуре увлажнения по сравнению с поверхностным слоем почвы. В вариантах с внесением удобрения на основе гуминовых и фульвокислот Супернат 93 содержание обменного натрия в слое 30–60 см было меньше, чем в других вариантах.

Примененные агрономелиоративные приемы не оказали значительного влияния на изменение содержания нитратного азота в почве, уровень обеспеченности был преимущественно высоким (рис. 4).

Интенсивное внесение азота в первой половине вегетационного периода увеличило содержание нитратного азота в почве непосредственно под капельницами во всех опытных вариантах. При окончании вегетационного периода содержание нитратов соответствовало в основном очень низкому и низкому уровню обеспеченности.

Содержание подвижного фосфора в середине вегетационного периода в местах локального внесения минеральных удобрений, согласно общепринятой группировке, соответствовало очень высокому

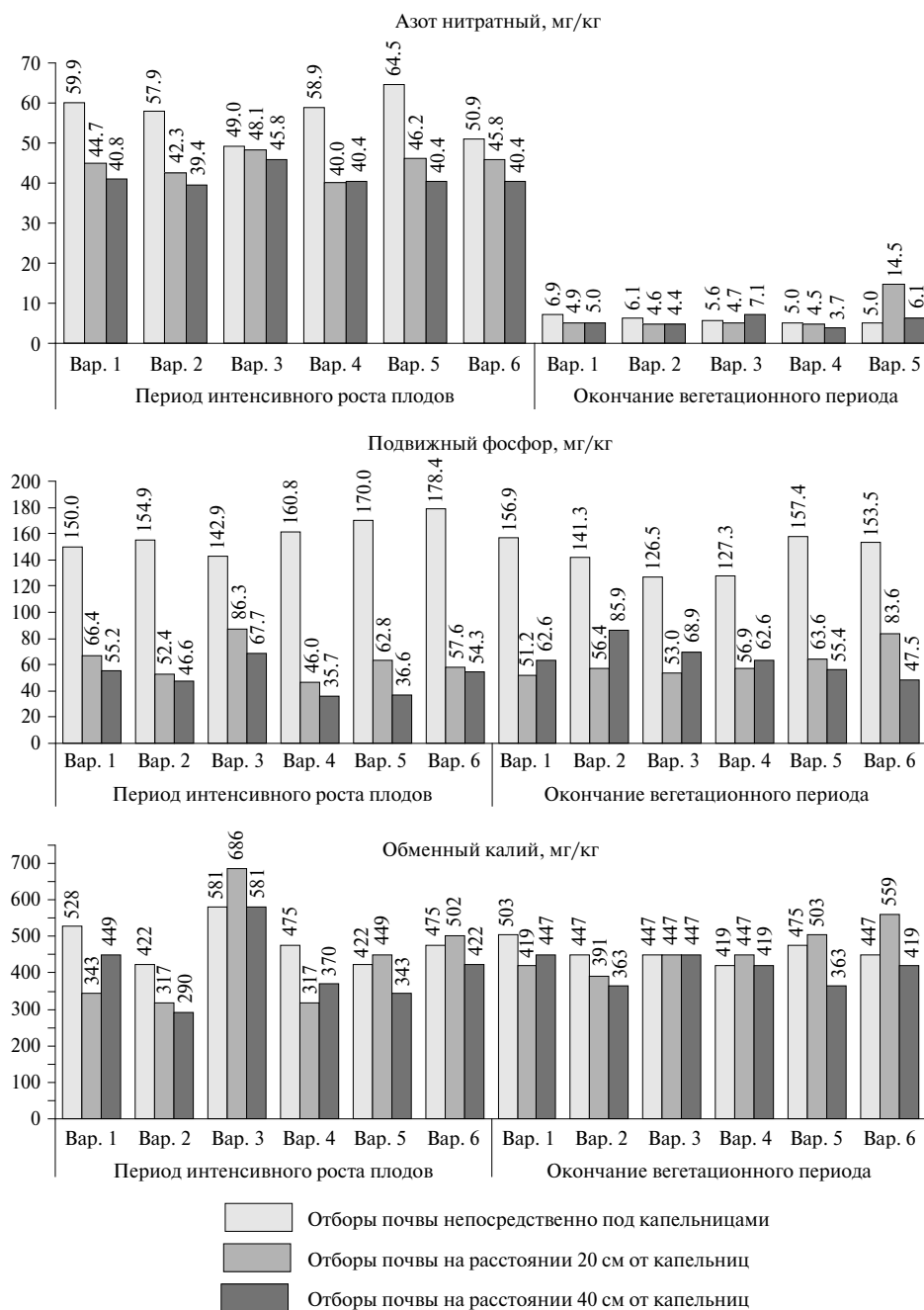


Рис. 4. Изменение агрохимических свойств почв (содержания элементов питания) плодовых насаждений на фоне применения различных агромелиоративных приемов (слой почвы 0–30 см).

уровню обеспеченности во всех опытных вариантах (143–178 мг/кг). Установлена тенденция к увеличению содержания фосфора в почве под капельницами в вариантах с применением фосфогипса (варианты 2, 4, 6), содержание которого увеличилось на 4.9–28.4 мг/кг. Наибольшее содержание подвижного фосфора установлено в варианте с применением фосфогипса с последующим мульчированием почвы и внесением удобрения Супернат 93 (178 мг/кг).

В середине вегетационного периода значительное увеличение содержания обменного калия установлено

только в варианте с мульчированием почвы. Известно, что температура и влажность почвы оказывают непосредственное влияние на улучшение микробиологической активности почвы и, как результат, на повышение подвижности в почвенном растворе ионов калия [22]. Именно в этом варианте установлено наименьшее содержание водорастворимых солей в почве и более низкий уровень содержания обменного натрия. Совместное применение фосфогипса и мульчирования почвы не оказало значимого влияния на изменение обеспеченности обменным калием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема деградации черноземных почв при многолетнем капельном орошении водами с содержанием вредных солей в плодовых насаждениях интенсивного типа остается весьма актуальной. Для нивелирования процесса деградации почв эффективным является применение комплекса агромеритивных приемов, направленных на сохранение плодородия орошаемых минерализованными водами черноземных почв.

Внесение фосфогипса с последующим мульчированием почвы и использование при капельном орошении удобрения на основе гуминовых кислот и фульвокислот способствовало нормализации реакции почвенной среды, снижению накопления водорастворимых солей натрия в корнеобитаемом слое чернозема обыкновенного на 39.7%, уменьшению содержания обменного натрия в зоне локального увлажнения почвы на 33–34%, повышению содержания подвижного фосфора в почве под капельницами на 18.9% по сравнению с традиционной зональной технологией возделывания плодовых насаждений. Применение комплекса агромеритивных приемов обуславливало улучшение эколого-агрохимического состояния плодового ценоза и предотвращение деградации орошаемых черноземных почв.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фоменко Т.Г., Попова В.П., Белоусова К.В. Эффективность применения новых отечественных удобрений при фертигации в плодоносящих насаждениях яблони // Сад-во и виноград-во. 2019. № 2. С. 10–17.
2. Aragüés R., Medina E.T., Martínez-Cob A., Faci J. Effects of deficit irrigation strategies on soil salinization and sodification in a semiarid drip-irrigated peach orchard // *Agricult. Water Manag.* 2014. V. 142. P. 1–9.
3. Фоменко Т.Г., Попова В.П., Черников Е.А., Макарова А.А., Ярошенко О.В. Влияние многолетнего капельного орошения плодовых насаждений на трансформацию свойств черноземных почв // *Почвоведение*. 2022. № 9. С. 1154–1166.
4. Клименко О.Е., Евтушенко А.П., Клименко Н.И. Изменение солевого состава почв при орошении солоноватыми водами в степном Крыму // *Почвоведение*. 2022. № 12. С. 1557–1570.
5. Щедрин В.Н. Влияние регулярного и циклического видов орошения на почвенное плодородие и продуктивность чернозема обыкновенного Азовской оросительной системы // *Почвоведение*. 2016. № 2. С. 249–256.
6. Хитров Н.Б., Клименко О.Е., Роговнева Л.В., Дунаева Е.А., Попович В.Ф. Долговременные последствия орошения почв водами Северо-Крымского канала в садах // *Тавр. вестн. аграрн. науки*. 2017. № 1(9). С. 87–98.
7. Бабичев А.Н., Докучаева Л.М., Юркова Р.Е. Факторы, усиливающие отрицательное воздействие длительного орошения на свойства чернозема обыкновенного // *Мелиорац. и гидротехн.* 2020. № 4(40). С. 1–22.
8. Phogat V., Mahadevan M., Skewes M., Cox J.W. Modelling soil water and salt dynamics under pulsed and continuous surface drip irrigation of almond and implications of system design // *Irrigat. Sci.* 2012. V. 30. P. 315–333.
9. Naydyonova O., Baliuk S. Biological degradation of chernozems under irrigation // *Euras. J. Soil Sci.* 2014. V. 3. P. 267–273.
10. Некрасов Р.В., Шеуджен А.Х., Байбеков Р.Ф., Аканова Н.И., Шкуркин С.И. Агроэкономические и экологические аспекты химической мелиорации засоленных почв // *Земледелие*. 2021. № 8. С. 3–7.
11. Фоменко Т.Г., Попова В.П., Черников Е.А. Влияние химической мелиорации на физико-химические свойства черноземных почв орошаемых плодовых питомников // *Рос. сел.-хоз. наука*. 2018. № 2. С. 44–49.
12. Чевердин Ю.И., Титова Т.В., Беспалов В.А. Влияние химических мелиорантов на микробиологическую активность черноземно-луговых почв // *Агрохимия*. 2023. № 6. С. 12–21.
13. Годунова Е.И., Шаповалова Н.Н., Шкабарда С.Н., Хрипунов А.И. Состояние и пути повышения продуктивности орошаемых земель в Ставропольском крае // *Плодородие*. 2017. № 5. С. 44–47.
14. Докучаева Л.М., Долина Е.В. Физические свойства чернозема обыкновенного после химической мелиорации удобрительно-мелиорирующими компостами // *Научн. журн. Рос. НИИ проблем мелиорации*. 2011. № 2. С. 9.
15. Fang K., Li H., Wang Z., Du Y., Wang J. Comparative analysis on spatial variability of soil moisture under different land use types in orchard // *Sci. Horticulturæ*. 2016. V. 207. P. 65–72.
16. Cuevas J., Daliakopoulos I. N., del Moral F., Hueso J.J., Tsanis I.K. A review of soil-improving cropping systems for soil salinization // *Agronomy*. 2019. V. 9. № 6. P. 295.
17. Bello S.K., Alayafi A.H., Al-Solaimani S.G., Abo-Elyousr K.A. Mitigating soil salinity stress with gypsum and bio-organic amendments: A review // *Agronomy*. 2021. V. 11. № 9. P. 1735.
18. Волкова Н.Е., Кременской В.И. Подходы к снижению негативных последствий использования слабо- и маломинерализованных вод в орошаемом земледелии // *Мелиорац. и гидротехн.* 2023. Т. 13. № 4. С. 224–242.
19. Фоменко Т.Г., Попова В.П., Пестова Н.Г. Влияние локального применения удобрений и водных

- мелиораций на изменение параметров почв садовых ценозов и их продуктивность // Плод-во и виноград-во Юга России. 2015. № 33. С. 60–73.
20. Machado R.M.A., Serralheiro R.P. Soil salinity: effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization // Horticulturae. 2017. V. 3. № 2. P. 30.
21. Фоменко Т.Г., Попова В.П., Черников Е.А., Дрыгина А.И., Лебедовский И.А., Узловатый Д.В., Мязина А.Н. Миграция биогенных элементов в черноземе типичном при фертигации плодовых насаждений // Агрохимия. 2021. № 3. С. 60–70.
22. Kuzin A., Solovchenko A. Essential role of potassium in apple and its implications for management of orchard fertilization // Plants. 2021. V. 10, № 12. P. 2624.

Agromeliorative Methods of Preserving Fertility of Chernozem Soils of Fruit Plantations under Conditions of Irrigation with Mineralized Water

T. G. Fomenko^{a, #}, V. P. Popova^a, O. V. Yaroshenko^a, Zh. V. Arutyunyan^a

^aNorth Caucasus Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking,
ul. 40th Anniversary of Victory 39, Krasnodar 350901, Russia

[#]E-mail: sad-fertigation@mail.ru

The effectiveness of agro-reclamation techniques for preserving the fertility of chernozem soils of fruit plantations under conditions of irrigation with mineralized waters in the conditions of the steppe zone of fruit growing in the Krasnodar Territory in irrigated intensive plantations of apple varieties of winter ripening on a low-growing rootstock M9 was studied. The effect of the use of chemical meliorants (phosphogypsum), soil mulching, application of water-soluble organo-mineral fertilizers through a drip irrigation system and a combination of these agricultural techniques on the basic agrochemical and physico-chemical properties of ordinary chernozem was studied. In fruit plantations, with drip irrigation with mineralized waters, the use of a complex of agro-reclamation techniques contributed to the normalization of the reaction of the soil environment, a decrease in the accumulation of water-soluble sodium salts in the root layer of ordinary chernozem by 39.7%, a decrease in the content of exchangeable sodium in the zone of local soil moisture by 33–34%, an increase in the content of mobile phosphorus in the soil under droppers by 18.9% compared with traditional zonal cultivation technology.

Keywords: fruit plantations, drip irrigation, agro-reclamation techniques, soil reclamation, soil salinization, physico-chemical properties of soils, ordinary chernozem.

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЯН И ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МИЦЕЛЛЯРНО-СУБСТРАТНОГО ЭКСТРАКТА ВЕШЕНКИ

© 2024 г. С. С. Тарасов^{1,*}, Е. В. Михалёв¹, Е. К. Крутова¹

¹Нижегородский государственный агротехнологический университет
603022 Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97, Россия

*E-mail: tarasov_ss@mail.ru

Изучили реакции антиоксидантной системы (АОС) суточных прорастающих семян и 8-суточных проростков гороха, культивированных с использованием 10%- и 100%-го водного экстракта из отработанного соломенного субстрата вешенки (далее — экстракт). За 100%-й экстракт принимали маточный раствор после его приготовления, а 10%-й получали путем разбавления маточного. Растения выращивали в олиготрофных гидропонных условиях и в эвтрофных условиях на серой лесной почве. В качестве основных показателей реакции АОС исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПО), экспрессию генов *SOD-1*, *CAT-1*, *POD*, содержание низкомолекулярных антиоксидантов (*НМАО*): аскорбата, филлохинонов и свободного пролина. Показано ингибирующее действие 10%- и 100%-го экстрактов на активность СОД и КАТ, но не на активность ПО в суточных прорастающих семенах. При этом содержание транскриптов и РНК генов *SOD-1* и *POD* лишь незначительно снижалось в семенах, культивируемых на 100%-ном экстракте, в остальных опытных группах уровень экспрессии генов не отличался от контроля. Содержание аскорбата во всех опытных группах не отличалось от контроля, а филлохинонов и свободного пролина было меньше, чем в контроле. В листьях 8-суточных проростков, культивированных в гидропонной среде, во всех опытных группах активность ферментов АОС, экспрессия кодирующих их генов и содержание филлохинонов, свободного пролина не отличались от контроля. При этом содержание аскорбата было больше. У растений, культивируемых в почве с использованием 10%-го экстракта, все показатели АОС не отличались от контроля. У растений, выращенных с использованием 100%-го экстракта, активность СОД, уровень экспрессии гена *SOD-1*, содержание аскорбата и свободного пролина были больше, а остальные показатели не отличались от контроля. Таким образом, экстракт на начальных этапах прорастания ингибировал АОС гороха с последующим восстановлением (в олиготрофных условиях) и усилением (в эвтрофных условиях культивирования) ее работы.

Ключевые слова: горох, антиоксидантная система, вешенка, низкомолекулярные антиоксиданты, прорастание семян, регуляторы роста и развития, редокс-статус, экспрессия генов.

DOI: 10.31857/S0002188124100041, **EDN:** ANRHSL

ВВЕДЕНИЕ

Антиоксидантная система (АОС) — важнейший механизм, формирующий устойчивость растений к стрессорам [1], участвующий в иммунном ответе [2] и клеточном сигналинге [3, 4]. Она представлена ферментами, в т.ч. супероксиддисмутазой (СОД), каталазой (КАТ), пероксидазой (ПО) и др., и низкомолекулярными антиоксидантами (НМАО), такими как аскорбат, глутатион, каротиноиды, фенольные соединения, филлохиноны, токоферолы и др. вещества [5, 6].

Количество генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, на порядок больше, чем самих ферментов, однако каждый из этих ферментов имеет множество изоформ. Например, в геноме *Arabidopsis thaliana* L.

≈40 генов кодируют антиоксидантные ферменты [7]. Общее количество генов, задействованных в формировании АОС, гораздо больше и включает в себя гены, кодирующие ферменты обмена НМАО [8–14].

Гены АОС являются важными объектами как классической [15, 16], так и генетически модифицированной [1, 17] селекции, позволяющей выводить наиболее устойчивые сорта.

Регуляция образования компонентов АОС в клетках растений может осуществляться на уровне транскрипции, трансляции, процессинга и посттрансляционной модификации белка (ПТМ) [18]. Было показано, что цитозольная аскорбатпероксидаза у *Pisum sativum* L. регулируется контролем синтеза

белка, вероятно, на уровне инициации трансляции во время засухи [19]. Установлено, что экспрессия 2-х генов Cu/Zn *SOD* регулируется микроРНК 398, а экспрессия микроРНК 398 репрессируется в условиях стресса, что позволяет системе активировать целевые гены *SOD* для защиты [20, 21]. Для гена *CAT-2* обнаружена световая зависимость накопления иРНК [22]. Гены *CAT* семян рапса и хлопка были мишенями для некоторых микроРНК [23, 24]. Анализ предполагаемых сайтов-мишеней микроРНК в генах *TaCAT* показал, что 7 из этих генов могут регулироваться 8-ю различными микроРНК. Два члена семейства микроРНК 395 пшеницы нацелены на 3 *TaCAT* (*TaCAT1-A/B/D*), а микроРНК 408 нацелены на 2 *TaCAT* (*TaCAT2-A/B*) [25]. Известно, что стрессовое воздействие активирует гены АОС, в том числе: *SOD* [20, 21, 26], *CAT* [26], *APX* [19, 26], *GPX* [26], синтез каротиноидов [27], α -токоферолов [27], пластохинонов [27], дегидринов [28] и др. Предварительная обработка регуляторами роста растений (*PPP*) способствует активации АОС, в том числе путем усиления экспрессии генов [29–32].

Таким образом, регулирование работы АОС возможно не только за счет подбора оптимальных генов (участвующих в ее формировании) с помощью селекции, но и за счет технологических приемов, в том числе используя *PPP*. Сочетание этих 2-х подходов может существенно увеличить устойчивость растений и, как следствие, повысить продуктивность агроценозов. Перед применением *PPP* важно изучить их способность как активировать, так и подавлять АОС, что в полной мере может быть использовано в качестве инструмента для управления защитными механизмами растений. В качестве сырья для получения *PPP* могут выступать различные компоненты растительного, животного, грибного происхождения или микроорганизмы [33]. Одним из перспективных сырьевых ресурсов выступают грибы: они действуют за счет содержащихся в них регуляторных молекул (сахаров, аминокислот, пептидогликанов, хитозана, аллелопатов и др. компонентов), ряд из которых обладает элиситорным и эффекторным действием [34, 33].

В связи с этим цель работы – исследование реакции АОС прорастающих семян и проростков гороха (*Pisum sativum* L.) при действии экстракта из отработанного соломенного субстрата гриба вешенки.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экстракт готовили согласно технологии, описанной в работе [35]. В качестве объекта исследования влияния экстракта на растения использовали семена гороха посевного (*Pisum sativum* L.) сорта Альбумен. Семена замачивали в растворах экстракта с концентрацией 10 и 100%. За 100%-ный экстракт принимали полученный маточный раствор после его приготовления, а 10%-ный готовили путем добавления к маточному раствору воды ($V = 1 : 9$). Далее часть проростков культивировали на гидропонных средах с использованием соответствующих растворов экстракта, в качестве контроля использовали отстоянную водопроводную воду. Другую часть выращивали на серой лесной почве, где опытные образцы поливали экстрактом с концентрацией 10 и 100%, а контроль – отстоянной водопроводной водой.

Антиоксидантный статус прорастающих семян и проростков определяли за счет измерения активности ключевых антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), растворимой пероксидазы (ПО), экспрессии их некоторых генов (*SOD-1*, *CAT-1*, *POD*) и содержания ряда низкомолекулярных антиоксидантов (*НМАО*) (аскорбата, филлохинонов, свободного пролина). Активность СОД определяли по ее способности реагировать с нитросиним тетразолием [36]. Активность КАТ в прорастающих семенах определяли газометрическим методом [37], в листьях – спектрофотометрическим, по восстановлению пероксида водорода [38]. Активность растворимых ПО оценивали по интенсивности окрашивания раствора бензидиновой синью [37].

Экспрессию генов *SOD-1*, *CAT-1*, *POD* в зародышевой ткани прорастающих семян и листьях проростков, а также подбор праймеров для постановки

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность праймеров для проведения ПЦР

Ген	Тип праймера	Последовательность 5'–3'	Номер NCBI	Температура отжига, °C	Размер ампликона, п.н.
<i>Ps Aktin</i>	L	AACCGGAATGGTTAAGGCTG	U81047.1	60.00	292
	R	AAGCGGAGCTTCAGTGAGAA		60.00	
<i>Ps SOD-1</i>	L	TGAAGGCTGTGGCAGTTCTT	AB189165.1	59.82	164
	R	GCAACCGTTTTGTGGTGTCTC		59.97	
<i>Ps CAT-1</i>	L	GCTTGCAATTTTGTCCCTGCCA	X60169.1	59.97	125
	R	GTTGCAGGTAGTTCCGGTCCA		59.97	
<i>Ps POD</i>	L	TTGTGCTTGGAGGCTTACCC	AB193820.1	60.25	510
	R	GGGTGAGGCCTTGTTTAGCA		60.25	

полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили в соответствии с описанными ранее методиками [39]. Полученные олигонуклеотиды представлены в табл. 1.

Аскорбат определяли по Тильмансу. Филлохиноны измеряли спектрофотометрическим методом в гексановой вытяжке [37]. Свободный пролин фиксировали по методу Bates и др. [40] в модификации Калинкиной и др. [41].

Эксперимент проводили в 3-х биологических повторностях, а каждый образец анализировали в 3-х аналитических повторностях. Результаты обрабатывали статистически, рассчитывая среднее арифметическое (M) и стандартные отклонения (σ) с использованием программы Microsoft Excel 2010. Достоверность различий оценивали по t -критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони и H -критерию Крускала–Уоллиса, уровень значимости достоверности – 95% [42].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование активности и экспрессии некоторых генов основных антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ПО) показали зависимость изученных параметров от дозы экстракта, однако данные ферменты реагировали не одинаково. В суточных прорастающих семенах гороха, культивируемых как на 10%-ном, так и на 100%-ном экстрактах, активность СОД была существенно подавлена ($P \leq 0.05$) (рис. 1-Ia), при этом отмечена дозозависимая реакция (чем больше концентрация экстракта, тем меньше активность фермента).

Экспрессия одного из генов *SOD-1* совпадала с динамикой активности фермента частично: в опытных группах прорастающих семян с применением 10%-ного экстракта содержание транскриптов иРНК данного гена не отличалось от контроля ($P \geq 0.05$), а в зародышах семян, культивируемых на 100%-ном экстракте, содержание транскриптов иРНК гена *SOD-1* было снижено (рис. 1-IIa) ($P \leq 0.05$). В листьях всех опытных групп 8-суточных проростков гороха, выращенных на гидропонике, и в проростках, культивируемых на 10%-ном экстракте на почве, активность СОД (рис. 1-Iб) и содержание транскриптов иРНК исследованного гена *SOD-1* (рис. 1-IIб) достоверно не отличались от контроля ($P \geq 0.05$). При этом в листьях проростков, культивированных в почве с использованием 100%-ного экстракта, активность СОД (рис. 1-Iв) и экспрессия исследованного гена данного фермента (рис. 1-II в) была больше контроля ($P \leq 0.05$).

Активность КАТ в прорастающих семенах и исследованных проростках частично отличалась от активности СОД. Во всех опытных группах гороха суточных прорастающих семян активность данного фермента была подавлена ($P \leq 0.05$), при этом так же, как и в случае с СОД, имела место дозозависимая реакция (рис. 2-Ia).

Экспрессия исследованного гена *CAT-1* как в опытных, так и в контрольной группе, имела одинаковую интенсивность ($P \geq 0.05$) (рис. 2-IIa). В листьях во всех опытных группах недельных проростков гороха активность КАТ статистически значимо не отличалась от контроля ($P \geq 0.05$), а если сравнивать с суточными прорастающими семенами, то можно говорить об усилении (или нормализации) активности данного фермента в динамике (рис. 2-Iб), экспрессия исследованного гена в опытных группах, так же как и в суточных прорастающих семенах, не отличалась от контроля ($P \geq 0.05$) (рис. 2-IIб), что могло свидетельствовать об ингибировании компонентов экстракта на уровне белковой молекулы фермента.

Оценка активности растворимой ПО и экспрессии одного из ее генов показала результат, отличный по сравнению с другими исследованными ферментами АОС. В опытных группах суточных прорастающих семян гороха активность ПО статистически значимо не отличалась от контроля ($P \geq 0.05$) (рис. 3-Ia), хотя и имела тенденция к ее угнетению в семенах, культивируемых на 100%-ом экстракте.

Экспрессия гена данного фермента в семенах, прораставших на 10%-ном экстракте, также не отличалась от контроля, а в зародышах семян, культивируемых с применением 100%-ного экстракта, была меньше контроля ($P \leq 0.05$) (рис. 3-IIa). В листьях всех опытных групп недельных проростков гороха, выращенных как на гидропонике, так и в почве, активность ПО и содержание транскриптов иРНК одного из генов *POD* достоверно не отличались от соответствующих показателей контроля ($P \geq 0.05$).

Экстракт влиял на содержание *HMAO* в прорастающих семенах и в листьях проростков гороха неодинаково. Не было выявлено статистически значимого воздействия экстракта на содержание аскорбата в суточных прорастающих семенах ($P \geq 0.05$), но в листьях недельных проростков во всех опытных группах, выращенных на гидропонике, отмечено увеличение содержания данного вещества ($P \leq 0.05$) (табл. 2).

В листьях проростков опытных растений гороха, культивируемых на почве, содержание аскорбата было меньше, чем у опытных растений, выращенных на гидропонике. Достоверное отличие от контроля растений, выращенных на почве, было только при использовании 100%-ного экстракта.

Влияние экстракта на содержание филлохинонов было иным: во всех опытных группах прорастающих семян гороха их концентрация была меньше, чем в контроле ($P \leq 0.05$). Содержание филлохинонов в листьях недельных проростков во всех опытных группах не имело статистически значимых отличий от контроля ($P \geq 0.05$). Однако стоит отметить, что в растениях, культивированных в почве, количество филлохинонов было больше, чем в растениях, выращенных на гидропонике.

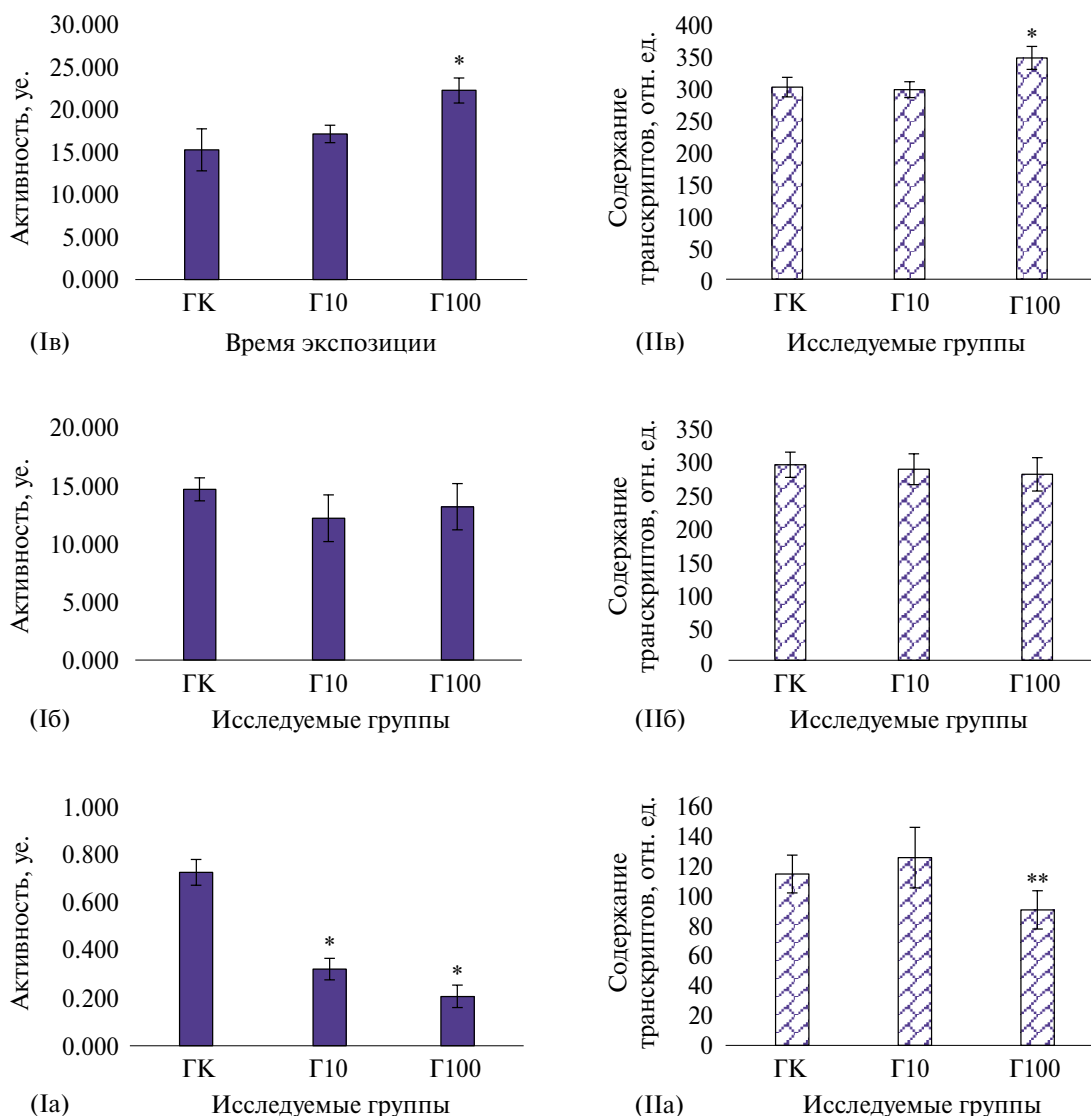


Рис. 1. Влияние дозы экстракта на активность СОД (I) и содержание транскриптов гена *SOD-1* (II) в прорастающих семенах и листьях проростков гороха: ГК – контроль, Г10 и Г100 – концентрация экстракта, %; а – суточные прорастающие семена, б – недельные проростки, культивированные в гидропонной среде, в – недельные проростки, культивированные в условиях почвы. То же на рис. 2, 3. * $P \leq 0.05$ – достоверность различий в соответствии с *t*-критерием Стьюдента по сравнению с контролем. ** $P \leq 0.05$ – в сравнении с контролем по критерию Крускала–Уоллиса.

Содержание свободного пролина во всех опытных группах суточных прорастающих семян было меньше, чем в контроле. Количество свободного пролина в листьях недельных проростков во всех опытных группах гороха, выращенных на гидропонике, также достоверно не отличалось от контроля ($P \geq 0.05$). При использовании почвы в качестве среды культивирования с применением 100%-ного экстракта содержание свободного пролина было больше, чем в листьях контрольных растений ($P \leq 0.05$), а при использовании 10%-ного экстракта достоверно не отличалось от контроля ($P \geq 0.05$).

Механизм, лежащий в основе изменения АОС растений под действием экстракта, вероятнее всего,

связан с действием элиситоров (в том числе хитозана, содержащего в исследованном экстракте), эффекторов, аллелопатов, гуминовых веществ и др. компонентов в составе экстракта на изученные прорастающие семена и проростки гороха [43].

Считается, что одной из первых реакций растений на действие элиситоров является генерация активных форм кислорода (АФК) [43–45]. АФК, в свою очередь, могут выступать мессенджерами, запускающими реакции ответа растений на элиситорное воздействие [46–48], тем самым они способствуют активации или подавлению АОС растений [43, 49]. Например, усиление активности СОД, по-видимому, связано с активацией экспрессии генов за

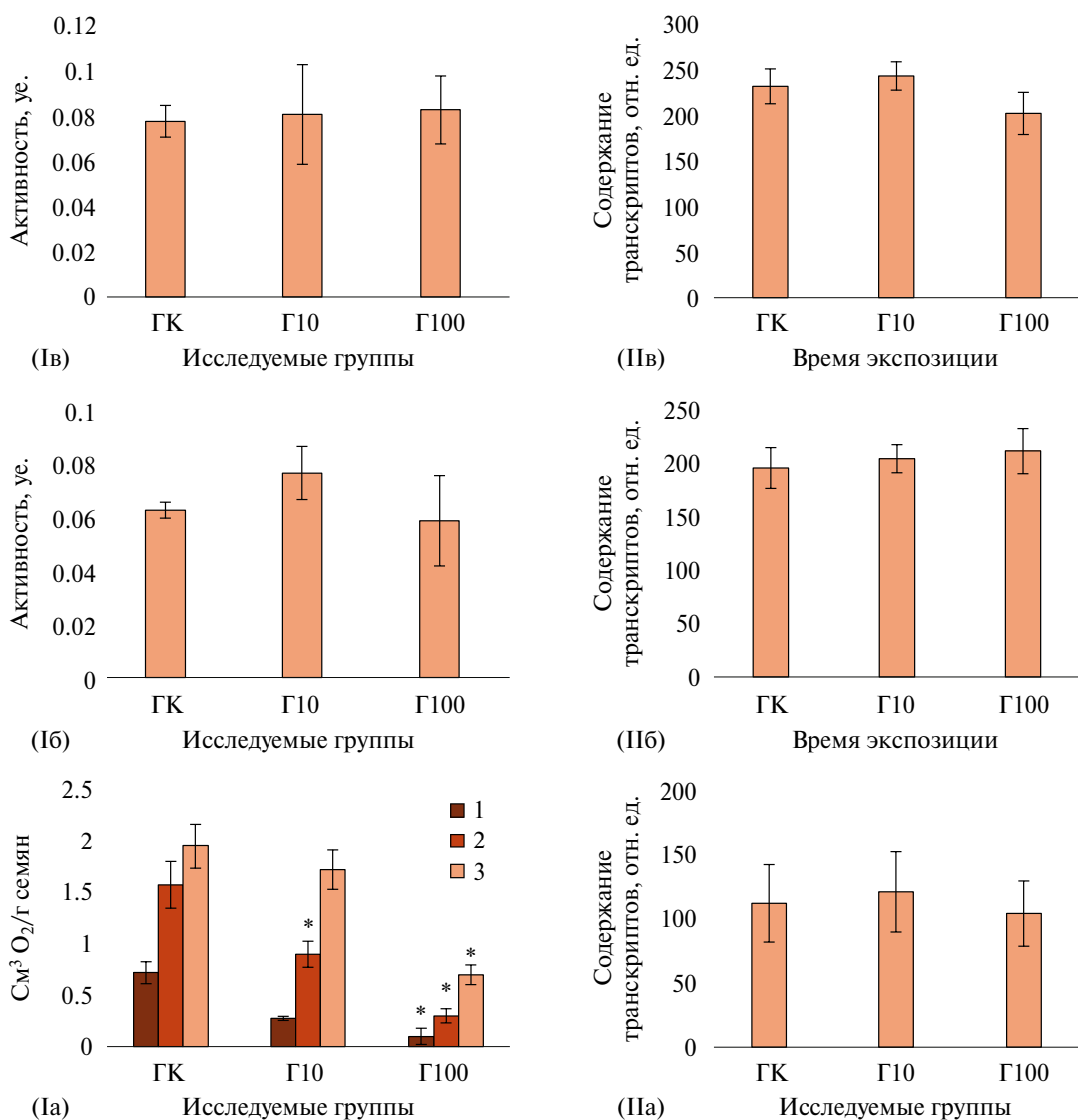


Рис. 2. Влияние дозы экстракта на активность КАТ (I) и содержание транскриптов гена *CAT-1* (II) в прорастающих семенах и листьях проростков гороха. 1, 2, 3 – время фиксации активности фермента, мин.

счет сигнализации элиситорами, содержащимися в экстракте. Похожие результаты были продемонстрированы при действии дрожжевых экстрактов на каллусные культуры *Linum grandiflorum* Desf., что приводило к усилению биосинтеза фенольных соединений (являющихся *НМАО*) [50]. При обработке гликопротеиновым элиситором, выделенным из культуры гриба *Magnaporthe oryzae*, была индуцирована антиоксидантная активность в листьях *Oryza sativa* L. [51].

Гуминовые вещества (ГВ), содержащиеся в экстракте, также могли влиять на изменение АОС. Например, была продемонстрирована способность ГВ снижать биотический стресс у пшеницы, вызванный патогенным грибом *Fusarium graminearum* [52]. Внекорневое применение ГВ повышало концентрацию *НМАО* (β -токоферол, β -каротин и аскорбиновая

кислота) и увеличивало активность СОД, в тканях злаковых травянистых растений (*Festuca arundinacea* Schreb, *Poa pratensis* L., *Agrostis palustris* Huds.) [53]. Была показана способность ГВ снижать солевой стресс у кормового сорго [54], что способствовало усилению активности АО ферментов и снижению уровня перекисного окисления липидов. Эти данные согласуются с данными, полученными в работе, таким образом усиление активности АО ферментов, экспрессии их генов и увеличение содержания некоторых *НМАО* может быть также обусловлено умеренным наличием ГВ в составе 10%-ного экстракта, с одной стороны, и подавление работы АОС из-за высокого содержания ГВ в составе 100%-ного экстракта, с другой.

Известно, что лектины, являющиеся эффекторами для растений, содержатся в внешке [55],

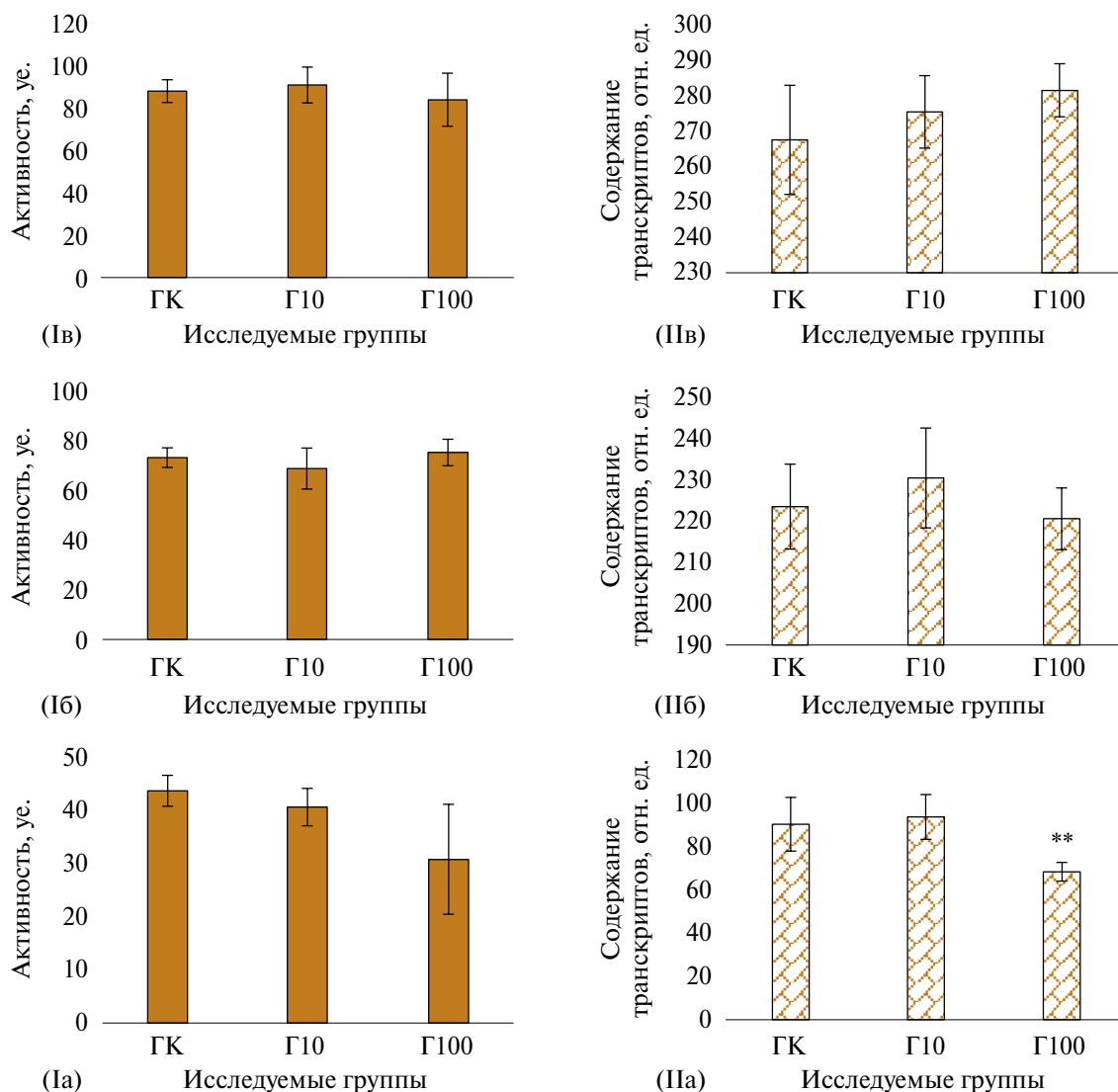


Рис. 3. Влияние дозы экстракта на динамику активности ПО (I) и содержание транскриптов гена *POD* (II) в прорастающих семенах и листьях проростков гороха.

а следовательно, с большой долей вероятности могли находиться в экстракте. Показано влияние лектинов на АОС растений: в частности лектин С, вырабатываемый паразитической нематодой (*Meloidogyne incognita*), снижал работу КАТ, способствуя проникновению в ткани [56], а наличие подобных веществ в экстракте возможно подавляло функционирование данного фермента в прорастающих семенах гороха.

