

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии Карельского научного центра
Российской академии наук

На правах рукописи



КАЗНИНА
Наталья Мстиславовна

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА *ROSEAE*
К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ**

03.01.05 – «Физиология и биохимия растений»

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:
член-корреспондент РАН,
доктор биологических наук,
профессор
Титов Александр Федорович

Петрозаводск – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Тяжелые металлы в окружающей среде.....	14
1.2. Поступление ионов тяжелых металлов в растения.....	22
1.3. Транспорт ионов тяжелых металлов по растению.....	29
1.4. Накопление тяжелых металлов растениями и их распределение по органам, тканям и в клетке.....	32
1.5. Влияние тяжелых металлов на некоторые физиологические процессы у растений.....	39
1.5.1. Рост и развитие	39
1.5.2. Продуктивность.....	45
1.5.3. Фотосинтез.....	46
1.5.4. Водный обмен.....	53
1.6. Клеточные механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам...57	
1.6.1. Участие плазмалеммы в устойчивости растений к тяжелым металлам.....	58
1.6.2. Детоксикация тяжелых металлов в клетке.....	62
1.6.3. Участие антиоксидантной системы в устойчивости растений к тяжелым металлам.....	82
1.7. Устойчивость растений семейства <i>Poaceae</i> (<i>Gramineae</i>) к тяжелым металлам.....	91
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	
2.1. Объекты исследований.....	99
2.2. Условия проведения исследований.....	103
2.3. Методы исследований.....	108

ГЛАВА 3. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИ-	
ВОСТИ КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ.....	116
3.1. Влияние тяжелых металлов на рост, развитие и продуктивность	
растений.....	117
3.1.1. Рост	117
3.1.2. Развитие	133
3.1.3. Накопление надземной биомассы	140
3.1.4. Семенная продуктивность.....	149
3.2. Влияние тяжелых металлов на фотосинтез растений.....	154
3.2.1. Мезоструктура листа	154
3.2.2. Содержание основных форм фотосинтетических	
пигментов	158
3.2.3. Квантовая эффективность фотосистемы II.....	162
3.2.4. Интенсивность фотосинтеза.....	165
3.3. Влияние тяжелых металлов на водный обмен растений.....	167
3.4. Влияние возрастных различий на устойчивость культурных	
злаков к кадмию	171
ГЛАВА 4. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИ-	
ВОСТИ КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВ К КАДМИЮ.....	179
4.1. Уровень транскриптов генов белков, участвующих в синтезе	
хелаторов тяжелых металлов, и содержание восстановленного	
глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях растений	
ячменя при действии кадмия.....	179
4.2. Участие генов, контролирующих синтез трансмембранных	
белков, и генов субъединиц вакуолярной H^+ -АТФазы в	
механизмах устойчивости растений ячменя к кадмию.....	186
4.3. Интенсивность перекисного окисления липидов и активность	
антиоксидантных ферментов в клетках корня и листа	
растений ячменя при действии кадмия.....	192

ГЛАВА 5. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ.....	197
5.1. Влияние тяжелых металлов на прорастание семян дикорастущих злаков.....	198
5.2. Влияние тяжелых металлов на основные физиологические процессы у дикорастущих однолетних злаков (на примере <i>Setaria viridis</i>)	205
5.2.1. Рост, развитие и продуктивность.....	206
5.2.2. Водный обмен.....	215
5.2.3. Фотосинтез.....	217
5.3. Содержание восстановленного глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях растений <i>Setaria viridis</i> в присутствии кадмия....	220
5.4. Влияние тяжелых металлов на основные физиологические процессы у дикорастущих многолетних злаков.....	222
5.4.1. Рост, развитие и продуктивность.....	222
5.4.2. Фотосинтез.....	227
5.4.3. Водный обмен.....	233
5.5. Содержание восстановленного глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях дикорастущих многолетних злаков присутствии кадмия.....	238
5.6. Интенсивность перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов в корнях и листьях дикорастущих многолетних злаков при действии тяжелых металлов.....	241
ГЛАВА 6. УСТОЙЧИВОСТЬ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ К ТЕХНОГЕН- НОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ ПОЧВ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ В УСЛОВИЯХ ТАЕЖНОЙ ЗОНЫ.....	245
6.1. Ценотическая роль злаков в травянистых сообществах, сформи- ровавшихся на техногенно загрязненных тяжелыми металлами территориях.....	249