Ингибирование работы АОС на начальных этапах прорастания, по-видимому, обусловлено не только прямым действием высоких доз компонентов экстракта на антиоксидантные ферменты, экспрессию их генов, пути биосинтеза *HMAO*, но и в целом связан с замедлением процессов прорастания, что, в том числе, сказалось на замедлении работы АОС по сравнению с контролем. В листьях проростков, культивированных на 100%-ном экстракте,

в почве активность СОД и экспрессия гена *SOD-1* были выше, чем в контроле, но при этом активность САТ, ПО и экспрессия их генов не менялась. Зато увеличивалось содержание аскорбата и свободного пролина, что, в частности, могло быть обусловлено перестройкой метаболических путей детоксикации H_2O_2 в сторону его утилизации за счет *HMAO* необходимостью сохранить нормальными метаболические пути (в частности, обмен ауксинов), которые могут подавляться за счет увеличения содержания растворимых ПО. Отсутствие эффекта экстракта на ферментативную АОС, но накопление аскорбата в проростках гороха, культивированных на гидропонике, возможно была обусловлено разной сигнализацией путей биосинтеза аскорбата и работой ферментативной АОС, меняющейся в процессе роста и развития. Отличие в работе АОС проростков, культивированных в разных средах, по-видимому, было

Таблица 2. Содержание аскорбата, филлохинонов и свободного пролина в суточных прорастающих семенах и листьях проростков гороха в зависимости от дозы экстракта

Вариант	НМАО, ед. изм.	Суточные прорастающие семена	Листья проростков (гидропоника)	Листья проростков (почва)
ГК	Аскорбат, мг/100 г	4.125 ± 1.21	130 ± 3	112 ± 6
Г10		3.50 ± 1.11	*223 ± 4	128 ± 4
Г100		3.50 ± 1.17	*241 ± 2	*174 ± 2
ГК	Филлохиноны, мкг/100 г	1.34 ± 0.10	14.3 ± 4.0	16.6 ± 1.8
Г10		*1.01 ± 0.19	14.8 ± 3.4	16.2 ± 3.1
Г100		*1.12 ± 0.15	14.6 ± 3.0	17.0 ± 2.9
ГК	Свободный пролин, мкг/100 г	0.032 ± 0.004	0.130 ± 0.003	0.151 ± 0.003
Г10		*0.023 ± 0.003	0.133 ± 0.004	0.153 ± 0.006
Г100		*0.021 ± 0.004	0.127 ± 0.002	*0.207 ± 0.003

связано как с изменением конечных концентраций действующих компонентов экстракта на растения, так и с их влиянием на микрофлору, что возможно изменяло сигнальные пути между растением и микроорганизмами или запускало дополнительные.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экстракт в целом менял работу антиоксидантной системы (АОС) гороха в процессе его роста и развития, а интенсивность и вектор изменения был связан как с дозой экстракта, так и со средой обитания растения. При этом максимальное ингибирование работы АОС было в суточных прорастающих семенах, что, возможно, связано не только с действием компонентов экстракта на саму АОС, но и с общим замедлением процессов прорастания. У 8-суточных проростков, культивированных в олиготрофных условиях гидропонии, вся исследованная ферментативная АОС не отличалась от контроля, но отмечено увеличение содержания аскорбата, а количество других изученных низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) не изменялось. Экстракт 10%-ной концентрации не оказал влияния на работу АОС 8-суточных проростков гороха, выращенных в почве. Но при этом было показано усиление в работе АОС растений, выращенных в почве с применением 100%-го экстракта, в частности, активность супероксиддисмутазы (СОД), экспрессия гена *SOD-1*, содержание аскорбата и свободного пролина были больше, чем в контроле. Данные результаты могут говорить о модулировании работы АОС гороха под действием экстракта при определенных условиях, что в целом позволяет усиливать устойчивость растений к стрессорам. А также в очередной раз подтверждает эффективность действия регуляторов роста растений только при грамотном применении с учетом всех обстоятельств роста и развития растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Upadhyaya D.C., Bagri D.S., Upadhyaya C.P., Kumar A., Thiruvengadam M., Jain S.K. Genetic engineering of potato (*Solanum tuberosum* L.) for enhanced α -tocopherols and abiotic stress tolerance // *Physiol. Plant.* 2021. V. 173. № 1. P. 116–128. <https://doi.org/10.1111/ppl.13252>
2. Ghiasi Noei F., Imami M., Didaran F., Ghanbari M.A., Zamani E., Ebrahimi A., Aliniaiefard S., Farzaneh M., Javan-Nikkhah M., Feechan A., Mirzadi Gohari A. Stb6 mediates stomatal immunity, photosynthetic functionality, and the antioxidant system during the *Zymoseptoria tritici*-wheat interaction // *Front Plant Sci.* 2022. № 13. P. 1004691. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1004691>
3. Pandey V.P., Awasthi M., Singh S., Tiwari S., Dwivedi U.N. A comprehensive review on function and application of plant peroxidases // *Biochem. Anal. Biochem.* 2017. V. 6. P. 1–16. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1009.1000308>
4. Lubega J., Umbreen S., Loake G.J. Recent advances in the regulation of plant immunity by S-nitrosylation // *J. Exp. Bot.* 2021. V. 72. № 3. P. 864–872. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa454>
5. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Anee T.I., Parvin K., Nahar K., Mahmud J.A., Fujita M. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress // *Antioxidants (Basel)*. 2019. V. 8. № 9. P. 384. <https://doi.org/10.3390/antiox8090384>
6. Bobrovskikh A., Zubairova U., Kolodkin A., Doroshkov A. Subcellular compartmentalization of the plant antioxidant system: an integrated overview // *Peer J.* 2020. V. 8. e9451. <https://doi.org/10.7717/peerj.9451>
7. Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants // *Trends Plant Sci.* 2004. V. 9. № 10. P. 490–498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>

8. Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology // *Plant Physiol.* 2001. V. 126. № 2. P. 485–493.
<https://doi.org/10.1104/pp.126.2.485>
9. Dixon D.P., Laphorn A., Edwards R. Plant glutathione transferases // *Genome Biol.* 2002. V. 3(3): REVIEWS3004.
<https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-3-reviews3004>
10. Cabassa-Hourton C., Scherlt P., Bordenave-Jacquemin M., Saadallah K., Guivarc'h A., Lebreton S., Planchais S., Klodmann J., Eubel H., Crilat E., Lefebvre-De Vos D., Ghelis T., Richard L., Abdelly C., Carol P., Braun H.P., Savouré A. Proteomic and functional analysis of proline dehydrogenase 1 link proline catabolism to mitochondrial electron transport in *Arabidopsis thaliana* // *Biochem. J.* 2016. V. 473. № 17. P. 2623–2634.
<https://doi.org/10.1042/bcj20160314>
11. Fritsche S., Wang X., Jung C. Recent advances in our understanding of tocopherol biosynthesis in plants: An Overview of key genes, functions, and breeding of vitamin E improved crops // *Antioxidants (Basel)*. 2017. V. 6. № 4. P. 99.
<https://doi.org/10.3390/antiox6040099>
12. Launay A., Cabassa-Hourton C., Eubel H., Maldiney R., Guivarc'h A., Crilat E., Planchais S., Lacoste J., Bordenave-Jacquemin M., Clément G., Richard L., Carol P., Braun H.P., Lebreton S., Savouré A. Proline oxidation fuels mitochondrial respiration during dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* // *J. Exp. Bot.* 2019 V. 70. № 21. P. 6203–6214.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erz351>
13. Cao W., Wang P., Yang L., Fang Z., Zhang Y., Zhuang M., Lv H., Wang Y., Ji J. Carotenoid biosynthetic genes in cabbage: Genome-wide identification, evolution, and expression analysis // *Genes (Basel)*. 2021b. V. 12. № 12. P. 2027.
<https://doi.org/10.3390/genes12122027>
14. Sun Z., Li S., Chen W., Zhang J., Zhang L., Sun W., Wang Z. Plant dehydrins: expression, regulatory networks, and protective roles in plants challenged by abiotic stress // *Inter. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 23. P. 12619.
<https://doi.org/10.3390/ijms222312619>
15. Нгуен М.Л., Монахос Г.Ф., Комахин Р.А., Монахос С.Г. Новый локус устойчивости к киле в хромосоме A05 капусты пекинской (*Brassica rapa* L.) // *Генетика*. 2018. Т. 54. № 3. С. 306–315.
DOI: 10.7868/S0016675818030037
16. Saed-Moucheshi A., Sohrabi F., Fasihfar E., Baniasadidi F., Riasat M., Mozafari A.A. Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability // *BMC Plant Biol.* 2021. V. 21. № 1. P. 148.
<https://doi.org/10.1186/s12870-021-02919-5>
17. Широких И.Г., Бакулина А.В., Огородникова С.Ю., Баранова Е.Н., Лундовских И.А., Гулевич А.А. Влияние встройки Fe-COD-1 гена на рост, перекисный гомеостаз и состояние пигментного комплекса трансгенных растений картофеля // *Агрохимия*. 2014. № 8. С. 72–78.
18. Ван В., Ся М.К., Чэнь Д., Юань Р., Дэн Ф.Н., Шэнь Ф.Ф. Особенности генной экспрессии и механизмы регуляции супероксиддисмутазы, ее физиологическая роль в растениях при стрессе (обзор) // *Биохимия*. 2016. Т. 81. № 5. С. 625–643.
19. Mittler R., Zilinskas B.A. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought // *Plant J.* 1994. V. 5. № 3. P. 397–405.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-5313x.1994.00397.x>
20. Sunkar R., Kapoor A., Zhu J.K. Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in *Arabidopsis* is mediated by downregulation of *miR398* and important for oxidative stress tolerance // *Plant Cell*. 2006. V. 18. № 8. P. 2051–2065.
<https://doi.org/10.1105/tpc.106.041673>
21. Suzuki T., Ikeda S., Kasai A., Taneda A., Fujibayashi M., Sugawara K., Okuta M., Maeda H., Sano T. RNAi-mediated down-regulation of dicer-like 2 and 4 changes the response of ‘Moneymaker’ tomato to potato spindle tuber viroid infection from tolerance to lethal systemic necrosis, accompanied by up-regulation of *miR398*, *398a-3p* and production of excessive amount of reactive oxygen species // *Viruses*. 2019. V. 11. № 4. P. 344.
<http://dx.doi.org/10.3390/v11040344>
22. Ni W., Trelease R.N. Post-transcriptional regulation of catalase isozyme expression in cotton seeds // *Plant Cell*. 1991. V. 3. № 7. P. 737–744.
<https://doi.org/10.1105/tpc.3.7.737>
23. Wang W., Cheng Y., Chen D., Liu D., Hu M., Dong J., Zhang X., Song L., Shen F. The Catalase gene family in cotton: Genome-wide characterization and bioinformatics analysis // *Cells*. 2019. V. 8. № 2. P. 86.
<https://doi.org/10.3390/cells8020086>
24. Raza A., Su W., Gao A., Mehmood S.S., Hussain M.A., Nie W., Lv Y., Zou X., Zhang X. Catalase (CAT) gene family in rapeseed (*Brassica napus* L.): Genome-wide analysis, identification, and expression pattern in response to multiple hormones and abiotic stress conditions // *Inter. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 8. P. 4281.
<https://doi.org/10.3390/ijms22084281>
25. Zhang Y., Zheng L., Yun L., Ji L., Li G., Ji M., Shi Y., Zheng X. Catalase (CAT) gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.): Evolution, expression pattern and function analysis // *Inter. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 1. P. 542.
<http://dx.doi.org/10.3390/ijms23010542>

26. Navabpour S., Yamchi A., Bagherikia S., Kafi H. Lead-induced oxidative stress and role of antioxidant defense in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2020. V. 26. № 4. P. 793–802. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00777-3>
27. Spicher L., Glauser G., Kessler F. Lipid antioxidant and galactolipid remodeling under temperature stress in tomato plants // *Front Plant Sci*. 2016. V. 7. P. 167. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00167>
28. Hao Y., Hao M., Cui Y., Kong L., Wang H. Genome-wide survey of the dehydrin genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and its relatives: identification, evolution and expression profiling under various abiotic stresses // *BMC Genomics*. 2022. V. 23. № 1. P. 73. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08317-x>
29. Ключникова Е.О., Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Гумалов Ф.Р., Шакирова Ф.М. Гормональная регуляция транскрипции TADHN гена дегидрина в растениях пшеницы // *Вестн. Башкир. ун-та*. 2012. Т. 17. № 3. С. 1272–1277.
30. Kumar R.R., Sharma S.K., Goswami S., Verma P., Singh K., Dixit N., Pathak H., Viswanathan C., Rai R.D. Salicylic acid alleviates the heat stress-induced oxidative damage of starch biosynthesis pathway by modulating the expression of heat-stable genes and proteins in wheat (*Triticum aestivum*) // *Acta Physiol. Plant*. 2015. V. 37. P. 143. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-015-1899-3>
31. Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., Игнатенко А.А. Влияние метилжасмоната на экспрессию генов WCS и активность антиоксидантных ферментов при холодной адаптации пшеницы // *Докл. РАН*. 2018. Т. 482. № 1. С. 101–104.
32. Campobenedetto C., Grange E., Mannino G., van Arkel J., Beekwilder J., Karlova R., Garabello C., Contartese V., Berteaux C.M. A Biostimulant seed treatment improved heat stress tolerance during cucumber seed germination by acting on the antioxidant system and glyoxylate cycle // *Front Plant Sci*. 2020. V. 17. № 11. P. 836. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00836>
33. Тарасов С.С., Михалев Е.В., Крутова Е.К., Речкин А.В. Регуляторы роста и развития растений: классификация, природа и механизм действия // *Агрохимия*. 2023. № 9. С. 65–80. <https://DOI:10.31857/S0002188123090120>
34. Namdeo A.G. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review // *Pharmacogn. Rev*. 2007. V. 1. № 1. P. 69–79.
35. Тарасов С.С., Михалев Е.В., Крутова Е.К., Шестеркина И.А. Ростовые показатели и метаболизм прорастающих семян пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в зависимости от дозы экстракта из отработанного соломенного субстрата вешенки (*Pleurotus ostreatus*) // *Агрохимия*. 2022. № 6. С. 51–60. DOI: 10.31857/S0002188122060102
36. Polesskaya O.G., Kashirina E.I., Alekhina N.D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply // *Rus. J. Plant Physiol*. 2004. V. 51. № 5. P. 615–620. <https://DOI:10.1023/B:RUPP.0000040746.66725.77>
37. Patterson B.D., Payne L.A., Chen Y.Z., Graham D. An inhibitor of catalase induced by cold in chilling-sensitive plants // *Plant Physiol*. 1984. V. 76. № 4. P. 1014–1018. <https://DOI.org/10.1104/pp.76.4.1014>
38. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова. Изд. 3-е, перераб. и доп. Л.: Агропромиздат, 1987. 432 с.
39. Tarasov S.S., Krutova E.K. Oxidative homeostasis in germinating pea seeds (*Pisum sativum* L.) depending on ultrasonic exposure duration // *Biophysics*. 2023. V. 68. P. 435–442. <https://doi.org/10.1134/S0006350923030211>
40. Bates L.S., Waldeen R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant Soil*. 1973. V. 39. № 1. P. 205–207.
41. Калинкина Л.Г., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на аминокислотном анализаторе // *Физиология растений*. 1990. Т. 37. С. 617–621.
42. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
43. Guo J., Cheng Y. Advances in fungal elicitor – triggered plant immunity // *Inter. J. Mol. Sci*. 2022. V. 23. № 19. P. 12003. <https://doi:10.3390/ijms231912003>
44. Abdul Malik N.A., Kumar I.S., Nadarajah K. Elicitor and receptor molecules: Orchestrators of plant defense and immunity // *Intr. J. Mol. Sci*. 2020. V. 21. № 3. P. 963. <https://doi.org/10.3390/ijms21030963>
45. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Zulfiqar F., Raza A., Mohsin S.M., Mahmud J.A., Fujita M., Fotopoulos V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator // *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9. № 8. P. 681. <https://doi:10.3390/antiox9080681>
46. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
47. Bartels S., Boller T. Quo vadis, Pep? Plant elicitor peptides at the crossroads of immunity, stress, and development // *J. Exp. Bot*. 2015. V. 66. № 17. P. 5183–5193. <https://doi:10.1093/jxb/erv180>
48. Ramirez-Estrada K., Vidal-Limon H., Hidalgo D., Moyano E., Golenioswki M., Cusidó R.M., Palazon J. Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories // *Molecules*. 2016. V. 21. P. 182–206. <https://DOI:10.3390/molecules21020182>

49. Fang Y., Gu Y. Regulation of plant immunity by nuclear membrane-associated mechanisms // Front Immunol. 2021. V. 12. P. 771065. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.771065>
50. Goncharuk E.A., Saibel O.L., Zaitsev G.P., Zagoskina N.V. The Elicitor effect of yeast extract on the accumulation of phenolic compounds in *Linum grandiflorum* cells cultured *in vitro* and their antiradical activity // Biol. Bul. 2022. V. 49. № 6. P. 620–628. <http://dx.doi.org/10.1134/S1062359022060061>
51. Li Z., Zhang Y., Peng D., Wang X., Peng Y., He X., Zhang X., Ma X., Huang L., Yan Y. Corrigendum: Polyamine regulates tolerance to water stress in leaves of white clover associated with antioxidant defense and dehydrin genes via involvement in calcium messenger system and hydrogen peroxide signaling // Front Physiol. 2016. V. 7. P. 52. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00052>
52. Sakr M.T., Sarkassy N.M., Fuller M.P. Exogenously applied antioxidants and biostimulants counteract the adverse effect of biotic stress in wheat plant // Agric. Res. Technol. Open Access J. 2017. V. 12. P. 555853. <http://dx.doi.org/10.19080/artoaj.2017.12.555853>
53. Zhang X. Influence of plant growth regulators on turf grasses growth, antioxidant status, and drought tolerance / Ed. Ph.D. Thesis. Faculty of Virginia Polytechnic (Institute and State University), 1997.
54. Ali A.Y.A., Zhou G., Elsidig A.M., Zhu G., Meng T., Jiao X., Ahmed I., Ibrahim Salih E.G., Ibrahim M.E.H. Effects of jasmonic acid in foliar spray and an humic acid amendment to saline soils on forage sorghum plants' growth and antioxidant defense system // Peer J. 2022. V. 10. e13793. <https://doi.org/10.7717/peerj.13793>
55. Perduca M., Destefanis L., Bovi M., Galliano M., Munari F., Assfalg M., Ferrari F., Monaco H.L., Capaldi S. Structure and properties of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) lectin // Glycobiology. 2020. V. 30. № 8. P. 550–562. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwaa006>
56. Zhao J., Sun Q., Quentin M., Ling J., Abad P., Zhang X., Li Y., Yang Y., Favery B., Mao Z., Xie B. A Meloidogyne incognita C-type lectin effector targets plant catalases to promote parasitism // New Phytol. 2021. V. 232(5). P. 2124–2137. <https://doi.org/10.1111/nph.17690>

Changes in the Antioxidant System of Germinating Seeds and Sprouts of Pea with the Use of Micellar-Substrate Extract of Oyster Mushrooms

S. S. Tarasov^{a, #}, E. V. Mikhalev^a, E. K. Krutova^a

^aNizhny Novgorod State Agrotechnological University,
prosp. Gagarina 97, Nizhny Novgorod 603022, Russia

[#]E-mail: tarasov_ss@mail.ru

The reactions of the antioxidant system (AOS) of daily germinating seeds and 8-day-old pea seedlings cultivated using 10% and 100% aqueous extract from spent oyster mushroom straw substrate (hereinafter extract) were studied. The mother liquor was taken for 100% extract after its preparation, and the 10% was obtained by diluting the mother liquor. The plants were grown in oligotrophic hydroponic conditions and in eutrophic conditions on gray forest soil. The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), expression of *SOD-1*, *CAT-1*, *POD* genes, and the content of low molecular weight antioxidants (*NMAO*): ascorbate, phyloquinones, and free proline were studied as the main indicators of the AOS reaction. The inhibitory effect of 10% and 100% extract on the activity of SOD and CAT, but not on the activity of POD in daily germinating seeds, has been shown. At the same time, the content of mRNA transcripts of the *SOD-1* and *POD* genes decreased only slightly in seeds cultivated with 100% extract, in the remaining experimental groups the level of gene expression did not differ from the control. The content of ascorbate in all experimental groups did not differ from the control, and phyloquinones and free proline were less than in the control. In the leaves of 8-day-old seedlings cultivated in a hydroponic medium, in all experimental groups, the activity of AOS enzymes, the expression of their coding genes and the content of phyloquinones and free proline did not differ from the control. At the same time, the ascorbate content was higher. In plants cultivated in soil using a 10% extract, all EPA indicators did not differ from the control. In plants grown using 100% extract, the activity of SOD, the expression level of the *SOD-1* gene, the content of ascorbate and free proline were higher, and the remaining indicators did not differ from the control. Thus, the extract at the initial stages of germination inhibited the AOS of peas, followed by restoration (in oligotrophic conditions) and enhancement (in eutrophic cultivation conditions) of its work.

Keywords: peas, antioxidant system, oyster mushroom, low molecular weight antioxidants, seed germination, growth and development regulators, redox status, gene expression.

УДК 595.7:632.937.3

ОЛЬФАКТОРНЫЕ РЕАКЦИИ ОРАНЖЕРЕЙНОЙ БЕЛОКРЫЛКИ *Trialeurodes vaporariorum* WESTWOOD И ЕЕ ПАРАЗИТОИДА ЭНКАРЗИИ *Encarsia formosa* GAHAN НА ЛЕТУЧИЕ СОЕДИНЕНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РОДА *Lecanicillium*

© 2024 г. Г. В. Митина^{1,*}, О. С. Кириллова¹, А. А. Чоглокова¹, М. А. Черепанова¹¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений

196608 Санкт-Петербург—Пушкин, шоссе Подбельского, 3, Россия

*E-mail: galmit@rambler.ru

Для оценки перспективы совместного использования энтомопатогенных грибов (ЭПГ) и энтомофагов в защите растений от оранжерейной белокрылки изучено влияние летучих органических соединений (ЛОС) грибов на поведение фитофага и ее паразитоида энкарзии в 2-х видах ольфактометров. В Y-образном ольфактометре выявлено, что 3 из 9 штаммов ЭПГ оказывали существенное влияние на поведение имаго фитофага. Мицелий штамма VI 72 вида *L. muscarium* проявил аттрактивное действие (ИА = +16), а для штамма VI 61 этого же вида и штамма Vit 71 вида *L. attenuatum* обнаружено репеллентное действие в отношении вредителя (ИА = –28 и –20 соответственно). Эксперименты в двухкамерных ольфактометрах, где *T. vaporariorum* тестировали не индивидуально, а группами (по 15 особей), показали, что все изученные штаммы не влияли на реакции фитофага. Активность ЛОС грибов в отношении энкарзии была менее выражена по сравнению с белокрылкой. В Y-образном ольфактометре показано, что только Vit 71 (*L. attenuatum*) проявил аттрактивное действие, остальные штаммы не вызывали реакций у паразитоида или проявляли тенденцию к его привлечению.

Ключевые слова: поведенческие реакции, летучие органические соединения, энтомопатогенные грибы, *Lecanicillium*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Encarsia formosa*.

DOI: 10.31857/S0002188124100057, **EDN:** ANQKWX

ВВЕДЕНИЕ

Оранжерейная белокрылка *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae) — широко распространенный вредитель культур закрытого грунта во всем мире [1, 2]. Это флоэмосоусущее насекомое, вредоносность которого связана как с потерей растением ассимилятов, так и с переносом возбудителей вирусных заболеваний [3]. В процессе питания белокрылка выделяет медвяную росу, которая покрывает листья и создает субстрат для развития сажистых грибов, что препятствует фотосинтезу, уменьшает транспирацию и снижает товарные качества плодов [4]. Экологически безопасными методами борьбы с данным фитофагом в защищенном грунте являются выпуск энтомофагов и применение энтомопатогенных грибов (ЭПГ).

Encarsia formosa Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) — паразитоид, используемый в программах биологической борьбы с оранжерейной белокрылкой на овощах и декоративных культурах в закрытом грунте как в нашей стране, так и за рубежом [5, 6]. Самки энкарзии откладывают яйца в личиночные

стадии белокрылки, предпочитая личинок 3-го возраста [7, 8]. В зависимости от температуры и относительной влажности воздуха развитие энтомофага может происходить почти в 2 раза быстрее развития белокрылки [7].

Грибы рода *Lecanicillium* (Petch.) Zare & W. Gams широко распространены в природе и являются патогенами тлей и белокрылок [9, 10]. Отдельные виды этих грибов, в частности *L. muscarium*, нашли практическое применение в качестве продуцентов биопрепаратов для борьбы с белокрылками [11–13].

Применение энкарзии совместно с энтомопатогенами может повысить эффективность защиты культур от оранжерейной белокрылки. Однако имеются данные о негативном влиянии некоторых ЭПГ на энтомофагов, в том числе на перепончатокрылых паразитоидов [14]. После применения суспензии спор *Aschersonia aleyrodis* против оранжерейной белокрылки энкарзия избегала зараженных патогеном личинок фитофага для откладки яиц [15]. При совместном применении энкарзии и определенных штаммов *Beauveria bassiana* наблюдали снижение

количества имаго энкарзии, отродившихся из обработанных патогеном личинок белокрылки [16]. Для эффективной интегрированной защиты культур от оранжерейной белокрылки необходимо изучение различных аспектов взаимодействия между фитофагом, паразитоидом и патогеном. В этих взаимоотношениях немаловажное значение имеет влияние летучих органических соединений (ЛОС), выделяемых энтомопатогенами, на поведение насекомых. Характер воздействия ЛОС грибов рода *Lecanicillium* как на фитофагов, так и на энтомофагов зависит от ряда факторов, в частности, от вида и штамма гриба, таксономической принадлежности насекомого, способа внесения и формы патогена. Например, некоторые штаммы одного вида *Lecanicillium lecanii* вызывали противоположные поведенческие реакции у клопов *Orius laevigatus* (Fiebr.) [17]. Споры ЭПГ разных видов рода *Lecanicillium* вызывали преимущественно репеллентные реакции у имаго оранжерейной белокрылки, находящейся на растениях, и подавляющее действие на репродуктивный потенциал вредителя [18]. Влияние ЛОС мицелия энтомопатогенных грибов рода *Lecanicillium* на энкарзию ранее не изучали, и проведение такой оценки важно для обоснования совместного применения данных объектов в борьбе с оранжерейной белокрылкой.

Цель работы — изучение ольфакторных реакций оранжерейной белокрылки и энкарзии на ЛОС энтомопатогенного гриба рода *Lecanicillium* с использованием ольфактометров 2-х видов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Лабораторную популяцию оранжерейной белокрылки *T. vaporariorum* и энкарзии *E. formosa* разводили на растениях табака сорта Виржиния при температуре 23–25°C, влажности воздуха $65 \pm 5\%$, 16-часовом световом дне.

Штаммы ЭПГ рода *Lecanicillium* отобраны из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ВИЗР WFCC WDCM № 760 (УНУ), которые оказывали существенное влияние на поведение оранжерейной белокрылки в опытах на вегетирующих растениях [19]: V1 13 (*L. longisporum*, выделен из тли (Hemiptera: Aphididae); V1 21 (*L. muscarium*, выделен из личинок оранжерейной белокрылки *T. vaporariorum*); штаммы V1 29 и V1 72 (*L. muscarium*), выделены из жимолостной белокрылки *Aleurodes lonicerae* Walker; V1 61 (*L. muscarium*, выделен из урединиопустул возбудителя ржавчины *Phragmidium* sp.); V1 79 (*L. dimorphum*, выделен из почвы); 8057 (*L. pisso-dis*, выделен из Coleoptera: Curculionidae); V1 71 (*L. attenuatum*, выделен из большого елового короеда *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae); F 14 (*L. muscarium*, выделен из поденки). Штаммы выращивали в чашках Петри на агаризованной среде Чапека

при 26°C и на 10-е сут после посева вырезали блок спорующего мицелия диаметром 9 мм для анализа влияния ЛОС грибов.

Ольфакторные реакции насекомых определяли в ольфактометрах 2-х видов: Y-образном и 2-камерном. Тестирование в Y-образном ольфактометре проводили с помощью стеклянной трубки с 2-мя рукавами длиной 14 см и внутренним диаметром 2.5 см, которые расположены под углом 45° (рис. 1а).

Имаго белокрылки (независимо от пола) отбирали экстаустером по одной особи в стеклянные стаканчики (длиной 7 см, диаметром 2.5 см) и выдерживали в течение 30 мин. В один из рукавов ольфактометра помещали блок агара с мицелием гриба (опыт), в другой — блок агара без мицелия (контроль). Трубку располагали горизонтально, выходы закрывали пробками. Стаканчик с имаго белокрылки прикрепляли к входу трубки с помощью липкой ленты. Факт выбора рукава фиксировали, когда насекомое проходило 2/3 его длины. Если в течение 5 мин особь не делала выбора, ее заменяли на другую. Однако такие особи были единичными, в опытах реагировали практически все из тестированных насекомых. После последовательного тестирования 5-ти особей белокрылки (что составляло одну повторность) позицию рукавов (опыт и контроль) меняли на противоположную (при этом Y-образную трубку поворачивали на 180°) и тестировали следующие 5 особей. После 2-х повторностей агаровые блоки убирали, трубку протирали 70%-ным этиловым спиртом и высушивали. Затем в рукава помещали новые блоки, поменяв при этом позицию опыта и контроля на противоположную в сравнении с предыдущей повторностью.

Тестирование энкарзии в данном виде ольфактометра проводили по той же методике, что и имаго белокрылки. Количество особей энкарзии на повторность составляло 3–5 экз. Температура в помещении составляла 23–25°C. Тестирование насекомых осуществляли при дневном рассеянном свете (100 лк) без активной подачи воздуха в ольфактометр. Двухкамерные ольфактометры представляли собой стеклянные цилиндрические сосуды длиной 20 см и шириной 7 см с притертой стеклянной пробкой высотой 5 см. Внутри сосуд разделен продольной перегородкой на две камеры, сообщающиеся между собой в передней его части, что позволяло тестируемому насекомому перемещаться из одной камеры в другую. Длина неразделенного перегородкой пространства — 10 см (рис. 1б). В боковые выступы камер помещали блоки грибной культуры и питательной среды без ЭПГ (опыт и контроль). Имаго белокрылки собирали с помощью экстаустера и переносили в пробку сосуда, накрывали крышкой и выдерживали в течение 30 мин, затем белокрылку выпускали в сосуд, устанавливая его вертикально на пробку. Учеты распределения насекомых по камерам

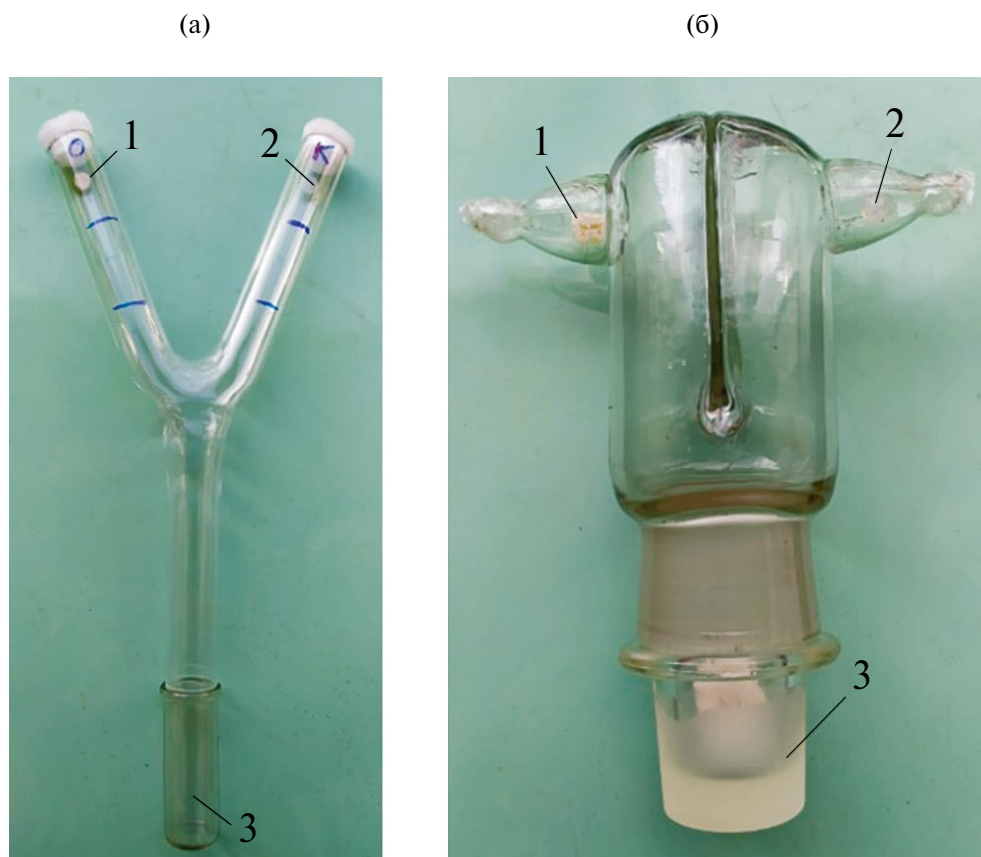


Рис. 1. Схема оценки ольфакторных реакций насекомых на ЛОС энтомопатогенных грибов: (а) – в Y-образном ольфактометре, (б) – в двухкамерном ольфактометре; 1 – блок с мицелием, 2 – блок агар, 3 – камера для выпуска тест-насекомых.

проводили через 1 ч после выпуска. Одновременно использовали несколько сосудов (один сосуд – одна повторность), в каждый сосуд выпускали по 15 ± 2 особей имаго белокрылки. Количество повторностей для большинства вариантов было равно 16.

Реакцию насекомых на субстрат оценивали по показателю “индекс агрегации” [20, 21]: $ИА = (О - К/О + К) \times 100 (\%)$, где О – число особей в опытной зоне, К – число особей, находящихся в контрольной зоне. При $ИА > 0$ реакция аттрактивная, если $ИА < 0$ – реакция репеллентная при статистически значимых различиях между вариантами.

Статистическую обработку проводили с помощью однофакторного анализа ANOVA (SigmaPlot верс. 12.5 Systat Software), для сравнения средних использовали тест Tukey's HSD.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тестирование имаго белокрылки в Y-образном ольфактометре показало, что мицелий 3-х из 9-ти штаммов оказывал существенное влияние на поведение фитофага.

Мицелий штамма VI 72 вида *L. muscarium* проявил аттрактивное действие ($ИА = 16$), для штамма VI 61

этого же вида обнаружено репеллентное действие в отношении вредителя ($ИА = -28$), как и в случае штамма Vit 71 вида *L. attenuatum* ($ИА = -20$). В остальных случаях в реакциях белокрылки наблюдали различные тенденции, которые не были статистически достоверными (табл. 1).

Эксперименты в 2-камерных ольфактометрах, где *T. vaporariorum* тестировали не индивидуально, а группами (по 15 особей), показали, что все изученные штаммы вызывали нейтральные реакции фитофага. Исключение составил мицелий штамма 8057 (*L. pissodis*), для которого была обнаружена тенденция к репеллентному действию на фитофага ($ИА = -9.05$, при $p = 0.076$) (табл. 2).

Штамм Vit 71, проявивший в Y-образном ольфактометре репеллентное действие на белокрылку, в процессе тестирования в двухкамерном ольфактометре показал неоднозначные результаты – распределение насекомых было зачастую диаметрально противоположным. В 30% случаев отмечено аттрактивное действие патогена на имаго белокрылки, еще в 30% – выраженное репеллентное. С этим штаммом было проведено дополнительное исследование, в котором имаго белокрылки тестировали в двухкамерных сосудах по одной особи, а также уменьшили диаметр

Таблица 1. Реакция имаго оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* на ЛОС мицелия грибов рода *Lecanicillium* в Y-образном ольфактометре

Штамм	Количество насекомых в опыте, экз.	Количество особей, (среднее $\pm$ ст. ошибка), экз.		Критерий Фишера, <i>F</i>	<i>p</i> , вероятность	ИА, %
		Опыт	Контроль			
VI 13	45	3.0 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.4	3.60	0.076	+20.0
VI 21	45	2.1 $\pm$ 0.3	2.9 $\pm$ 0.3	3.16	0.094	–15.6
VI 29	75	2.6 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.3	0.269	0.608	+4.0
VI 61*	75	1.8 $\pm$ 0.3	3.2 $\pm$ 0.3	9.188	0.005	–28.0
VI 72*	70	2.9 $\pm$ 0.2	2.1 $\pm$ 0.2	10.51	0.003	+16.0
VI 79	60	2.8 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.3	1.87	0.185	+13.2
8057	60	2.5 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.4	0.00	1.000	0.0
Vit 71*	105	2.0 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.3	5.55	0.023	–20.0
F 14	75	2.7 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.3	0.917	0.346	+9.3

*Варианты, достоверно отличавшиеся от контроля при $p \leq 0.05$. То же в табл. 3, 4.

Таблица 2. Реакция имаго оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* на ЛОС мицелия грибов рода *Lecanicillium* в двухкамерном ольфактометре

Штамм	Количество насекомых в опыте, экз.	Количество особей, (среднее $\pm$ ст. ошибка), экз.		Критерий Фишера, <i>F</i>	Вероятность, <i>p</i>	ИА, %
		Опыт	Контроль			
VI 13	216	7.1 $\pm$ 0.7	6.4 $\pm$ 0.6	0.66	0.422	+5.55
VI 21	253	7.9 $\pm$ 0.6	7.9 $\pm$ 0.5	0.01	0.941	+0.38
VI 72	201	6.9 $\pm$ 0.8	5.7 $\pm$ 0.4	1.81	0.189	+9.46
VI 79	210	8.2 $\pm$ 0.8	6.8 $\pm$ 0.6	1.93	0.177	+9.47
8057	378	5.7 $\pm$ 0.5	6.9 $\pm$ 0.4	3.26	0.076	–9.05
Vit 71	264	5.8 $\pm$ 0.7	6.2 $\pm$ 0.8	0.13	0.722	–3.00

агарового блока в 4 раза для снижения количества выделяемых мицелием ЛОС. Результаты тестирования белокрылки показали, что уменьшение в 4 раза агарового диска с мицелием способствовало привлечению к нему фитофага (ИА = +15, при $p = 0.036$). При тестировании по одной особи в повторности распределение фитофага между опытом и контролем было практически одинаковым, а различия несущественными (табл. 3).

Оценка влияния летучих соединений мицелия энтомопатогенных грибов рода *Lecanicillium* на энкарзию показала, что штамм Vit 71 (*L. attenuatum*) проявил небольшое, но статистически достоверное аттрактивное действие на энтомофага (ИА = 16, $p = 0.013$). Причем некоторые особи подходили вплотную к блокам с мицелием данного патогена. Остальные штаммы, за исключением VI 13 и VI 61, проявили только тенденцию к привлечению энтомофага, которая была наиболее выражена у VI 79 (*L. dimorphum*) (ИА = 33, $p = 0.082$) (табл. 4).

Сопоставление полученных данных с результатами ранее проведенных исследований показало, что характер реакций насекомых на ЛОС *Lecanicillium* spp., выявленных в ольфактометрах и на вегетирующих растениях, отличался. Например, результатом обработки растений суспензиями конидий *L. longisporum* (штамм VI 13) [19], *L. muscarium* (штамм VI 21), *L. dimorphum* (штамм VI 79) [18] было снижение привлечения оранжерейной белокрылки. В нашем исследовании при тестировании ЛОС мицелия данных штаммов в ольфактометрах реакция *T. vaporariorum* на них была нейтральной.

Аттрактивное действие ЛОС мицелия *L. muscarium* (штамм VI 72) на оранжерейную белокрылку было отмечено в Y-образном ольфактометре, где каждую особь тестировали индивидуально, тогда как при групповом тестировании в двухкамерных сосудах данный патоген не вызывал существенного влияния на реакцию насекомых. Известно, что *T. vaporariorum* может формировать колонии с высокой плотностью, в которых особи находятся в тесном

Таблица 3. Реакция *Trialeurodes vaporariorum* на ЛОС мицелия *L. attenuatum* (штамм Vit 71) при тестировании в 2-камерном ольфактометре

Вариант		Количество насекомых в опыте, экз.	Количество особей (среднее ± ст. ошибка), экз.		Критерий Фишера, <i>F</i>	Вероятность, <i>p</i>	ИА, %
			опыт	контроль			
Тестирование по 15 особей	целый диск агара	264	5.8 ± 0.7	6.2 ± 0.8	0.128	0.722	–3.0
	¼ диска агара	290	7.0 ± 0.6	5.2 ± 0.6	4.68	0.036*	+15.0
Тестирование по 1 особи	целый диск агара	25	2.0 ± 0.7	3.0 ± 0.7	1.000	0.347	–20.0
	¼ диска агара	25	2.8 ± 0.4	2.2 ± 0.4	1.286	0.29	+12.0

Таблица 4. Реакция имаго *Encarsia formosa* на ЛОС мицелия грибов рода *Lecanicillium* в Y-образном ольфактометре

Штамм	Количество прореагировавших особей, экз.	Количество особей (среднее ± ст. ошибка), экз.		Критерий Фишера, <i>F</i>	Вероятность, <i>p</i>	ИА, %
		опыт	контроль			
VI 13	15	1.4 ± 0.5	1.6 ± 0.5	0.008	0.789	–6.7
VI 21	40	2.9 ± 0.4	2.1 ± 0.4	1.450	0.249	+25.0
VI 29	75	2.5 ± 0.4	2.5 ± 0.4	0.016	0.898	–1.3
VI 61	75	2.4 ± 0.2	2.6 ± 0.2	0.362	0.552	–4.0
VI 72	15	1.8 ± 0.4	1.2 ± 0.4	1.290	0.290	+20.0
VI 79	18	2.0 ± 0.4	1.0 ± 0.4	3.750	0.082	+33.3
8057	40	2.9 ± 0.4	2.1 ± 0.4	2.290	0.152	+25.0
Vit 71*	85	2.9 ± 0.9	2.1 ± 0.2	6.710	0.013	+16.0
F 14	75	2.1 ± 0.3	2.9 ± 0.3	2.379	0.134	–14.7

контакте. Также известно, что в социальных взаимодействиях *T. vaporariorum* использует вибрационные сигналы [22–24], которые обеспечивают коммуникацию насекомых и могут в данном случае влиять на их поведение при оценке реакции на ЭПГ.

Влияние плотности популяции фитофага на его поведение, вероятно, имело место и при оценке действия ЛОС мицелия штамма Vit 71 (*L. attenuatum*): репеллентное действие на белокрылку ЛОС мицелия данного штамма выявлено при тестировании насекомых по отдельности, тогда как нейтральная реакция фитофага на патоген была при тестировании особей в группах (табл. 1, 2). Кроме того, в данном случае очевидно также влияние на реакцию белокрылки концентрации летучих соединений данного энтомопатогена: обнаружено привлечение насекомых при уменьшении размера мицелиального блока в 4 раза. Известно, что на одно и то же соединение в разных концентрациях членистоногие могут реагировать по-разному [25, 26]. Например, показано, что (Е)-2-гексенал в низких дозах, в отличие от высоких, оказывал отпугивающее действие на тлю *Aphis fabae* Scopoli и самок фасолевого цветочного трипса *Megalurothrips sjostedti* Trybom [27, 28].

Влияние ЛОС мицелия ЭПГ рода *Lecanicillium* на энкарзию было изучено впервые. В литературе имеются данные о способности самок паразитоида избегать инфицированного грибом *L. longisporum* хозяина и откладывать яйца в незараженные особи [29]. Показано, что обработка спорами *L. longisporum* в зависимости от их концентрации снижала количество особей энкарзии, вышедших из обработанных личинок белокрылок, при этом ранние стадии развития паразитоида были более чувствительными к действию патогена. В то же время *L. longisporum* не влиял на репродуктивную способность и продолжительность жизни самок *E. formosa*, вышедших из обработанных грибом хозяев [30]. Способность энтомофага при поиске хозяина ориентироваться на химические сигналы [31] может снижать риск

заражения при совместном применении с ЭПГ для биологического контроля *T. vaporariorum*. В нашей работе большинство видов энтомопатогенных грибов, в том числе и *L. longisporum* (штамм VI 13), проявили только тенденцию к аттрактивному действию на энкарзию, а ЛОС мицелия *L. attenuatum* (штамм Vit 71) показали достоверное привлечение паразитоида. Необходимы дополнительные исследования оценки вирулентности штаммов *Lecanicillium* в отношении *E. formosa*, а также влияния данных ЭПГ на поведение паразитоида на вегетирующих растениях.

Выявленные в ходе исследования различия в характере реакции насекомых на исследованные ЭПГ могут быть связаны с качественными особенностями и количественным соотношением компонентов в смесях летучих соединений, выделяемых мицелием изученных штаммов. В отношении рода *Lecanicillium* показано, что ЛОС мицелия исследованных штаммов отличались количественным и качественным составом. Основными обнаруженными компонентами газовой фазы над мицелием ЭПГ были диоксид углерода, кислород, ацетон, пентан, уксусная кислота. Летучие соединения штаммов VI 72 и Vit 71, показавших в данном исследовании статистически достоверное влияние на реакцию оранжерейной белокрылки и энкарзии (Vit 71), имели явные различия в количественном составе основных летучих соединений газовой среды над мицелием, особенно в соотношении ацетона и уксусной кислоты [32]. Уксусная кислота, испытанная в дозах, соответствующих ее содержанию в составе ЛОС грибов над растущим мицелием, вызывала различные реакции у самок западного цветочного трипса в зависимости от концентрации [33]. Таким образом, особенности состава ЛОС грибов могут отвечать за выявленные в данном исследовании различия в характере их влияния на поведение насекомых.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка влияния летучих органических соединений (ЛОС) мицелия исследованных штаммов энтомопатогенных грибов (ЭПГ) рода *Lecanicillium* на поведение имаго *T. vaporariorum* показала, что некоторые штаммы могут проявлять как репеллентные, так и аттрактивные свойства, что важно учитывать при выборе штамма для контроля вредителя. Влияние ЭПГ на паразитоида белокрылки энкарзию было менее выражено. Выявленное в Y-образном ольфактометре привлечение энкарзии ЛОС мицелия штамма Vit 71, а также тенденции к аттрактивному действию на энтомофага у остальных штаммов *Lecanicillium* может оказать положительный эффект при их совместном использовании, однако влияние таких штаммов на развитие энкарзии следует изучить более детально.

Авторы выражают благодарность Степаныховой Е.А. за методическую помощь и ценные советы по тестированию белокрылки в ольфактометрах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Avilla J., Albajes R., Alomar O., Castañe C., Gabarra R. Biological control of whiteflies on vegetable crops // Biocontrol in protected culture / Eds. Heinz K.M., Van Driesche R.G. and Parrella M.P. Batavia, IL: Ball Publishing, 2004. P. 171–184.
2. Zhang G.F., Lövei G.L., Hu M., Wan F.H. Asymmetric consequences of host plant occupation on the competition between the whiteflies *Bemisia tabaci* cryptic species MEAM1 and *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) // Pest Manag. Sci. 2014. V. 70. P. 1797–1807.
3. Jones D.R. Plant viruses transmitted by whiteflies // Eur. J. Plant Pathol. 2003. V. 109. P. 195–219.
4. Яркуллов Ф.Я. Методы учета и биологическое подавление тепличной белокрылки в защищенном грунте // Дальневост. аграрн. вестн. 2011. Т. 1. № 17. С. 16–21.
5. De Vis R.M.J., Van Lenteren J.C. Biological control of *Trialeurodes vaporariorum* by *Encarsia formosa* on tomato in unheated greenhouses in the high altitude tropics // Bul. Insectol. 2008. V. 61. P. 43–57.
6. Liu T.-X., Stansly P.A., Gerling D. Whitefly parasitoids: distribution, life history, bionomics, and utilization // Annu Rev. Entomol. 2015. V. 60. P. 1–15.
7. Чалков А.А. Биологическая борьба с вредителями овощных культур защищенного грунта. М.: Россельхозиздат, 1986. 94 с.
8. Hoddle M., van Driesche R., Sanderson J. Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia Formosa* // Annu Rev. Entomol. 1998. V. 43. P. 645–669.
9. Hall R.A. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales // Microbial control of pests and plant diseases 1970–1980. London: Academic Press, 1981. P. 483–498.
10. Goettel M.S., Koike M., Kim J.J., Aiuchi D., Shinya R., Brodeur J. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases // J. Invertebr. Pathol. 2008. V. 98. P. 25.
11. Faria M.R., Wraight S.P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types // Biol. Control. 2007. V. 43. № 3. P. 237–256.
12. Ren S.X., Ali S., Huang Z., Wu J.H. *Lecanicillium muscarium* as microbial insecticide against whitefly and its interaction with other natural enemies // Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. 2010. V. 1. P. 339–348.

13. Reddy S.G.E. *Lecanicillium* spp. for the management of aphids, whiteflies, thrips, scales and mealy bugs // *Arthropods-Are They Beneficial for Mankind?* 2020. IntechOpen, 20 p.
14. Roy H.E., Pell J.K. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control // *Biocontrol Sci. Tech.* 2000. V. 10. P. 737–752.
15. Fransen J.J., van Lenteren J.C. Host selection and survival of the parasitoid *Encarsia formosa* after treatment of parasitized greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, in the presence of hosts infected with the fungus *Ashersonia alyerodis* // *Entomol. Exp. Appl.* 1993. V. 69. P. 239–249.
16. Oreste M., Bubici G., Polisenio M., Tarasco E. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the *Trialeurodes vaporariorum* – *Encarsia formosa* system // *J. Pest. Sci.* 2016. V. 89. P. 153–160.
17. Pazyuk I.M., Chogloкова A.A., Mitina G.V. Effect of entomopathogenic fungi of the genus *Lecanicillium* on behavioral reactions and average per-day fecundity of the predatory bug *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera, Anthocoridae) // *BIO Web of Conf.* 2022. V. 43. 02003.
18. Митина Г.В., Степанычева Е.А., Чоглокова А.А. Влияние энтомопатогенных грибов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* на поведенческие реакции и жизнеспособность оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* // *Вестн. защиты раст.* 2020. Т. 103. № 4. С. 265–268.
19. Митина Г.В., Степанычева Е.А., Чоглокова А.А., Черепанова М.А. Сравнительные реакции сосущих фитофагов на летучие вещества спор энтомопатогенных грибов // *Защита раст. от вредных организмов. Мат-лы X Международ. научн.-практ. конф., посвящ. 100-летию КубанГАУ. Краснодар, 2021. С. 239–241.*
20. Закладной Г.А. *Защита зерна и продуктов его переработки от вредителей.* М.: Колос, 1983. 215 с.
21. Pascual-Villalobos M.J., Robledo A. Screening for anti-insect activity in mediterranean plants // *Ind. Crops Prod.* 1998. V. 8. P. 183–194.
22. Kanmiya K. Mating behaviour and vibratory signals in whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) // *Insect Sounds and Communication* / Eds. Drosopoulos S., Claridge M.F. Taylor & Francis, 2006. P. 365–379.
23. Fattoruso V., Anfora G., Mazzoni V. Vibrational communication and mating behavior of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae) // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 1–11.
24. Berardo A., Fattoruso V., Mazzoni V., Pugno N.M. Coupling computational vibrational models and experimental biotremology to develop a green pest control strategy against the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* // *J. R. Soc. Interface.* 2022. V. 19. № 195. 20220311.
25. Nyasemba V.O., Teal E.A.P., Mukabana W.R., Tumlinson J.H., Torto B. Behavioural response of the malaria vector *Anopheles gambiae* to host plant volatiles and synthetic blends // *Parasites Vectors.* 2012. V. 5. P. 234.
26. Deletre E., Schatz B., Bourguet D., Changre F., Williams L., Ratnadass A., Martin T. Prospects for repellent in pest control: current developments and future challenges // *Chemoecology.* 2016. V. 26. P. 127–142.
27. Webster B. The role of olfaction in aphid host location // *Physiol. Entomol.* 2012. V. 37. P. 10–18.
28. Diabate S., Deletre E., Murungi L.K., Fiaboe K.K., Subramanian S., Wesonga J., Martin T. Behavioural responses of bean flower thrips (*Megalurothrips sjostedti*) to vegetative and floral volatiles from different cowpea cultivars // *Chemoecology.* 2019. V. 29. № 2. P. 73–88.
29. Fazeli-Dinan M., Talaei-Hassanloui R., Allahyari H. Host preference of *Encarsia formosa* (Hym.: Aphelinidae) towards untreated and *Lecanicillium longisporum*-treated *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyrodidae) // *J. Asia-Pacific Entomol.* 2016. V. 19. № 4. P. 1145–1150.
30. Fazeli-Dinan M., Talaei-Hassanloui R., Goettel M. Virulence of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium longisporum* against the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and its parasitoid *Encarsia formosa* // *Inter. J. Pest. Manag.* 2016. V. 62. № 3. P. 251–260.
31. Baverstock J., Alderson P.G., Pell J.K. Influence of the aphid pathogen *Pandora neoaphidis* on the foraging behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* // *Ecol. Entomol.* 2005. V. 30. № 6. P. 665–672.
32. Кузьмин А.Г., Титов Ю.А., Митина Г.В., Чоглокова А.А. Масс-спектрометрические исследования состава летучих органических соединений, выделяемых различными видами грибов рода *Lecanicillium* // *Науч. приборостроение.* 2021. Т. 31. № 4. С. 71–78.
33. Митина Г.В., Степанычева Е.А., Чоглокова А.А., Черепанова М. А. Влияние летучих органических соединений энтомопатогенных грибов рода *Lecanicillium* и их компонента, уксусной кислоты, на поведение самок западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae) // *Энтомол. обозр-е.* 2023. Т. 102. № 2. С. 249–259.

Olfactory Responses of the Greenhouse Whitefly *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and Its Parasitoid *Encarsia formosa* Gahan to Volatile Compounds of Entomopathogenic Fungi of the Genus *Lecanicillium*

G. V. Mitina^{a, #}, O. S. Kirillova^a, A. A. Chogloкова^a, M. A. Cherepanova^a

^aAll-Russian Institute of Plant Protection,
Shosse Podbel'skogo 3, St. Petersburg—Pushkin 196608, Russia

[#]E-mail: galmit@rambler.ru

To assess the prospects for the joint use of entomopathogenic fungi (EPF) and entomophages in plant protection from greenhouse whitefly, the influence of volatile organic compounds (VOCs) of fungi on the behavior of the phytophage and its parasitoid encarsia in 2 types of olfactometers was studied. In the Y-shaped olfactometer, it was revealed that 3 out of 9 EPF strains had a significant effect on the behavior of the imago phytophagus. The mycelium of the VI 72 strain of the *L. muscarium* species showed an attractive effect (AE = +16), and for the VI 61 strain of the same species and the Vit 71 strain of the *L. attenuatum* has been found to have a repellent effect against the pest (AE = –28 and –20, respectively). Experiments in two-chamber olfactometers, where *T. vaporariorum* was tested not individually, but in groups (15 individuals each), showed that all the studied strains did not affect the reactions of the phytophage. The activity of VOCs fungi against encarsia was less pronounced compared to whitefly. In the Y-shaped olfactometer, it was shown that only Vit 71 (*L. attenuatum*) showed an attractive effect, the remaining strains did not cause reactions in the parasitoid or showed a tendency to attract it.

Keywords: behavioral reactions, volatile organic compounds, entomopathogenic fungi, *Lecanicillium*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Encarsia formosa*.

УДК 632.954:633.34:632.5

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОГО СВЯЗЫВАНИЯ ЦИКЛОКСИДИМА С АЦЕТИЛ-КоА КАРБОКСИЛАЗОЙ КУЛЬТУРНОЙ СОИ И СОРНЫХ РАСТЕНИЙ

© 2024 г. П. Д. Тимкин¹, А. А. Иваний¹, М. П. Михайлова¹, У. Е. Штабная¹,
А. Е. Гретченко¹, Ю. О. Серебренникова¹, А. А. Пензин^{1,*}

¹Федеральный научный центр “Всероссийский научно-исследовательский институт сои”
675028 Благовещенск Амурская обл., Игнатьевское шоссе, 19, Россия

*E-mail: penzin9898@mail.ru

Ацетил-КоА карбоксилаза (АСС) — один из главных ферментов, выполняющих регуляторную роль в биосинтезе жирных кислот в растениях. Циклоксим — один из гербицидов, являющийся ингибитором данного фермента. Некоторые сорные злаковые растения, такие как ежовник обыкновенный (*Echinochloa crus-galli* L.) и мятлик однолетний (*Poa annua* L.), обладают устойчивостью к циклоксиму. Другие виды злаковых сорняков — росичка кроваво-красная (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) и щетинник зеленый (*Setaria viridis* (L.) P. Beauv.), напротив, подвержены воздействию гербицида. Молекулярные механизмы, лежащие в основе резистентности к АСС являются малоизученными. Объяснение механизма устойчивости, вероятно, лежит в структуре АСС у разных видов. Использование методов биоинформатики поможет понять механизмы адаптации, исходя из молекулярных свойств фермента, что поспособствует созданию новых гербицидов. Целью данной работы было изучение особенности связывания циклоксидима с ферментом АСС для каждого из этих видов сорных растений, включая сою (*Glycine max* (L.) Merr.). Для сорных растений *E. crus-galli* и *P. annua* выявлено от 6 до 7 возможных комплексов с разным положением лиганда по отношению к рецептору, что потенциально может объяснить механизм устойчивости. При этом определена низкая энергия связывания для комплекса циклоксидима с *G. max* (до -7.31 ккал/моль), что демонстрирует наличие у культуры иных механизмов устойчивости.

Ключевые слова: ацетил-КоА карбоксилаза (АСС), циклоксим, молекулярный докинг, биоинформатика, соя *Glycine max* (L.) Merr.

DOI: 10.31857/S0002188124100065, **EDN:** ANQIVC

ВВЕДЕНИЕ

Ацетил-КоА карбоксилаза (АСС, EC6.4.1.2) представляет собой фермент, который выполняет регуляторную роль в биосинтезе жирных кислот и обнаружен в большинстве организмов, включая бактерии, грибы, растения, а также животных. АСС продуцирует малонил-КоА из бикарбоната, используемого в качестве источника карбоксильной группы, и аденозинтрифосфата (АТФ), который служит источником энергии [1].

Фермент ацетил-КоА карбоксилаза рассматривается как удобная мишень для гербицидов. Как сообщает база данных “The International Survey of Herbicide Resistant Weeds”, в природе встречаются сорные растения, имеющие устойчивость к циклоксиму, и они также могут быть не чувствительными к другим гербицидам группы 1. Гербициды данной

группы блокируют превращение ацетил-КоА в малонил-КоА путем ингибирования активности фермента АСС. Ингибирование синтеза жирных кислот нарушает выработку фосфолипидов, используемых для построения клеточных мембран [2]. При ингибировании АСС растение становится обесцвеченным и в конечном итоге подвергается некрозу и гибели [3].

Циклоксим является ингибитором ацетил-КоА карбоксилазы и синтеза жирных кислот. Известно, что циклогександионовые гербициды биологически активны в очень низких концентрациях [4].

Согласно литературным источникам, циклоксим токсичен для таких злаковых сорняков, как *S. viridis*, *E. crus-galli*, *P. annua*, *D. sanguinalis* [5–9]. Представленные сорные растения эндемичны для Дальнего Востока и Амурской обл., в частности на полях с соей, где они наносят экономический ущерб сельскому хозяйству [10].

В предыдущих исследованиях с применением метода молекулярного докинга использовали экспериментальную трехмерную структуру АСС *Saccharomyces cerevisiae* и циклоксидима в форматах pdb [11]. За неимением структур АСС сои и нативных структур карбоксилазы других растений в предыдущей работе, точность результатов, полученных методом молекулярного докинга могла быть серьезно снижена. Создание и публикация AlphaFold и AlphaFold2 в свободный доступ дала возможность решить эту проблему [12]. Данная программа является самым современным инструментом, осуществляющим фолдинг белка (укладку белка, или процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи в уникальную нативную структуру) по первичной последовательности аминокислот. Использование белков, смоделированных в AlphaFold, сохраняет объективность исследования и повышает точность результатов в поставленном вопросе, поскольку в таком случае задействуются нативные аминокислотные последовательности белков.

Цель работы — изучение особенностей молекулярного взаимодействия циклоксидима с его мишенью у культурной сои и различных сорных растений, произрастающих в Амурской обл.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для понимания особенностей молекулярного взаимодействия лиганда с его мишенью было проведено моделирование АСС сои и злаковых сорняков. Информация о трехмерной структуре АСС была взята из базы данных UniProt (<https://www.uniprot.org/>) в pdb-формате (protein data bank). Полученные трехмерные модели представляют собой результат прогноза нейронной сети на платформе Google Collab AlphaFold 2.0 [13]. Информация о структуре циклоксидима была взята из базы данных PubChem в sdf-формате. Прогноз молекулярных полостей ферментов происходил с использованием сервиса PrankWeb [14–16].

Полученные в PrankWeb координаты использовали в дальнейшем для корректного наложения gridbox (пространственной сетки, в которой происходит

симуляция). Все мишени проходили стадию подготовки в программном обеспечении AutoDock 4.2 [17]. Молекулярный докинг (вычислительный метод предсказания взаимного положения, ориентации и конформаций 2-х молекул, образующих супрамолекулярный комплекс) проводили по стандартной процедуре. Затем импортировали лиганд (циклоксидим) в pdbqt-формате, полученный с использованием локального конвертера Open Babel из sdf-формата [18]. На лиганд был наложен заряд Гастейгера. Затем происходило центрование gridbox по координатам полостей, полученных в PrankWeb. Размер граней gridbox был равен 40×40×40 и представлял из себя куб. Длина граней составляла 0.375 Å. Полученные результаты молекулярного моделирования в дальнейшем визуализировали в Discovery Studio [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех белках были определены молекулярные полости и их координаты в трехмерном пространстве (табл. 1).

Точность спрогнозированных молекулярных карманов составила 0.7 (*E. crus-galli*), 1.2 (*P. annua*), 3.0 (*S. viridis*), 4.1 (*D. sanguinalis*) и 19.2 (*G. max*). Количество аминокислотных остатков, участвующих в образовании активного центра, варьировались от 5 (*P. annua*) до 12 (*G. max*). Для *E. crus-galli* число аминокислот, образующих молекулярную полость, равнялось 7, для *S. viridis* — 8 и *D. sanguinalis* — 10.

Моделирование молекулярного взаимодействия между ортологами АСС и циклоксидимом показало образование множества успешных комплексов с различной энергией связывания (табл. 2).

Оценка связывания циклоксидима с АСС позволила провести подсчет всех комбинаций аминокислотных остатков, принимающих участие в связывании белка с лигандом, что важно для понимания особенностей работы фермента и поиска критически важных аминокислот (табл. 3).

При визуализации полученных комплексов удалось отследить изменения в положениях лиганда относительно белка-мишени (рис. 1).

Таблица 1. Координаты центра лиганд-связывающего сайта

ID UniProtKB, вид сорняка	Координаты центра полости лиганд-связывающего сайта		
	x_cent	y_cent	z_cent
ID: A0A835B2W3, <i>D. sanguinalis</i>	−2.5844	1.7126	6.5734
ID: E5LBD5, <i>E. crus-galli</i>	−9.3405	−2.7	0.6966
ID: P31531, <i>G. max</i>	0.0148	1.5562	−9.0593
ID: Q3V4F2, <i>P. annua</i>	−8.1163	5.1251	−3.8386
ID: A0A4U6SY93, <i>S. viridis</i>	−4.0009	−0.8368	5.2461

Таблица 2. Энергия связывания АСС с циклоксидимом для каждой конформации

ID UniProtKB, вид сорняка	Ранг конформации	Минимальная энергия связывания, ккал/моль)
ID: A0A835B2W3, <i>D. sanguinalis</i>	1	–6.79
	2	–6.59
	3	–6.15
ID: E5LBD5, <i>E. crus-galli</i>	1	–6.08
	2	–6.01
	3	–5.65
	4	–5.62
	5	–5.52
	6	–5.09
ID: P31531, <i>G. max</i>	1	–7.31
	2	–7.00
	3	–6.52
ID: Q3V4F2, <i>P. annua</i>	1	–4.25
	2	–4.17
	3	–3.95
	4	–3.75
	5	–3.60
	6	–3.35
	7	–3.17
ID: A0A4U6SY93, <i>S. viridis</i>	1	–6.89
	2	–6.40
	3	–5.85
	4	–5.74
	5	–5.58

Таблица 3. Комбинации аминокислотных остатков, участвующих в связывании фермента с циклоксидимом

<i>D. sanguinalis</i>	<i>E. crus-galli</i> *	<i>G. max</i>	<i>P. annua</i> *	<i>S. viridis</i>
Ala108, Tyr109, Arg112, Ile125, Leu127, Leu148, Ile153, Val159	Tyr86, Tyr90, Leu96, Arg112, Leu113, Ile115, Asn157, Ile159, Ile174, Trp243, Thr300, Ala303, Gln304, Leu307	Ala108, Tyr109, Arg112, Leu127, Leu133, Tyr142, Leu148, Ile153, Met154, Val159	Tyr90, Arg112, Leu113, Ile115, Asn157, Ile159, Trp243, Thr300, Ala303, Gln304, Leu307	Ala108, Tyr109, Arg112, Leu113, Ile125, Ile126, Leu127, Leu148, Ile153, Met154, Val159

* Для данных видов был слишком большой разброс в положении лиганд-связывающих аминокислотных остатков.

При приближении комплекса в трехмерной проекции, можно заметить лиганд, находящийся в молекулярной полости вместе с водородными связями, принимающих непосредственное участие в связывании (рис. 2).

Также были получены двухмерные изображения с интеракцией водородных и координационных связей

между циклоксидимом и аминокислотными остатками, участвующими в связывании лиганда (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, найденные молекулярные полости были сопоставимы друг с другом по своей

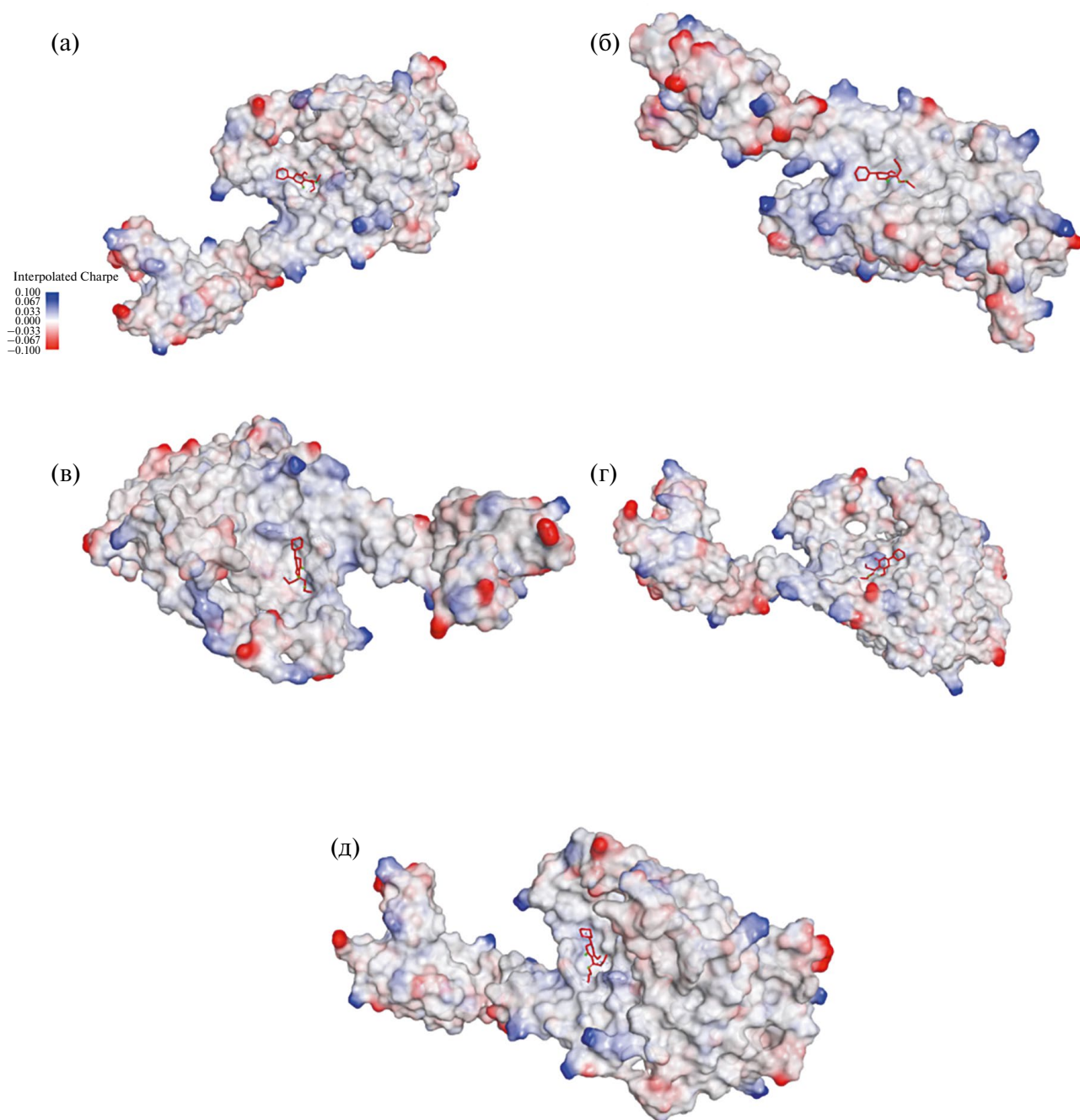


Рис. 1. Визуализация комплексов АСС с циклоксидимом для: (а) — *D. sanguinalis*, (б) — *E. crus-galli*, (в) — *G. max*, (г) — *P. annua*, (д) — *S. viridis*.

топологии и взаиморасположению, что объясняется высоким уровнем гомологии фермента. Этот феномен позволяет осуществлять объективное сравнение представленных комплексов. Количество конформаций белков у каждого вида значительно разнилось между собой. Значимым для дальнейших исследований является то, что комплексы *G. max* имели 3 конформации, в том числе с наименьшей минимальной энергией связывания, равной -7.31 ккал/моль, что

указывало на образование стабильного комплекса. Несмотря на это культурная соя обладает устойчивостью к циклоксидиму по отношению к злаковым сорнякам в полевых условиях. У *P. annua* выявлено до 7-ми различных комплексов с самым высоким показателем энергии связывания до -4.25 ккал/моль, большое количество конформаций и разброс в позициях аминокислот демонстрируют нестабильное взаимодействие циклоксидима с ферментом,

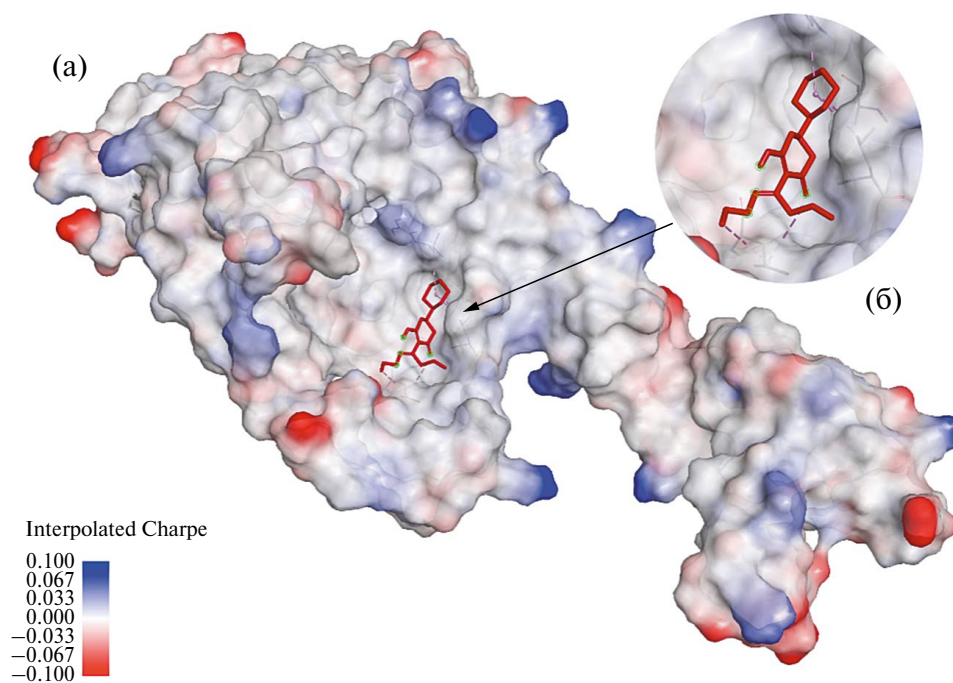


Рис. 2. Визуализация АСС в комплексе с циклоксидимом для *D. sanguinalis*: (а) – в полном масштабе, (б) – увеличение.

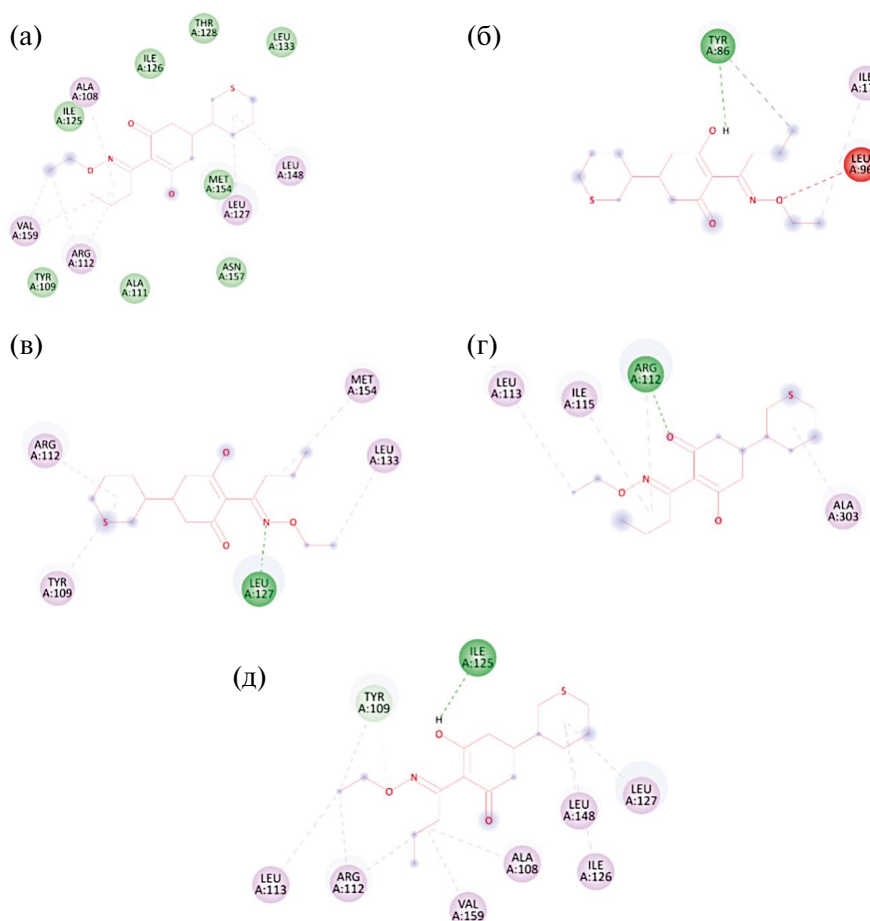


Рис. 3. Визуализация АСС с циклоксидимом в двухмерной проекции для: (а) – *D. sanguinalis*, (б) – *E. crus-galli*, (в) – *G. max*, (г) – *P. annua*, (д) – *S. viridis*.

что, видимо, позволяет *P. annua*. иметь устойчивость к ингибиторам ацетил-КоА карбоксилазы подобного типа. Касательно остальных форм АСС найдено аналогичное повторение аминокислотных остатков, за исключением *E. crus-galli*, где также можно было наблюдать большое количество конформаций и разброс по положениям, что компенсировалось низкой энергией связывания: это дает возможность образовывать более стабильные связи с лигандом. Полученные данные молекулярного докинга представляют собой более релевантный результат и отличаются от предыдущих результатов использованием информации о трехмерной структуре нативных белков, а не моделей, основанных на структуре белка других организмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Burke I.C., Bell J.L. Plant health management: Herbicides, Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. 2014. P. 425–440. DOI: 10.1016/b978-0-444-52512-3.00181-9
2. Jursík M., Hamouzová K., Hajšlová J. Dynamics of the degradation of acetyl-CoA carboxylase herbicides in vegetables // Foods. 2021. V. 10(2). P. 405. DOI: 10.3390/foods10020405
3. Ye F. Herbicidal activity and molecular docking study of novel ACCase inhibitors // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. DOI: 10.3389/fpls.2018.01850
4. Rosculete C. Determination of the environmental pollution potential of some herbicides by the assessment of cytotoxic and genotoxic effects on *Allium cepa* // Inter. J. Environ. Res. Public Health. 2018. V. 16(1). P. 75. DOI: 10.3390/ijerph16010075
5. De Prado R., Osuna M.D., Fischer A.J. Resistance to accase inhibitor herbicides in a green foxtail (*Setaria viridis*) biotype in Europe // Weed Sci. 2004. V. 52(4). P. 506–512. DOI: 10.1614/ws-03-097r
6. Claerhout S., Reheul D., De Cauwer B. Sensitivity of *Echinochloa crus-galli* populations to maize herbicides: A comparison between cropping systems // Weed Res. 2015. V. 55(5). P. 470–481. DOI: 10.1111/wre.12160
7. Grichar W.J. Control of Texas panicum (*Panicum texanum*) and southern crabgrass (*Digitaria ciliaris*) in peanuts (*Arachis hypogaea*) with postemergence herbicides // Peanut Sci. 1991. V. 18(1). P. 6–9. DOI: 10.3146/i0095-3679-18-1-3
8. Barua R., Boutsalis P., Kleemann S., Malone J., Gill G., Preston C. Alternative herbicides for controlling herbicide-resistant annual bluegrass (*Poa annua* L.) in Turf // Agronomy. 2021. V. 11. P. 2148. DOI: 10.3390/agronomy11112148
9. Clay D.V., Dixon F.L., Willoughby I. Efficacy of graminicides on grass weed species of Forestry // Crop Protect. 2006. V. 25(9). P. 1039–1050. DOI: 10.1016/j.cropro.2006.01.015
10. Захарова Е.Б., Немыкин А.А. Сорные растения Амурской области и меры борьбы с ними. Изд. 2-е, испр. и доп. Благовещенск: Дальневост. ГАУ, 2015. 153 с.
11. Ye F. Herbicidal activity and molecular docking study of novel ACCase inhibitors // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. DOI: 10.3389/fpls.2018.01850
12. Jumper J., Evans R., Pritzel A. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold // Nature. 2021. V. 596. P. 583–589. DOI: 10.1038/s41586-021-03819-2
13. Mirdita M., Schütze K., Moriwaki Y., Heo L., Ovchinnikov S., Steinegger M. ColabFold: Making protein folding accessible to all // Nature Methods. 2022.
14. Jakubec D., Škoda P., Krivák R., Novotný M., Hoksza D. PrankWeb 3: accelerated ligand-binding site predictions for experimental and modelled protein structures // Nucl. Acid. Res. 2022. № 5.
15. Jendele L., Krivák R., Škoda P., Novotný M., Hoksza D. PrankWeb: a web server for ligand binding site prediction and visualization // Nucl. Acid. Res. 2019. № 5.
16. Krivák R., Hoksza D. P2Rank: machine learning based tool for rapid and accurate prediction of ligand binding sites from protein structure // J. Cheminform. 2018 № 10(1). P. 39.
17. Scripps Research. AutoDock. 2014. Available from: <https://ccsb.scripps.edu/autodock/>
18. O'Boyle N.M., Banck M., James C.A. et al. Open Babel: An open chemical toolbox // J. Cheminform. 2011. V. 3. P. 33. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33
19. BIOVIA, DassaultSystèmes, [Discovery studio], [ver. 4.5]. San Diego: Dassault Systèmes, 2021.

Molecular Binding of Cycloxydim to Acetyl-CoA Carboxylase in Cultivated Soybeans and Weed Plants

P. D. Timkin^a, A. A. Ivaniy^a, M. P. Mikhaylova^a, U. E. Shtabnaya^a, A. E. Gretchenko^a,
Yu. O. Serebrennikova^a, A. A. Penzin^{a, #}

^aFederal Scientific Center All-Russian Scientific Research Institute of Soybean,
Ignatievskoye shosse 19, Amur region, Blagoveshchensk 675028, Russia

[#]E-mail: penzin9898@mail.ru

Acetyl-CoA carboxylase (ACC) is one of the main enzymes that play a regulatory role in the biosynthesis of fatty acids in plants. Cycloxydim is one of the herbicides that is an inhibitor of this enzyme. Some weedy cereal plants, such as common hedgehog (*Echinochloa crus-galli* L.) and annual bluegrass (*Poa annua* L.), are resistant to cycloxydim. Other types of grass weeds – blood-red dewdrop (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) and green bristle (*Setaria viridis* (L.) P. Beauv.), on the contrary, are susceptible to the herbicide. The molecular mechanisms underlying ACC resistance are poorly understood. The explanation of the mechanism of resistance probably lies in the structure of ACC in different species. The use of bioinformatics methods will help to understand the mechanisms of adaptation based on the molecular properties of the enzyme, which will contribute to the creation of new herbicides. The purpose of this work was to study the specifics of the binding of cycloxydim to the ACC enzyme for each of these weed species, including soy (*Glycine max* (L.) Merr.). For weeds *E. crus-galli* and *P. annua* revealed from 6 to 7 possible complexes with different ligand positions relative to the receptor, which could potentially explain the mechanism of resistance. At the same time, a low binding energy was determined for the cycloxydim complex with *G. max* (up to -7.31 kcal/mol), which demonstrates the presence of other resistance mechanisms in the culture.

Keywords: acetyl-CoA carboxylase (ACC), cycloxydim, molecular docking, bioinformatics, soy *Glycine max* (L.) Merr.

ПОЧВЕННАЯ И ЛИСТОВАЯ ДИАГНОСТИКА СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ РАЗНЫХ СОРТОВ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОТИПОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.)

© 2024 г. Т. Г. Голова^{1*}, Л. А. Ершова¹, С. А. Кузьменко¹

¹Воронежский федеральный аграрный научный центр им. В.В. Докучаева

397463 Воронежская обл., Таловский р-н, пос. 2-го участка Института им. Докучаева, квартал 5, 81, Россия

*E-mail: niish1c@mail.ru

Исследовали возможность более раннего и точного прогноза накопления белка в зерне разных сортов ярового ячменя степного и западно-европейского экотипов. Опыты провели в центральной части Воронежской обл. в НИИСХ ЦЧП “Каменная степь” в 2019–2021 гг. В основном положительная и высокая корреляция выявлена между содержанием азота в почве и элементами продуктивности, что позволило судить о важности минерального питания для формирования зерновой продуктивности ячменя. В посевах сортов ячменя без применения удобрений во всех фазах развития растений продукционный процесс в зависимости от содержания азота в почве был интенсивнее, чем в вариантах с применением удобрений. С применением удобрений напряженность продукционного процесса снижалась на 5.5% в кушение и на 25.0% – в фазе колошения. Отмечена довольно тесная положительная корреляция показателей длины стебля ($r = 0.66–0.68$), продуктивного стеблестоя ($r = 0.52–0.59$) и урожайности ($r = 0.78–0.79$) с содержанием в почве азота от фазы кушения и до молочной спелости как в удобренных, так и в удобренных вариантах. Выявлена положительная корреляция содержания азота в листьях с массой 1000 зерен: $r = 0.60, 0.50–0.70$ соответственно в вариантах опыта. В обеспеченном влагой 2021 г. показатель содержания азота в листьях в удобренном варианте составил 30.8% у степных образцов и 11.8% – у западных по сравнению с контролем. Эффективность удобрений в условиях засушливого 2019 г. была снижена до 7.1–8.1%. В среднем по годам при анализе показателей листовой диагностики, эффективность применения удобрений у степных сортов составляла в фазах кушения, колошения, молочной спелости 20.3, 21.1 и 8.9%, у западных сортов была значительно меньше – 10.4, 11.4 и 6.1%. Максимальный эффект от применения удобрений для показателя массы зерна с 1 м² был получен в засушливом 2019 г.: 27.0 и 34.7% соответственно в зависимости от группы сортов (степной и западной). Показатели содержания в зерне белка и его стекловидности степных сортов достоверно превышали показатели западных сортов по годам и вариантам опыта. Показано, что применение минеральных удобрений в дозе N60P60K60 при посеве в засушливых условиях было эффективным для возделывания ячменя. Этот прием повышал урожайность, массу 1000 зерен за счет высокого накопления азота в листьях к концу вегетации, что в дальнейшем способствовало повышенному накоплению белка в зерне и его стекловидности, особенно у сортов степного происхождения.

Ключевые слова: почва, азот, сорта ячменя, различные экотипы, содержание азота в листьях, белок в зерне, урожайность.

DOI: 10.31857/S0002188124100072, **EDN:** ANOENG

ВВЕДЕНИЕ

В практике агрохимической службы для диагностики обеспеченности растений минеральными элементами питания используются две группы методов – растительная и почвенная диагностика. Наибольшие трудности для диагностики представляет оценка обеспеченности растений доступным азотом, т.к. особенности круговорота этого элемента в почве сложны и не позволяют в полной мере определить количество доступного азота для растений. Растительная

диагностика, основанная на определении содержания общего азота, обычно дает более стабильные и надежные результаты [1]. В основном опытным путем устанавливают связь между содержанием азота в почве в фазах развития растений и их отзывчивостью на применение азотных удобрений. Наиболее объективный показатель обеспеченности растений доступными элементами питания – это содержание их в листьях или других органах растений.

Улучшение обеспеченности черноземных почв минеральными элементами приводит к существенному

дифференцированному росту продуктивности сельскохозяйственных культур [2, 3]. По мере увеличения обеспеченности почв азотом роль минеральных удобрений заметно снижается [4]. Существует генетически обусловленная реакция сортов на условия произрастания, уровни минерального питания, гидротермические условия. Отмечают изменения качественного состава зерна, продуктивности ярового ячменя при изменении абиотических и ключевых факторов внешней среды [5, 6]. Для получения высоких и стабильных урожаев современные сорта должны отличаться высокой устойчивостью к неблагоприятным климатическим факторам и отзывчивостью на технологические приемы [7–9]. При этом рядом исследователей ставится вопрос о повышении способности растений использовать элементы питания из подпахотных горизонтов почвы [10].

Известно, что динамика содержания азота, фосфора и калия в растениях зерновых культур зернопарового севооборота в течение вегетации показывает снижение этих показателей от фазы кушения к фазе цветения. По данным [11] также показано, что наиболее высокая концентрация элементов питания характерна для начала вегетации растений. В фазе колошения у ячменя независимо от фона удобрения отмечено снижение содержания элементов минерального питания в вегетативной массе: азота – на 29, фосфора – на 21 и калия – на 38%. Темпы и характер накопления азота в вегетативной массе ячменя имеют свои особенности: увеличение концентрации азота идет более быстрыми темпами по сравнению с ростом биомассы, в период формирования элементов продуктивности содержание азота снижается за счет оттока в репродуктивные органы. Ряд исследователей отмечали, что между концентрацией азота в листьях ярового ячменя в фазе трубкования и урожаем зерна существует тесная связь [12, 13].