6.2. Влияние техногенного загрязнения почв тяжелыми металлами на морфо-физиологические показатели дикорастущих злаков	254
6.3. Содержание тяжелых металлов в подземных и надземных органах дикорастущих злаков, произрастающих на техногенно загрязненных территориях.....	261
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	266
ВЫВОДЫ.....	272
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	274

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Проблема устойчивости растительных организмов к неблагоприятным факторам внешней среды многие годы занимает одно из центральных мест в физиологии растений. Благодаря большому количеству исследований на сегодняшний день убедительно доказано, что устойчивость растений к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам обеспечивается функционированием большого числа разнообразных механизмов, действующих на разных уровнях организации.

В последние десятилетия внимание ученых многих стран сосредоточено на изучении механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам, что вызвано значительным усилением загрязнения окружающей среды этими химическими элементами вследствие быстрого развития промышленности, резкого увеличения числа автотранспортных средств, возрастания количества вносимых в почву минеральных удобрений и т.д. (Sharma, Agrawal, 2005; Verbruggen et al., 2009; Sarwar et al., 2010; Nazar et al., 2012). Результатам изучения разнообразных механизмов металлоустойчивости растений посвящены многочисленные экспериментальные работы и целый ряд обзорных статей (Алексеева-Попова, 1991; Prasad, 1995; Rauser, 1999; Cobbett, 2000; Clemens, 2001; Серегин, Иванов, 2001; Hall, 2002; Hall, Williams, 2003; Hussain et al., 2004; Clemens, 2006; Krämer et al., 2007; Серегин, Кожевникова, 2007; Morel et al., 2009; Lee et al., 2010; Mendoza-Cózatl et al., 2010; Ueno et al., 2010; Lux et al., 2011; Репкина и др., 2012; Uraguchi, Fujiwara, 2012) и монографий (Physiology and Biochemistry ..., 2002; Титов и др., 2007, 2014; Башмаков, Лукаткин, 2009; Гришко, Сыщиков, 2012; Heavy metal ..., 2013 и др.). Их анализ показывает, что важная роль в адаптации растений к высоким концентрациям тяжелых металлов в окружающей среде принадлежит физиолого-биохимическим механизмам, поскольку способность растений поддерживать интенсивность фотосинтеза и дыхания на необходимом для жизнедеятельности уровне, а также сохранение оптимального водного режима и минерального питания обеспечивают их рост и развитие в неблагоприятных внешних условиях.

В последнее десятилетие особое внимание исследователей уделяется молеку-

лярно-генетическим механизмам металлоустойчивости растений (Blindauer, Schmid, 2010; Mendoza-Cózatl et al., 2011; Hossian et al., 2012 и др.), благодаря чему в этой области достигнут значительный прогресс. Тем не менее, многие вопросы все еще довольно слабо изучены. Например, спорным остается участие в механизмах металлоустойчивости целого ряда генов транспортных белков, осуществляющих перенос ионов металлов и их комплексов через клеточные мембраны. Нет окончательного ответа в отношении существования зависимости между устойчивостью растений к тяжелым металлам и количеством хелаторов в клетках, а также уровнем экспрессии генов, кодирующих ферменты, участвующие в синтезе этих соединений.