В каждом конкретном исследовании формирования урожайности и качества зерна необходимо учитывать гидротермические условия вегетации в фазах развития растений ячменя. Известно, что одним из основных факторов, влияющих на формирование их величины и вариабельности по годам, являются, наряду с уровнем минерального питания, и гидротермические условия периода вегетации [14]. Отмечено, что максимально тесно с гидротермическими условиями, складывающимися в вегетативный (посев–колошение) и генеративный (колошение–спелость) периоды, связаны также показатели качества зерна [15]. В условиях Каменной степи особенно остро недостаток влаги, по многолетним наблюдениям, ощущается в генеративной фазе развития растений. Снижение увлажненности почвенного профиля приводит к уменьшению активности почвенной микрофлоры, особенно бактерий, отвечающих за азотный фонд почвы. Резко уменьшается количество нитрифицирующих бактерий, вследствие чего

существенно снижается обеспеченность черноземов нитратной формой азота [16].

В данном исследовании применили элементы почвенной и растительной диагностики, основанной на количественном содержании азота в почве и листьях в процессе онтогенеза, от которого зависит величина последующего накопления в зерновке белковых веществ и продуктивность сортов ярового ячменя. Цель работы – поиск возможности более раннего и точного прогноза накопления белка в зерне разных сортов ярового ячменя степного и западно-европейского происхождения с учетом того, что западно-европейские сорта, как правило, характеризуются высокими пивоваренными показателями, а степные – повышенными кормовыми достоинствами. Основным критерием, определяющим направление использования зерна ячменя (пивоваренное или кормовое), является соответственно низкое (10.0–12.0%) или высокое (>12.0%) содержание в зерне белка.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение сортов проведено в центральной части Воронежской обл. (НИИСХ ЦЧП, Каменная степь) в 2019–2021 гг. Почва селекционного севооборота представлена черноземом миграционно-мицелярным (типичным) среднемощным среднегумусным. Содержание гумуса 6.4–6.8%, реакция среды нейтральная (pH_{KCl} в пределах 6.5–6.8 ед.), гидролитическая кислотность $H_T = 1.2–1.5$ ммоль экв/100 г. Содержание общих форм азота – 0.31, фосфора – 0.118 и калия – 1.73%. Изучали 2 группы сортов – степного и западно-европейского происхождения. Сорта ячменя выращивали после предшественника горох на зерно в вариантах без удобрений и с применением сложного удобрения N60P60K60 при посеве (нитрофоска : NPK = 16 : 16 : 16). Удобрения вносили совместно с посевом семян путем предварительного смешивания на делянки площадью 2 м². Посев производили селекционной сеялкой СУ-10, учетная площадь – 1 м² в четырехкратной повторности. Анализ почвы и листьев растений на содержание азота производили в фазах кушения, колошения и молочной спелости.

Метеорологические условия проведения опытов были разнообразными, но температурный фактор в межфазные периоды колошение–спелость однозначно менялся в сторону повышения по сравнению со среднемноголетними данными. За периоды вегетации 2019–2021 гг. превышение среднедекадных температур над многолетними показателями составило от 8.3 до 16.6% (табл. 1).

Количество осадков за период наблюдений было недостаточным в 2019 г. и составило 80.8% от среднемноголетней нормы, превышение этой величины

Таблица 1. Метеоусловия за период проведения опыта (2019–2021 гг.)

Год, показатель	Апрель		Всходы— колошение		Колошение— спелость		За весь период вегетации	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Сумма среднедекадных температур								
2019	130.8	0.60	118.8	0.57	106.1	0.84	111.8	0.71
2020	93.0	2.31	97.3	1.41	117.3	0.73	108.3	0.90
2021	120.7	0.99	79.9	1.63	125.6	0.74	116.6	0.94
Средне- многолетний, °С	22.7	1.49	62.3	1.00	77.0	0.98		0.99
Количество выпавших осадков								
2019	53.2		67.8		91.5		80.8	
2020	146.5		111.0		88.0		98.4	
2021	80.0		130.4		95.9		111.5	
Средне- многолетний, мм	34.0		62.5		75.6			

Примечание. В графе 1 – % от среднемноголетнего (2001–2021 гг.), 2 – ГТК (гидротермический коэффициент по Селянину, 1987 г.).

на 11.5% отмечено в 2021 г. Период колошение—спелость был жарким и сухим во все годы: ГТК составил от 0.73 до 0.84. В целом следует охарактеризовать 2019 г. как сухой с повышенными температурами в течение всего периода вегетации. В 2020–2021 гг. до колошения складывались оптимальные условия для развития ячменя при комфортных температурах и повышенной влагообеспеченности. В 2021 г. обильные ливни спровоцировали полегание посевов ячменя, однако дальнейший период до спелости в оба года сложился максимально жестко: ГТК составил 0.73 и 0.74 соответственно. Таким образом, метеоусловия вегетационных периодов развития ячменя за 2019–2021 гг. были разнообразными в условиях центральной части Воронежской обл.

Полученные данные обработаны методами математической статистики. Определение доступного азота проводили в верхнем пахотном слое 0–20 см почвы, где располагалась основная масса вторичных узловых корней, посредством которых происходило потребление внесенных под посев минеральных элементов. Метод определения нитратного азота в почве – сульфифеноловый со спектрофотометрическим окончанием, содержание общего азота (% к сухому веществу) в листьях и зерне определяли по Кьельдалю (ГОСТ 34789–2021).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По годам содержание нитратного азота в пахотном горизонте почвы как в удобренном варианте, так и без внесения удобрений варьировало в значительной степени. Наиболее низкие показатели отмечены в условиях недостаточного увлажнения в кушение и молочную спелость в 2019 г.: гидротермический

коэффициент составлял в периоды вегетации от 0.57 до 0.84, поэтому переход питательных веществ из сухой почвы в растения был затруднен, однако в начале вегетации ячменя сильно кустящиеся западные формы смогли вынести больше азота. Общее содержание этого элемента в почве под западными сортами в среднем по годам было меньше, чем под степными: 9.6–9.7 против 11.1–13.4 мг/кг почвы (табл. 2).

В условиях достаточно увлажненных периодов начала вегетации в 2020 и 2021 годах при активизации процессов нитрификации отмечалось более высокое содержание азота под сортами ячменя. Избыточное увлажнение почвы в апреле 2020 года и последующий оптимальный температурный режим позволили растениям продлить интенсивный вынос питательных веществ до колошения. К этой фазе под растениями отмечалось минимальное количество азота: 7.8–9.1 мг/кг под степными сортами и 8.4–9.6 мг/кг под западными. Достаточное увлажнение почвы в 2021 году, но пониженные температуры воздуха до фазы колошения снизили потребление азота по сравнению с 2020 годом.

Более наглядно на рис. 1 показана динамика содержания нитратного азота в почве в периоды онтогенеза в разные по влагообеспеченности и температурному фону годы.

Различия в особенностях обеспеченности нитратным азотом пахотного слоя под разными экотипами ярового ячменя имели свои закономерности. В среднем за годы опыта наблюдали более высокое содержание нитратного азота в почве под сортами степного происхождения: от 11.7 до 16.6 мг/кг почвы. Использование элементов питания из верхних слоев почвы у них было меньше, чем у интенсивных сортов

Таблица 2. Динамика содержания нитратного азота в почве (мг/кг) в фазах вегетации ячменя, 2019–2021 гг.

Год	Группа сорт	Кущение		Колошение		Молочная спелость		Суммарное содержание		Прибавка, % к контролю
		1	2	1	2	1	2	1	2	
2019	Степная	11.1	13.4	10.1	10.7	9.1	12.6	30.3	36.7	21.1
2020		17.3	18.8	7.8	9.1	12.5	14.1	37.6	42.0	11.7
2021		13.0	18.9	17.2	19.8	14.4	22.7	44.6	61.4	37.7
Среднее		13.8	17.0	11.7	13.2	12.0	16.6	37.5	46.7	24.5
Прибавка, %			23.1		12.8		38.3		24.5	
2019	Западная	9.6	9.7	10.4	11.0	8.3	12.2	23.3	32.9	41.2
2020		13.9	17.1	8.4	9.6	10.5	12.7	32.8	39.4	20.1
2021		14.8	18.9	16.1	17.5	16.4	16.9	47.3	53.3	12.7
Среднее		12.8	15.2	11.6	12.7	11.7	13.9	34.5	41.9	21.4
Прибавка, %			18.8		9.5		18.8		21.4	
<i>HCP</i> ₀₅										
2019		1.4	0.8	1.5	2.0	1.9	1.1	4.8	3.9	
2020		1.6	1.8	0.7	1.6	1.7	1.8	4.0	5.2	
2021		0.9	1.2	0.9	1.7	1.0	2.0	2.8	4.9	

Примечание. В графе 1 – вариант без удобрений, 2 – вариант NPK. То же в табл. 3, 5.

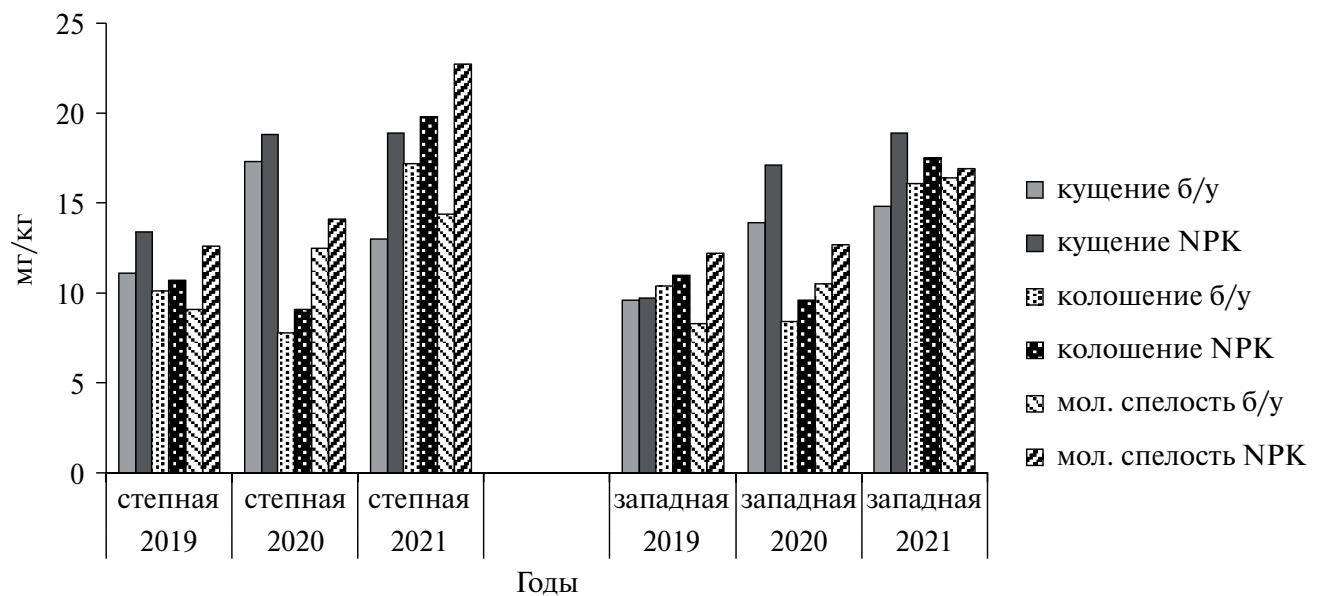


Рис. 1. Содержание азота в почве в периоды вегетации растений ярового ячменя, мг/кг.

западно-европейского происхождения. Если под сортами степного типа при внесении удобрений нитратного азота в фазах развития содержалось больше на 12.8–38.3%, то в почве под западными сортами – на 9.5–18.8%, чем в вариантах без применения удобрений. Растения ячменя степного происхождения развиваются и формируют вегетативную массу в более жестких по влагообеспеченности агроклиматических

условиях. Поэтому в силу своих биологических особенностей этот экотип имеет, как правило, более мощную и развитую первичную корневую систему и способен получать жизненно важные элементы из более глубоких почвенных горизонтов. Следует отметить, что более скороспелые степные формы к фазе молочной спелости, особенно на удобренном фоне, раньше сокращали потребление азота, чем более

позднеспелые западно-европейские сорта: у них среднее содержание азота было равно 16.6 и 13.9 мг/кг соответственно. Корневая система в верхних слоях почвы у степных форм отмирала раньше.

Ячмень западно-европейской экологической группы, наоборот, приспособлен к произрастанию и формированию биомассы в условиях с достаточным количеством почвенной влаги. Его мощная вторичная корневая система способна к поглощению и потреблению необходимых элементов из поверхностных (пахотных) слоев почвы более интенсивно и продолжительное время.

В целом за период вегетации в засушливом 2019 г. в почве под степными сортами в вариантах с применением удобрений прибавка содержания нитратного азота была почти в 2 раза меньше, чем под западными сортами: 21.1% против 41.2% соответственно. Это означает, что вынос азота у этих форм был больше. Вероятно, при использовании удобрений возможность усваивать нитратный азот в условиях засухи у степных сортов была больше, что свидетельствовало о более высокой поглотительной способности корневой системы. В условиях высокой влагообеспеченности (2021 г.) в вариантах с применением удобрений вынос азота из почвы был значительно больше у западных форм т.е. западные сорта значительно интенсивнее поглощали азот из верхних слоев почвы при оптимальном увлажнении.

Наиболее объективный показатель обеспеченности растений доступными элементами питания — это их содержание в листьях или других органах растений.

Данные нашего опыта подтвердили выводы других исследований о максимальном содержании азота в листьях ячменя разных групп сортов в фазе кушения, с последующим его снижением к колошению в вариантах без применения удобрений на 37.6 и 38.3%, к молочной спелости — на 59.9 и 65.6% соответственно (табл. 3).

В вариантах с применением N60P60K60 к периоду колошения снижение содержания азота было равнозначным (37.2–37.7%) в обеих группах сортов, к концу вегетации оно увеличивалось до 64.0 и 67.0% соответственно группе сортов.

Интерпретируя средние показатели содержания азота в листьях сортов ячменя различного происхождения, следует отметить, что без применения удобрений западно-европейские сорта накапливали больше азота, особенно в фазе кушения: 3.84 против 3.64% у степных сортов. К концу вегетации в молочной спелости в среднем содержание этого элемента у степных форм было больше (1.46 против 1.32% у западных форм), снижение произошло на 35.7 и 44.3% соответственно. В вариантах с применением удобрений, начиная с кушения и далее в фазах развития, содержание азота в листьях степных сортов относительно западных становилось больше на 0.14–0.19%. Еще более наглядной была разница в пользу степных сортов в вариантах с применением удобрений по показателю прибавки накопления азота по сравнению с неудобренным фоном. Если у степных сортов эффективность применения удобрений, по данным листовой диагностики, составляла в фазах

Таблица 3. Динамика содержания азота в листьях (%) в фазах онтогенеза (2019–2021 гг.)

Год	Группа	Кушение		Колошение		Молочная спелость		Среднее		Прибавка, %
		1	2	1	2	1	2	1	2	
2019	Степная	3.44	4.30	2.6	2.54	1.74	1.55	2.59	2.80	8.1
2020		3.75	4.45*	2.24	2.72	1.51	1.69	2.50	2.95	18.0
2021		3.74	4.39*	1.96	2.99*	1.12	1.53*	2.27	2.97*	30.8
Среднее		3.64	4.38	2.27	2.75	1.46	1.59*	2.43	2.91	19.8
Прибавка, %	Западная		20.3		21.1		8.9		19.8	
2019		3.74*	4.38	2.74*	2.70*	1.59	1.56	2.69	2.88	7.1
2020		3.87	4.20	2.36	2.63	1.46	1.71	2.56	2.85	11.3
2021		3.92*	4.15	2.01	2.58	0.91	0.93	2.28	2.55	11.8
Среднее		3.84*	4.24	2.37	2.64	1.32	1.40	2.51	2.76	10.0
Прибавка, %			10.4		11.4		6.1		10.0	
<i>HCP</i> ₀₅		0,16	0.23	0.14	0.19	0.17	0.19	0.16	0.20	

*Достоверно на 0.05%-ном уровне значимости.

кушения, колошения, молочной спелости 20.3, 21.1 и 8.9%, то у западных сортов она была значительно меньше: 10.4, 11.4 и 6.1% соответственно.

Таким образом, в вариантах без использования удобрений, несмотря на то что западные сорта поглощали больше питательных веществ из пахотного горизонта почвы и накапливали больше азота в листьях по сравнению со степными сортами, к периоду молочной спелости эти показатели снижались более резко. В целом эффективность удобрений для накопления азота в листьях была меньше в условиях засушливого 2019 г. — 7.1–8.1% у обеих групп сортов. Более высокие показатели содержания азота в листьях у западных сортов в засушливых условиях 2019 г. в периоды кушения и колошения могут быть объяснены более поздним наступлением соответствующих фаз. Степные сорта в обеспеченном влагой 2021 г. в вариантах с применением удобрений уже с ранних фаз развития имели преимущество в накоплении азота в листьях (30.8%), в итоге превышая западную группу (только 11.8%).

Анализ корреляционных связей, представленных в табл. 4, позволил косвенно подтвердить данные лабораторных анализов содержания азота в почве и листьях. В варианте без применения удобрений довольно значимые отрицательные (от средней до сильной степени) связи содержания азота в почве и листьях усиливались к фазам колошения и молочной спелости до $r = -0.67$ и -0.75 . Это свидетельствовало о том, что чем больше накапливалось азота в листьях, тем меньше оставалось под растениями в почве. Высокие коэффициенты корреляции свидетельствовали о значительной взаимосвязи выноса элемента и условий минерального питания для роста и развития растений. В варианте с применением удобрений слабая положительная взаимосвязь ($r = 0.33$ – 0.44) в фазе колошения содержания азота в листьях с содержанием его во всех фазах онтогенеза в почве свидетельствовала о снижении напряженности между влиянием этих 2-х факторов.

Анализируя данные продуктивности и качества зерна, представленные в табл. 5, отметили более высокий урожай (массу зерна/м²) и продуктивный

стеблестой, полученные в условиях достаточного увлажнения 2021 г.

Показатель массы 1000 зерен в этом году был минимальным, чему способствовало значительное полегание посевов. Показатель массы зерна с 1 м² у степных сортов в среднем по годам превышал незначительно западные сорта, достоверное превышение отмечено в 2020 г. в варианте без применения удобрений: в среднем 434 против 313 г/м² (у западных сортов). Максимальный эффект от применения удобрений был получен в засушливом 2019 г.: 27.0 и 34.7% соответственно для группы сортов — степной и западной. Отмечено незначительное превышение показателя продуктивного стеблестоя у западных сортов по сравнению со степными: 740 и 725 шт./м² — в варианте без удобрений и 837 и 820 шт./м² — при применении N60P60K60. Эффективность внесенных удобрений по этому показателю составила в среднем 13.1% у обеих групп сортов.

Показатели содержания в зерне белка и его стекловидность у степных сортов однозначно и достоверно превышали показатели западных сортов по годам. Исключением был засушливый 2019 г., когда высокое содержание белка (13.0%) отмечали у обеих групп сортов. Повышение содержания белка в удобренном варианте по сравнению с неудобренным у степных сортов составило 6.7, у западных — 5.3%. Более значительные различия между группами сортов получены по показателю стекловидности зерна. Стекловидность была достоверно больше у степных сортов за все годы изучения: на фоне без удобрений — на 20.1–35.5%, с применением удобрений — на 13.2–29.7%. В вариантах с использованием удобрений показатель снижался у обеих групп сортов; более интенсивно это происходило у западно-европейских (на 21.2%), чем у степных (на 15.1%). Показатель массы 1000 зерен был максимальным в 2020 г., когда перед посевом и далее до колошения выпало достаточное количество осадков: 48.7–48.2 г — у степных сортов, 47.3–46.1 г — у западных. Минимальная масса 1000 зерен в опыте (37.1–37.9 и 38.2–37.6 г соответственно группам) отмечена в условиях хорошей влагообеспеченности 2021 г., но ливневые дожди в период молочной спелости спровоцировали сильное

Таблица 4. Коэффициенты корреляции между показателями содержания азота в почве и листьях (2019–2021 гг.)

в листьях в фазах	Содержание азота					
	в почве в фазах			в почве в фазах		
	кушения	коло- шения	молочной спелости	кушения	коло- шения	молочной спелости
	без удобрения			N60P60K60		
Кушения	–0.46*					
Колошения	–0.46*	–0.53*	–0.67**	0.33*	0.40*	0.44*
Молочной спелости		–0.75**	–0.62**	–0.49*		–0.33*

Примечание. *, **, *** — достоверно на 0.5-, 0.1-, 0.01%-ном уровне значимости. То же в табл. 5.

Таблица 5. Продуктивность и качество зерна сортов ячменя разных экотипов

Год	Группа сортов	Масса зерна с 1 м ² , г		Содержание белка в зерне		Стекловид- ность зерна		Масса 1000 зерен, г		Продуктивный стеблестой, шт./м ²	
						%					
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
2019	Степная	238	302	11.5	13.0	52.6	43.2	45.2	46.2	671	660
2020		434	421	12.0	12.5	27.9	26.4	48.7	48.2	649	829
2021		496	554	12.6	12.8	48.5	39.8	37.1	37.9	854	971
Среднее		389	425	12.0	12.8	43.0	36.5	43.7	44.1	725	820
Прибавка, %		9.3		6.7		-15.1		0.9		13.1	
2019	Западная	213	287	11.2	13.0	17.1	13.5	46.4	46.4	640	688
2020		313	401	10.9	10.5	7.8	3.4	47.3	46.1	682	815
2021		566	552	11.8	12.1	30.4	26.6	38.2	37.6	897	1010
Среднее		364	413	11.3	11.9	18.4	14.5	44.0	43.4	740	837
Прибавка, %		13.5		5.3		-21.2		-2.0		13.1	
<i>HCP</i> ₀₅		38	31	0.34	0.31	5.2	4.5	1.8	2.0	33	46

полегание ячменя, и зерно было сформировано шуплое, с низкой массой 1000 зерен.

Важным в агрономической практике является выяснения особенностей развития продуктивных элементов растений в связи с содержанием в почве питательных веществ, прежде всего азота. Корреляционный анализ был проведен отдельно в вариантах без использования удобрений и с применением N60P60K60 при посеве (табл. 6).

В основном положительные и высокие значения коэффициентов корреляции с содержанием азота в почве позволяют судить о важности минерального питания для формирования продуктивности ячменя. Показатель общей напряженности продукционного процесса в зависимости от изучаемых показателей представляет собой сумму значимых коэффициентов корреляции в абсолютном выражении (без учета знака). В посевах сортов ячменя без применения удобрений по всем фазам развития растений напряженность была выше, чем в вариантах с применением удобрений: 3.66–4.75 с показателями содержания азота в почве, 1.46–4.44 – в листьях. С применением удобрений напряженность продукционного процесса снижается на 5.5% в кушение и на 25.0% – в фазу колошения. Отрицательные коэффициенты корреляции содержания азота в почве и массы 1000 зерен и зерна с колоса в обоих вариантах опыта в периоды колошения и молочной спелости говорят о наличии стрессовых условий вегетации обеспеченного влагой 2021 года. Обильные ливни спровоцировали полегание посевов ячменя, а последующие рекордно

высокие температуры не способствовали полноценному наливу зерна. Отмечалась довольно тесная положительная сопряженность показателей длины стебля ($r = 0.66^{**} - 0.68^{**}$), продуктивного стеблестоя ($r = 0.52^* - 0.59^{**}$) и урожайности в конечном итоге ($r = 0.78^{***} - 0.79^{***}$) с содержанием в почве азота от фазы кушения и до молочной спелости как в неудобренных, так и в удобренных вариантах. Высокие положительные коэффициенты корреляции содержания азота в почве с длиной стебля и продуктивным стеблестоем определяют оптимальную дозу вносимых удобрений, исключающих полегание посевов. Содержание в почве азота слабо положительно коррелировало с содержанием в зерне белка ($r = 0.30^* - 0.46^*$), а в колошение и со стекловидностью зерна – $r = 0.43^*$.

Не однозначные коэффициенты корреляции получены в варианте без внесения удобрений для связи содержания азота в листьях с элементами продуктивности. В период кушения взаимосвязи слабые положительные: $r = 0.31 - 0.41$, в последующих фазах развития элементов продуктивности усиливался отток питательных элементов в репродуктивную сферу, что приводило к снижению показателей содержания белка в листьях. Причем зависимость подобного рода в варианте без использования удобрений была достаточно сильной отрицательной: от $r = -0.40$ до -0.82 в период колошения и от $r = -0.36$ до -0.81 в период молочной спелости. Наиболее сильная отрицательная взаимосвязь содержания белка в листьях отмечена с урожайностью: $r = -0.81$ и -0.82 . С показателем содержания белка в зерне взаимосвязь была также

Таблица 6. Значимые коэффициенты корреляции между показателями элементов продуктивности ячменя (2019–2021 гг.)

Показатель	Содержание азота					
	в почве в фазах			в листьях в фазах		
	кущения	коло- шения	молочной спелости	кущения	коло- шения	молочной спелости
Без удобрения						
Продуктивная кустистость	0.51*	0.63**	0.47*		–0.61**	–0.77***
Длина стебля	0.66**	0.40*	0.66**	0.31*	–0.77***	–0.67**
Длина колоса		0.31*	0.39*	0.38*		
Масса зерна с колоса	0.63**	–0.46*				
Масса зерна с растения	0.61**		0.34*	0.36*	–0.41*	–0.36*
Масса 1000 зерен		–0.84***	–0.40*		0.50*	0.70**
Продуктивный стеблестой	0.45*	0.67**	0.52*		–0.62**	–0.80***
Урожай	0.50*	0.59**	0.79***	0.41*	–0.82***	–0.81***
Содержание белка	0.30*	0.42*	0.46*		–0.40*	–0.33*
Стекловидность		0.43*				
Общая напряженность	3.66	4.75	4.03	1.46	4.13	4.44
N60P60K60						
Продуктивная кустистость	0.38*	0.51*	0.54*		0.36*	
Длина стебля	0.67**	0.34*	0.68**		0.53*	
Длина колоса						
Масса зерна с колоса	0.35*	–0.58**				0.43*
Масса зерна с растения	0.53*				0.30*	
Масса 1000 зерен		–0.84***	–0.72**			0.60**
Продуктивный стеблестой	0.50*	0.50*	0.59**			–0.32*
Урожай	0.60**	0.65**	0.78***		0.39*	–0.40*
Содержание белка	–0.44*					
Стекловидность		0.38*	0.39*			
Общая напряженность	3.47	3.80	3.70	0	1.58	1.75

Ошибка коэффициентов корреляции: * при $r = 0.3–0.18$, ** при $r = 0.5–0.16$, *** при $r = 0.5–0.13$.

отрицательной, но более слабой: $r = -0.40$, -0.33 . Таким образом, чем интенсивнее был отток азота из листьев в репродуктивные органы, тем больше были показатели изученных элементов продуктивности.

В вариантах с использованием удобрений в фазе колошения эти же взаимосвязи были не высокими, но положительными: $r = 0.30–0.53$, т.е. дефицита азота в листьях для развития продуктивных элементов не выявлено. Это также подтверждено отсутствием зависимости развития хозяйственно-ценных показателей от содержания азота в листьях в фазе кущения, т.е. напряженность в продукционном процессе не отмечали. Однако в период молочной спелости содержание азота уменьшалось у сортов с высокими показателями продуктивного стеблестоя и, в конечном итоге, урожая, о чем свидетельствовали отрицательные коэффициенты корреляции: $r = -0.32$, -0.40 . Следует отметить положительные коэффициенты корреляции между содержанием азота в листьях и массой

1000 зерен, как в удобренном варианте ($r = 0.60$), так и неудобренном ($r = 0.50$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что отрицательные взаимосвязи содержания азота в почве и листьях в варианте без применения удобрений усиливались к фазам колошения и молочной спелости до $r = -0.67$, -0.75 , что свидетельствовало о том, что чем больше азота накапливалось в листьях, тем меньше оставалось под растениями в почве. Высокие коэффициенты корреляции свидетельствовали о напряженности процесса выноса элемента, т.е. о недостаточности минерального питания для развития растений. В варианте с применением удобрений слабая положительная взаимосвязь в фазе колошения ($r = 0.33–0.44$) между содержанием азота в листьях и его содержанием в почве свидетельствовала о снижении напряженности.

В посевах сортов ячменя без применения удобрений во всех фазах развития растений ярового ячменя напряженность продукционного процесса в зависимости от содержания азота в почве была больше, чем в вариантах с применением удобрений. С применением удобрений напряженность продукционного процесса снижалась на 5.5% в фазе кущения и на 25.0% — в фазе колошения. Отмечена довольно тесная положительная связь между показателями длины стебля ($r = 0.66-0.68$), продуктивного стеблестоя ($r = 0.52-0.59$) и урожаем ($r = 0.78-0.79$) с содержанием в почве азота в период от фазы кущения и до молочной спелости как в неудобранных, так и в удобренных вариантах. Содержание в почве азота слабо положительно коррелировало с содержанием в зерне белка ($r = 0.30-0.46$), а в колошение — и со стекловидностью зерна ($r = 0.43$).

Выявлены положительные коэффициенты корреляции между содержанием азота в листьях и массой 1000 зерен как в удобренном варианте ($r = 0.60$), так и неудобранным ($r = 0.50-0.70$). Сильной отрицательной была взаимосвязь между содержанием азота в листьях и урожаем: $r = -0.81, -0.82$ во всех вариантах и для обеих групп сортов ячменя. С показателем содержания в зерне белка взаимосвязь была также отрицательной, но менее значимой: $r = -0.40, -0.33$. Таким образом, чем интенсивнее был отток азота из листьев в репродуктивные органы, тем больше были показатели изученных элементов продуктивности.

В обеспеченном влагой 2021 г. содержание азота в листьях превышало в удобренном варианте контроль на 30.8% у степных образцов и на 11.8% у западных, эффективность удобрений в условиях засушливого 2019 г. была снижена до 7.1–8.1%. Эффективность применения удобрений в среднем по годам при анализе показателей листовой диагностики у степных сортов составила в фазах кущения, колошения, молочной спелости 20.3, 21.1 и 8.9%, у западных сортов она была значительно меньше: 10.4, 11.4 и 6.1%.

В целом за период вегетации в засушливом 2019 г. в почве под степными сортами в вариантах с применением удобрений вынос азота был почти в 2 раза больше, чем под западными сортами. Вероятно, при использовании удобрений возможность усваивать азот в условиях засухи у степных сортов была больше, что свидетельствовало о более высокой поглощательной способности корневой системы. В условиях высокой влагообеспеченности (2021 г.) в вариантах с применением удобрений вынос азота из почвы был значительно больше у западных экотипов. Западные сорта значительно интенсивнее поглощали азот из верхних слоев почвы при оптимальном увлажнении. Максимальный эффект от применения удобрений по показателю массы зерна с 1 м² (урожай) был получен в засушливом 2019 г.: 27.0 и 34.7% соответственно группе сортов — степной и западной. Содержание

белка в зерне и его стекловидность у степных сортов достоверно превышали показатели, полученные у западных сортов по годам и в вариантах опыта. Стекловидность была достоверно больше у степных сортов за все годы изучения: на фоне без удобрений — на 20.1–35.5%, с применением удобрений — на 13.2–29.7%.

Таким образом, показано, что применение минеральных удобрений в дозе N60P60K60 при посеве в засушливых условиях эффективно для возделывания ярового ячменя. Этот прием повышал урожай зерна, массу 1000 зерен за счет высокого накопления азота в листьях к концу вегетации, что в дальнейшем способствовало повышенному накоплению белка в зерне и его высокой стекловидности, особенно у сортов степного происхождения. Использование азотных удобрений в дозе 60 кг д.в./га может служить анализирующим фоном для отборов растений с повышенным содержанием белка в зерне ячменя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Постников А.В., Хавкин Э.Е., Корчагина Ю.И. Современное состояние и перспективы практической диагностики азотного режима почв и питания растений. Обзор // *Агрохимия*. 1983. № 2. С. 114–125.
2. Шулико Н.Н., Хамова О.Ф., Воронкова Н.А., Тукмачева Е.В., Дороненко В.Д. Влияние комплексного применения удобрений и биопрепаратов на эффективное плодородие чернозема выщелоченного и продуктивность ячменя // *Агрохимия*. 2019. № 2. С. 13–20.
DOI: 10.1134/S0002188119020133
3. Лукин С.В. Мониторинг агроэкологического состояния пахотных почв Центрального Черноземного региона России // *Агрохимия*. 2023. № 4. С. 67–77.
DOI: 10.31857/S0002188123040075
4. Шафран А.С. Вклад минеральных удобрений в формирование урожайности полевых культур. Сообщ. 1. Азотные удобрения // *Агрохимия*. 2021. № 7. С. 27–35.
DOI: 10.31857/S0002188121070097
5. Мельникова О.В., Сальникова И.А., Ториков В.Е., Мельников Д.М. Влияние внекорневых подкормок биопрепаратами на сбор сырого протеина с урожаем зерна сортов ярового ячменя // *Современные тенденции развития аграрной науки*. Брянск, 2023. С. 105–112.
6. Митрофанов Д.В. Воздействие абиотических и ключевых факторов среды на урожайность ячменя // *Аграрн. научн. журн.* 2023. № 9. С. 15–21.
DOI: 10.28983/asj.y2023i9pp15-21
7. Ерошенко Л.М., Ромахин М.М., Ерошенко Н.А., Дедушев И.А., Ромахина В.В., Болдырев М.А. Урожайность, пластичность, стабильность и гомеоста-

- тичность сортов ярового ячменя в условиях Не-
черноземной зоны // Тр. по прикл. бот., генет. и
селекции. 2022. Т. 183. № 1. С. 38–47.
DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-38-47
8. *Николаев П.Н., Юсова О.А.* Линии ярового ячме-
ня селекции Омского АНЦ, рекомендуемые для
дальнейших исследований // Актуальные вопро-
сы биологии, селекции, технологии возделыва-
ния и переработки сельскохозяйственных куль-
тур. Краснодар, 2023. С. 179–182.
DOI: 10.25230/conf12-2023-179-182
9. *Дедушев И.А., Ерошенко Л.М., Пыльнев В.В.* Вли-
яние уровня азотного питания на урожайность и
элементы структуры урожая сортов ярового ячме-
ня селекции ФИЦ “Немчиновка” // Изв. ТСХА.
2023. Вып. 2. С. 5–12.
DOI: 10.26897/0021-342X-2023-2-5-12
10. *Шарков И.Н., Колбин С.А., Самохвалова Л.М.* Про-
блема азота при использовании чернозема выше-
лоченного по интенсивной технологии в лесостепи
Западной Сибири // Агрохимия. 2021. № 2. С. 3–10.
DOI: 10.31857/S0002188121020101
11. *Новичихин А.М., Чайкин В.В.* Урожайность сортов
ячменя при различных уровнях минерального
питания в сочетании со стимуляторами роста // Агрохим. вестн. 2022. № 3. С. 10–16.
DOI: 10.24412/1029-2551-2022-3-002
12. *Сайдяшева Г.В., Зайцева К.Г.* Динамика накопле-
ния азота, фосфора и калия в растениях культур
зернопарового севооборота в период вегетации
при применении биомодифицированных удобре-
ний // Развитие и внедрение современных нау-
коемких технологий для модернизации агропро-
мышленного комплекса. Курган, 2020. С. 312–317.
13. *Серегина И.И., Джанчаров Т.М., Белопухов С.Л.,
Дмитревская И.И., Зайцев Ф.И., Исламгулова Р.Р.* Урожайность и химический состав сортов ячме-
ня в зависимости от уровня минерального пита-
ния // Агрохим. вестн. 2023. № 2. С. 60–64.
DOI: 10.24412/1029-2551-2023-2-010
14. *Пасынков А.В., Пасынкова Е.Н.* Урожайность зерна
ячменя и ее зависимость от минерального пита-
ния и гидротермических условий в период веге-
тации // Агрохим. вестн. 2019. № 2. С. 33–38.
DOI: 10.24411/0235-2516-2019-10024
15. *Пасынков А.В., Пасынкова Е.Н.* Зависимость по-
казателей качества зерна пивоваренного ячменя
от уровня минерального питания и гидротерми-
ческих условий в период вегетации // Агрохим.
вестн. 2020. № 3. С. 33–41.
DOI: 10.24411/1029-2551-2020-10036
16. *Чевердин Ю.И., Чевердин А.Ю., Сауткина М.Ю.* Микро-
бные препараты в посевах зерновых куль-
тур Центрального Черноземья: Монография. Во-
ронезж, 2021. 279 с.

Soil and Leaf Diagnostics of Nitrogen Content in the Cultivation of Different Varieties of Various Ecotypes of Spring Barley (*Hordeum vulgare* L.)

T. G. Golova^{a, #}, L. A. Ershova^a, S. A. Kuzmenko^a

^a V.V. Dokuchaev Voronezh FASC,

pos. 2 division of the Institute Dokuchaev, quart. 5, 81, Voronezh region, Talovsky district 397463, Russia

[#]E-mail: niish1c@mail.ru

The possibility of an earlier and more accurate prediction of protein accumulation in grains of different varieties of spring barley of Steppe and Western European ecotypes was investigated. The experiments were conducted in the central part of the Voronezh region in the Research Institute of the Central Research Center “Kamennaya Steppe” in 2019–2021. Basically, a positive and high correlation was found between the nitrogen content in the soil and the elements of productivity, which allowed us to judge the importance of mineral nutrition for the formation of grain productivity of barley. In crops of barley varieties without the use of fertilizers in all phases of plant development, the production process, depending on the nitrogen content in the soil, was more intense than in variants with the use of fertilizers. With the use of fertilizers, the intensity of the production process decreased by 5.5% during tillering and by 25.0% during the earing phase. A fairly close positive correlation was noted between the indicators of stem length ($r = 0.66–0.68$), productive stem ($r = 0.52–0.59$) and yield ($r = 0.78–0.79$) with nitrogen content in the soil from the tillering phase to milk ripeness in both non-fertilized and fertilized variants. A positive correlation of nitrogen content in leaves with a mass of 1000 grains was revealed: $r = 0.60, 0.50–0.70$, respectively, in the experimental variants. In 2021, provided with moisture, the nitrogen content in the leaves in the fertilized version was 30.8% in Steppe samples and 11.8% in Western samples compared with the control. The efficiency of fertilizers in the conditions of arid 2019 was reduced to 7.1–8.1%. On average over the years, when analyzing the indicators of leaf diagnostics, the effectiveness of fertilizer application in Steppe varieties was 20.3, 21.1 and 8.9% in the phases of tillering, earing, and milk ripeness, while in Western varieties it was significantly less – 10.4, 11.4 and 6.1%. The maximum effect of the use of fertilizers for the grain mass index per 1 m² was obtained in the dry 2019: 27.0 and 34.7%, respectively, depending on the group of varieties (Steppe and Western). The indicators of protein content in grain and its vitreousness of Steppe varieties significantly exceeded the indicators of Western varieties by years and variants of the experiment. It has been shown that the use of mineral fertilizers at a dose of N60P60K60 when sowing in arid conditions was effective for barley cultivation. This technique increased the yield and weight of 1000 grains due to the high accumulation of nitrogen in the leaves by the end of the growing season, which further contributed to an increased accumulation of protein in the grain and its vitreousness, especially in varieties of Steppe origin.

Keywords: soil, nitrogen, barley varieties, various ecotypes, nitrogen content in leaves, protein in grain, yield.

СОРТОВАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К КАДМИЮ НА ОСНОВЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ПРОДУКТИВНОСТИ

© 2024 г. А. В. Дикарев^{1,*}, Д. В. Дикарев¹, Д. В. Крыленкин¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии

Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”

249035 Обнинск, Калужская обл., Киевское шоссе, 1, корп. 1, Россия

*E-mail: ar.djuna@yandex.ru

В вегетационном опыте с внесением в дерново-подзолистую почву Cd^{2+} в концентрации 25 и 50 мг/кг выращивали ячмень 4-х сортов, которые по результатам лабораторного эксперимента с проростками оказались контрастными по устойчивости к действию Cd^{2+} . Цель работы – выяснение, сохраняют ли указанные сорта свои свойства как устойчивых или чувствительных к кадмию не только в качестве модели-проростков, но и в процессе всего онтогенеза растений. Оценивали внешний вид растений, высоту растений, биомассу, площадь листьев, активность ферментов, связанных с защитой растения от стрессовых факторов среды, содержание фитогормонов в надземной биомассе, массу зерна, соломы и 1000 зерен, накопление кадмия в надземной биомассе растений (соломе и зерне). В условиях эксперимента выявлены значимые различия между группами устойчивых и чувствительных к действию кадмия сортов. По морфометрическим параметрам и продуктивности при выращивании на загрязненной кадмием почве устойчивые сорта значительно превосходили чувствительные. Эти эффекты наиболее были заметны при дозе кадмия 50 мг/кг, а доза 25 мг/кг недостаточна для уверенной дифференциации сортов на чувствительные и устойчивые. Отмечено, что на 50-е сут эксперимента концентрация стрессовых гормонов возрастала, а ростовых – снижалась при внесении в почву кадмия 50 мг/кг. При этом концентрация стрессовых гормонов у устойчивых сортов возрастала уже на 30-е сут, а ростовых – и на 30-е, и на 50-е сут уменьшалась не настолько сильно, как у чувствительных. Отмечена большая активность антиоксидантных ферментов у устойчивых сортов по сравнению с чувствительными. Устойчивые сорта демонстрировали в целом большую продуктивность при внесении в почву дозы кадмия 50 мг/кг. Чувствительные сорта накапливали кадмий в надземной биомассе в большем количестве, чем устойчивые, при этом различия становились отчетливыми при внесении дозы кадмия 50 мг/кг. Результаты исследования подтвердили, что обнаруженная при оценке воздействия кадмия на проростки дифференциация сортов ячменя по устойчивости сохраняется на протяжении всего жизненного цикла растений и сказывается на урожайности и других хозяйственно-ценных признаках. Полученные данные полезны для оценки последствий техногенного загрязнения агроценозов, задач селекции сортов основных культур, обладающих высокой устойчивостью к кадмию. Кроме того, материалы исследования можно применить при разработке методологии оценки состояния почв, загрязненных тяжелыми металлами, и для задач экологического нормирования.

Ключевые слова: ячмень, кадмий, внутривидовой полиморфизм, контрастные по устойчивости сорта, вегетационный опыт.

DOI: 10.31857/S0002188124100083, **EDN:** ANODEN

ВВЕДЕНИЕ

В XXI веке загрязнение агросферы токсикантами техногенного происхождения стало одним из факторов, сдерживающих развитие сельского хозяйства и создающих угрозу для здоровья населения. Одним из главных компонентов промышленных выбросов,

представляющих опасность для живых организмов, являются тяжелые металлы (ТМ). К таковым относят химические элементы с металлическим типом кристаллической решетки, имеющие плотность $>5 \text{ г/см}^3$, такие как свинец, кадмий, медь, ртуть, цинк и другие. Наглядным свидетельством серьезности рассматриваемой проблемы является тот факт, что только на территории

России более 1 млн га земель сельскохозяйственного назначения загрязнено высокотоксичными соединениями ТМ (I класс опасности) и еще 2.3 млн га — обладающими средней токсичностью (II класс опасности) [1].