Необходимо также отметить, что с точки зрения механизмов металлоустойчивости наиболее изученными среди высших растений являются представители семейств *Brassicaceae* и *Fabaceae*. Семейство *Poaceae*, особенно дикорастущие виды, изучено в гораздо меньшей степени. Вместе с тем оно является одним из наиболее крупных семейств покрытосеменных растений, произрастающих почти во всех природно-климатических зонах. К этому семейству принадлежат основные зерновые культуры, составляющие значительную часть рациона питания человека, тогда как доказано, что более 85% тяжелых металлов поступают в организм человека именно с растительной пищей. Дикорастущие злаки играют важную экологическую роль во многих растительных сообществах. При этом обнаружено, что некоторые виды дикорастущих злаков способны произрастать на почвах с высоким уровнем загрязнения тяжелыми металлами, что может представлять интерес для технологии фиторемедиации. Таким образом, изучение механизмов устойчивости к тяжелым металлам культурных и дикорастущих видов растений семейства *Poaceae* является не только актуальным в теоретическом плане, но и имеет большое практическое значение.

Цель и задачи исследования. Цель работы состояла в изучении физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов устойчивости культурных и дикорастущих злаков к повышенным концентрациям тяжелых металлов в корнеобитаемой среде.

Для достижения намеченной цели были поставлены следующие задачи:

1) изучить влияние кадмия, свинца и цинка, как наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды из группы тяжелых металлов, на основные физиологические процессы у культурных и дикорастущих злаков и выявить физиолого-биохимические механизмы их металлоустойчивости, действующие на разных уровнях организации;

2) исследовать влияние возрастных различий на устойчивость культурных злаков к кадмию, как наиболее токсичному тяжелому металлу, и выявить некоторые молекулярно-генетические механизмы металлоустойчивости, функционирующие у растений разного возраста:

а) определить уровень транскриптов генов (*HvGS*, *HvPCS*, *HvMT1* и *HvMT2*) белков, участвующих в синтезе хелаторов тяжелых металлов, а также содержание восстановленного глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях растений в присутствии кадмия;

б) выявить возможное участие генов (на уровне матриц) (*HvHMA3*, *HvCAH2*, *HvVHA-c* и *HvVHA-E*), продукты которых обеспечивают транспорт тяжелых металлов в вакуоль, в механизмах устойчивости растений к кадмию;

в) определить уровень перекисного окисления липидов и активность ряда антиоксидантных ферментов в корнях и листьях растений в присутствии кадмия.

3) исследовать некоторые внутриклеточные механизмы устойчивости дикорастущих злаков к тяжелым металлам:

а) определить содержание восстановленного глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях растений в присутствии тяжелых металлов;

б) исследовать интенсивность перекисного окисления липидов и активность ряда антиоксидантных ферментов в корнях и листьях растений при действии тяжелых металлов.

4) изучить роль и состояние злаков в травянистых сообществах, сформированных на техногенно загрязненных тяжелыми металлами территориях; оценить перспективы использования наиболее устойчивых видов злаков в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв в условиях таежной зоны.

Научная новизна. Впервые на растениях культурных (*Avena sativa* и *Hordeum vulgare*) и дикорастущих (*Agrostis gigantea*, *Dactylis glomerata*, *Elytrigia repens*, *Phleum pratense* и *Setaria viridis*) злаков выявлены общие и специфические физиолого-биохимические механизмы, обеспечивающие их устойчивость к повышенному содержанию кадмия, свинца и цинка в корнеобитаемой среде.

Впервые показано негативное влияние тяжелых металлов на рост и дифференциацию стеблевых апикальных меристем у культурных злаков, а также на темпы их органогенеза.

На основании изучения физиологических процессов впервые доказано существование отчетливо выраженных возрастных различий в устойчивости проростков ячменя к кадмию и обнаружено, что они во многом связаны с количественными и качественными различиями в активности ряда клеточных механизмов металлоустойчивости растений.