Одним из значимых представителей класса ТМ является кадмий. Среди основных путей, по которым он способен поступать в природные и агроэкосистемы, можно указать на горную и топливную промышленность, эксплуатацию аккумуляторов и других источников питания, производство лаков и красок, а также ряд иных отраслей народного хозяйства.

Принято считать, что у большинства растений кадмий не вовлечен в физиологические процессы (лишь у морских диатомей обнаружена Cd-карбоксиливая ангидраза) [2], в то же время он является токсичным элементом. Токсический стресс у растений может проявляться в изменениях биохимических и физиологических процессов, которые, последовательно нарастая, проявляются на уровне целого организма видимым угнетением жизненных функций [3, 4]. Полагают, что одной из главных причин, за счет которых ТМ способны вызывать такие нарушения, является повышенное накопление в клетке активных форм кислорода (АФК) [3, 5]. Чтобы противостоять вызванному АФК стрессу, живые существа (и растения, в частности) в процессе эволюции выработали ряд механизмов, позволяющих успешно развиваться в условиях негативного воздействия среды. К таковым относят систему антиоксидантной защиты, включающую как высокомолекулярные (энзимы супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы и др.), так и низкомолекулярные (пролин, глутатион и др.) соединения. Различные концентрации ТМ способны как подавлять, так и стимулировать выработку этих веществ, и, анализируя их концентрации, можно судить об уровнях стресса прежде, чем его последствия проявятся визуально [6, 7]. Не стоит сбрасывать со счетов и тест-системы, основанные на анализе морфологических признаков (высоты растения, площади листьев, биомассы и др.) и продуктивности (структуры урожая), — они тоже способны дать много полезной информации [8]. Однако несмотря на то, что проблема воздействия токсических факторов на растения и устойчивости к ним изучена довольно подробно, остается еще много нерешенных вопросов.

Есть основания утверждать [9, 10], что механизмы поступления и обмена ТМ в целом сходны для всех живых существ. Однако, когда рассматривают именно сельскохозяйственные культуры, важно учитывать не только характеристики самого растения, но и почв, на которых оно произрастает. Физико-химические свойства, гранулометрический состав, плодородие, тип почвы способны существенно модифицировать ответ растения на действие поллютанта.

Из этого следует большое прикладное значение исследований ответа сельскохозяйственных культур

на действие ТМ. В условиях стресса продуктивность растений заметно снижается, поэтому знание механизмов устойчивости к токсическим эффектам позволяет добиться сохранения объемов сельскохозяйственного производства в условиях техногенеза. Следует отметить важность рассматриваемого вопроса в целях сохранения здоровья населения, проживающего на загрязненных территориях, поскольку одним из направлений исследований является не только поиск устойчивых к стрессору сортов основных культур, но и выработка мер, предотвращающих поступление вредных веществ в растительный организм.

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) — одна из основных сельскохозяйственных культур. Он известен с глубокой древности, и его широко возделывают по всему миру в разнообразных почвенных и климатических условиях. Эта культура хорошо изучена на всех уровнях организации, что делает ее подходящей моделью для исследования ответа растений на действие техногенных стрессоров и, в частности, кадмия.

В рамках реализации поставленных задач — исследования устойчивости сельскохозяйственных растений к действию кадмия — были выявлены концентрации кадмия, вызывающие существенное подавление жизненных процессов ячменя. Был исследован внутривидовой полиморфизм 50-ти сортов ячменя различного географического происхождения и выявлен ряд сортов, контрастных по устойчивости к данному ТМ, обнаружены редкие аллельные варианты нескольких энзимов, связанные с устойчивостью или чувствительностью к кадмию [11]. В связи с этим было необходимо проверить результаты лабораторного эксперимента в условиях вегетационного опыта с почвенной культурой с целью ответа на вопрос: будут ли отобранные на основе исследования проростков сорта демонстрировать аналогичные реакции на действие кадмия на протяжении всего жизненного цикла растения?

С целью ответа на этот вопрос был поставлен вегетационный опыт, для которого взяли 4 контрастных по устойчивости к кадмию сорта ячменя из отобранных ранее. В опыте изучили воздействие кадмия на морфологические и биохимические показатели растений ячменя.

Таким образом, цель работы — оценка воспроизводимости результатов лабораторного эксперимента с проростками сортов ячменя различного географического происхождения для исследования устойчивости их к кадмию на всем протяжении жизненного цикла растений по морфометрическим и биохимическим показателям, а также продуктивности.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент по изучению воздействия кадмия на рост, развитие, биохимические показатели и продуктивность ярового двурядного ячменя был заложен на дерново-подзолистой супесчаной почве. Для работы были взяты следующие сорта ярового ячменя из мировой коллекции ВИР: устойчивые к действию кадмия – Симфония (Украина, Харьковская обл.) и Местный (Удмуртия); чувствительные к действию кадмия – Са 220702 (Дания) и Malva (Латвия). Методика и процедура выбора этих сортов были описаны в работах [12, 13]. Растения выращивали в пластиковых сосудах емкостью 5 кг по общепринятой методике [14]. Агрохимические характеристики почвы [15] приведены в табл. 1.

Кадмий был внесен в почву в виде $Cd(NO_3)_2$ в концентрациях 25 и 50 мг/кг. При выборе концентрации руководствовались данными, полученными в проведенных ранее вегетационных опытах по изучению ответа растений ячменя на действие широкого диапазона доз кадмия [16]. На основе анализа данных о реакции морфометрических и биохимических показателей растений ячменя была выбрана критическая доза (50 мг/кг), которая вызывает существенное угнетение рассмотренных параметров, но еще позволяет растению нормально развиваться и завершить свой жизненный цикл. Предполагали, что, используя эту концентрацию кадмия, можно обнаружить разделение выбранных сортов ячменя на устойчивые и чувствительные к этому ТМ. Кроме того, была взята доза, составляющая половину от критической (25 мг/кг), чтобы оценить уровни токсического стресса в менее жестких условиях.

В варианте 50 мг Cd^{2+} /кг опыт проводили в четырехкратной повторности для каждого сорта, для 25 мг Cd^{2+} /кг – в двукратной, плюс 4 повторности в контроле, всего 40 сосудов. При закладке опыта почву тщательно перемешивали и вносили в нее питательные элементы в виде водных растворов солей NH_4NO_3 и K_2HPO_4 из расчета $N_{150}P_{10}K_{10}$. При внесении в почву питательных веществ учитывали и корректировали количество азота, поступающее с раствором соли кадмия. Контролем служил вариант с НРК без внесения кадмия. При выборе солей

питательных элементов и их концентраций руководствовались рекомендациями [14, 15]. Перед посевом почву инкубировали в течение 14 сут при температуре 20–23°C и влажности 60% ПВ. Растения выращивали до товарной спелости в условиях постоянной влажности почвы (60% ПВ). Положение вегетационных сосудов меняли ежедневно по схеме, обеспечивающей однородные условия роста и развития растений. Поливали растения дистиллированной водой.

Отбор проб растений для биометрического и части биохимических анализов проводили через 30 сут после всходов. Биохимические показатели (содержание свободного пролина [17] и малонового диальдегида (МДА) [18]) определяли в пробах листьев. До урожая оставляли по 10 растений/сосуд. В течение всего вегетационного периода вели фенологические наблюдения.

Также в исследовании оценивали эндогенное содержание основных классов фитогормонов: индолилуксусной кислоты (ИУК), индолилмасляной кислоты (ИМК), зеатина, салициловой кислоты (СК) и абсцизовой кислоты (АБК) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). На 30-е и 50-е сут эксперимента отбирали здоровые листья ячменя и замораживали их в жидком азоте. Навеску растительного материала массой 400 мг гомогенизировали в жидком азоте, экстрагировали фитогормоны в 1 мл подкисленного (pH 3.5) 80%-го раствора метанола (HPLC Gradient Grade, T.J. Baker, Нидерланды) с добавлением антиокислителей (50 мкл 0.1%-го раствора ЭДТА и 50 мкл 0.1%-го раствора 2-меркаптоэтанола). Пробирки с суспензией помещали в холодильник на мини-шейкер 3D-типа Sunflower (Biosan, Латвия) на 30 мин, после чего пробы центрифугировали и осадок отбрасывали. Для очистки экстракта применяли твердофазную (неудерживающую) экстракцию на приборе VacMaster-20 (Biotage, Норвегия) с использованием SPE колонок Biotage – ISOLUTE C18 (1 мл).

Качественный и количественный анализ экстрактов проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Shimadzu LC-30 Nexera с диодно-матричным детектором SPDМ20А (Shimadzu, Япония).

Таблица 1. Агрохимические характеристики дерново-подзолистой супесчаной почвы, использованной в эксперименте

Показатель	Величина
pH _{KCl}	5.22 ± 0.01
Гумус, %	1.0 ± 0.01
H _г , мг-экв/100 г почвы	1.89 ± 0.02
Сумма обменных оснований, мг-экв/100 г почвы	5.3 ± 0.01
Обменный K ₂ O, мг/кг почвы по Масловой	77.7 ± 1.3
Подвижный P ₂ O ₅ , мг/кг почвы по Кирсанову	127 ± 2

Данные обрабатывали с помощью программного обеспечения LabSolutions (Shimadzu, Япония). 10 мкл экстракта вводили в аналитическую колонку с обращенной фазой C18 (Shim-packXR-ODSII, 2 мкм, диаметр 3.0 мм, длина 100 мм, Shimadzu, Япония). Начальные условия: растворитель (А) – метанол, растворитель (В) – 0.1%-ный раствор уксусной кислоты (1 : 9). Температура термостата колонки составляла 35°C, скорость потока – 0.3 мл/мин в течение всего времени разделения. Анализ проводили в 3-х биологических повторностях, каждый образец анализировали дважды.

Для идентификации и количественного анализа применяли метод внешних стандартов, основанный на соотношении пиков проб и стандартов. Для построения калибровочных графиков использовали стандарты фитогормонов, полученные от Sigma-Aldrich (США). Стандарты разводили в метаноле в концентрациях 5–1000 мкМ.

Процедуру анализа активности ферментов производили следующим образом. С 4–5-ти растений ячменя в каждом сосуде отбирали листья. Их помещали в 3 криопробирки объемом 5 мл (по 5–6 листьев в каждую) и немедленно замораживали в жидком азоте. На 30-е и 50-е сутки было отобрано по 24 образца. Криопробирки хранили в сосуде Дьюара до дальнейшего проведения анализа активности ферментов в лаборатории. В день анализа из каждой криопробирки с образцом отбирали навеску (~0.23 г) и гомогенизировали в фарфоровой ступке в жидком азоте. Гомогенат быстро (избегая размораживания) переносили в чистые пробирки и растворяли в 1 мл холодного буфера. Буфер выбирали, исходя из методики анализа активности соответствующего фермента (для каталазы (CAT), пероксидазы (POX), аскорбатпероксидазы (APX) – 50 мМ калий-фосфатный буфер pH 7.0; для глутатионпероксидазы (GPX) – 50 мМ TE-буфер pH 7.6; для глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (G6FD) – 0.1 М трис-HCl буфер pH 7.6). Затем содержимое пробирок перемешивали на вортексе (“Микроспин”, Россия) и далее гомогенат центрифугировали в течение 20 мин при скорости 14 500 об./мин на мини-центрифуге (Eppendorf, Германия) с охлаждением. Полученный супернатант использовали для анализа. Пробоподготовка проведена с применением штатива-охладителя (CoolBox, США).

Экстракты анализировали в соответствии с нижеприведенными методиками с использованием бесцветного спектрофотометра NanoDrop-2000 (Thermo Fisher Scientific, США). Всего проанализировано 48 образцов.

Активность фермента каталазы определяли по динамике разложения пероксида водорода этим ферментом [19, 20], гваяколовой пероксидазы – по ее способности в присутствии пероксида водорода катализировать превращение гваякола в тетрагваякол [19],

аскорбатпероксидазы – по определению скорости разложения пероксида водорода исследуемым образцом с образованием воды и дегидроаскорбата [19], глутатионпероксидазы – по скорости окисления НАДФН посредством глутатионредуктазы [21], глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы – по реакции D-глюкозо-6-фосфат + НАДФ⁺ ↔ D-глюконо-1,5-лактон-6-фосфат + НАДФН, при которой образуется клеточный НАДФН из НАДФ⁺ [19].

При уборке урожая через 90 сут после всходов в пробах определяли структуру урожая по следующим показателям: высота растений, общее число стеблей и число продуктивных стеблей, масса колосьев, масса соломы, общее число колосьев и число колосьев с зерном, масса зерна, число зерен.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили стандартными методами с использованием программных пакетов MS Excel 2003 и Statistica 10.0. На графиках и диаграммах приведены среднеарифметические в расчете на одно растение и доверительные интервалы определявшихся показателей (в % к контролю при 95%-ном уровне значимости).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфометрические параметры. Внешний вид растений ярового ячменя через 50 сут после появления всходов показан на рис. 1.

Для наглядности фотографии даны для варианта 50 мг Cd²⁺/кг, поскольку именно в этом случае различия между контрастными по устойчивости сортами были наиболее очевидными. В случае с дозой 25 мг Cd²⁺/кг визуальное различия не обнаруживались, хотя и было отмечено, что у чувствительных сортов образование колосьев происходило на 1–2 нед позже. В целом, на этом этапе органогенеза уже заметны различия во внешнем виде, особенно по высоте растений при действии кадмия и в контрольном варианте. Изменилась и биомасса растений. Также следует отметить, что устойчивые сорта (рис. 1а) демонстрировали меньшее угнетение по сравнению с чувствительными (рис. 1б). Следовательно, доза 50 мг Cd²⁺/кг является достаточной для обнаружения эффектов воздействия кадмия и дифференциации сортов на устойчивые и чувствительные, что подтверждало данные ранее проведенных нами исследований [15, 25]. Таким образом, рассмотренная концентрация кадмия может считаться критической, вызывающей значимое угнетение процессов роста и развития растений ячменя, но еще не приводящая к гибели организма. В то же время доза 25 мг Cd²⁺/кг еще не позволяет с уверенностью обнаружить визуальные различия. Есть основания полагать, что более высокие концентрации поллютанта брать для работы по изучению ответа растений ячменя на действие кадмия нет смысла, поскольку они вызовут

(a)



(б)



Рис. 1. Внешний вид растений ячменя на 50-е сут эксперимента: (а) – устойчивые сорта, слева направо: сорт Симфония (контроль), сорт Симфония (50 мг Cd^{2+} /кг), сорт Местный (контроль), сорт Местный (50 мг Cd^{2+} /кг), (б) – чувствительные сорта, слева направо: сорт Са 220702 (50 мг Cd^{2+} /кг), сорт Са 220702 (контроль), сорт Malva (50 мг Cd^{2+} /кг), сорт Malva (контроль).

гибель растения и не позволят обнаружить различия в ответе на стрессор между группами контрастных сортов. Более того, уже при дозе 50 мг Cd^{2+} /кг урожай удалось получить не во всех вариантах, и дальнейшее увеличение содержания поллютанта в почве способно обеднить потенциальный объем данных, которые можно получить в исследовании.

На рис. 2 приведены количественные данные, которые подтвердили визуальное впечатление о влиянии кадмия на морфометрические показатели 4-х контрастных по устойчивости сортов ячменя.

При концентрации 25 мг Cd^{2+} /кг различия между устойчивыми и чувствительными сортами не были

отчетливыми (рис. 2а). Например, высота растений всех 4-х сортов значимо не различалась. Несколько более интересные данные удалось получить по площади листьев – чувствительный сорт Са 220702 значимо уступал по этому показателю остальным 3-м сортам. Наиболее полезным оказался параметр биомассы: по нему устойчивые сорта заметно опережали чувствительные, однако в каждой из групп показатели менялись в пределах ошибки, т.е. при этой дозе ТМ уже отмечали некоторую дифференциацию между группами контрастных сортов, но она была еще не достаточно отчетливой. Необходимо также отметить, что концентрация кадмия 25 мг/кг индуцировала заметный стимулирующий эффект показателя биомасса,

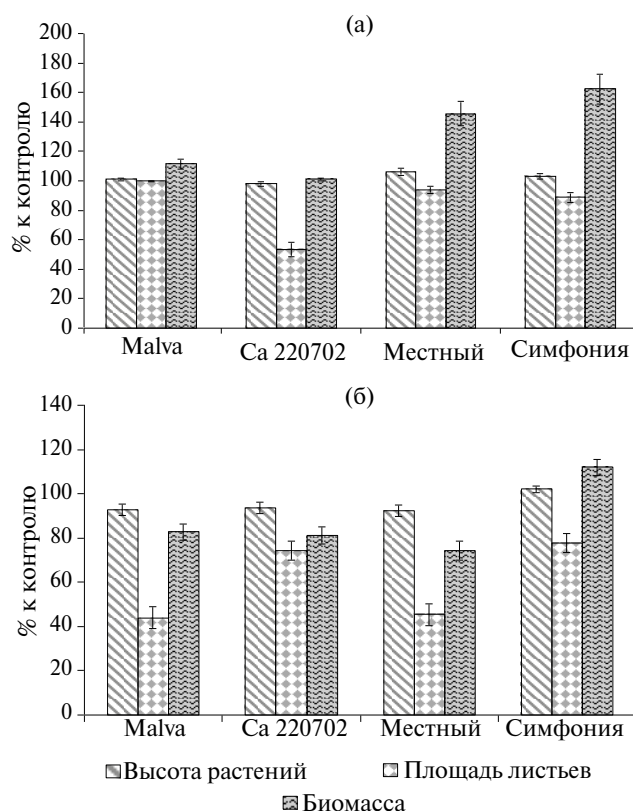


Рис. 2. Влияние загрязнения кадмием на высоту, площадь листьев и биомассу растений ячменя 4-х сортов: (а) – 25 мг Cd²⁺/кг, (б) – 50 мг Cd²⁺/кг.

но только у устойчивых сортов, у которых результаты превышали контроль до 150–160%.

В то же время при концентрации кадмия 50 мг/кг наблюдали заметное угнетение развития как чувствительных, так и устойчивых сортов. Однако это утверждение справедливо не для всех сортов и не для всех показателей (рис. 26). При этом внутривидовые особенности ответа растений на токсический стресс четко отследить не удалось. Например, высота растений всех 4-х сортов менялась на уровне, близком к контрольному, или оказывалась, несущественно меньше такового (до 92% у устойчивого сорта Местный). Сорт Симфония, правда, немного опережал остальные по этому показателю, но на незначительную величину (102% от контроля). Внутривидовые показатели площади листьев различались существенно, однако их не удалось связать с выявленной ранее устойчивостью к кадмию. Например, значимое угнетение демонстрировали как устойчивый сорт Местный (45% от контроля), так и чувствительный Malva (44%). В то же время у устойчивого сорта Симфония и чувствительного Ca 220702 также наблюдали угнетение этого показателя (78 и 77% соответственно), но гораздо меньшее, чем у 2-х других сортов. Что касается биомассы, то она сокращалась при действии кадмия у всех сортов,

кроме сорта Симфония, у которой, напротив, даже отмечена стимуляция (112% от контроля).

Таким образом, по чувствительности к действию кадмия исследованные показатели можно выстроить в следующий ряд. Сильнее всего на токсический стресс реагировала площадь листьев, и именно при ее анализе была заметна наибольшая разница между сортами. В меньшей степени изменялась биомасса растений, и это единственный из 3-х показателей, по которому устойчивые сорта существенно превосходили чувствительные. Высота растений изменялась не столь сильно и в целом она сохранялась на уровне, близком к контрольному. При этом разница между устойчивыми и чувствительными сортами в этом случае была незаметна вовсе.

Из полученных данных можно сделать вывод, что различия между устойчивыми и чувствительными сортами могут выявляться на организменном уровне, но ответ при этом носил неоднозначный характер. Далеко не всегда устойчивые сорта демонстрировали значимые отличия от чувствительных по рассмотренным показателям, иногда наблюдали противоречивые результаты. Четкой зависимости от концентрации кадмия тоже не отмечено, но, вероятно, это было связано с тем, что доза поллютанта еще далека от летальной. В этих условиях организм еще успешно справлялся со стрессовой нагрузкой, а общие биологические механизмы защиты, нацеленные на предотвращение проникновения во внутреннюю среду нежелательных веществ, оказывались достаточно эффективными. При этом особенности ответа растений ячменя на токсическое действие кадмия, описанные ранее [11] для проростков, сохранялись и у взрослых растений.

Биохимические параметры. Действие повреждающих агентов вызывает включение у живых организмов механизмов защиты. Например, ТМ инициируют нарушение функционирования ферментативных систем, способствуют образованию перекисных и свободнорадикальных соединений. Реакции структурных и ферментативных систем клеток с этими соединениями провоцируют обширные повреждения и нарушения ферментативных циклов метаболизма, объединяемых под общим термином оксидативный стресс. Одним из классов соединений, которые организм направляет на нейтрализацию вредных воздействий, служит ряд аминокислот – γ -аминомасляная кислота, пролин, цистеин [22, 23], среди которых особый интерес вызывает пролин [24].

Экспериментальные данные по содержанию МДА и пролина в листьях ячменя при действии кадмия представлены на рис. 3.

При концентрации Cd²⁺ 25 мг/кг у всех 4-х сортов содержание МДА существенно возрастало по сравнению с контролем (в 1.5–2.5 раза). В целом содержание данного метаболита было несколько меньше

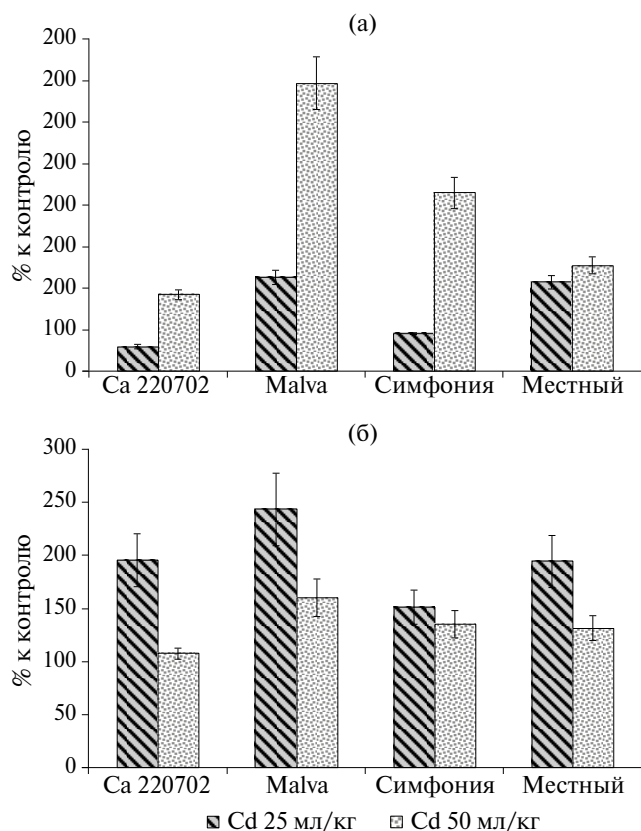


Рис. 3. Изменения содержания пролина (а) и МДА (б) в надземной биомассе 4-х сортов ярового ячменя при загрязнении почвы кадмием.

у устойчивых к кадмию сортов, что особенно заметно для сорта Симфония (для сорта Местный этот эффект не столь явен) (рис. 3а). При второй дозе кадмия (50 мг/кг) у всех сортов содержание МДА снижалось. Вероятно, это было связано с активизацией защитных систем растения, которые более активно реагируют на стресс и тормозят процессы перекисного окисления липидов, результатом чего является накопление МДА. При этом существенных различий между группами устойчивых и чувствительных сортов выявить не удалось (рис. 3б). Это могло быть связано с тем, что внутривидовые различия на биохимическом уровне организации растения не столь существенны, чтобы их можно было выявить при дозе загрязнителя, превышающей некоторый предел. Сильный стресс во всех случаях ведет к подавлению развития растения, вне зависимости от того, устойчивое оно или чувствительное к такому воздействию.

Содержание пролина, одного из защитных соединений, синтез которого в растении активизируется при оксидативном стрессе, демонстрировало иную закономерность. В наших предыдущих исследованиях с другими культурами (конскими бобами, салатом, редисом), связанных с анализом воздействия другого тяжелого металла (свинца) [25], уже при концентрации свинца 50 мг/кг почвы отмечали резкое

увеличение концентрации пролина, вполне объяснимое с точки зрения его роли как защитного соединения. Аналогичный эффект наблюдали и в данном эксперименте, причем в обоих вариантах (рис. 3а). Например, при дозе кадмия 25 мг/кг концентрация пролина возрастала до 2-х раз по сравнению с контролем у 2-х из исследованных сортов. А при дозе кадмия 50 мг/кг этот показатель превышал контроль от 2-х до 7-ми раз, что очевидно было связано с увеличением стрессовой нагрузки. При этом различий между группами устойчивых и чувствительных сортов выявить не удалось, более того, выявлен несколько парадоксальный эффект. У одного из чувствительных сортов (Ca 220702) отмечено самое низкое содержание пролина из всех 4-х сортов, в то время как у другого (Malva) оно оказалось самым высоким. Следует заметить, что у последнего сорта и содержание МДА было максимальным, таким образом, высокие уровни пролина у этого сорта должны быть связаны со значительной чувствительностью к стрессу.

Таким образом, исследование рассмотренных параметров не позволило связать устойчивость или чувствительность сортов с содержанием пролина и МДА. Из этого можно сделать вывод, что реакция на воздействие кадмия определяется иными физиологическими процессами и требует дополнительного изучения.

Разобрав выше ответ растений ячменя на действие кадмия на уровне низкомолекулярных антиоксидантов и связанных со стрессом метаболитов, имеет смысл изучить другие соединения, которые уже непосредственно оказывают воздействие на метаболизм. Поэтому еще одним параметром, рассмотренным в настоящем исследовании, было содержание фитогормонов в надземной биомассе растений. Причины, по которым анализ содержания данных веществ интересен для понимания механизмов ответа растений на техногенный стресс, заключаются в следующем. Для многоклеточных организмов характерен тип регуляции, который связан с взаимодействием между отдельными клетками, тканями и органами. Чтобы осуществлять такую координацию, в растениях вырабатываются фитогормоны. Эти, как правило, низкомолекулярные ($M_r = 28-346$) вещества синтезируются в процессе естественного обмена веществ и оказывают регуляторное влияние, причем их действующие дозы крайне малы ($10^{-5}-10^{-3}$ моль/л).

В большинстве случаев, но не всегда, гормоны образуются в одних клетках и органах, а оказывают влияние на другие, т.е. гормоны транспортируются по растению, и их влияние носит дистанционный характер. Большинство физиологических процессов, в первую очередь рост, формирование и развитие растений, регулируется гормонами. В связи с этим они считаются регуляторами роста, что определяет интерес к ним в рамках фитотоксикологических

исследований. Разумно предположить, что наблюдаемое угнетение роста и развития растений ячменя при действии кадмия в той или иной степени связано с работой гормональной фитосистемы. При этом вероятно эта активность различается у контрастных по устойчивости сортов.

Обычно фитогормоны разделяют на те, которые имеют стимулирующий характер — ауксины, гиббереллины и цитокинины, и ингибиторы, такие как абсцизовая кислота. Следует отметить, что гормональная система растений менее специализирована, чем у высокоорганизованных животных, имеющих обособленные эндокринные железы. В растительных организмах для включения и выключения морфогенетических и физиологических программ используются одни и те же фитогормоны в разных соотношениях. Поэтому можно ожидать, что в настоящем эксперименте у устойчивых сортов будут выявлены повышенные концентрации стимулирующих гормонов, в то время как у чувствительных сортов, напротив, в условиях стресса будут преобладать ингибирующие.

Оценку содержания фитогормонов производили в пробах, взятых в вариантах с внесением в почву Cd^{2+} в дозе 50 мг/кг, чтобы проследить эффекты, наблюдавшиеся в критических условиях стресса. Дозу 25 мг кадмия/кг не рассматривали, поскольку по результатам оценки морфометрических показателей при ней растения еще не проявляли явных признаков развития стресса.

Ауксины относятся к важнейшим фитогормонам растений, контролирующим направленные ростовые движения, полярность развития всех органов, клеточный цикл. К числу их функций также относят стимуляцию активности ионных каналов, рост клеток растяжением и дифференцировку специфических типов клеток [26]. Согласно данным, представленным на рис. 4а, на загрязненной кадмием почве у растений ячменя сортов Местный и Са 220702 снижались концентрации основного ауксина растений ИУК на 30-е сут развития.

На 50-е сут у всех сортов концентрации гормона были меньше контроля (рис. 4б), и наиболее отчетливо это наблюдали у чувствительного сорта Malva. Под действием ТМ, в частности кадмия, у растений нарушается полярный транспорт ауксинов, опосредованный с PIN-белками, что ведет к замедлению развития корневой системы. Помимо этого, кадмий приводит к накоплению NO — соединения, которое вызывает подавление транспорта, метаболизма и сигналинга ауксинов [27].

На 30-е сут эксперимента наиболее сильно снижались концентрации ауксина ИМК у сорта Malva (рис. 4а). Кроме того, пониженный синтез ИМК демонстрировал и устойчивый сорт Симфония. У остальных сортов значимых отличий от контроля в содержании ИМК не выявлено. На 50-е сут

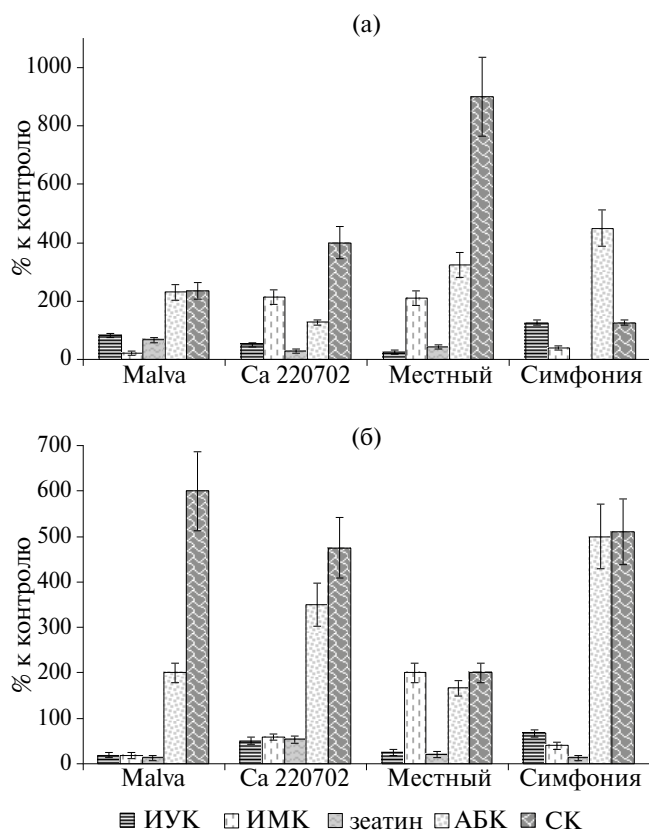


Рис. 4. Содержание фитогормонов в листьях 30- (а) и 50-суточных (б) растений ячменя 4-х сортов при внесении в почву Cd^{2+} в дозе 50 мг/кг.

эксперимента концентрации ИМК были снижены у сорта Malva и сорта Симфония (рис. 4б). В случае сортов Malva и Симфония уровни ИМК в анализированных образцах в целом были существенно меньше по сравнению с ИУК, особенно ярко это прослежено на 30-е сут онтогенеза. Эти результаты согласуются с литературными данными о том, что содержание ИУК составляет $\approx 80\text{--}95\%$ всех ауксинов растений [27]. Остальные натуральные ауксины присутствуют в растениях в меньших количествах. Впрочем, у сортов Ca 220702 и Местный наблюдали обратный эффект. На 50-е сут у сорта Местный содержание ИМК оказалось значимо больше, чем ИУК, но у других сортов содержание этих 2-х гормонов было сходным.

Содержание зеатина в целом было довольно невысоким и не позволяло разделить сорта по группам устойчивых и чувствительных, лишь на 50-е сут эксперимента у сорта Ca 220702 его содержание было больше, чем у других сортов, но меньше контроля (рис. 4). Вероятно, это связано с тем, что на этом этапе происходило активное развитие колоса и созревание зерна. Цитокинины, к которым относится зеатин, играют ведущую роль в регуляции развития генеративных органов [28], чем и был обусловлен его повышенный синтез на 50-е сут развития ячменя.

Известно, что важной функцией цитокининов является регуляция корневого поглощения питательных веществ, в особенности азотистых, а в фазе развития колоса потребность в них весьма высока. Поэтому нитраты стимулируют биосинтез цитокининов, увеличивая экспрессию гена IPT3, что в свою очередь запускает экспрессию цитокинин- и нитрат-регулируемых генов [29]. Вероятно, эти процессы угнетаются в условиях токсического стресса, что и проявляется в снижении уровня синтеза зеатина.

В некоторых образцах 30-суточных растений ячменя сорта Симфония не произошло качественного разделения хроматографических пиков зеатина с соседними пиками метаболитов, поэтому данные отсутствуют. Это можно объяснить таким образом. Спектр регуляторных функций цитокининов весьма широк, потому логично предположить, что у растений, испытывающих токсический стресс, процессы старения идут более активно, чем у интактных. Связанные с этим нарушения клеточного цикла и трофических процессов приводят к уменьшению синтеза зеатина.

АБК известна как “гормон стресса”, являясь основным регулятором ответных реакций на негативное воздействие среды [30]. При стрессе уровень содержания АБК повышается, что ведет к мобилизации адаптивных ресурсов растения. Экзогенное введение АБК повышает устойчивость к засухе, холодоустойчивость, ослабляет солевой стресс [31]. Поскольку стрессовое воздействие вызывает быстрое накопление АБК, увеличение ее количества можно рассматривать как индикатор стрессового состояния растения. В полном соответствии с этим в нашем эксперименте концентрации АБК были значимо повышены в обеих фазах онтогенеза у всех сортов. Впрочем, чувствительный сорт Са 220702 демонстрировал более низкие, чем у остальных сортов уровни АБК на 30-е сут, хотя и в этом случае содержание АБК было больше контроля (рис. 4).

СК — фитогормон фенольной природы, который является одним из главных метаболитов, вовлеченных в формирование ответа на действие вирусов и иных патогенов. Кроме того, наряду с АБК СК непосредственно участвует в защите растения от действия основных абиотических стрессоров, таких как ТМ, засоление, дефицит/избыток воды и тепловой стресс [32, 33]. СК способствует активации антиоксидантной системы, усиливает метаболизм азота и интенсивность фотосинтеза, что ведет к усилению ассимиляции CO_2 . Это вполне согласовалось с нашими данными. Так же, как и в случае с АБК, концентрация СК возрастала в тканях импактных растений. Рост содержания СК отмечен на 30-е сут у всех сортов, но в наибольшей степени у Са 220702 и Местного (рис. 4а), на 50-е сут этот эффект стал еще больше (рис. 4б).

Повышенное содержание СК может стимулировать синтез пролина — одного из маркеров стресса растений. Благодаря этому снижается интенсивность перекисного окисления липидов, и клеточные мембраны повреждаются в меньшей степени [34]. Наши данные подтвердили увеличение содержания пролина в ходе эксперимента: у чувствительного сорта Malva и устойчивого Симфония содержание обоих метаболитов оказалось особенно высоким (рис. 3а, 4б).

Таким образом, было показано, что загрязнение почвы кадмием в концентрации 50 мг/кг приводило к существенному снижению содержания ростостимулирующих фитогормонов (ИУК, ИМК, зеатина) и повышению концентраций стрессовых фитогормонов (АБК, СК). Также можно отметить, что к 50-м сут эксперимента содержание стрессовых гормонов у чувствительных сортов возрастало в целом сильнее, чем у устойчивых, а содержание ростовых гормонов у устойчивых сортов уменьшалось в меньшей степени, чем у чувствительных.

Нами также было исследовано содержание в тканях растений, подвергшихся воздействию токсического стресса, низкомолекулярных антиоксидантов (пролина) и продуктов патологических процессов, происходящих в организме в подобных условиях (МДА). Кроме того, был проанализирован синтез метаболитов, непосредственно вовлеченных в стрессовый ответ (фитогормонов). Однако для составления полной картины биохимических процессов, происходящих в организме растений, произрастающих на загрязненной кадмием почве, необходимо также оценить и активность высокомолекулярных соединений, т.е. ферментов. Анализ этого показателя может предоставить ценные данные относительно физиологического состояния растительного организма. Угнетение активности одних энзимов (анаболических) свидетельствует о заметном подавлении жизненных процессов, а рост активности других (антиоксидантных) прямо указывает на развитие состояния острого стресса. Эффективность работы последних прямо связана с тем, насколько успешно живой организм преодолевает негативное воздействие среды. Логично предположить, что феномен устойчивости к стрессу может определяться более высокой активностью определенных ферментов.

Так же, как и в случае с фитогормонами, анализ активности ферментов производили в пробах, которые были взяты у растений, выращенных на почве с внесенным в нее кадмием в дозе 50 мг Cd^{2+} /кг. Дозу 25 мг Cd^{2+} /кг не рассматривали по тем же причинам, приведенным при оценке фитогормонального статуса.

Установлено, что внесение кадмия способствовало росту активности каталазы на 30-е сут эксперимента у всех изученных сортов. Тем не менее, на 50-е сут онтогенеза активность каталазы у чувствительного

сорта Ca 220702 оказалась статистически значимо меньше, чем в контроле (рис. 5б).

При этом в данном варианте активность этого фермента для всех сортов в целом снижалась по сравнению с теми показателями, которые были отмечены на 30-е сут.

У устойчивых к действию кадмия сортов Симфония и Местный на 30-е сут активность РОХ при действии ТМ была статистически значимо больше, чем в контроле ($p = 0.049$). Впрочем, высокой она оказалась и у чувствительного сорта Malva. При этом на 50-е сут у сорта Симфония значимые различия между дозой и контролем сохранились, хотя активность фермента снизилась. У остальных сортов она снижалась еще больше, оказавшись в этом случае меньше контроля. Особенно отчетливо это проявилось у чувствительных сортов. Например, у чувствительного сорта Ca 220702 на 50-е сут эксперимента активность РОХ была статистически значимо меньше, чем в контроле ($p = 0.049$). Вероятно, низкая активность этого фермента, особенно по мере созревания растений и вела к их чувствительности к окислительному стрессу.

Активность АРХ так же, как и активность САТ и РОХ, статистически значимо снижалась в растениях чувствительного сорта Ca 220702 ($p = 0.049$) на 50-е сут эксперимента. В то же время у устойчивого сорта Симфония она значимо возростала. Обнаружено, что на 30-е сут активность GPX несколько возростала у устойчивого сорта Местный, а на 50-е сут она была достаточно высокой у устойчивого сорта Симфония. Повышенной она оказалась и у чувствительного сорта Ca 220702.

Активность фермента G6FD оставалась на близком к контролю уровне у всех сортов на 30-е сут эксперимента, но иной эффект наблюдали на 50-е сут опыта. У чувствительного сорта Malva она значимо снижалась ($p = 0.049$), у устойчивого Симфония – возростала.

Структура урожая. Особый интерес представляют данные, полученные в конце цикла вегетации растений ячменя. На их основе можно сделать вывод о том, сохранялась ли устойчивость или чувствительность каждого сорта к кадмию на протяжении всего онтогенеза растительного организма, и как эти особенности сказались на хозяйственно ценных показателях качества зерна.

Экспериментальные данные, характеризующие влияние кадмия на продуктивность ярового ячменя, представлены на рис. 6.

Так же, как и в остальных случаях, загрязнение почвы кадмием в дозе 25 мг/кг не привело к существенным различиям между группами контрастных по устойчивости сортов ячменя (рис. 6а). Однако следует отметить, что показатель массы 1000 зерен

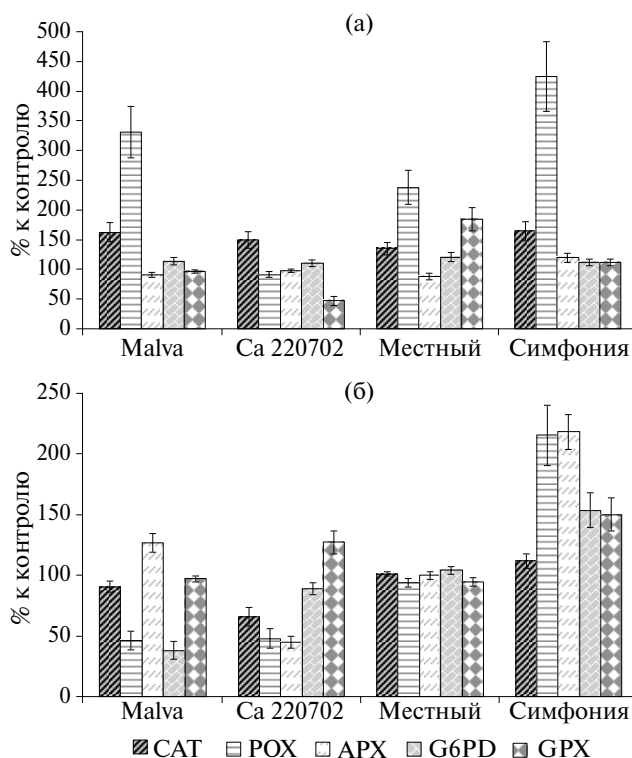


Рис. 5. Активность ферментов в листьях 30- (а) и 50-суточных (б) растений ячменя 4-х сортов.

у устойчивых сортов был несколько больше, чем у чувствительных (оставался на уровне, близком к контролю (91–92%), в то время как у чувствительных был меньше (77–86%), но в то же время масса зерна сорта Симфония оказалась меньше (29%), чем у остальных сортов (44–49%). Показатель “масса соломы” лишь у чувствительного сорта Malva заметно отличался от остальных, проявляя существенное угнетение (44% от контроля, у остальных сортов – 54–66%). В целом, все 3 показателя демонстрировали угнетение по сравнению с контролем, но уверенно дифференцировать сорта на основе этих данных не удалось.