Впервые проведено изучение воздействия повышенных концентраций кадмия и цинка на физиологические процессы у дикорастущего однолетнего злака *Setaria viridis*, характеризующегося C₄- типом фотосинтеза. Обнаружена высокая устойчивость растений данного вида к тяжелым металлам, которая обеспечивается анатомо-физиологическими особенностями как C₄-вида, а также комплексом адаптационных механизмов, действующих на разных уровнях организации, среди которых важную роль играет связывание ионов металлов хелаторами (GSH и ФХ) в клетках корня и листа. Впервые установлена способность растений этого вида к накоплению в значительных количествах кадмия и цинка как в подземных, так и в надземных органах.

Впервые на территории южной и северной Карелии выявлены виды злаков – *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* – являющихся доминантами в травянистых сообществах, сформированных на загрязненных тяжелыми металлами территориях вблизи крупных промышленных предприятий, и установлены некоторые физиолого-биохимические механизмы, позволяющие этим видам успешно произрастать в подобных условиях.

Практическая значимость работы. Выявленные у культурных и дикорастущих злаков физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчи-

ности к тяжелым металлам имеют важное значение для более полного понимания общих механизмов адаптации растений к этим химическим элементам и могут служить основой при определении стратегии селекционно-генетических работ, направленных на поиск генотипов и выведение сортов, обладающих, с одной стороны, высокой металлоустойчивостью, а с другой – способных задерживать значительную часть поступивших ионов металлов в корнях. Данные о возрастных различиях в устойчивости злаков к тяжелым металлам углубляют знания об адаптационных возможностях растений на разных этапах их онтогенеза. Результаты изучения молекулярно-генетических механизмов металлоустойчивости растений позволяют уточнить роль ряда генов (*HMA3*, *CAH2*), ответственных за синтез белков, осуществляющих транспорт катионов металлов в вакуоль, а также генов субъединиц вакуолярной H⁺-АТФазы в повышении устойчивости растений к кадмию, тем самым расширяя существующие представления о механизмах транспорта тяжелых металлов в растительной клетке. На основании результатов исследований устойчивости к тяжелым металлам дикорастущих злаков рекомендовано использование *Setaria viridis* в фитоэкстракции, а *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* – в фитостабилизации почв с повышенным уровнем тяжелых металлов в условиях таежной зоны.

Основные научные результаты и выводы диссертационной работы могут быть использованы при чтении курсов лекций по физиологии растений, экологии, а также отдельных спецкурсов. Полученные в работе данные отражены в учебных пособиях «Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам» и «Устойчивость растений к кадмию», а также практикуме по курсу «Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам».

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Культурные и дикорастущие виды семейства *Poaceae* способны в течение продолжительного времени произрастать в присутствии повышенных концентраций кадмия, свинца и цинка в корнеобитаемой среде и формировать семена. Их высокая устойчивость к тяжелым металлам обеспечивается наличием целого ряда физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов, среди которых есть как

общие для всех изученных видов, так и специфические, характерные для отдельных видов.

2. На ранних этапах онтогенеза у растений культурных злаков существуют отчетливо выраженные возрастные различия в их устойчивости к кадмию – наиболее токсичному среди тяжелых металлов, – которые обусловлены их физиолого-биохимическими особенностями, характерными для определенной фазы развития, а также количественными и/или качественными различиями в активности действующих у них механизмов металлоустойчивости растений. В частности, более высокая устойчивость 7-дневных проростков ячменя к кадмию связана с активацией экспрессии генов, продукты которых участвуют в синтезе хелаторов тяжелых металлов, а также транспорте их ионов в вакуоль.

3. Важным фактором повышения устойчивости культурных и дикорастущих злаков к тяжелым металлам является увеличение содержания глутатиона и фитохелатинов в клетках корня и листа, а также усиление активности ферментов антиоксидантной защиты.

4. Высокая устойчивость дикорастущих злаков к тяжелым металлам обеспечивает их важную ценотическую роль в сообществах, сформировавшихся на техногенно загрязненных территориях вблизи крупных промышленных предприятий. Способность доминирующих на таких территориях злаков (*Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*) не только расти и развиваться, но и занимать ведущие позиции на участках, расположенных в непосредственной близости от источника загрязнения, обусловлена наличием эффективно работающих адаптационных механизмов.