Более информативным оказался вариант с внесением кадмия 50 мг/кг (рис. 6б). В этом случае угнетение развития чувствительных сортов было выражено заметно отчетливее. Устойчивые сорта тоже демонстрировали уменьшение рассмотренных показателей, но в меньшей степени. Наиболее отчетливые различия отмечены для массы зерна. Для чувствительных сортов она составила 22 и 33% от контроля, в то время как для устойчивых – 52 и 73%, при этом наиболее чувствительным оказался сорт Ca 220702, а самым устойчивым – Симфония (разница между ними была более чем в 3 раза). По массе соломы различия между группами контрастных сортов тоже отмечали, но менее заметные. Величина показателя у обоих чувствительных сортов менялась в пределах ошибки (49 и 54%), величина параметра у устойчивого сорта Симфония также укладывалась в этот

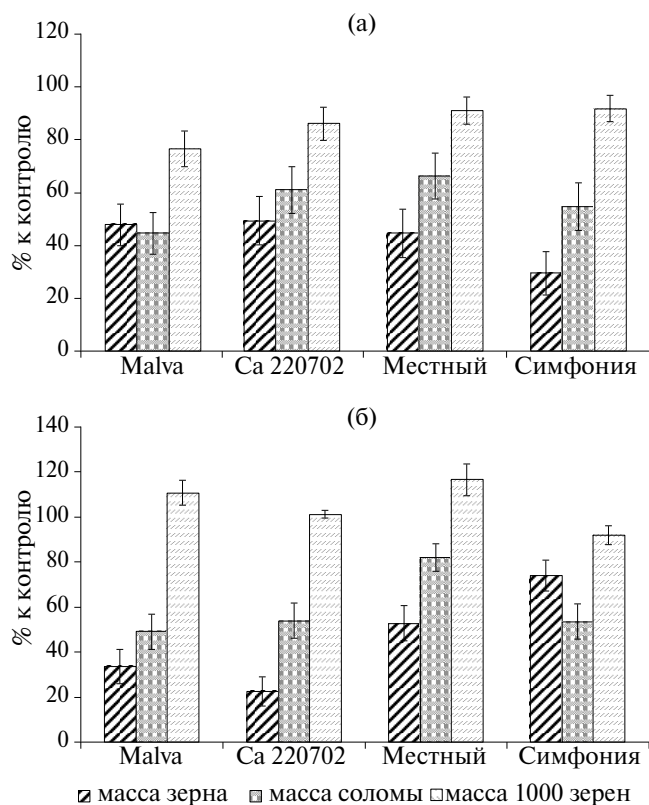


Рис. 6. Влияние загрязнения кадмием на основные показатели продуктивности 4-х сортов ярового ячменя: (а) – 25 мг Cd²⁺/кг, (б) – 50 мг Cd²⁺/кг.

диапазон (53.6%). И только сорт Местный существенно превосходил остальные (82%). Масса 1000 зерен оказалась наименее информативным показателем, и изменения его величины были незначительными. Сорт Местный имел наибольшую величину этого показателя (117%), однако она значимо не отличалась от таковой у чувствительного сорта Malva (111%).

Подводя итог, можно сказать, что доза кадмия 50 мг/кг являлась критической для ячменя при выращивании на дерново-подзолистой почве и позволила уверенно разделить сорта, контрастные по устойчивости к этому ТМ. Не все показатели, характеризующие структуру урожая, оказались одинаково ценными для анализа особенностей воздействия техногенного стресса на продуктивность. По уровню информативности все 3 показателя можно разместить в следующий ряд: масса зерна – масса соломы – масса 1000 зерен. При этом все сорта сохраняли свои свойства как устойчивых, так и чувствительных к кадмию на протяжении всего жизненного цикла растений, и это отражалось на их продуктивности. Доза кадмия (50 мг/кг) еще не вызвала гибели растений, позволяя в большинстве случаев получить урожай. Довольно затруднительно сказать, какой из сортов обладает наибольшей устойчивостью или чувствительностью к кадмию, поскольку рассмотренные показатели реагировали на воздействие ТМ различным

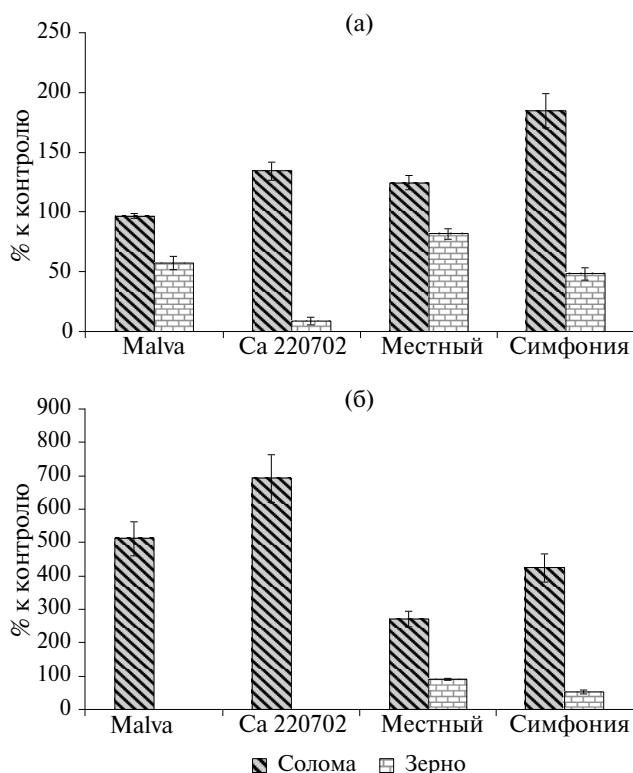


Рис. 7. Содержание кадмия в соломе и зерне 4-х сортов ячменя, контрастных по устойчивости к кадмию: (а) – 25 мг Cd²⁺/кг, (б) – 50 мг Cd²⁺/кг.

образом, и в некоторых случаях результаты могли даже противоречить друг другу. Хотя в целом статус каждого сорта сохранялся.

Оценка содержания кадмия в тканях растений. Результаты анализа содержания ТМ в тканях растений ячменя контрастных по устойчивости к кадмию сортов представлены на рис. 7.

Можно было ожидать, что устойчивые к действию Cd²⁺ сорта имеют тенденцию накапливать вредные ионы в меньшем количестве, чем чувствительные, что в определенной степени и определяет их способность относительно легко переносить стресс и успешно завершать жизненный цикл, дав урожай. В целом можно сказать, что отмеченные в данном случае эффекты вполне соотносились с другими полученными данными и подтверждали высказанное предположение.

По результатам анализа выявлено повышенное накопление кадмия в сухом веществе растений, в первую очередь в соломе (от 1.5- до 8-кратного увеличения содержания ТМ по отношению к таковому в почве в варианте 50 мг Cd²⁺/кг). В то же время переход кадмия в зерно оказался куда меньше, а именно 0.162–0.278% от внесенного в почву количества кадмия (только для устойчивых сортов, у чувствительных урожай получить не удалось). Тем не менее,

накопление кадмия в зерне минимум в 81 раз превышало нормы (0.1 мг/кг), установленные гигиеническими требованиями безопасности продовольственного сырья и продуктов (СанПиН 2.3.2.1078-01).

Отмечено, что, как и с большинством предыдущих показателей, значимые различия между группами контрастных сортов выявлены в вариантах с внесением в почву 50 мг Cd^{2+} /кг. В среднем чувствительные сорта накапливали кадмий в существенно больших количествах, чем устойчивые. В то же время в случае с вариантом 25 мг Cd^{2+} /кг четкой дифференциации как между группами контрастных сортов, так и между отдельными сортами выявить не удалось. Более того, наибольшее накопление ТМ при этой дозе кадмия было отмечено в соломе устойчивого сорта Симфония (хотя с зерном была обратная ситуация, и максимальное накопление кадмия выявлено у чувствительного сорта Malva). Таким образом, отчетливой закономерности вскрыть не удалось, и это свидетельствовало о том, что внутривидовой полиморфизм устойчивости к ТМ наиболее ярко проявлялся при дозах поллютанта, близких к летальным.

На основе полученных данных можно сделать вывод, что формирование внутривидового полиморфизма по устойчивости ячменя к действию кадмия по крайней мере определяется особенностями накопления ТМ в тканях растений. Кадмий активно поступает в организм растения из почвы, накапливаясь в соломе в количестве, значительно превышающем исходное, однако в генеративные органы его переходит существенно меньше. Причем эти закономерности отмечают в первую очередь при внесении в почву высоких доз Cd^{2+} . Вероятно, при меньших концентрациях стрессора защитные системы растений, связанные с селективным поступлением ионов через корень, еще достаточно эффективны в ограничении поступления во внутреннюю среду организма нежелательных веществ. В определенной степени барьерную роль играет и проводящая система растения, ограничивающая поступление кадмия в генеративные органы. Большая эффективность работы этой системы у устойчивых сортов позволяет им успешно завершить жизненный цикл и дать урожай даже в условиях серьезной стрессовой нагрузки. Что касается растений чувствительных сортов, то их развитие в большинстве случаев фактически останавливается в фазе кущения, а колос не образуется совсем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных экспериментальных данных показал, что на всех этапах развития растений ячменя на дерново-подзолистой почве токсическое воздействие кадмия выражено в достаточной степени. При дозе кадмия 25 мг/кг наблюдаемые эффекты

уже обнаруживались, но еще не столь сильно, чтобы проявиться как значимые различия между группами устойчивых и чувствительных сортов. В то же время при дозе 50 мг Cd^{2+} /кг различия становились отчетливыми, было отмечено существенное угнетение чувствительных сортов, в то время как устойчивые относительно успешно переносили токсический стресс. Оценка внешнего вида растений наглядно продемонстрировала внутривидовой полиморфизм ячменя в ответе на действие кадмия. В процессе анализа морфометрических показателей растений ячменя установлено, что при действии кадмия наблюдается подавление развития растительного организма, однако четкой дифференциации между группами контрастных сортов выявить не удалось. Отмечено, впрочем, что Cd^{2+} в дозе 25 мг/кг стимулировал развитие биомассы устойчивых сортов. Аналогичный эффект наблюдали и при дозе 50 мг Cd^{2+} /кг, но только у устойчивого сорта Симфония.

Установлено, что обнаруженная при оценке воздействия кадмия на проростки дифференциация сортов ячменя на устойчивые и чувствительные сохранялась на протяжении всего жизненного цикла растения. Особенно отчетливо она проявилась при анализе показателей продуктивности. Так же, как и при изучении проростков, значимые различия между группами контрастных сортов выявлены при дозе 50 мг Cd^{2+} /кг. Внесение кадмия в указанной концентрации в почву приводило к значительному сокращению урожая чувствительных сортов, в то время как устойчивые сорта хотя и демонстрировали определенное угнетение, но все же в меньшей степени. В целом у чувствительных сортов по сравнению с устойчивыми оказалась меньше и масса соломы. Доза 25 мг Cd^{2+} /кг оказалась недостаточной для развития значимых токсических эффектов и четкого разделения сортов на чувствительные и устойчивые.

Оценка накопления кадмия в надземной биомассе растений ячменя дала следующие результаты. В целом отмечено, что устойчивые сорта склонны накапливать в своих тканях ТМ в меньших количествах, чем устойчивые. Данный эффект проявлялся уже при дозе 25 мг Cd^{2+} /кг и особенно при анализе накопления кадмия в зерне. Что касается соломы, то в этом случае различия были не столь очевидными: например, устойчивый сорт Симфония лидировал по накоплению кадмия в соломе, в то время как в зерне в этом случае содержалось минимальное среди всех 4-х сортов количество ТМ. При дозе 50 мг Cd^{2+} /кг становилось совершенно очевидным, что в тканях чувствительных сортов кадмий накапливался в значительно больших количествах, чем устойчивых. Таким образом, можно полагать, что одна из причин формирования устойчивости к ТМ состоит в том, что у устойчивых сортов более эффективно работают механизмы, препятствующие поступлению токсических ионов в растительный организм.

Оценка биохимических показателей дала более противоречивые результаты. Например, при дозе 25 мг Cd^{2+} /кг изменение содержания пролина не обнаружило отчетливых закономерностей, характеризующих различия в ответе на действие токсического стресса контрастных по устойчивости сортов ячменя. При внесении в почву 50 мг Cd^{2+} /кг содержание данной аминокислоты в тканях возрастало, но нельзя сказать, чтобы у той или иной группы сортов оно было в целом больше или меньше. Лишь чувствительный сорт *Malva* продемонстрировал практически 7-кратный рост содержания пролина по сравнению с контрольным вариантом, значительно превзойдя по этому показателю все остальные сорта. Вероятно, растения этого сорта, будучи высокочувствительными к стрессу, нуждались в активной выработке этого метаболита для преодоления последствий негативных воздействий среды. Что касается содержания МДА, то в этом случае тоже не удалось выявить значимых различий между группами чувствительных и устойчивых сортов — показатели изменялись в пределах ошибки. Можно отметить, что при дозе кадмия 50 мг/кг уровень содержания МДА в тканях растений оказался меньше, чем при дозе 25 мг/кг. Подобные результаты, вместе с наличием четкого разделения особенностей реакции на вызванный кадмием стресс между группами контрастных по устойчивости сортов по продуктивности и морфометрическим показателям, свидетельствовали о том, что устойчивость или чувствительность растений ячменя к кадмию не связана прямо с выработкой пролина или накоплением МДА, а контролируется иными физиолого-биохимическими процессами. Рассмотренные показатели наглядно показали активную реакцию организма на стресс, однако не позволили увязать с ними эффекты устойчивости или чувствительности.

Оценка содержания фитогормонов в надземной биомассе, выполненная для дозы 50 мг Cd^{2+} /кг, дала следующие результаты. Согласно полученным данным, при действии кадмия у растений ячменя сортов Местный и Са 220702 снижались концентрации основного ауксина растений ИУК на 30-е сут развития. На 50-е сут у всех сортов концентрации гормона были меньше контроля, но значимые различия выявлены только у чувствительного сорта *Malva*. Касательно уровней ИМК, то на 30-е сут эксперимента отмечали и рост, и снижение содержания этого гормона у разных сортов независимо от того, устойчивые они или чувствительные. На 50-е сут содержание ИМК снижалось у 3-х сортов, но устойчивый сорт Местный демонстрировал уверенный рост этого показателя. Содержание зеатина оказалось пониженным в обоих рассмотренных вариантах, что могло свидетельствовать об угнетении развития генеративных органов растений при вызванном ТМ стрессе. Содержание АБК были значимо повышено в обеих

фазах онтогенеза у всех сортов, за исключением сорта Са 220702 на 30-е сут эксперимента, хотя и в этом случае уровни содержания АБК заметно возрастали на 50-е сут. На 30-е сут у сортов Са 220702 и Местный увеличивалось содержание салициловой кислоты (СК) в тканях, на 50-е сут она возрастала у всех сортов, и только для сорта Местный это проявлялось в меньшей степени. В целом можно утверждать, что содержание ростовых гормонов сокращалось, а стрессовых — росло. При этом у устойчивых сортов количество стрессовых гормонов возрастало раньше (на 30-е сут), а ростовых на 50-е сут уменьшалось не настолько сильно. При различиях в каждом конкретном случае это в итоге могло способствовать их устойчивости к действию кадмия.

Касательно активности изученных ферментов можно утверждать, что концентрация кадмия в почве 50 мг/мл способствовала изменениям данного параметра. Характер таковых, вероятно, зависит от принадлежности сорта к категории чувствительный/устойчивый и от концентраций АФК в клетках в той или иной фазе вегетации растений. В целом чувствительные сорта Са 220702 и *Malva* демонстрировали меньшую активность антиокислительных ферментов, чем устойчивые, что становилось заметно на 50-е сут эксперимента. В то же время у устойчивых сортов Симфония и Местный отмечали значимое повышение активности гваяколовой пероксидазы относительно контроля. Большая активность таких ферментов способствовала более эффективному преодолению токсического стресса.

Материалы исследования могут быть полезны для сбора исходных данных для решения задач селекции устойчивых к действию тяжелых металлов сортов основных сельскохозяйственных культур. Несомненно и фундаментальное значение работы в рамках углубления понимания феномена устойчивости живых систем к средовому стрессу и механизмов его формирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексахин Р.М., Фесенко С.В., Гераськин С.А. Методика оценки экологических последствий техногенного загрязнения агроэкосистем. М.: Изд-во МГУ, 2004. 206 с.
2. Clemens S. Molecular mechanisms of plants metal tolerance and homeostasis // *Planta*. 2001. V. 212. P. 475—486.
3. Dandan L., Dongmei Z., Peng W., Nanyan W., Xiangdong Z. Subcellular Cd distribution and its correlation with antioxidant enzymatic activities in wheat (*Triticum aestivum*) roots // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2011. V. 74. P. 874—881.
4. Sgherri C., Quartacci M.F., Izzo R., Navari-Izzo F. Relation between lipoic acid cell redox status I wheat

- grown in excess copper // *Plant Physiol. Biochem.* 2002. V. 40. P. 591–597.
5. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: Университет, 2007. 139 с.
6. Correa A.X. da R., Rorig L.R., Verdinelli M.A., Cotellet S., Ferrad J.F., Radecki C.M. Cadmium phytotoxicity: quantities sensitivity relationships between classical endpoints and antioxidative enzyme biomarkers // *Sci. Total Environ.* 2006. V. 357. P. 120–127.
7. Leon A.M., Palma J.M., Corpas F.J., Gomez M., Romero-Puertas M.C., Chatterjee D., Mateos R.M., del Rio L.A., Sandalio L.M. Antioxidative enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium // *Plant Physiol. Biochem.* 2002. V. 40. P. 813–820.
8. Liu X., Zhang S., Shan X.Q., Christie P. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzymes response to cadmium and arsenate co-contamination // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2007. V. 68. P. 305–313.
9. Drazkiewicz M., Skorzynska-Polit E., Krupa Z. The redox state and activity of superoxide dismutase classes in *Arabidopsis thaliana* under cadmium and copper stress // *Chemosphere.* 2007. V. 67. P. 188–193.
10. Baker A.J.M. Metal tolerance // *New Phytol.* 1987. V. 106. P. 93–111.
11. Гераськин С.А., Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. Анализ внутривидового полиморфизма ячменя по устойчивости к действию кадмия // *Агрохимия.* 2021. № 8. С. 49–56.
12. Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. Влияние нитрата свинца на морфологические и цитогенетические показатели растений ярового двурядного ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // *Агрохимия.* 2014. № 7. С. 45–52.
13. Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С., Гераськин С.А. Внутривидовой полиморфизм ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) по устойчивости к действию свинца // *Сел.-хоз. биол.* 2014. № 5. С. 78–87.
14. Журбицкий З.И. Теория и практика вегетационного метода. М.: Наука, 1968. 260 с.
15. Агрохимические методы исследования почв. М.: Наука, 1975. 656 с.
16. Дикарев В.Г., Гераськин С.А., Дикарев А.В., Дикарева Н.С. Сравнительный анализ эффективности использования интеркалярных и апикальных меристем ячменя для биоиндикации генотоксического действия свинца // *Экол. генетика.* 2018. Т. 16. № 3. С. 37–46.
17. 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.
18. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // *Arch. Biochem. Biophys.* 1968. V. 125. № 1. P. 189–198.
19. Биссвангер Х. Практическая энзимология. М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2013. 328 с.
20. Разыграев А.В., Петросян М.А., Базиян Е.В., Полянских Л.С. Исследование активности каталазы в гетеротопиях в экспериментальной модели эндомиотриоза // *Журн. акушер. и женск. болезней.* 2019. Т. 68. № 6. С. 57–63.
21. Paglia D.E., Valentine W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase // *J. Lab. Clin. Med.* 1967. V. 70. № 1. P. 158–169.
22. Шевякова Н.И. Роль γ-аминомасляной кислоты, пролина, цистеина в нейтрализации вредных воздействий на растительный организм // *Физиология растений.* 1983. Т. 30. № 4. С. 768–783.
23. Бритиков Е.А. Биологическая роль пролина. М.: Колос, 1975. 124 с.
24. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Проллин при стрессе: Биологическая роль, метаболизм, регуляция // *Физиология растений.* 1999. Т. 46. № 2. С. 321–336.
25. Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. Исследование фитотоксичности свинца для растений редиса и салата при выращивании на разных типах почв // *Агрохимия.* 2019. № 6. С. 72–80.
26. Bucker-Neto L., Paiva A.L.S., Machado R.D., Arenhart R.A. Interactions between plant hormones and heavy metals responses // *Genet. Mol. Biol.* 2017. V. 40. P. 373–386.
27. Sauer M., Robert S., Kleine-Vehn J. Auxin: simply complicated // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. P. 2565–2577.
28. Sakakibara H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2006. V. 57. P. 431–449.
29. Лутова Л.А., Ежова Т.А., Додуева И.Е., Осипова М.А. Генетика развития растений. СПб.: Наука, 2010. 539 с.
30. Wani S.H., Kumar V., Shriram V., Sah S.K. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants // *Crop. J.* 2016. V. 4. P. 162–176.
31. Vishwakarma K., Upadhyay N., Kumar N., Yadav G. Absciscic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: A Review on current knowledge and future prospects // *Front. Plant Sci.* 2007. V. 8. P. 161.
32. Ding P., Ding Y. Stories of salicylic acid: a plant defense hormone // *Trend. Plant Sci.* 2020. V. 25. № 6. P. 549–565.
33. Khan M.I.R., Fatma M., Per T.S., Anjum N.A. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 462.
34. La V.H., Lee B.-R., Zhang Q., Park S.-H. Salicylic acid improves drought-stress tolerance by regulating the redox status and proline metabolism in *Brassica rapa* L. // *Hortic. Environ. Biotechnol.* 2019. V. 60. P. 31–40.

Varietal Differentiation of Spring Barley in Terms of Cadmium Resistance Based on Morphometric, Biochemical Parameters, and Productivity

A. V. Dikarev^{a, #}, D. V. Dikarev^a, D. V. Krylenkin^a

^a*All-Russian Institute of Radiology and Agroecology of National Research Centre "Kurchatov institute",
Kiev highway, 1, corp. 1, Kaluga region, Obninsk 249035, Russia,*

[#]*E-mail: ar.djuna@yandex.ru*

In the vegetation experiment, with the introduction of Cd^{2+} into sod-podzolic soil at concentrations of 25 and 50 mg/kg, barley of 4 varieties was grown, which, according to the results of a laboratory experiment with seedlings, turned out to be contrasting in resistance to the action of Cd^{2+} . The aim of the work is to find out whether these varieties retain their properties as resistant or sensitive to cadmium not only as a seedling model, but also during the entire plant ontogenesis. The appearance of plants, plant height, biomass, leaf area, enzyme activity associated with plant protection from environmental stress factors, phytohormone content in aboveground biomass, grain weight, straw and 1000 grains, cadmium accumulation in aboveground plant biomass (straw and grain) were evaluated. Significant differences between groups of cadmium-resistant and cadmium-sensitive varieties were revealed in the experimental conditions. In terms of morphometric parameters and productivity when grown on cadmium-contaminated soil, resistant varieties significantly outperformed sensitive ones. These effects were most noticeable at a cadmium dose of 50 mg/kg, and a dose of 25 mg/kg was insufficient for confident differentiation of varieties into sensitive and resistant ones. It was noted that on the 50th day of the experiment, the concentration of stress hormones increased, and growth hormones decreased when 50 mg/kg cadmium was introduced into the soil of. At the same time, the concentration of stress hormones in resistant varieties increased already on the 30th day, and in growth varieties – both on the 30th and on the 50th day, it did not decrease as much as in sensitive ones. There was a high activity of antioxidant enzymes in resistant varieties compared with sensitive ones. Resistant varieties showed generally high productivity when a cadmium dose of 50 mg/kg was applied to the soil. Sensitive varieties accumulated cadmium in aboveground biomass in greater quantities than resistant ones, while the differences became clear when a dose of cadmium of 50 mg/kg was applied. The results of the study confirmed that the differentiation of barley varieties in terms of resistance found during the assessment of the effects of cadmium on seedlings persists throughout the entire plant life cycle and affects yield and other economically valuable characteristics. The data obtained are useful for assessing the consequences of anthropogenic pollution of agrocenoses, the tasks of breeding varieties of main crops with high resistance to cadmium. In addition, the research materials can be used in the development of a methodology for assessing the state of soils contaminated with heavy metals and for environmental rationing tasks.

Keywords: barley, cadmium, intraspecific polymorphism, varieties contrasting in resistance, vegetation experience.

УДК 581.192.16:632.122.1(571.55)

СОДЕРЖАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ИВЫ МИЯБЕ (*Salix miyabeana* SEEMEN), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В РАЙОНЕ ХВОСТОХРАНИЛИЩА ДАРАСУНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ ЗОЛОТА

© 2024 г. В. П. Макаров*

Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН

672014 Чита, ул. Недорезова, 16а, Россия

*E-mail: vm2853@mail.ru

В районе хвостохранилища Дарасунского месторождения золота в Забайкальском крае исследовали содержание 47 химических элементов в листьях ивы Миябе (*Salix miyabeana*), а также их валовое содержание в почве в местах произрастания растений для получения информации о накоплении элементов растением на загрязненных почвах и перспективе использования ивы Миябе в качестве растения-фитоэкстрактора. Анализ растительных и почвенных образцов проводили на масс-спектрофотометре ICP-MS Elan 9000 (Канада). Применяли методику измерений содержания металлов в твердых объектах методом ИСП-МС. Установлено, что валовое содержание в почве Ag, Pb, Cd, Cu, Zn, W, Hg, В и особенно Те, Bi, As и Sb находилось выше кларка земной коры в 2–840 раз. Больше в 1.3–7.0 раз предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) химических веществ находилось валовое содержание в почве As, Zn, Pb, Sb и Cd, а содержание мышьяка превышало установленный предел в 240 раз. Концентрация в листьях ивы Миябе К, Sr, Ti, P, Zn, Ag, As и Cd превышала кларк наземных растений в 1.5–3.0 раза. Обнаружена корреляционная зависимость концентрации Cd, Zn, В, Mn, Ве, Ga и V в листьях ивы Миябе с валовым содержанием этих элементов в почве мест произрастания растения. Элементами-накопителями в растении являлись Se, P, Cd, Zn, В и К. Коэффициент биологического накопления Se составлял от 1 до 40, Cd – 1.1–5.8, Zn – 0.5–2.6. Ива Миябе является перспективным растением для извлечения из загрязненных почв кадмия и цинка.

Ключевые слова: ива *Salix miyabeana*, химические элементы, хвостохранилище Дарасунского месторождения, Забайкальский край.

DOI: 10.31857/S0002188124100094, **EDN:** ANLIZD

ВВЕДЕНИЕ

Дарасунский рудник – горнорудное предприятие по добыче и обогащению руд Дарасунского, Талатуйского и Теремкинского месторождений золота в районе поселка Вершино-Дарасунский Тунгооченского р-на, Забайкальского края.

Для складирования техногенных отходов предприятием с 1927 г. построено несколько каскадов хвостохранилища, которое располагается в 2 км южнее поселка Вершино-Дарасунский, на правом борту долины р. Дарасун. Площадь хвостохранилища ≈ 350 тыс. м². В хвостохранилище сконцентрирована значительная масса хвостов флотации, содержащих золото, серебро, медь, мышьяк. Хвосты содержат, кроме сульфидов, сульфатов, оксидов и гидроксидов железа, свинца, цинка и меди, большое количество различных цианидов: As(CN)₃, S(CN)₂, CuCN, AgCN,

цианидные ацидокомплексы, гомолигандные и гетеролигандные комплексы, которые не растворяются в воде и дают устойчивые соединения [1].

В растворенной части поверхностных вод р. Дарасун ниже по течению после складированных отходов и фабрики обнаружен широкий спектр химических элементов, концентрации которых превышают фоновые и кларковые содержания: Cu, Zn, Cd, Pb, Au, Ag, Tl, Be [2]. Разработка Дарасунского золоторудного месторождения привела к формированию геохимических аномалий, характеризующихся высоким содержанием мышьяка [3].

Приоритетными загрязнителями почв являются свинец, кадмий, медь, цинк, никель, мышьяк. В качестве меры, позволившей улучшить качество среды обитания, рассматривается вторичная переработка сформированных техногенных месторождений с последующей рекультивацией; реабилитация зон

техногенеза путем озеленения загрязненных территорий, завоза экологически чистых грунтов [4].

Одним из методов очистки почв, загрязненных тяжелыми металлами, может быть фиторемедиация. Этот метод заключается в выращивании в течение определенного периода времени на загрязненных почвах специально подобранных видов растений, способных извлекать из почвы тяжелые металлы корневой системой и накапливать их в надземной части, которую впоследствии утилизируют, а процесс может быть повторен до достижения необходимого эффекта.

Известно, что растения могут использоваться для преобразования различных загрязняющих веществ в менее опасные летучие вещества, которые затем выбрасываются в атмосферу. Эта концепция может быть использована для удаления органических загрязнителей, а также тяжелых металлов, включая Se, Hg и As [5]. Согласно исследованиям, *Astragalus racemosus* может превращать Se в диметилдиселенид путем фитоволатилизации, тогда как *Arabidopsis thaliana* может превращать Hg^{2+} в Hg, следовательно повышая летучесть Hg [6]. Наблюдали способность *Pteris vittata* в метаболизме мышьяка превращать его в летучие формы. При фитоволатилизации, сборе урожая или утилизации загрязняющих веществ тяжелые металлы (ТМ) собирались из почвы и распространялись в виде газообразных соединений [7].

В районе исследования, вдоль русла р. Дарасун и на хвостохранилище произрастает на лугах и в составе прирусловых сообществ ива Миябе (*Salix miyabeana* Seemen). Это высокий многоствольный кустарник или небольшое деревце, 5–6 м высотой, с раскидистой кроной. Распространен в Восточной Сибири, Российском Дальнем Востоке, Японии на островах Хоккайдо и Хонсю, Северо-Западной Корее, Северном Китае, рассеяно в Северной Монголии. Встречается по берегам рек и ручьев, в речных долинах, большей частью на аллювиальных почвах, образует заросли. В Сибири произрастает по поймам и берегам рек, на лугах, является эдификатором или соэдификатором пойменных зарослей [8].

Результаты ряда исследований показали эффективное поглощение и удаление растениями ивы Миябе Cd и Zn с загрязненных участков [9–11].

Забайкальский край характеризуется значительным развитием горнодобывающей промышленности, в результате работы которой многие территории нуждаются в реабилитации. В том числе освобождении почвы от высокого содержания токсичных элементов. Исследование ивы Миябе на способность к поглощению токсичных элементов на территориях горнодобывающей промышленности ранее не проводили.

Значительное представительство и успешный рост ивы Миябе на техногенных грунтах, загрязненных ТМ, свидетельствует о ее хорошем жизненном

состоянии и адаптации к экстремальным условиям. Важно исследовать способность растения поглощать из почвы токсичные элементы и перспективу использования ивы для извлечения из грунта ряда токсичных элементов. Цель работы — выяснение способности ивы Миябе к накоплению в надземной части токсичных химических элементов на техногенном грунте в районе хвостохранилища.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в первой декаде июля 2023 г. в районе пос. Вершино-Дарасун. Пробные площади для отбора проб почвы и листьев ивы Миябе расположены на территории хвостохранилища и берегам р. Дарасун, к которым примыкает хвостохранилище (рис. 1).

Отборы почвы и листьев растений были проведены на 7-ми пробных площадях. Абсолютная высота расположения площадей — 740–783 м. Растительный покров в верхнем течении реки — это сохранившиеся, но измененные антропогенной нагрузкой естественные растительные сообщества вблизи поселка Вершино-Дарасунский, луг закустаренный и прирусловое древесно-кустарниковое сообщество. Ниже по течению р. Дарасун и на хвостохранилище растительные сообщества образовались на техногенном грунте (табл. 1).

Отбор почв проводили на глубине 20 см вблизи расположения корневой системы растений в нескольких точках пробной площади. Затем образцы почвы-грунта объединяли в общую пробу для последующего анализа содержания химических элементов и помещали в полиэтиленовые пакеты. На пакетах делали пометки, соответствующие месту отбора проб. На пробных площадях, с 3–5-ти растений ивы Миябе отбирали листья с различных участков ветвей и кроны и помещали смешанную пробу листьев в тканевые мешки. В полевых условиях мешки подсушивали на открытом месте в полутени.

В лабораторных условиях образцы почвы-грунта подсушивали до воздушно-сухого состояния, измельчали, просеивали на почвенном сите с ячейкой 1 мм, затем измельчали с помощью ступки до порошкообразного состояния и отправляли для химического анализа в специализированную лабораторию. Листья растений после высушивания до воздушно-сухого состояния измельчали с помощью кофемолки до порошкообразного состояния и также отправляли в химическую лабораторию.

Анализ почвенных и растительных образцов проводили в лаборатории физико-химических методов исследования Института тектоники и геофизики им. Ю.А. Косыгина. Для анализа почвенных и растительных проб использовали масс-спектрофотометр ICP-MS Elan 9000 (Канада). Методика анализа описана в работе [12].

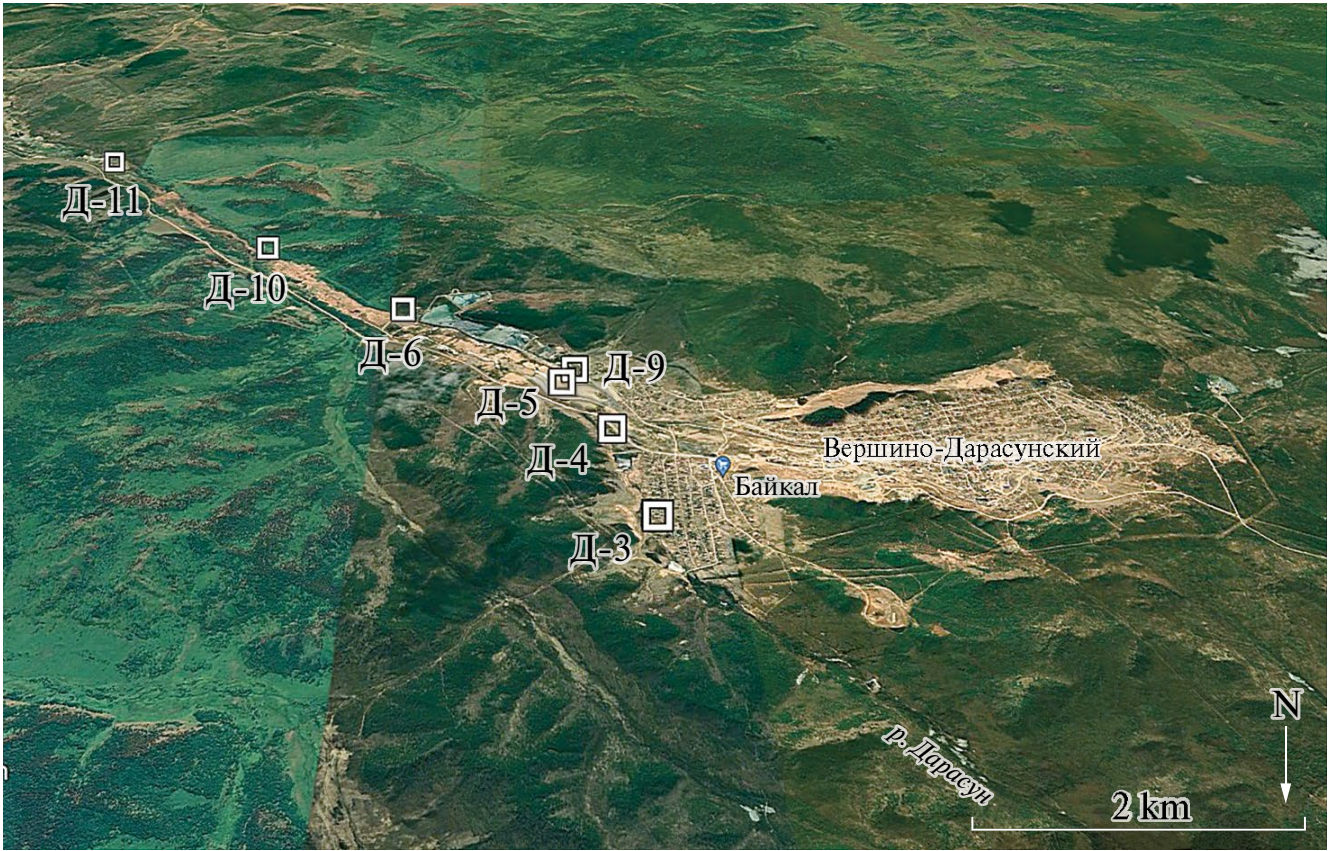


Рис. 1. Схема расположения пробных площадей.
Таблица 1. Характеристика пробных площадей

Номер площади	Координаты, °	Абсолютная высота	Гранулометрический состав почвы	Растительное сообщество	Проективное покрытие ивы Миабэ, %	Средняя высота ивы Миабэ, м
3	52.374623 115.568150	783	Легкий суглинок	Луг закустаренный	<5	2.0
4	52.36383 115.57241	766	Супесь	Прирусловое древесно-кустарниковое	5	5.0
5	52.35693 115.57851	763	Супесь	Рудеральное сообщество	<5	5.0
6	52.34418 115.60142	757	Супесь	Рудеральное сообщество	10	1.5
9	52.35509 115.57670	740	Тяжелый суглинок	Рудеральное сообщество	10	2.5
10	52.33171 115.62442	703	Средний суглинок	Рудеральное сообщество	10	4.0
11	52.31026 115.65759	688	Супесь	Рудеральное сообщество	5	3.0

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание химических элементов в почве. Исследовано содержание в почве 47 химических элементов. В порядке убывания содержания в почве

элементы представлены в табл. 2. Изменчивость содержания в почве большинства элементов была меньше 50%. Большой вариабельностью содержания в почве ($CV, \% > 100$) отличались в порядке убывания следующие элементы: Cu, Bi, As, Pb, Sb и Hg.

Таблица 2. Валовое содержание химических элементов в почве, мг/кг

Элемент	Среднее на нарушенных площадах, $n = 8$	Стандартная ошибка	Min–max	CV , %	Кларк земной коры [13]	Отношение среднего содержания элемента в почве на нарушенных площадах к кларку земной коры, %
Al	65 138	2 640	56 496–6312	11	80 500	81
Fe	36 984	2 538	25 956–5498	19	46 500	80
K	20 429	645	17 977–3620	9	25 000	82
Na	17 818	1860	10 226–5530	30	25 000	71
Ca	10 624	728	8420–14 206	19	29 600	36
Mg	7575	871	3112–10 991	33	18 700	41
Ti	3258	348	1640–5004	30	4500	72
Mn	718	57	466–914	23	1000	72
P	648	77	408–1 066	34	930	70
Ba	628	50	534–958	22	650	97
As*	478	225	17.8–1 836	133	1.7	28 129
Sr	303	34	214–466	32	340	89
Zn*	148	29	55.7–304	56	83	178
Cu*	144	78	1.5–660	154	47	306
Pb*	96.2	37.2	18.4–330.6	109	16	601
V	77.2	4.0	55.3–90.0	15	90	86
Rb	60.6	4.1	42.6–75.7	19	150	40
Ce	50.8	2.9	39.1–61.8	16	70	73
Cr	32.1	3.0	18.3–43.9	26	83	39
Sb*	30.1	11.6	1.3–78.8	109	0.5	6020
Zr	25.3	3.2	9.1–37.2	36	170	15
La	24.4	1.7	16.2–29.8	19	29	84
Li	21.0	2.7	11.8–34.2	36	32	66
Ga	17.3	0.4	15.8–19.4	6	19	91
Ni	15.1	2.8	1.5–29.4	52	58	26
Y	13.6	1.1	6.2–15.5	23	20	68
Co	12.4	1.4	5.9–19.0	33	18	69
B	12.1	3.4	4.2–30.1	79	12	101
Sc	8.0	0.9	2.3–10.6	33	10	80
Nb	6.1	0.5	4.2–8.2	23	20	31
Pr	6.0	0.4	3.9–7.2	18	9	67
Th	5.3	0.8	1.6–7.8	44	13	41
Cs	3.3	0.5	1.1–4.9	41	3.7	89
Bi*	3.1	1.5	0.2–12.3	137	0.009	34 444
W*	2.3	0.7	0.4–6.4	87	1.3	177
Sn	1.8	0.2	0.9–2.3	27	2.5	72
U	1.7	0.3	0.5–3.5	55	2.5	68
Be	1.5	0.1	1.2–1.8	12	3.8	39

Таблица 2. Окончание.

Элемент	Среднее на нарушенных площадях, $n = 8$	Стандартная ошибка	Min–max	CV, %	Кларк земной коры [13]	Отношение среднего содержания элемента в почве на нарушенных площадях к кларку земной коры, %
Ge	1.2	0.0	1.0–1.3	9	1.4	86
Mo	1.1	0.2	0.2–2.4	61	1.1	100
Te*	0.84	0.29	0.03–2.11	96	0.001	84 000
Ag*	0.7	0.2	0.3–2.0	78	0.07	1000
Cd*	0.63	0.12	0.24–1.17	56	0.13	485
Tl	0.49	0.08	0.22–0.78	44	1.0	49
Ta	0.46	0.04	0.34–0.73	27	2.5	18
Hg*	0.13	0.05	0.03–0.42	106	0.083	157
Se	0.001	0.00	0.001–0.001	0	0.05	2

* Элементы, содержание которых на нарушенных площадях значительно превышает кларк земной коры.

По отношению к кларку земной коры исследованные элементы условно разделили на 3 группы: содержание в почве до 50% от кларка, содержание от 50 до 100% и больше 100%. К первой группе относятся в порядке убывания: Tl, Th, Mg, Rb, Cr, Be, Ca, Nb, Ni, Tl, Zr и Se. Ко 2-й группе в том же порядке относятся: Mo, Ba, Ga, Sr, Cs, V, Ge, La, K, Al, Fe, Sc, Ce, Ti, Mn, Sn, Na, P, Co, Y, U, Pr и Li. В последнюю группу вошли Te, Bi, As, Sb, Ag, Pb, Cd, Cu, Zn, W, Hg и В.

Валовое содержание в почве As, Zn, Pb, Sb и Cd было больше в 1.3–7.0 раз предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) химических веществ в почве. Содержание мышьяка превышало установленный предел в 239 раз [14].

Таким образом, самым низким было содержание в почве селена, а наиболее высоким – алюминия. Более других элементов превышало кларк земной коры содержание 3-х элементов – Te, Bi и As. Значительно меньше кларка было содержание в почве Tl, Zr и Se.

В табл. 3 представлены статистически значимые коэффициенты корреляции содержаний в почве элементов из группы превышающей кларк земной коры.

Отрицательная корреляционная связь выявлена между содержанием в почве алюминия, натрия и стронция с другими элементами, представленными в табл. 3. Наибольшее число связей образовали с элементами цинк, сурьма и свинец.

Содержание химических элементов в листьях ивы Миябе. Среднее содержание химических элементов

в листьях ивы Миябе в порядке убывания представлено в табл. 4.

Из макроэлементов отмечено максимальное содержание калия, минимальное – натрия. Из числа микроэлементов высокой концентрацией в листьях растений отличался цинк. Обнаружено минимальное накопление теллура, таллия, тантала и германия в листьях ивы Миябе.

Варьирование содержания в листьях большинства представленных в таблице элементов не превышало 100%. Однако изменчивость содержания таких элементов, как Ag, Bi, Nb, Th и Sn, была значительно больше этой величины.

Содержание большинства элементов было меньше 50% среднего содержания в наземных растениях. Содержание было от 50 до 100% от кларка Ba, Fe, La, Ni, Li, Sc, Sb и Co. Значительно превышало кларк наземных растений, в 1.5–3.0 раза, содержание K, Sr, Ti, P, Zn, Ag, As и Cd в листья ивы Миябе.

Получена статистически достоверная корреляционная зависимость содержания ряда элементов в листьях ивы Миябе с содержанием этих элементов в почве мест произрастания растений. В число таких элементов входят Cd, Zn, В, Mn, Be, Ga и V (табл. 5).