5. Высокая металлоустойчивость дикорастущих многолетних злаков и их способность накапливать тяжелые металлы в относительно больших количествах в подземных органах, а у *Setaria viridis* и в надземных органах, указывает на возможность использования этих видов в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв в условиях таежной зоны.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность своему учителю, научному консультанту чл.-корр. РАН, д.б.н., проф. А.Ф. Титову за неоценимую помощь и

поддержку на всех этапах работы. Искренне признательна всем сотрудникам лаборатории экологической физиологии растений и особенно д.б.н. В.В. Талановой за всестороннюю помощь, консультации и рекомендации, сделанные в процессе выполнения диссертации, к.б.н. Г.Ф. Лайдинен и к.б.н. Ю.В. Батовой за продуктивное сотрудничество и постоянную поддержку на протяжении многих лет. Благодарю к.б.н. Л.В. Топчиеву и к.б.н. Ю.В. Венжик за помощь в проведении экспериментов. Особая благодарность к.б.н. О.Н. Лебедевой за консультации и ценные советы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОС – антиоксидантная система

АПО – аскорбатпероксидаза

АФК – активные формы кислорода

ГР – глутатионредуктаза

GST – глутатион-S-трансфераза

КАТ – каталаза

КБП – коэффициент биологического поглощения

МДА – малоновый диальдегид

МТ – металлотионеины

ПДК – предельно допустимая концентрация

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПО – пероксидаза

ССК – светособирающий комплекс

СОД – супероксиддисмутаза

ФС I – фотосистема I

ФС II – фотосистема II

ФХ – фитохелатины

GSH – восстановленная форма глутатиона

GSSG – окисленная форма глутатиона

PCS – фитохелатинсинтаза

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Тяжелые металлы в окружающей среде

Термин «тяжелые металлы» был впервые употреблен еще в 1817 году немецким химиком Леопольдом Гмелиным (Leopold Gmelin), который разделил известные в то время химические элементы на три группы: неметаллы, легкие металлы и тяжелые металлы (Nabashi, 2009). К тяжелым металлам было отнесено 25 элементов с плотностью от 5.31 до 22.00 г/см³.

Однако до сих пор не существует единого понимания, что же такое «тяжелые металлы». Более того, в техническом отчете IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry – Международный союз теоретической и прикладной химии) за 2002 год отмечено, что термин «тяжелый металл» имеет неверное толкование из-за противоречивых определений. На сегодняшний день выделены лишь критерии, по которым определяется принадлежность того или иного химического элемента к данной группе. Среди них: плотность, атомный вес и атомное число. Тем не менее словосочетание «тяжелые металлы» часто рассматривается с природоохранной точки зрения (Duffus, 2002), и тогда при включении элемента в эту группу учитываются не столько его физические и химические свойства, сколько биологическая активность, токсичность для живых организмов, распространенность в природной среде, степень вовлеченности в природные и техногенные циклы. Мы в своей работе придерживались наиболее распространенного определения, согласно которому к тяжелым металлам относят элементы, обладающие свойствами металлов или металлоидов, имеющие плотность более 5 г/см³, атомную массу свыше 40 Да, атомное число 23 и выше (Кузнецов, Дмитриева, 2006).

Необходимо отметить, что среди тяжелых металлов имеются элементы, необходимые для жизнедеятельности растений (микроэлементы), а также элементы, функциональная роль которых в настоящее время неизвестна (Clemens et al., 2003). Микроэлементы (Co²⁺, Cr²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺ и Zn²⁺) участвуют практически во всех процессах, проходящих в растительной клетке: энергетическом обмене, первичном и