Несмотря на высокое содержание в почве Cu, Hg, Pb и Sb, накопление их в листьях ивы Миябе не превышало средних показателей для наземных растений. Это свидетельствовало о барьерных функциях ивы по отношению к этим элементам. И, напротив, высокое содержание в почве Cd, As и Zn отразилось на транслокации этих элементов в листья ивы. В то

Таблица 3. Корреляция между содержаниями элементов в почве (коэффициент корреляции Пирсона)

Элемент	Al	Fe	Na	Mg	P	Mn	As*	Zn*	Pb*	Sr	Cu	Sb*	Cr
As*	−0.79		−0.82		0.85	0.81							
Zn*	−0.85	0.72	−0.92		0.84	0.88	0.96						
Pb*	−0.75	0.67	−0.80		0.89	0.77	0.99	0.95					
Sr								−0.75					
Cu*	−0.67		−0.75		0.88	0.72	0.97	0.92	0.99				
Sb*	−0.92		−0.85	0.67	0.74	0.90	0.92	0.93	0.88	−0.74	0.81		
Cr								0.70				0.67	
Sc								0.67					
B*	−0.86			0.76		0.85		0.70				0.80	0.75
Cs								0.79					
Bi*	−0.75		−0.79		0.84	0.79	0.99	0.95	0.99		0.99	0.88	
Sn								0.75					
U							0.74	0.70	0.79		0.80		
W*	−0.80			0.81		0.84		0.69				0.73	0.76
Ag*	−0.79	0.77	−0.77		0.85	0.78	0.97	0.95	0.98		0.97	0.86	
Mo							0.89	0.89	0.89		0.90	0.77	
Te*	−0.92	0.67	−0.84	0.74	0.80	0.93	0.93	0.95	0.89	−0.68	0.84	0.98	0.68
Cd*	−0.90	0.84				0.70	0.86	0.86	0.84		0.80	0.86	
Tl							0.74	0.86	0.68			0.89	
Hg*	−0.74	0.68	−0.76		0.82	0.80	0.95	0.93	0.94		0.96	0.84	

* Содержание элементов, превышающее кларк земной коры.

Таблица 4. Концентрация химических элементов в листьях ивы Миабэ, мг/кг

Элемент	Средняя концентрация в наземных растениях [13]	Среднее $\bar{X} \pm m$	Стандартная ошибка	Min–max	CV, %	Отношение среднего содержания элемента в растениях на нарушенных площадях к кларку, %
K*	14 000	20 331.0	907.0	15 471.0 – 23 866.0	13	145
Ca	18 000	5608.0	386.0	3828.0–7118.0	21	31
P*	2300	4334.0	218.0	3479.0–5348.0	15	188
Mg	3200	1492.0	68.3	1127.0–1815.0	14	47
Zn*	100	250.3	47.81	44.1–427.0	57	250
Fe	140	99.7	12.02	58.9–166.0	36	71
Mn	630	60.8	11.55	17.3–127.0	57	10
Sr*	26	44.5	7.72	18.2–93.5	52	171
Al	0.5–4000	26.1	5.84	8.6–61.3	67	5220–0.65
B	50	11.2	0.56	9.1–13.9	15	22
Ba	14	8.0	2.59	1.2–23.8	97	57
Na	1200	5.4	1.08	0.38–10.8	60	0.45

Таблица 4. Окончание

Элемент	Средняя концентрация в наземных растениях [13]	Среднее $\bar{X} \pm m$	Стандартная ошибка	Min–max	CV, %	Отношение среднего содержания элемента в растениях на нарушенных площадах к кларку, %
Cu	14	4.9	0.53	2.42–7.5	33	35
Rb	20	3.9	0.95	1.13–10.0	73	20
Ni	3	2.3	0.38	0.84–4.0	49	77
Cd*	0.6	1.9	0.64	0.37–5.5	98	317
Ti*	1	1.8	0.49	0.58–5.3	81	180
Cr*	0.23	0.58	0.02	0.500–0.73	12	252
As*	0.2	0.56	0.13	0.090–1.25	67	280
Co	0.5	0.479	0.172	0.14–1.76	108	96
Pb	2.7	0.23	0.09	0.001–0.71	112	9
Ag*	0.06	0.155	0.09	0.003–0.65	150	258
Mo	0.9	0.152	0.025	0.04–0.27	49	17
Ce	—	0.096	0.027	0.04–0.25	86	—
Li	0.1	0.081	0.017	0.02–0.19	62	81
La	0.085	0.060	0.017	0.02–0.16	87	71
Sb	0.06	0.056	0.009	0.02–0.09	47	93
Zr	0.64	0.043	0.015	0.001–0.13	106	7
V	1.6	0.036	0.011	0.001–0.08	90	2
Y	—	0.028	0.008	0.01–0.08	90	—
Ga	0.06	0.023	0.004	0.01–0.05	48	38
Se	0.2	0.020	0.004	0.001–0.04	65	10
Pr	—	0.012	0.003	0.004–0.03	86	—
Bi	0.06	0.012	0.011	0.001–0.1	275	20
W	0.07	0.011	0.004	0.001–0.04	117	16
Sc	0.008	0.007	0.003	0.001–0.02	108	88
Cs	0.2	0.007	0.001	0.002–0.01	55	4
Hg	0.015	0.005	0.001	0.001–0.01	93	33
U	0.038	0.004	0.001	0.0002–0.01	102	11
Nb	0.02	0.004	0.003	0.001–0.03	229	20
Th	—	0.003	0.002	0.001–0.02	204	—
Sn	0.3	0.002	0.001	0.001–0.01	150	0.7
Be	14	0.002	0.001	0.001–0.01	123	0.01
Te	—	0.001	0.00	0.001–0.001	0	—
Tl	—	0.001	0.00	0.001–0.001	0	—
Ta	—	0.001	0.000	0.001–0.001	0	—
Ge	—	0.001	0.000	0.001–0.001	0	—

* Элементы, содержание которых в листьях ивы Миябе превышает кларк наземных растений.

Таблица 5. Корреляционная связь содержания элементов в листьях ивы Миябе с содержанием элементов в почве (коэффициент корреляции Пирсона) и коэффициент биологического поглощения элементов

Элемент	Корреляция между содержанием элементов в растениях и содержанием их в почве	Коэффициент биологического поглощения	Стандартная ошибка	Min–max
Se	0.00	20.1*	4.3	1.0–40.0
P	–0.20	7.65*	0.96	3.98–11.65
Cd	0.67*	2.73*	0.67	1.19–5.76
Zn	0.78*	1.63*	0.25	0.51–2.57
B	0.72*	1.51*	0.255	0.44–2.31
K	0.20	1.01*	0.05	0.73–1.15
Cu	0.23	0.549	0.303	0.008–2.344
Ca	–0.52	0.541	0.056	0.299–0.746
Ag	0.05	0.250	0.180	0.010–1.350
Mg	0.18	0.234	0.039	0.126–0.516
Ni	0.14	0.218	0.052	0.046–0.579
Mo	0.35	0.173	0.033	0.054–0.381
Sr	–0.31	0.163	0.038	0.052–0.437
Mn	–0.73*	0.100	0.026	0.019–0.221
Hg	0.27	0.079	0.035	0.004–0.333
Rb	–0.03	0.068	0.018	0.018–0.193
Co	–0.002	0.042	0.015	0.012–0.152
Cr	0.56	0.019	0.002	0.015–0.033
Sb	–0.14	0.016	0.007	0.0003–0.063
Ba	0.59	0.012	0.004	0.002–0.036
As	–0.08	0.011	0.005	0.000–0.034
Te	0.00	0.011	0.004	0.001–0.033
Bi	–0.40	0.010	0.008	0.000–0.062
W	–0.13	0.010	0.005	0.001–0.043
Pb	–0.46	0.009	0.004	0.000003–0.039
Li	0.65	0.004	0.001	0.001–0.007
Fe	0.28	0.003	0.0004	0.002–0.005
Tl	0.00	0.003	0.000	0.003–0.003
U	–0.01	0.003	0.001	0.0001–0.010
Be	0.68*	0.002	0.001	0.001–0.006
Ce	0.64	0.002	0.0005	0.001–0.004
Cs	0.15	0.002	0.001	0.0004–0.005
La	0.65	0.002	0.001	0.001–0.005
Pr	0.54	0.002	0.000	0.001–0.004
Sc	–0.56	0.002	0.001	0.0001–0.009
Ta	0.00	0.002	0.000	0.001–0.003
Y	0.24	0.002	0.001	0.001–0.006
Zr	0.36	0.002	0.001	0.0001–0.005

Таблица 5. Окончание

Элемент	Корреляция между содержанием элементов в растениях и содержанием их в почве	Коэффициент биологического поглощения	Стандартная ошибка	Min–max
Ga	0.82*	0.001	0.000	0.001–0.003
Ge	0.00	0.001	0.000	0.001–0.001
Nb	0.32	0.001	0.000	0.0001–0.004
Sn	0.33	0.001	0.000	0.0004–0.005
Th	–0.05	0.001	0.000	0.0001–0.003
Ti	0.16	0.001	0.0001	0.0001–0.002
Al	0.08	0.0004	0.0001	0.0001–0.001
V	0.80*	0.0004	0.0001	0.00001–0.001
Na	–0.03	0.0003	0.0001	0.00004–0.001

* Статистически достоверные коэффициенты корреляции.

же время коэффициент биологического накопления (КБН) мышьяка был очень низким.

К элементам-накопителям относятся Se, P, Cd, Zn, В и К. В основном это биогенные элементы, влияющие на ростовые процессы, фотосинтетическую деятельность, зимостойкость, засухоустойчивость и продуктивность растений.

Исключением является кадмий, который считается токсичным элементом для растений, и основная причина токсичности связана с нарушением энзиматической активности. Элемент эффективно поглощает как корневая система, так и листья. Установлено также, что хлорофилл обладает способностью концентрировать Cd в растительных тканях. Почти во всех случаях отмечают линейную корреляцию между содержанием Cd в растительном материале и в среде роста. Выявлены большие различия в способности видов растений поглощать этот элемент. Известно, что большая часть Cd аккумулируется в тканях корней, даже если он попадает в растения через листья. Содержащийся в растениях кадмий представляет наибольшую опасность, т.к. может служить источником поступления в организмы человека и животных. Обычно наблюдают взаимодействие Cd с Zn [15]. Цинк и кадмий включены в гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания в почве населенных мест и сельскохозяйственных угодий [14].

В нашем исследовании обнаружено взаимодействие кадмия с цинком ($r = 0.82$), а также с кальцием ($r = 0.78$), хромом ($r = 0.73$), марганцем ($r = -0.71$) и фосфором ($r = -0.74$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что валовое содержание As, Zn, Pb, Sb, Cd в почве хвостохранилища Дарасунского месторождения золота превышает в 1.3–240 раз предельно допустимую концентрацию (ПДК) и ориентировочно допустимую концентрацию (ОДК) химических веществ, установленные санитарными правилами и нормами по обеспечению безопасности для человека факторов среды обитания.

В листьях ивы Миябе, произрастающей в районе хвостохранилища, содержание K, Sr, Ti, P, Zn, Ag, As и Cd превышало средние показатели этих элементов в наземных растениях в 1.5–3.0 раза.

Выявлена статистически достоверная корреляционная связь содержания Cd, Zn, В, Mn, Be, Ga и V в листьях ивы Миябе с валовым содержанием этих элементов в почве мест произрастания растения. Коэффициент биологического накопления Zn на пробных площадях находился в пределах от 0.5 до 2.6, Cd – от 1.2 до 5.8.

Ива Миябе на загрязненных токсичными элементами почвах является перспективным растением для извлечения из почвы кадмия и цинка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кочев Д.В., Шумилова Л.В. Применение спектральных водных индексов на хвостовом хозяйстве Дарасунского рудника по данным дистанционного зондирования Земли программы Landsat // Вестн. Забайкал. Гос. ун-та. 2023. Т. 29. № 2. С. 45–60.
2. Юркевич Н.В., Бортникова С.Б., Саева О.П., Корнеева Т.В. Гидрохимические аномалии в районе

- складирования сульфидных отходов золотодобычи (пос. Вершино-Дарасунский, Забайкальский край). Геологическая эволюция взаимодействия воды с горными породами // Мат-лы 4-й Всерос. научн. конф. с международ. участием (Улан-Удэ, 17–20 августа 2020 г.). Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2020. С. 282–285.
3. Михайлова Л.А., Солодухина М.А., Алексеева О.Г., Бурлака Н.М., Лана С.Э. Гигиеническая оценка содержания химических веществ в почве горно-промышленных районов Забайкальского края // Гигиена и санитария. 2019. Т. 98. № 4. С. 400–410.
 4. Мязин В.П., Михайлютина С.И. Комплексная оценка влияния техногенного загрязнения объектов внешней среды на здоровье населения Восточного Забайкалья // Вестн. Забайкал. гос. ун-та. 2006. №. 4. С. 37–42.
 5. Yan A., Wang Y., Tan S. N., Mohd Yusof M. L., Ghosh S., Chen Z. Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land // Front. Plant Sci. 2020. V. 11. P. 359.
 6. Awa S.H., Hadibarata T. Removal of heavy metals in contaminated soil by phytoremediation mechanism: a review // Water Air Soil Pollut. 2020. V. 231. № 2. P. 47.
 7. Sakakibara M., Watanabe A., Inoue M., Sano S., Kaise T. Phytoextraction and phytovolatilization of arsenic from As-contaminated soils by *Pteris vittata* // Proceed. of the annual inter. Conf. on soils, sediments, water and energy. 2010. V. 12. № 1. P. 26.
 8. Флора Сибири. Т. 5. Salicaceae — Amaranthaceae. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-е, 1992. 312 с.
 9. Harada E., Hokura A., Nakai I., Terada Y., Baba K.I., Yazaki K., Mizuno T. Assessment of willow (*Salix* sp.) as a woody heavy metal accumulator: field survey and in vivo X-ray analyses // Metallomics. 2011. V. 3. № 12. P. 1340–1346.
 10. Beauchamp S., Jerbi A., Frenette-Dussault C., Pitre F.E., Labrecque M. Does the origin of cuttings influence yield and phytoextraction potential of willow in a contaminated soil? // Ecol. Engin. 2018. № 111. P. 125–133.
 11. Dagher D.J., Pitre F.E., Hijri M. Ectomycorrhizal fungal inoculation of *sphaerospora brunnea* significantly increased stem biomass of *Salix miyabeana* and decreased lead, tin, and zinc, soil concentrations during the phytoremediation of an industrial landfill // J. Fungi. 2020. V. 6. № 2. P. 87.
 12. ПНД Ф 16.1:2.3:3.11-98 Методика выполнения измерений содержания металлов в твердых объектах методом ИСП-МС. URL: <https://ohranatruda.ru/upload/iblock/19e/4293777593.pdf> (дата обращения: 23.02.2024).
 13. Войткевич Г.В., Кокин А.В., Мирошников А.Е., Прохоров В.Г. Справочник по геохимии. М.: Недра, 1990. 480 с.
 14. СанПиН 1.2.3685-21. URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (дата обращения: 23.02.2024).
 15. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях: Пер. с англ. М.: Мир, 1989. 439 с.

Concentration of Chemical Elements in the Leaves of the *Salix miyabeana* Seemen, Growing in the Area of the Tailings Dam of the Darasun Gold Deposit

V. P. Makarov[#]

*Institute of Natural Resources, Ecology and Cryology SB RAS,
ul. Nedorezova 16a, Chita 672014, Russia*

[#]*E-mail: vm2853@mail.ru*

In the area of the tailings dam of the Darasun gold deposit in the Trans-Baikal Territory, the content of 47 chemical elements in the leaves of the Miabe willow (*Salix miyabeana*), as well as their gross content in the soil in places where plants grow, were studied to obtain information about the accumulation of elements by the plant on contaminated soils and the prospect of using Miabe willow as a phytoextractor plant. The analysis of plant and soil samples was carried out on an ICP-MS Elan 9000 mass spectrophotometer (Canada). The method of measuring the metal content in solid objects by the ISP-MS method was used. It was found that the gross content of Ag, Pb, Cd, Cu, Zn, W, Hg, B and especially Te, Bi, As and Sb in the soil was 2–840 times higher than the clark of the Earth's crust. The total content of As, Zn, Pb, Sb and Cd in the soil was 1.3–7.0 times higher than the maximum permissible concentrations (MPC) and approximately permissible concentrations (APC) of chemicals, and the arsenic content exceeded the established limit by 240 times. The concentration of K, Sr, Ti, P, Zn, Ag, As and Cd in the leaves of the Miabe willow exceeded the clark of terrestrial plants by 1.5–3.0 times. A correlation was found between the concentration of Cd, Zn, B, Mn, Be, Ga and V in the leaves of the Miabe willow with the gross content of these elements in the soil of the plant's growing sites. The storage elements in the plant were Se, P, Cd, Zn, B and K. The coefficient of biological accumulation of Se ranged from 1 to 40, Cd – 1.1–5.8, Zn – 0.5–2.6. Miabe willow is a promising plant for extracting cadmium and zinc from contaminated soils.

Keywords: willow *Salix miyabeana*, chemical elements, tailings dam of Darasunskoye field, Trans-Baikal Territory.

УДК 631.46:556.5:632.95:632.154

УПРАВЛЕНИЕ МИКРОБНЫМ БЛОКОМ БИОГЕОХИМИЧЕСКОГО КРУГОВОРОТА ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ В АГРОЭКОСИСТЕМАХ. СООБЩЕНИЕ 1. МИКРОБНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ПЕСТИЦИДОВ

© 2024 г. В. Н. Башкин^{1,*}, Р. А. Галиулина²¹*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН
142290 Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 2, Россия*²*Институт фундаментальных проблем биологии РАН
142290 Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 2, Россия
E-mail: vladimirbashkin@yandex.ru

Рассмотрены процессы минерализации ксенобиотических органических соединений и их включения в биогеохимический круговорот, что осуществляется за счет их биохимических (микро-биологических) превращений. Оценено состояние пестицидов в почве и потенциал их деградации. Показаны особенности микробиологической трансформации и деградации пестицидов в почвах, природных водах и донных отложениях. Охарактеризованы физико-химические и биологические свойства агроэкосистем, влияющие на трансформацию хлорорганических пестицидов. Дан исторический экскурс в проблему микробной трансформации пестицидов и представлено современное состояние изученности данной проблемы.

Ключевые слова: хлорорганические пестициды, дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), гексахлорциклогексан (ГХЦГ), метаболиты, микробная трансформация, почвенные факторы, поверхностные воды, донные отложения.

DOI: 10.31857/S0002188124100104, **EDN:** ANJKNN

ВВЕДЕНИЕ

В 2024 г. исполняется 80 лет со дня рождения известного ученого, д.г.н. Рауфа Валиевича Галиулина, многие годы проработавшего в Пушкинском научном центре РАН. Галиулин Р.В. — автор многочисленных научных публикаций в журнале «Агрохимия» и других смежных изданиях в области агрохимии, экотоксикологии и агрогеохимии стойких органических поллютантов и, прежде всего, хлорорганических пестицидов (ХОП), таких как ДДТ и ГХЦГ.

ДДТ (4,4-дихлордифенилтрихлорэтан) является одним из стойких органических загрязнителей, который широко использовали с 1940-х гг. в качестве инсектицида для борьбы с малярией и вредителями растений. Несмотря на то что этот препарат был запрещен с 1970 г., ДДТ и его метаболиты по-прежнему повсеместно присутствуют в окружающей среде и оказывают негативное воздействие на здоровье человека. Известно, что в прошлом ДДТ и гексахлорциклогексан (ГХЦГ) в значительных количествах применяли в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов, т.е. химических препаратов, предназначенных для борьбы с различными вредными насекомыми

(жучелицей хлебной, совкой кукурузной, пьявицей рисовой, блошкой свекловичной, молью капустной, жуком картофельным, молью яблоневой, листоверткой виноградной и др.). Например, за более чем 50 лет было применено свыше 5 млн т ДДТ. Повторное применение ДДТ для борьбы с комарами было рекомендовано Всемирной организацией здравоохранения в 2007 г. После запрещения ДДТ в большинстве стран мира с 1970 г. и резкого сокращения использования ГХЦГ с 1986 г. место их наиболее интенсивного применения (из-за низкой стоимости и достаточной эффективности) переместилось в развивающиеся страны Азии, Африки и Латинской Америки. ДДТ, ГХЦГ и другие стойкие пестициды до сих пор обнаруживаются в почвах агроландшафтов, поэтому необходимо продолжать изучать особенности аккумуляции и миграции этих соединений в различных экологических и биогеохимических цепях (почва — вода — человек, почва — вода — растение — человек, почва — вода — растение (фураж) — домашнее животное — человек) в целях снижения их негативного воздействия на человека. Следовательно, происходит миграция пестицидов из почвы к человеку через воду, используемую

для питья, и продукты растительного и животного происхождения. Риск поступления данных пестицидов в организм человека заключается в том, что они могут вызывать злокачественные новообразования, приводить к спонтанным абортam, мертворождениям, врожденным уродствам и другим патологиям [1].

Соответственно, исследования проблемы загрязнения окружающей среды такими стойкими хлорорганическими инсектицидами, как ДДТ и ГХЦГ, сохраняют свою актуальность и в настоящее время. Об этом свидетельствуют продолжающийся мониторинг их остатков в почвах и поверхностных водах и разработка экспрессных методов анализа. Главной причиной обнаружения остатков данных инсектицидов в окружающей среде является их необычайно высокая стойкость, характеризуемая величиной T_{99} , которая, по нашим расчетам, для отдельного природно-экономического региона изменяется в пределах 14–142 лет в зависимости от почвенных условий.

Загрязнение почв сельскохозяйственных угодий и многолетних насаждений другими пестицидами носит, как правило, ситуационный характер и не имеет таких масштабов и стабильности, как для стойких хлорорганических препаратов. Продолжающееся обнаружение остатков ДДТ и ГХЦГ в окружающей среде в виде исходных соединений, основных метаболитов и изомеров наводит на мысль о необходимости реконструкции загрязнения почв как депонирующей среды наземных экосистем и поверхностных вод, транзитной среды водных экосистем по данным их мониторинга. Это важно для полномасштабного представления экотоксикологической ситуации в конкретном природно-экономическом регионе и принятия при необходимости профилактических или ремедиационных мер в отношении весьма опасных для человека остатков ДДТ и ГХЦГ. Данные [2] свидетельствуют о высокой канцерогенности остатков ДДТ. При пероральном их введении частота рака печени, карциномы легких, злокачественных лимфом у подопытных животных (мышей, крыс и хомяков) существенно повышалась. К канцерогенным веществам отнесены также альфа- и бета-изомеры ГХЦГ. Кроме того, ДДТ и ГХЦГ причислены к носителям и предшественникам диоксинов — более опасным для человека веществам, вызывающим в клетке те же изменения, что и ионизирующее излучение. Персистентность и токсичность ДДТ составляет основу предлагаемой величины — экотокса, позволяющего проводить сравнение опасности загрязнения почв тем или иным пестицидом; при этом экотокс ДДТ принят за единицу [3].

Известно, что пестициды в наземных экосистемах в основном накапливаются в почве, куда они либо непосредственно помещаются (при допосадочном, довсходовом или послеvсходовом внесении), либо

поступают с протравленными семенами или с атмосферными осадками, поливной водой и т.п.

Большинство пестицидов участвует в почвообразовательном процессе: они сорбируются почвенным адсорбирующим комплексом, связываются с органическим веществом, перераспределяются по почвенному профилю, трансформируются и минерализуются под действием почвенных микроорганизмов и т.д. [4].

В ряде случаев появление пестицидов в почве приводит к положительным педогеохимическим аномалиям [5], которые характеризуются повышенным содержанием этих ксенобиотиков по сравнению с их фоновыми или предельно допустимыми концентрациями. Эти аномалии могут занимать различные по размеру участки и сохраняться в течение некоторого времени в зависимости от условий самоочищения почвы. По размерам территории следует уметь различать, например, региональные аномалии, характерные для природных зон в случае повсеместного применения пестицидов, и локальные аномалии, отражающие биогеохимические особенности в непосредственной близости от предприятия-производителя пестицидов или случайного выброса препаратов.

В связи с этим для успешного решения задач, связанных с рекультивацией почв, загрязненных пестицидами, требуется четкое представление об особенностях микробиологической трансформации и деградации пестицидов. Известно, что микробиологическая трансформация и деградация пестицидов обуславливают истинное самоочищение почв от этих ксенобиотиков, в результате чего образуются простые неорганические соединения (CO_2 , NH_3 , N_2 , H_2O , минеральные соли и др.), т.е. происходит биоремедиация почв, загрязненных пестицидами. Современные теории, законы и модели в основном касаются отдельных аспектов микробиологической трансформации и деградации пестицидов в почве.

Особое внимание было уделено исследованиям, касающимся так называемого концептуального биогеохимического моделирования. Такие модели представляют собой схематические, символические описания системы или подсистемы как совокупности: 1 — сфер, аккумулирующих ксенобиотик и характеризующихся соответствующей качественной информацией о поведении или биогеохимическом статусе ксенобиотика, 2 — потоков, которые переносят ксенобиотик из одной сферы в другую в процессе миграции, 3 — звеньев биогеохимической пищевой цепи. Считается, что концептуальные модели природных объектов и процессов представляют собой первый шаг к организации и интеграции эмпирического материала и позволяют сформировать представление об изучаемом объекте как о системе тесно связанных переменных. Кроме того, такие модели могут быть основой разработки и верификации математических

моделей. Особо следует отметить необходимость понимания того факта, что эти ХОП уже включаются в природные биогеохимические циклы в первую очередь под воздействием микробов [6]. Важно определить факторы, связанные с микробной трансформацией пестицидов в почвах и природных водах в процессах их биогеохимического круговорота [7].

Цель работы — разработка приемов управления микробной трансформацией ХОП в различных агроэкосистемах.

МИКРОБНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ПЕСТИЦИДОВ

При рассмотрении проблемы микробной трансформации пестицидов прежде всего необходимо создание концептуальной модели данного биогеохимического процесса. Это может позволить реконструировать загрязнение почв и поверхностных вод ДДТ и ГХЦГ по данным их мониторинга в различных природно-экономических регионах. В целом микробиологическую трансформацию и деградацию пестицидов в почве, поступающих в эту среду

различными путями, можно представить в виде концептуальной модели (рис. 1).

Под превращением понимают структурную модификацию химического вещества и деградацию — образование продуктов трансформации, которые структурно проще исходного соединения из-за действия микроорганизмов. Трансформация и деградация большинства пестицидов в почвах тесно связаны с жизнедеятельностью микрофлоры. Поэтому важно рассматривать почву прежде всего как среду обитания микроорганизмов, чтобы вывести критерии оценки микробиологической трансформации и деградации пестицидов. Наблюдают также включение ХОП в биогеохимические циклы. В результате происходит самоочищение почвы от этих ксенобиотиков, приводящее в конечном итоге к образованию простых неорганических соединений. Взаимодействие микроорганизмов с пестицидами выражается, с одной стороны, в атаке микробных клеток на молекулы пестицидных соединений, а с другой стороны, во влиянии последних как физиологически активных соединений на клетки. Потенциал трансформации и деградации пестицидов под влиянием микроорганизмов в почве зависит от так называемого статуса



Рис. 1. Концептуальная модель управления микробиологической трансформацией пестицидов в почве.

пестицидного соединения, т.е. доступного или недоступного для микробных клеток.

Следует выделить 2 группы факторов, определяющих микробиологическую трансформацию и деградацию пестицидов в почве: естественные, обусловленные определенными почвенно-климатическими условиями, и антропогенные, связанные с особенностями применения пестицидов, а также сопутствующим влиянием других вносимых агрохимикатов. В связи с этим возникает проблема выбора между этими двумя группами возможно управляемых факторов для микробиологической реабилитации почв, загрязненных остатками пестицидов. Трансформация и деградация большинства пестицидов в почве тесно связаны с жизнедеятельностью микрофлоры, поэтому для выведения критериев этих процессов крайне важно рассматривать почву прежде всего как среду обитания.

Почва как среда обитания микроорганизмов. Почва является важнейшим звеном биогеохимического круговорота. Она представляет собой систему, в которой развитая твердая фаза сосуществует с жидкой и газообразной фазами. Важнейшее значение имеет также и наличие живой фазы почвы, биоты в разных ее проявлениях, и прежде всего в виде микробиоты. Твердые частицы и агрегаты делят почву на многочисленные микрозоны. Из-за микроскопических

размеров микробных клеток (от долей микрона до десятков микрон) они населяют микроокружение, исчисляемое сотнями и тысячами на 1 г почвы. Рассмотрена модель структурного грунта (горизонта Аj), свободного от живых растений и беспозвоночных, и состоящего из агрегатов, органического вещества, водных пленок, внутри- и межагрегатных пор и микроорганизмов (рис. 2).

Микробы существуют на поверхности почвенных агрегатов и в межагрегатном пространстве. Развитие микроорганизмов на поверхности агрегата возможно: 1 – в почвенном растворе, 2 – в пленочной воде с микробами, свободно плавающими или адсорбированными на поверхности твердых частиц, и 3 – в капиллярах разного радиуса с клеточным статусом, сходным таковым в пленочной воде. Микроорганизмы могут развиваться и в микроскоплениях органического вещества. Внутри агрегатов микробы могут располагаться в более тонких пленках и капиллярах. В целом подвижность микроорганизмов в почве низкая, поэтому считается, что миграция с водными потоками по каналам, образованным корнями растений или почвенной фауной, является основным механизмом перемещения микробов в верхнем слое почвы [8].

Особенности микробиологической трансформации и деградации пестицидов. Пестициды подвергаются

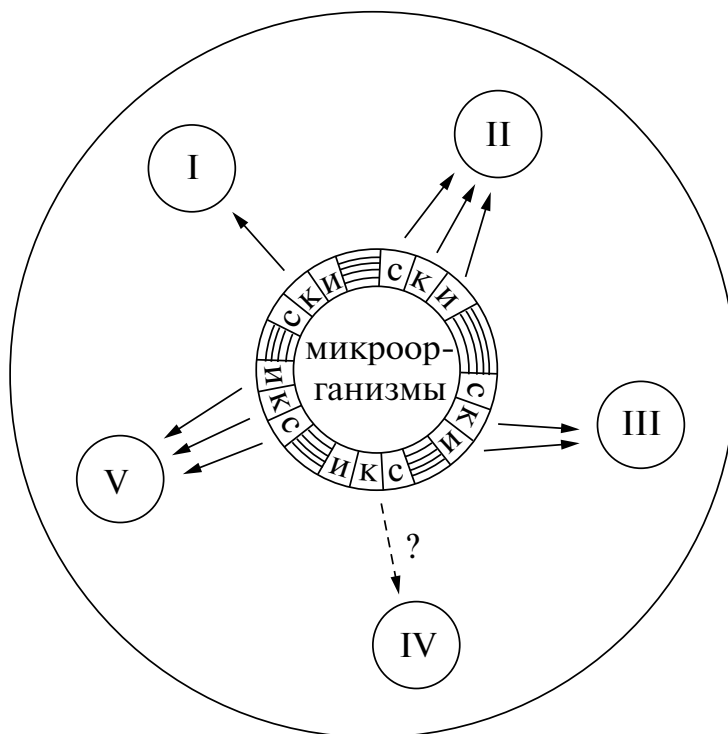


Рис. 2. Схема взаимодействия микроорганизмов и пестицидов в почве: С – свободные клетки в почвенном растворе; К – колонии, пленки, группы микроорганизмов на поверхности почвенных частиц; И – микроорганизмы, иммобилизованные в органоминеральных гелях и структурных элементах почвы; I – пестициды (частицы, капли, пленки); II – пестициды в растворе; III – физически связанные пестициды; IV – пестициды в межпакетном пространстве глинных минералов; V – химически связанные пестициды.

разложению в почве под действием химических факторов (гидролиза и окисления), различных микроорганизмов (бактерий, грибов и актиномицетов) и фауны, что в конечном итоге приводит к образованию простых неорганических соединений.

Принято рассматривать трансформацию и деградацию пестицидов под действием микроорганизмов вместе с метаболизмом природных веществ (органических остатков), происходящим различными путями: при полной минерализации, микробном синтезе и гумификации.

В то же время не исключена относительно быстрая деградация некоторых пестицидов до их конечных продуктов. Однако это справедливо для простейших пестицидов, которые структурно схожи с природными веществами. Результаты балансового эксперимента представили доказательства того, что микроорганизмы могут быть основной причиной исчезновения некоторых пестицидов из почвы. Установлено, что до 80–85% общего остаточного пропанила (в качестве исходного гербицида и его метаболита 3,4-дихлоранилина) в почве метаболизировалось микроорганизмами и почвенными ферментами в период вегетации культур при умеренном солнечном облучении, около 5% загрязняющих веществ были прочно зафиксированы почвенными коллоидами. Было обнаружено, что неферментативный гидролиз и окисление не

имеют большого значения для исчезновения изученных ксенобиотиков.

Однако еще в 1970-х гг. Головлева и Головлев выдвинули гипотезу о том, что большинство микроорганизмов способно только трансформировать молекулы пестицидов, а экологическая деградация пестицидов происходит под синергетическим действием многочисленных организмов и абиотических факторов. Трансформация большинства пестицидов сопровождается накоплением медленно разлагающихся метаболитов. Причина стойкости пестицидов в почве, как правило, заключается в отсутствии условий, благоприятных для микробной деградации. Важнейшими из них являются следующие: доступность пестицидов для микробных ферментов, что зависит от сорбции ксенобиотиков частицами почвы и коллоидами, наличие органических соединений, способных служить энергетическими субстратами для микрофлоры, влагосодержание, аэрация, температура, pH почвы и т.п. Микробиологическое разложение ксенобиотика в почве, как правило, зависит от индукции соответствующей ферментативной системы в потенциально активных микроорганизмах. Адаптированная таким образом микробная популяция размножается на новом источнике углерода и постепенно разлагает молекулу ксенобиотика до CO_2 , H_2O и других простых соединений. Другой механизм микробной трансформации или деградации некоторых ксенобиотиков включает трансформацию других,

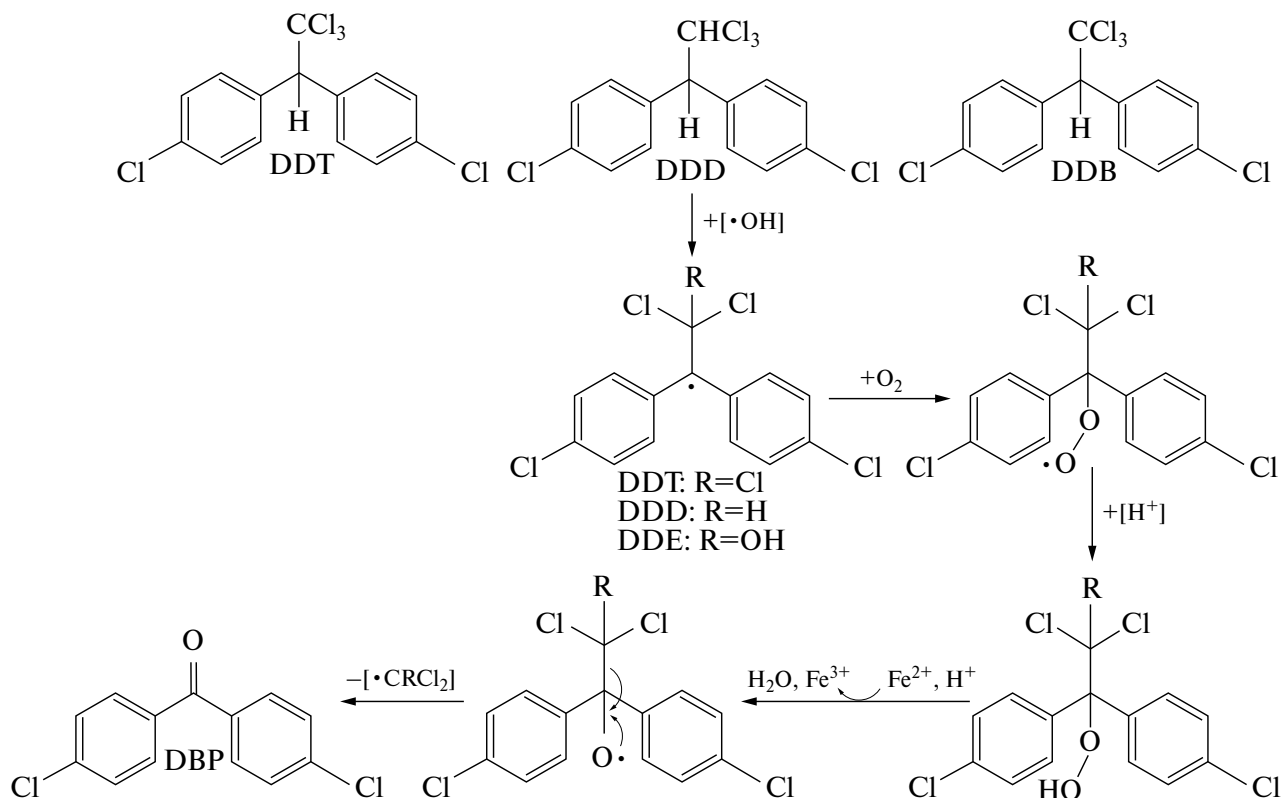


Рис. 3. Трансформация DDT ($\text{R} = \text{Cl}$), DDD ($\text{R} = \text{H}$) или DDE ($\text{R} = \text{OH}$) в DBP в реакции Фентона [10].

более легкодоступных субстратов (ко-субстратов) таким образом, чтобы их метаболизм стимулировал разложение ксенобиотиков. Это явление называется ко-окислением, или совместным метаболизмом [9].

В случае ДДТ его трансформация может быть представлена следующей схемой (рис. 3).

Важным является и видовая спецификация микроорганизмов. Сообщали [11–15], что *Daedalea dickinsii*, один из видов гриба бурой гнили (**BRF**), обладает способностью разлагать ДДТ с помощью реакции Фентона. *D. dickinsii* может разлагать ДДТ примерно на 47% в картофельном бульоне с декстрозой (**PDB**) после 14-суточного инкубационного периода. Однако степень разложения ДДТ *D. dickinsii* по-прежнему невелика и требует длительного времени инкубации. Следовательно, процесс необходимо усовершенствовать путем модификации культуры таким образом, чтобы повысить способность *D. dickinsii* разлагать ДДТ. Были разработаны модифицированные методы усиления биоремедиации. Смешанные культуры грибов и бактерий обладают наибольшим потенциалом из-за их способности разлагать сложную смесь органических загрязнителей в загрязненных агроэкосистемах. В некоторых исследованиях биоремедиации с использованием смешанных культур грибов и бактерий сообщали, что добавление бактерий может увеличить способность грибов к разложению. Например, добавление бактерий, продуцирующих биосурфактанты, таких как *Bacillus subtilis* и синегнойной палочки, усиливало биodeградацию ДДТ за счет *Pleurotus ostreatus*. Кроме того, добавление *B. subtilis* также усиливало разложение ДДТ *Phlebia brevispora*. Внесение *B. subtilis* ускоряло биodeградацию ДДТ грибом бурой гнили *Fomitopsis pinicola* [14].

Удаление различных органических поллютантов, включая ароматические соединения, из почвы может быть увеличено с 20 до 73% путем добавления *Ralstonia pickettii* и *P. aeruginosa* к *Penicillium* sp. при культивировании в качестве со-культур. Известно также, что *R. pickettii* обладает способностью к восстановлению некоторых органических загрязнителей, таких как хлорбензол, нефть и ВТЕХ23-26 [16, 17].

Кроме того, *R. pickettii* также обладает способностью продуцировать биосурфактант [18]. Биосурфактанты могут повышать растворимость ДДТ и оптимизировать процесс его разложения. При исследовании влияния *R. pickettii* на биodeградацию ДДТ *D. dickinsii* показано, что добавление 10 мл *R. pickettii* к культуре *D. dickinsii* привело к наибольшему разложению ДДТ – ~68.6%. Этот результат был больше, чем при разложении ДДТ только *D. dickinsii* (~53.6%), а при добавлении 10 мл *R. pickettii* – только на 19.8% [21].

Оценивая различные ассоциации почвенных микроорганизмов, способных к биоразложению ХОП, важно знать и наличие таких микроорганизмов

в почвах, в которые не вносили в предыдущем эти препараты. Соответственно, была изучена возможность биodeградации ДДТ почвенными микроорганизмами путем обогащения и выделения биоразлагающих ДДТ микроорганизмов из почв без предшествующего внесения ДДТ. Микроорганизмы из культивируемых и невозделываемых почв росли в среде с минимальным содержанием ДДТ (100 частей на миллион) в качестве единственного источника углерода. Шесть бактерий, закодированных как изоляты 101, 102, 103, 104, 105 и 110, разлагали ДДТ до 1,1-дихлор-2,2-бис (*n*-хлорфенил)этана (ДДД). Ни один из изолятов не разлагал ДДТ до 1,1-дихлор-2,2-бис(*n*-хлорфенил)этилена (ДДЭ). Дegrадация при смешанной культуре 6-ти изолятов была выше (82.6%), чем у любого отдельного изолята, диапазон которого составлял 28.5–58.1%. Идентичность изолятов была определена с помощью биохимических, морфологических, физиологических и молекулярных методов. Изолят 101 принадлежал к роду *Bacillus*, изоляты 102 и 110 принадлежали к роду *Staphylococcus*, в то время как изоляты 103, 104 и 105 группировались с представителями рода *Stenotrophomonas*. Это исследование показало, что в почве имеются микроорганизмы, способные разлагать ДДТ, и что скорость разложения зависит от присутствия и количества микробов в почве с требуемой способностью к разложению, факторов окружающей среды и доступа микробов к ДДТ [19].

Изучены механизмы микробной трансформации ДДТ функциональными бактериями в 2-х разных почвах Китая: Haiyan (**HY**) and Chenghai (**CH**). Показали, что микробиологическая деятельность оказала устойчивое дехлорирующее воздействие на ДДТ и его метаболиты (ДДх). Добавление лактата или глюкозы в качестве источников углерода увеличивало количество бактерий *Desulfuromonas*, *Sedimentibacter* и *Clostridium*, что приводило к увеличению адсорбированного Fe(II) и скорости трансформации ДДТ. Происходило увеличение отрицательного потенциала почвы за счет переноса электронов от бактерий к ДДТ. Более того, бактерий, разлагающих ДДТ, в почве **CH** было больше, чем в почве **HY**, что привело к более высокой трансформации ДДТ. Наиболее стабильным соединением DDх оказался 1,1-дихлор-2,2-бис(*n*-хлорфенил)этан, который также является основным метаболитом дехлорирования ДДТ, а также 1-хлор-2,2-бис-(*n*-хлорфенил)этан и 4,4'-дихлорбензофенон. Установлено, что они являются конечными метаболитами в анаэробных почвах [20].

ФАКТОРЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ И ДЕГРАДАЦИИ ПЕСТИЦИДОВ

Самоочищение почвы от пестицидов, в том числе их микробиологическая трансформация и деградация, определяются следующими факторами:

- физико-химическими параметрами пестицида (молекулярной массой, растворимостью в воде, летучестью и др.);
- пестицидной нагрузкой (частотой обработки и нормой внесения);
- климатическими условиями (средней температурой воздуха, общим количеством осадков и т.п.);
- почвенными и другими параметрами (содержанием гумуса, величиной pH, текстурой, содержанием соединений фосфора и азота, составом микрофлоры, типом покровной культуры, типом пестицида в почве, средней температурой почвы, влажностью почвы и др.).

Биологическая трансформация и деградация пестицида в почве зависят от его химического состава, физико-химической формы, концентрации, заселенности активной почвенной биотой, активности специфических почвенных ферментов, химических параметров почвы и других факторов среды. Хотя биологические превращения пестицидов обычно связывают только с функционированием почвенной микрофлоры, простейшие (микрофауна) и почвенные беспозвоночные (мезофауна) также могут играть важную роль, по крайней мере для некоторых соединений. Вклад почвенных экзоферментов в эти процессы еще требует изучения.

Оценка дегидрогеназной активности почвы при взаимодействии пестицидов с микроорганизмами. Взаимодействие пестицидов с почвенными микроорганизмами происходит в 2-х основных процессах токсического действия данных ксенобиотиков как физиологически активных соединений на микрофлору и их микробиологической трансформации, что в целом проявляется через изменение дегидрогеназной активности почвы.

Токсическое действие пестицидов на микрофлору заключается в нарушении механизма синтеза ее ферментов, замедлении и остановке метаболизма, задержке роста и развития, что приводит к дезорганизации клеток и их гибели. Кроме того, пестициды при попадании в почву могут блокировать ферменты путем образования комплекса “пестицид–фермент” и выводить их из реакции с субстратом, нарушая тем самым определенные биохимические процессы. Последующее восстановление ферментативной активности почвы происходит за счет жизнедеятельности микроорганизмов, устойчивых к использованным дозам пестицидов. Для 2-го процесса характерна трансформация пестицида при использовании его микроорганизмами в качестве источника углерода и (или) азота, а также превращение ксенобиотика, связанное со стимулирующим влиянием метаболизма более доступных субстратов (ко-субстратов). При этом важное значение имеет наличие условий, способствующих микробиологической трансформации

пестицидов, а именно их доступность ферментам микроорганизмов, которая определяется степенью сорбции ксенобиотиков почвенными частицами и коллоидами, наличие ко-субстратов, а также влажность почвы, ее аэрация, температура и pH.

Адекватным отражением описанного функционального состояния микрофлоры при загрязнении почвы пестицидами может стать ее дегидрогеназная активность, которая на 95% обусловлена ферментами живой микрофлоры, что подтверждено, например, тем фактом, что почва, подверженная действию стерилизующей гамма-радиации, практически теряет способность к образованию этого фермента.

Результаты экспериментов, проведенных с образцами выщелоченного чернозема, обработанными гербицидами линуроном и прометрином, а также инсектицидом ГХЦГ в дозах 5–50 мг/кг, показали, что относительно более растворимый в воде и одновременно более стойкий линурон оказывал более продолжительное ингибирование дегидрогеназной активности — до 6.2 мес. по сравнению с менее растворимыми и стойкими прометрином и ГХЦГ — до 3.7–5.5 мес. Это могло указывать на выраженную во времени перестройку метаболизма микробных клеток в зависимости от токсичности ксенобиотиков. Следует также отметить, что если депрессия какого-либо функционального состояния микрофлоры под действием пестицида, характеризующаяся в данном случае снижением ее дегидрогеназной активности, будет продолжаться свыше 2-х мес., то влияние ксенобиотика оценивается как критическое.

В лабораторных условиях при испытании действия гербицида хлорсульфурина в концентрации 0.009 мг/кг, соответствующей рекомендуемой для применения в сельскохозяйственной практике дозе и увеличенной в 10 раз, на дегидрогеназную активность 3-х различных типов почв показано, наибольшее и продолжительное (60 сут) ингибирующее влияние гербицид при обеих дозах оказывал на ферментативную активность иллювиально-луговой почвы (гумус — 0.9%, pH_{H₂O} 6.0 ед.), чем на активность серой лесной почвы (гумус — 2.2%, pH_{H₂O} 6.2 ед.) и особенно выщелоченного чернозема (гумус — 2.6%, pH_{H₂O} 7.9 ед.). Дегидрогеназная активность иллювиально-луговой почвы составляла в период наблюдения 7–60 сут всего 57–69 и ~29–65% от контроля соответственно при минимальной и максимальной дозах хлорсульфурина. Такой ингибирующий эффект гербицида объясняется относительно низкой его сорбцией при внесении данных доз и поэтому большей возможностью взаимодействия ксенобиотика с микроорганизмами, обуславливающих дегидрогеназную активность.

Анализ динамики содержания гербицида монолинурина ($C_0 = 50$ мг/кг) и его основного метаболита — 4-хлоранилина ($C_0 = 50$ мг/кг) в серой лесной почве

(Московская обл.) и ее дегидрогеназной активности показал снижение этих показателей со временем. Это значит, что по мере утилизации ксенобиотиков микробными клетками и накопления метаболитов скорость роста микроорганизмов тормозилась — культура вступала в фазу замедления роста и поэтому снижалась дегидрогеназная активность почвы. Аналогичная зависимость между рассматриваемыми показателями была получена в ряде опытов с выщелоченным черноземом и ГХЦГ ($C_0 = 5$ мг/кг), лугово-аллювиальной почвой и 2,4-Д при концентрациях 50 и 100 мг/кг, а также с серой лесной почвой и 4-хлоранилином ($C_0 = 100$ мг/кг) при 30 и 45°C.

Дегидрогеназная активность почвы является четким отражением взаимодействия пестицидов с микроорганизмами, что выражается в ее адекватной реакции на токсическое действие ксенобиотиков на микрофлору и на их микробиологическую трансформацию. Дегидрогеназная активность почвы проявляет высокую чувствительность к относительно более растворимым в воде и одновременно более стойким пестицидным соединениям, зависит от их концентрации, температуры почвы, коррелирует с убылью содержания пестицидов в пределах биологического оптимума их трансформации. Данный биохимический показатель предлагают использовать при экологической оценке внедряемых в сельское хозяйство новых средств химической защиты растений.

В качестве другого примера оценки активности микроорганизмов при мониторинге состояния ХОП в почвах является использование микрофототрофов, с помощью которых определяют сравнительную чувствительность различных видов к действию пестицидов [21] и, наоборот, сравнительную токсичность различных пестицидов. Например, использование альгологически чистой культуры цианобактерий (ЦБ) *Nostoc muscorum* для тестирования почвенной вытяжки позволило выстроить ряд токсичности пестицидов старого и нового поколений, имеющего вид по мере нарастания токсичности: ДДТ > гексахлорбензол = круйзер > симазин = дивидендстар > гербитокс = пивот. В последнем случае использование ЦБ как тест-организмов опирается на методику определения жизнеспособности клеток по их дегидрогеназной активности с использованием 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ). ТТХ, акцептируя мобилизованный дегидрогеназой водород, превращается в 2,3,5-трифенилформазан, имеющий красную или малиновую окраску, образуя кристаллы в живых клетках [22].

Данный метод оказался универсальным для определения степени токсичности различных поллютантов, включая и пестициды. Используя несколько штаммов ЦБ рода *Nostoc*, определили уровень токсичности почвы при ее хроническом загрязнении пестицидами (в районе полигона их захоронения),

а также в серии модельных опытов с использованием пестицидов, применяемых в современном сельском хозяйстве [23]. Одновременные опыты с открытой наземной модельной экосистемой и в полевых исследованиях, проведенные в различных европейских странах — Германии, Нидерландах, Великобритании и Португалии, показали, что по величине индуцированного субстратного дыхания, дегидрогеназной и фосфатазной активности, а также по включению тимидина в микробные клетки, т.е. при проведении кольцевого тестирования, можно установить уровень влияния пестицидов, вычленив опасные дозы [24]. В научной литературе приведены многочисленные примеры трансформации различных пестицидов под действием микроорганизмов в определенных условиях и определенных почвах. Например, хлорорганические препараты (ДДТ) под действием микрофлоры подвергаются глубокому разложению с расщеплением ароматических колец. Однако эффективность самоочищения окружающей среды от ДДТ не всегда достаточна вследствие малочисленности популяций разлагающих его микроорганизмов. Другое хлорорганическое соединение — гамма-изомер ГХЦГ — в клетках микроорганизмов метаболизируется в конечном итоге до фенолов, которые затем подвергаются разрушению с полной деструкцией молекулы. Факторами, влияющими на деградацию такого пестицида, как 2,4-Д, являются композиционный состав и количество микроорганизмов в почве, зависящие от глубины слоя, а также температура, которая определяет скорость роста микроорганизмов. При этом показано, что скорость деградации 2,4-Д и количество бактерий в почве в зависимости от глубины слоя коррелируют с изменением количества в почве органического углерода [25–27].

Влияние физико-химических факторов. Факторы и параметры, влияющие на биологическую трансформацию и деградацию пестицидов в обрабатываемой почве, можно подразделить на первичные (температура почвы, влажность и водорастворимое органическое вещество) и вторичные (аэрация почвы и связанный с ней окислительно-восстановительный потенциал, величина pH, текстура и минералогический состав дерна, особенности культур, органические удобрения, агротехника). Можно определить содержание влаги в почве, аэрацию, окислительно-восстановительный потенциал, pH, питательные вещества (энергетический субстрат) и температуру как “шесть волшебных факторов”, контролирующих биодеградацию ксенобиотиков *in situ*.

Наиболее полную картину совокупного влияния факторов окружающей среды на биологическую трансформацию и деградацию пестицидов можно получить из экограмм. На рис. 4 представлена экограмма деградации 3,4-дихлоранилина (метаболита некоторых фениламидных гербицидов) в дерново-бледно-подзолистой почве (Беларусь)

при нормальных температурах и влажности. Показано ранжирование этих факторов, когда из почвы исчезло 50 и 95% ксенобиотика.

Оптимальная площадь, соответствующая наиболее быстрой деградации ксенобиотика, со временем уменьшается, что может быть связано с дальнейшим функционированием деструктивных микроорганизмов в более узком диапазоне температур и влажности почвы. Известно, что уровень влажности почвы определяет не только оптимальные условия для развития микроорганизмов, но и воздушный режим почвы. Доля связанных пестицидов всегда уменьшается с увеличением влажности почвы, а для большинства соединений — с повышением ее температуры.

Взаимодействие микроорганизмов и пестицидов. Современные пестициды, как правило, представляют собой органические соединения, мало растворимые в воде. Соответственно химические средства защиты растений используют в виде эмульгируемых концентратов, смачиваемых порошков, дуста, гранул и капсул. Размер частиц препарата в почве варьируется от нескольких микрон до нескольких миллиметров. В настоящее время можно считать

доказанным, что распределение пестицидов в почве имеет дискретный характер при любом способе применения. Уже были представлены обобщенные схемы, отражающие формирование микрофлоры в почве, обработанной пестицидами [28]. Различают 2 основных типа микробного распределения вокруг частиц пестицида. Первый тип характерен для пестицидов с широким спектром токсичности. В этом случае вокруг частиц пестицида образуется стерильная зона, и на некотором расстоянии от них начинается развитие микроорганизмов. Стерильная зона со временем уменьшается, и микроорганизмы проникают внутрь. Это связано с микробной адаптацией микробов и снижением концентрации пестицидов из-за диспергирования, сорбции и разложения. Второй тип микробного распределения характерен для пестицидов с узким селективным действием. В этом случае вокруг частиц пестицидов отсутствуют стерильные зоны, а последние оказываются окружены микроколониями и пленками микроорганизмов. По мере накопления микробной массы происходит трансформация и деградация вещества. Считается, что превращение этих пестицидов в почве в водорастворимые продукты опосредовано микробными экзoferментами.

Также предложена модель распределения микроорганизмов и их действия на пестициды в почве, включающая 3 формы микробного распределения:

- свободные клетки в почвенном растворе;
- колонии, пленки и группы микроорганизмов на поверхности частиц почвы;
- микроорганизмы, иммобилизованные в органико-минеральных гелях и структурных элементах почвы.

Пестициды в то же время существуют в почве в 5-ти формах: в виде частиц, капель и пленок, в виде растворенных форм, как физически связанные системы, как формы в межрешеточном пространстве глинистых минералов и как химически связанные системы.

Предполагают, что микроорганизмы в любой форме распространения способны атаковать как пестициды в почвенном растворе, так и их химически связанные формы. Микроорганизмы, локализующиеся на поверхности частиц почвы, действуют как на пестицидные препараты, так и на их физически связанные формы. В последнем случае также задействованы обездвиженные микроорганизмы. Предполагают, что аналогичные механизмы деградации пестицидов существуют как в почвенном растворе, так и в жидкой микробной культуре. Деградация сорбированных пестицидов зависит от скорости их десорбции в почвенный раствор, физико-химических свойств препарата, минералогического состава почвы, содержания гумуса. Пестициды, вклинивающиеся в межрешеточное пространство

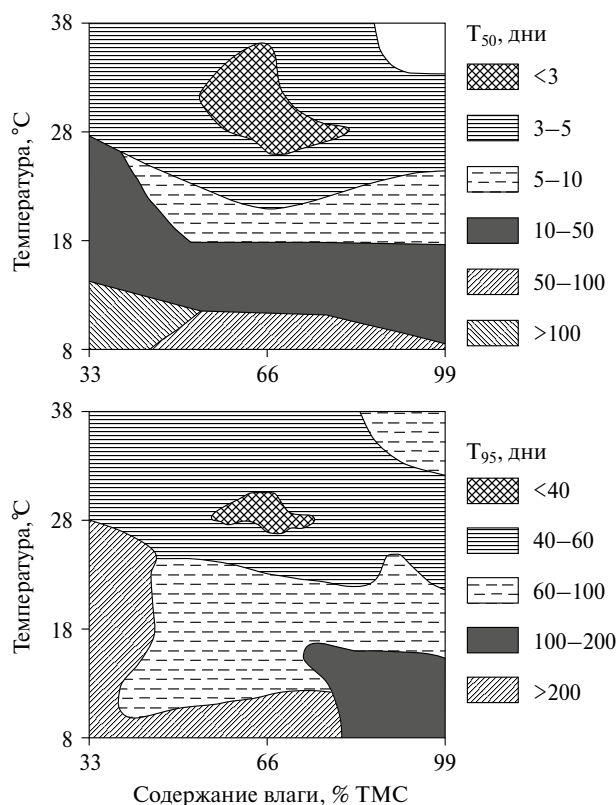


Рис. 4. Экограммы трансформации и деградации 3,4-дихлоранилина ($C_0 = 50$ мг/кг) в дерново-подзолистой почве (Беларусь). T_{50} и T_{95} являются периодами трансформации и деградации ксенобиотиков на 50 и 95% соответственно. ТМС — суммарная влагоемкость.

глинистых минералов, практически недоступны для микроорганизмов.

О важности распределения бактерий в почве для биodeградации ксенобиотиков можно судить, используя различные модели, например [28]. Два упрощенных сценария (с отдельными микробными клетками, равномерно распределенными по всему почвенному телу, и одинаковым количеством клеток, объединенных в колонии, 1000 клеток на колонию) показали, что частота столкновений (ударов) молекулы ксенобиотика с почвенными микробами является функцией распределения клеток.

Считается, что многие бактерии, участвующие в разложении ксенобиотиков, демонстрируют положительный хемотаксис (т.е. они движутся в сторону более высокой концентрации разлагаемого соединения). Существует и негативный хемотаксис, при котором мицеллярные формы микроорганизмов (гифы грибов и актиномицетов) “обходят” частицы различных пестицидов. Возможно, последний случай более распространен и играет более важную роль во взаимодействии этих микроорганизмов с пестицидами.

Еще в конце 20-го века была представлена модель [29], в которой описан ксенобиотик, распределенный между твердой, жидкой и газообразной фазами и микроорганизмами в почвенном растворе или адсорбированный на частицах почвы. Эта модель показала свою работоспособность. Она определяет сложное взаимодействие между микробами и ксенобиотиком. Концентрации ксенобиотика в системах твердая фаза—почвенный раствор и почвенный раствор—почвенный воздух находятся в динамическом равновесии. Предположили, что доля микробиологической деградации ксенобиотика определяется его растворением или степенью его улетучивания. Ксенобиотик в почве не только сорбируется в твердой фазе или растворяется в жидкой фазе, но и связан с органическим веществом, главным образом с гуминовыми веществами в поровом растворе. Считается, что биологическая доступность и, следовательно, микробиологическая трансформация ксенобиотика являются функциями его концентрации в жидкой фазе почвы, поскольку только растворенные молекулы ксенобиотиков могут легко проходить через биологические мембраны. Биологическая доступность ксенобиотика значительно снижается из-за его сорбции твердой фазой почвы. Аналогичное предположение использовано и в другой гипотезе [30], согласно которой как биологическая доступность пестицидов в почве, так и их токсическое действие на организмы определяются только концентрацией пестицидов в поровом растворе. Доступное содержание пестицидов в жидкой фазе почвы может быть охарактеризовано с помощью коэффициента распределения в системе почва—вода, рассчитанного для долевого (%) содержания органического

вещества в определенном типе почвы. Исходя из этого, пестициды группируются по их доступности в 14 классов. Пестициды, концентрация которых в поровом растворе составляет $>75\%$ от их общего содержания в почве, относятся к 1-му классу; соединения, концентрация которых в поровом растворе $<0.01\%$, причисляют к пестицидам 14-го класса.

Механизм деградации (гидролиза) некоторых гербицидов включает в себя следующие компоненты: продукты деградации ксенобиотика, вещество на почвенном поглотителе и вещество в почвенном растворе, последние два находятся в динамическом равновесии. Гидролиз снижает концентрацию гербицидов в почвенном растворе, что приводит к десорбции вещества из почвенного поглотителя. Данная модель может быть применена к соединениям, легко разлагаемым обычной почвенной микрофлорой или при наличии признаков деградации отдельного ксенобиотика специфической микрофлорой. Эта модель хорошо согласуется с результатами эксперимента, проведенного с легко разлагающимся гербицидом 2,4-Д. Установлено, что при повторном извлечении почвенного раствора (центрифугированием) из одних и тех же образцов (после предварительного увлажнения почвы водой до 70% ППВ — суммарной влагоемкости) выделялось дополнительное количество ксенобиотика. Эта часть гербицида была классифицирована как “резервная”, или обратимо сорбируемая, форма, которая постепенно просачивалась в жидкую фазу почвы по мере разложения ранее извлеченного 2,4-Д. Применение высокоскоростного центрифугирования ($>16\,000$ об./мин) значительно сократило время, необходимое для естественной десорбции вещества из почвенного поглотителя.

Соответственно трансформация и деградация пестицидов в почве может быть представлена в виде 4-фазной системы (рис. 5).

Относительно нелетучие пестициды могут существовать в почве до полного исчезновения в следующих формах: в твердой фазе в виде пестицидов, иммобилизованных частицами почвы, в жидкой фазе почвы, не связанной с ее органоминеральными коллоидами. Ксенобиотик в капиллярной влаге наиболее доступен для микробов, поскольку микробы в почвах, илах и грунтах развиваются в капиллярах, заполненных водным раствором. Пестициды и продукты их превращения, сорбированные твердой фазой, не подвергаются действию почвенных микроорганизмов и экзоферментов до их перехода в почвенный раствор при нарушении сорбционно-десорбционного равновесия. Поэтому, чем больше поглощение пестицида почвой, тем меньше степень его деградации (при прочих равных условиях). Биологическая трансформация и разложение пестицида происходят в почве только тогда, когда пестицид не оказывает ни угнетающего, ни нарушающего действия на деятельность

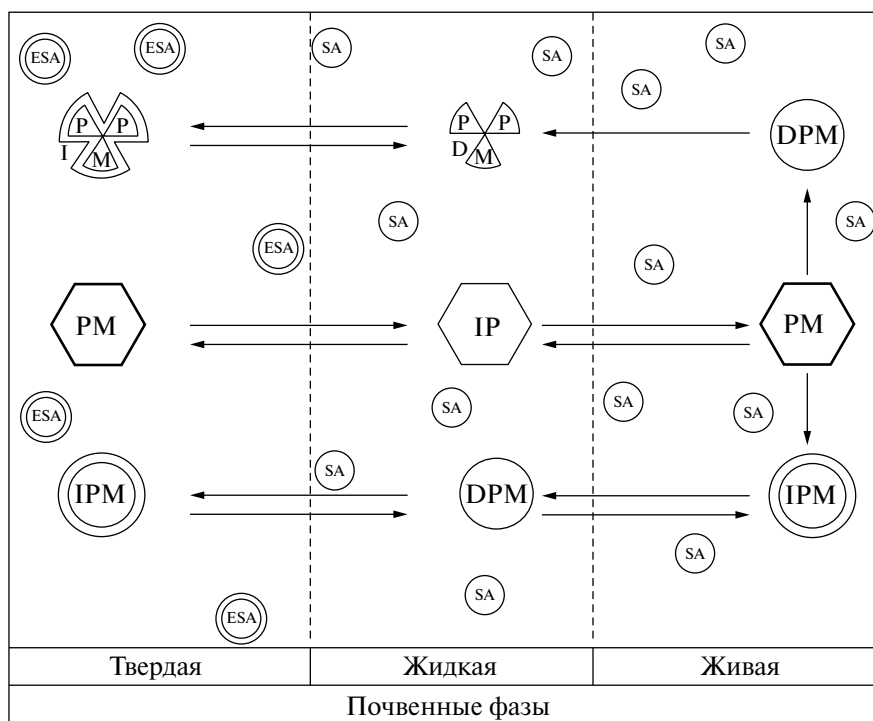


Рис. 5. Трансформация и деградация пестицида в почве: *DP* – растворенный пестицид, *IP* – обездвиженный пестицид, *PM* – метаболит пестицидов, *DPM* – растворенный метаболит пестицидов. *IPM* представляет собой иммобилизованный метаболит пестицидов, *DPM* – растворенный конечный метаболит пестицидов, *IPM* – иммобилизованный конечный метаболит пестицидов, *SA* – почвенный воздух, *ESA* находится в ловушке почвенного воздуха.

почвенной биоты. Скорость разложения пестицидов может оставаться стабильной, уменьшаться или увеличиваться с их концентрацией.

Состояние пестицидов в почве и потенциал их деградации. Когда мало растворимые пестициды попадают в почву в виде дуста или эмульсий, истинное равновесие не обязательно устанавливается, поскольку скорость сорбции пестицида определяется его очень медленным растворением в почвенной воде, а не самим процессом сорбции. Однако некоторые составы (например, инсектицид ГХГ) могут существовать в нескольких формах одновременно в течение длительного времени после применения: в свободном виде, сорбированном на частицах почвы, в почвенном растворе и в газообразной фазе из-за улетучивания.

Представлены гипотетические формы и процессы инактивации симазина в почве, в том числе: 1 – исходное состояние соединения при применении в виде мелкокристаллической суспензии в воде, 2 – “легкоэкстрагируемое” состояние, т.е. растворенный и физически сорбированный гербицид, и 3 – “трудноизвлекаемый” гербицид, входящий в состав гумуса и неразложившихся растительных остатков. Первые 2 группы называются слабосвязанными формами, а 3-я группа – сильносвязанными формами. Гербицид переходит из мелкокристаллической водной суспензии в легко извлекаемую форму путем разведения и физической

сорбции и в прочносвязанную форму путем химической сорбции. Сильно связанная форма становится легко извлекаемой формой путем десорбции. Комплексная дифференциация некоторых форм неионогенных пестицидов и их метаболитов в почве может быть представлена в следующем виде:

- неабсорбированный пестицид в почвенном растворе;
- обратимо сорбированный пестицид, подразделяемый на слабо-, умеренно- и сильносорбированные формы (за счет физической и физико-химической адсорбции);
- фиксированные или иммобилизованные (хемосорбцией) пестициды, подразделяемые на гидролизуемые и негидролизуемые формы.

Соответственно для таких ХОП, как, например, хлорсульфурон, можно выделить следующие состояния: 1 – ксенобиотик в почвенном растворе находится в динамическом равновесии с 2 – обратимо сорбированным ксенобиотиком, превращающимся в 3 – необратимо сорбированный гербицид и продукты 4 – микробиологического и 5 – химического разложения. Последние препараты также характерны для обратимо сорбируемой формы гербицида. При этом микробиологическому разложению подвергается только хлорсульфурон в почвенном растворе, причем химическому гидролизу подвергаются как

растворенные, так и обратимо сорбируемые формы гербицидов.

Установлено, что большая доля (обычно 20–70%) пестицидов, используемых в сельском хозяйстве, задерживается в почве в виде стойких связанных остатков. Следовые количества адсорбированных пестицидов и их метаболитов существуют в равновесии с почвенным раствором и разлагаются химически или под действием микроорганизмов, а связанный остаток способен медленно разлагаться. Хотя многие пестициды подвергаются разложению при попадании в почвенный раствор, некоторые адсорбированные соединения также могут подвергаться атаке микроорганизмов или химическому разложению. Дegradaция несорбированных гербицидов происходит преимущественно в почвенном растворе, но это не исключает возможной деградации ксенобиотика, фиксированного почвой. Химическая и биологическая деструкция сорбированных молекул пестицидов может происходить в почвах разных типов с различными физико-химическими свойствами и специфическими микробоценозами, факторами окружающей среды и т.п. Тем не менее, влияние адсорбционных характеристик ксенобиотика в почве на скорость его разложения трудно предсказать. Например, сильно адсорбированное соединение может удерживаться поверхностью почвы, и поверхностная реакция может привести к увеличению скорости деградации или, наоборот, может привести к переходу соединения в форму, недоступную для других процессов разложения (например, для деградации с участием почвенной микробной популяции).

С одной стороны, адсорбция почвы может снизить доступность пестицидов для микробов, но, с другой стороны, концентрация микроорганизмов на поверхности больше, чем в поровом растворе, что может способствовать разложению пестицидов. Однако химические и микробиологические механизмы разложения трудно различить, когда разложение происходит медленно. Тем не менее, когда разложение пестицидов в значительной степени вызвано микроорганизмами, существует лаг-фаза, когда микроорганизмы размножаются, за которой следует быстрое разложение. Например, микробиологическая природа ксенобиотических превращений в почвах Кубанской низменности становится очевидной по результатам наших опытов с гербицидом 2,4-Д. Графическое представление этих данных позволило четко выделить лаг-периоды, варьирующие от 2-х до более чем 6-ти сут, и стадии быстрого исчезновения, варьирующие от 2-х до более чем 4-х сут.

Влияние агрохимической практики на состояние микробоценоза. Изменения в почвенном микробиоме могут служить индикатором воздействия различных агротехник на качество почвы. В сельском хозяйстве широко используют неорганические удобрения и пестициды,

что может приводить к изменению pH почвы и ее деградации. Однако данные о влиянии этих веществ на микробное сообщество почвы на сегодняшний день противоречивы [31–33]. Установлено [34], что чувствительными к внесению удобрений и пестицидов филумами являлись *Gemmatimonadetes* и *Chlorobi*. С помощью критерия Краскела–Уоллиса были выявлены статистически значимые различия в их относительной численности между почвами с различной обработкой (*Gemmatimonadetes*: $\chi^2 = 8.381$, $p = 0.035$; *Chlorobi*: $\chi^2 = 8.360$, $p = 0.039$). На относительную численность филумов *Actinobacteria* ($p = 0.018$), *FBP* ($p = 0.041$), *ODI* ($p = 0.003$), *OP11* ($p = 0.040$) и *SR1* ($p = 0.032$) больше влияло возделывание растений. Например, время отбора проб было статистически значимым фактором, влияющим на численность этих таксонов. В процессе роста культур относительное обилие *Actinobacteria* увеличивалось (с 26.0 до 28.2%), *FBP* (с 0.25 до 0.16%), *ODI* (с 1.08 до 0.34%), *OP11* (с 0.05 до 0.02%) и *SR1* (с 0.004 до 0.0%) уменьшилось. Существенных различий между культурами на уровне типов не наблюдали, за исключением *TM7* ($p = 0.031$), относительное обилие которого было больше в почвах под горохом (0.81%), чем под нутом (0.58%). Статистически значимых различий в α -разнообразии микробных сообществ в зависимости от условий эксперимента не обнаружено [35].

Следует также учитывать кумулятивный эффект совместного применения удобрений и пестицидов и на здоровье человека как конечного консумента биогеохимической пищевой цепи [36]. Об этом свидетельствуют по-прежнему многочисленные данные о накоплении этих ксенобиотиков в организме человека как конечного консумента, в частности в грудном молоке [37, 38].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Главнейшей особенностью почвенных микроорганизмов является их способность доводить разложение природных органических соединений до полной минерализации. В природе не существует органического соединения, идет ли речь о мономерах или полимерах, которые не разлагались бы гетеротрофными (хемоорганотрофными) микроорганизмами до углекислоты и воды. Однако в последние десятилетия в окружающую среду непрерывно поступают синтетические органические соединения, включая пестициды, с которыми микроорганизмы никогда ранее не сталкивались. Поэтому негативные последствия применения современных пестицидов определяются тем, в какой мере и как долго они сами или их основные метаболиты сохраняются в элементах ландшафта. Более того, современные представления о включенности хлорорганических пестицидов (ХОП) в биогеохимический круговорот

различных элементов и даже соединений свидетельствуют об усилении данных процессов.

Как правило, процесс минерализации природных и ксенобиотических органических соединений и включения в биогеохимический круговорот осуществляется за счет их биохимических (микробиологических) превращений. В наибольшей степени эти процессы присущи прокариотным почвенным микроорганизмам. Однако бактерии реализуют лишь те процессы, которые запрограммированы у них генетически. И в природных условиях, и в эксперименте необходима взаимосвязанная триада для того, чтобы имели место микробиологическая деструкция и (или) минерализация пестицида: во-первых, в микробном почвенном ценозе должны присутствовать соответствующие микроорганизмы-деструкторы; во-вторых, в ответ на присутствие в среде субстрата-ксенобиотика эти микроорганизмы должны продуцировать специфические (индуцибельные) ферменты биodeградации; в-третьих, экологические условия для жизнедеятельности микробов-деструкторов должны быть по возможности близкими к оптимальным, чтобы скорость ферментативных реакций была значительной.

Бактерии-деструкторы содержат окислительные ферменты биodeградации — монооксигеназы и диоксигеназы, которые вместе с соответствующими кофакторами (Cu, Mn, Fe и др.) способны окислять, например, различные галоидзамещенные бензола. При этом, как правило, к кольцу присоединяются две гидроксильные группы (в *орто*- или *пара*-положении). И лишь после этого под действием соответствующей галогеназы происходит отщепление галоида и образование промежуточных ароматических соединений с двойной углеродной связью. Лишь в некоторых случаях атом галоида удаляется из ароматического кольца до расщепления последнего. Для всех отмеченных процессов необходимы аэробные условия, однако биохимическое дегалогенирование может происходить и в анаэробных условиях. В последнем случае у арил- и алкэнгалойдзамещенных соединений галоген замещается водородом. Поскольку существуют природные галоидорганические соединения, становится понятным, почему почвенные микроорганизмы имели достаточно времени для генетической адаптации к этим субстратам, их трансформации и деструкции.

Ферменты микроорганизмов, катализирующие биоразложение пестицидов, не должны обладать высокой специфичностью. В то же время субстрат не должен оказывать блокирующее действие на активную группу фермента. Ксенобиотик, как правило, способен индуцировать синтез фермента биodeградальности, что определяется его сходством с естественным субстратом. Только этим можно объяснить, почему скорость биodeградации уменьшается,

например, с увеличением числа атомов галоида в молекуле пестицида. Если ксенобиотик не способен к индукции фермента, то его деструкция будет происходить лишь при наличии в среде естественного индуктора.

Часто в почвенном микробоценозе индуцируется синтез ферментов, разлагающих как субстрат, так и образующийся при этом метаболит. Полная минерализация ксенобиотика осуществляется лишь в том случае, когда он атакуется биотой микробного сообщества, а не одного какого-то вида. Это объясняется тем, что ни один из видов микроорганизмов не содержит полного набора ферментов биodeградации. Возможность полной утилизации ксенобиотика в условиях микробного сообщества повышается и благодаря гораздо большему генетическому пулу различных ферментов. При этом успешнее осуществляется и передача (обмен) от клетки к клетке разнотипного генетического материала. Наиболее важным механизмом генного переноса является конъюгация, в процессе которой конъюгативные плазмиды переносятся от одной бактерии к другой. Такие плазмиды способны преодолевать генетические барьеры 2-х разных видов и тем самым обеспечивать себе более широкий круг хозяев. Плазида, кодирующая ДНК, должна встроиться в хромосому реципиента, после чего появляется возможность репликации или передачи наследственной информации для синтеза фермента биodeградации. В последнее время мы являемся свидетелями того, как генная инженерия добилась новых неожиданных успехов: свойство устойчивости микробной клетки к гербицидам сейчас оказывается возможным передавать высшим растениям и тем самым конструировать такие сорта ценнейших злаковых культур (например, пшеницы), которые оказываются устойчивыми к действию гербицидов. Нет сомнения в том, что в недалеком будущем мы научимся конструировать *in situ* и ассоциации микроорганизмов-деструкторов, способные очищать почвы и другие элементы ландшафта от остатков самых стойких органических пестицидов. В условиях закрытых экосистем успешность подобного подхода неоднократно демонстрировали. При этом, очевидно, речь должна идти не о замене естественных почвенных микробных ценозов искусственными, а о внедрении в геном обычных микробных клеток носителей наследственной информации (плазмид, транскозонов и др.), кодирующей свойство продуцировать ферменты биodeградации в ответ на содержание в окружающей среде разнообразных органических поллютантов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Башкин В.Н., Галиулина Р.А. Оценка риска загрязнения окружающей среды и биологических суб-

- стратов человека пестицидом ДДТ и его метаболитами // Проблемы анализа риска. 2023. Т. 20. № 4. С. 28–42.
DOI: 10.32686/1812-5220-2023-20-4-28-42
2. Евстафьева Е.В. Современные аспекты экологической медицины: теория и практика на Крымском полуострове. М.: Научн.-изд. центр “ИНФРА-М”, 2023. 251 с.
 3. Галиулина Р.А., Галиулин Р.В. Реконструкция загрязнения почв и поверхностных вод инсектицидами ДДТ и ГХЦГ по данным их мониторинга // Агрохимия, 2004. № 4. С. 73–77.
 4. Соколов М.С., Галиулин Р.В. Микробиологическое самоочищение почвы от пестицидов. Обзор. информ. М.: ВНИИТЭИ, 1987. 51 с.
 5. Bashkin V.N. Modern biogeochemistry: environmental risk assessment, 2d ed. Springer Publishers, 2006. 444 p.
 6. Башкин В.Н. Биогеохимия. М.: Научный мир, 2004, 582 с.
 7. Galiulin R.V., Bashkin V.N., Galiulina R.A., Birch P. The theoretical basis of microbiological transformation and degradation of pesticides in soil // Land Contam. Reclam. 2001. V. 9. № 4. P. 367–376.
 8. Holden P.A., Firestone M.K. Soil microorganisms in soil cleanup: how can we improve our understanding? // J. Environ. Qual. 1997. V. 26. № 1. P. 32–40.
 9. Головлева Л.А., Головлев Е.Л. Микробиологическая деградация пестицидов // Усп. микробиол. 1980. Т. 15. С. 137–179.
 10. Purnomo Adi Setyo, Rizqi Hamdan Dwi, Fatmawati Sri, Putro Herdayanto Sulisty, Kamei Ichiro. Effects of bacterium *Ralstonia pickettii* addition on DDT biodegradation by *Daedalea dickinsii* // Res. J. Chem. Environ. 2018. V. 22 (Special Issue II). № 8. P. 151–156.
 11. Purnomo A.S., Kamei I., Kondo R. Degradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis (4-chlorophenyl) ethane (DDT) by brown-rot fungi // J. Biosci. Bioeng. 2008. V. 105. P. 614–621.
 12. Purnomo A.S., Mori T., Takagi K., Kondo R. Bioremediation of DDT contaminated soil using brown-rot fungi // Inter. Biodet. Biodeg. 2011. V. 65. P. 691–695.
 13. Purnomo A.S., Mori T., Kamei I., Kondo R. Basic studies and applications on bioremediation of DDT: A review // Inter. Biodet. Biodeg. 2011. V. 65. P. 921–930.
 14. Purnomo A.S., Ashari K., Hermansyah F.T. Evaluation of the synergistic effect of mixed cultures of White-Rot Fungus *Pleurotus ostreatus* and biosurfactant producing bacteria on DDT biodegradation // J. Microbiol. Biotechnol. 2017. V. 27. P. 1306–1315.
 15. Purnomo A.S., Ashari K.A., Hermansyah F.T. Evaluation of the synergistic effect of mixed cultures of white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* and biosurfactant-producing bacteria on DDT biodegradation // J. Microbiol. Biotechnol. 2017. V. 27. № 7. P. 1306–1315. DOI: 10.4014/jmb.1701.01073
 16. Purnomo A.S. Pengaruh penambahan *Bacillus subtilis* pada biodegradasi DDT oleh *Phlebia brevispora* // Akta Kimindo. 2017. № 2. P. 58–65.
 17. Wahyuni S., Suhartono M.T., Khaeruni A., Purnomo A.S., Holilah A., Riupassa P.A. Purification and characterization of thermostable chitinase from *Bacillus* SW42 for chitin oligomer production // Asian J. Chem. 2016. V. 28. P. 2731–2736. DOI: 10.1007/s12010-008-8328-7
 18. Wahyuni S., Khaeruni A., Purnomo A.S., Holilah A. Characterization of mannanase isolated from corn cob waste bacteria // Asian J. Chem. 2017. V. 29. P. 1119–1120. DOI: 10.14233/ajchem.2017.20437
 19. Parthipan P., Preetham E., Machuca L.L., Rahman P.K.S.M., Murugan K., Rajasekar A. Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1 // Front. Microbiol. 2017. V. 8. P. 193. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00193
 20. Mwangi K., Boga H.I., Muigai A.W., Kiiyukia C., K. Tsanuo M. Degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by bacterial isolates from cultivated and uncultivated soil // Afric. J. Microbiol. Res. 2010. V. 4. № 3. P. 185–196.
 21. Chen M., Cao F., Li F., Liu Ch., Tong H., Wu W., Hu M. Anaerobic transformation of DDT related to iron(III) reduction and microbial community structure in paddy soils // J. Agric. Food Chem. 2013. V. 61. P. 2224–2233. DOI: 10.1021/jf305029p
 22. Fairchild J.F., Ruessler D.S., Carlson A.R. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor // Environ. Toxicol. Chem. 1998. V. 17. № 9. P. 1830–1834.
 23. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я., Огородникова С.Ю., Олькова А.С., Фокина А.И. Применение тетразольно-топографического метода определения нитрогеназной активности цианобактерий в загрязненных средах // Теор. и прикл. экол. 2008. № 2. С. 23–28.
 24. Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Березин Г.И. Реакция почвенной микробиоты на действие пестицидов (обзор) // Теор. и прикл. экол. 2012. № 3. С. 4–18.
 25. Sousa J.P., Rodrigues J.M.L., Loureiro S., Soares A.M.V.M., Jones S.E., Forster B., van Gestel C.A.M. Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) – an instrument for testing potential lyharmful substances: effects of carbendazim on soil microbial parameters // Ecotoxicology. 2004. V. 13. № 1. P. 43–60.
 26. Veeh R.H., Inskeep W.P., Camper A.K. Soil depth and temperature effects on microbial degradation of the 2,4-D // J. Environ. Qual. 1996. V. 25. № 1. P. 5–12.

27. Галиулин Р.В. Оценка поведения гербицида 2,4-Д в системе почва—вода—донные отложения в модельных условиях // *Агрохимия*. 2000. № 7. С. 65–71.
28. Сергеева Н.Р., Соколов М.С., Васильева Г.К. Ускорение разложения 3,4-дихлоранилина в рыбоводных прудах с помощью бактерий // *Агрохимия*. 1998. № 4. С. 84–90.
29. Круглов Ю.В. Распределение микроорганизмов в почве при обработке пестицидами // *Тр. ВНИИСХМ*. 1983. Т. 52. С. 32–36.
30. Samson R., Cseh T., Hawar, J. Biotechnologies appliquees a la restauration de sites contamines avec exemple d'application d'une technique physico-chimique et biologique pour les sols contamines par des BPC // *Sci. Tech. Eau*. 1990. V. 23. № 1. P. 15–23.
31. Houx N.W.H., Aben W.J.M. Bioavailability of pollutants to soil organisms via the soil solution // *Sci. Total Environ*. 1993. Part 1. P. 387–395.
32. Khmelevtsova L.E., Sazykin I.S., Azhogina, T.N., Sazykina M.A. Influence of agricultural practices on bacterial community of cultivated soils // *Agriculture*. 2022. V. 12. № 3. P. 371–392.
33. Gomiero T., Pimentel D., Paoletti M.G. Environmental impact of different agricultural management practices: conventional vs. organic agriculture // *Critic. Rev. Plant Sci*. 2011. V. 30. № 1–2. P. 95–124.
34. Yang L., Barnard R., Kuzyakov Y., Tian J. Bacterial communities drive the resistance of soil multifunctionality to land-use change in karst soils // *Europ. J. Soil Biol*. 2021. V. 104. P. 103313–103322.
35. Азгогина Т.Н., Климова М.В., Карчава Ш.К., Хмелевцова Л.Е. Влияние пестицидов и минеральных удобрений на бактериальное сообщество возделываемых почв // *Мат-лы Всерос. конф. молод. ученых “Экология: факты, гипотезы, модели”*, посвящ. Международ. году фундамент. наук 18–22 апреля 2022 г. С. 5–7.
36. Khmelevtsova L., Konstantinova E., Karchava S., Klimova M., Azhogina T., Polienko E., Khammami M., Sazykin I., Sazykina M. Influence of pesticides and mineral fertilizers on the bacterial community of arable soils under pea and chickpea crops // *Agronomy*. 2023. V. 13. P. 750.
DOI: 10.3390/agronomy13030750
37. Sharma N., Singhvi R. Effects of chemical fertilizers and pesticides on human health and environment: a review // *Inter. J. Agricult. Environ. Biotechnol*. 2017. V. 10. № 6. P. 675–679.
DOI: 10.5958/2230-732X.2017.00083.3
38. Alcock R., Bashkin V. Health risk of persistent organic pollutants from long-range transboundary air pollution. WHO, 2003. 252 p.
39. Башкин В.Н. Стойкие органические поллютанты: оценка риска при трансграничном переносе и биотрансформации // *Пробл. анализа риска*. 2024. Т. 21. № 1. С. 11–25.
DOI: 10.32686/1812-5220-2024-21-1-11-25

Control of the Microbial Block of the Biogeochemical Cycle of Organochlorine Pesticides in Agroecosystems. Message 1. Microbial Transformation of Pesticides

V. N. Bashkin^{a, #}, R. A. Galiulina^b

^a*Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science, RAS,
ul. Institutskaya 2, Moscow region, Pushchino 142290, Russia*

^b*Institute of Fundamental Problems of Biology RAS,
ul. Institutskaya 2, Moscow region, Pushchino 142290, Russia,*

[#]*E-mail: vladimirbashkin@yandex.ru*

The processes of mineralization of xenobiotic organic compounds and their inclusion in the biogeochemical cycle, which is carried out due to their biochemical (microbiological) transformations, are considered. The state of pesticides in the soil and their degradation potential are assessed. The features of microbiological transformation and degradation of pesticides in soils, natural waters and bottom sediments are shown. The physicochemical and biological properties of agroecosystems affecting the transformation of organochlorine pesticides are characterized. A historical digression into the problem of microbial transformation of pesticides is given and the current state of knowledge of this problem is presented.

Keywords: organochlorine pesticides, 4,4-dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), hexachlorocyclohexane (HCH), metabolites, microbial transformation, soil factors, surface waters, bottom sediments.