вторичном метаболизме, гормональной регуляции, передаче сигнала и др. Следует также отметить, что 25-50% всех белков работают только в присутствии ионов металлов (Blindauer, Schmid, 2010), из них наибольшее количество (более 1200) функционально связаны с цинком (Krämer et al., 2007; Hänsch, Mendel, 2009; Husted et al., 2011). Кроме того, некоторые металлы-микроэлементы присутствуют в качестве кофакторов в молекулах целого ряда ферментов. Обычно концентрации микроэлементов в растениях невелики (0.001% от сухой массы клетки и ниже), но при повышении их уровня в окружающей среде их содержание в органах растений может значительно увеличиваться, что представляет угрозу их жизнедеятельности (Williams, Salt, 2009). В отличие от этого, тяжелые металлы, не являющиеся микроэлементами, среди которых важнейшие загрязнители окружающей среды – кадмий, ртуть и свинец, негативно влияют на растения даже в относительно невысоких концентрациях (Башкин, Касимов, 2004; Nassan, Aarts, 2011).

Установлено, что токсичность тяжелых металлов для живых организмов обусловлена целым рядом их физических и химических особенностей: электронной конфигурацией, электроотрицательностью, ионизацией, величиной окислительно-восстановительного потенциала, сродством к отдельным химическим группам, а также способностью проникать через клеточную оболочку и образовывать прочные соединения на поверхности и внутри клетки (Кожанова, Дмитриева, 1989; Башмаков, Лукаткин, 2009).

Тяжелые металлы относятся преимущественно к рассеянным химическим элементам, и загрязнению ими подвергается почвенный покров, гидросфера, а также атмосфера (Добровольский, 1983, 2004). В силу этого повышение их концентрации в окружающей среде вследствие естественного или антропогенного поступления может носить глобальный характер (Алексеев, 1987; Ильин, 1991; Merrington, Alloway, 1994; Nicholson et al., 1994; Grant et al., 1998; Никифорова, 2003).

В зависимости от источника загрязнения (естественный или техногенный) наблюдаются заметные различия в профильном распределении тяжелых металлов в почве. При естественном высоком уровне этих элементов на фоне небольшого их накопления в гумусовом горизонте прослеживается увеличение содержания металлов

вниз по почвенному профилю. При техногенном загрязнении тяжелые металлы, наоборот, концентрируются в поверхностном слое. Различаются также и формы нахождения металлов в почве: если в почвах естественных аномалий они представлены в основном в виде сульфатов, сульфидов и карбонатов, то при техногенном загрязнении – в виде оксидов и свободных ионов (Ильин, 2012). Помимо этого, на территориях с естественно высоким уровнем тяжелых металлов формируются особые виды флор, например, галмейная (на почвах с повышенным содержанием цинка) и серпентинитовая (с повышенным содержанием ряда металлов, в том числе никеля и хрома) флоры, в состав которых входят металлоустойчивые виды растений. Растительность же, произрастающая на техногенно загрязненных территориях, в большинстве случаев состоит из видов местной флоры и характеризуется сильно выраженной внутривидовой дифференциацией по устойчивости к тяжелым металлам (Косицин, Алексеева-Попова, 1983).

Для тяжелых металлов характерно весьма неравномерное распределение в природных средах. При сравнительно невысоком естественном содержании тяжелых металлов в окружающей среде, в районах рудных месторождений концентрации некоторых из них могут в сотни раз превышать фоновые значения (Косицин, Алексеева-Попова, 1983; Башкин, Касимов, 2004). Кроме того, необходимо иметь в виду, что интенсивное развитие современной промышленности и сельского хозяйства неизбежно сопровождается искусственным возрастанием их содержания в окружающей среде (Ягодин и др., 1989; Prasad, 1995; Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999).

Основные источники поступления любого металла в окружающую среду можно разделить на природные (естественные) и техногенные (Алексеев, 1987; Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989; Prasad, 1995), что показано в представленной нами схеме (рис. 1). Причем в большинстве случаев поступление тяжелых металлов в окружающую среду, связанное с хозяйственной деятельностью человека, значительно превышает природное (Ильин, 1991; Цибульский, Яценко-Хмелевская, 2004).



Рис. 1. Основные источники поступления тяжелых металлов в окружающую среду

Природные источники тяжелых металлов. К естественным источникам тяжелых металлов в первую очередь относятся горные породы, из продуктов выветривания которых сформировался почвенный покров (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989; Богдановский, 1994). В земной коре тяжелые металлы приурочены к определенной группе минералов и образуют большое количество природных химических соединений – сульфатов, сульфидов, фосфатов, карбонатов и др. Количество минералов, в состав которых входят тяжелые металлы, колеблется от 16 (Hg) до 200 (Pb, Cu). Причем многие из металлов встречаются совместно в залежах полиметаллических руд. Например, в число рудных компонентов месторождений свинца входят Zn, Cu, Ag, Cd, Se, Hg, Bi, Au и ряд других элементов. В свою очередь, свинец является постоянным элементом–спутником в рудах многих других металлов – Cu, Mo, Sn, W, U, Au (Ада-

мян и др., 1987). При выветривании горных пород простые и комплексные ионы тяжелых металлов могут входить в глинистые минералы, связываться органическим веществом почвы, а также поступать в воздух, поверхностные и грунтовые воды.

Важным естественным источником поступления тяжелых металлов в атмосферу являются вулканы. В частности, масса свинца, выбрасываемая при извержениях вулканов, обычно составляет от $30 \cdot 10^6$ до $300 \cdot 10^6$ т/год, а цинка – около $216 \cdot 10^3$ т/год (Buart, Arnold, 1978). Из газовой фазы тяжелые металлы адсорбируются дисперсными твердыми продуктами выбросов и переносятся воздушными потоками. Кроме вулканов природными источниками загрязнения воздуха тяжелыми металлами могут быть: дым лесных пожаров, космическая пыль, эрозия почв, испарение с поверхности морей и океанов, а также выделение этих элементов растительностью (Расуна, 1986; Добровольский, 1987, 1992). При этом концентрации свинца и цинка в воздухе над территориями, свободными от техногенного воздействия, варьируют в большей степени, чем кадмия (табл. 1).

Таблица 1

Фоновые значения тяжелых металлов в окружающей среде
(по: Перельман, Касимов, 1999 и Ровинский и др., 1982*)

Среда	Тяжелые металлы		
	кадмий	свинец	цинк
Земная кора, %	$1.3 \cdot 10^{-5}$	$1.6 \cdot 10^{-3}$	$8.3 \cdot 10^{-3}$
Атмосферный воздух, нг/м ³	0.3–1.3	0.1–20	2–70*
Атмосферные осадки, мкг/л	0.2–2.0	1–30	10–40*
Почвы (валовое содержание), мг/кг	0.3–0.5	10–25	20–80

Значительная часть металлов, поступающих в атмосферу, переносится воздушным путем в твердом или водорастворимом виде на большие расстояния (Novmand et al., 1983). В зависимости от размера и веса частиц, направления и силы ветра, а также

других метеорологических факторов пыль, содержащая металлы, оседает на подстилающую поверхность и участвует в загрязнении компонентов биосферы – воды, почвы, растительности.

Естественные уровни тяжелых металлов в почвах подвержены определенным колебаниям и зависят от их содержания в минералах и почвообразующих породах, от рельефа и климата. Причем, состав почвообразующих пород является главным фактором, определяющим содержание свинца, кадмия и цинка в почвах (Обухов, Лобанова, 1987; Обухов и др., 1992). Процессы выветривания и почвообразования, естественные потоки тяжелых металлов в ландшафтах и неоднородность растительного покрова также могут оказывать влияние на их содержание в почвах. Однако фоновое содержание металлов в почвах, в целом, варьирует незначительно.

Техногенные источники тяжелых металлов. Основной источник поступления тяжелых металлов в окружающую среду – техногенный, связанный с интенсивным развитием современной промышленности: угледобывающей, металлургической, химической, энергетической (Ягодин и др., 1989; Ильин, 1991; Merrington, Alloway, 1994, Снакин, 1998). Загрязнение воздуха происходит при сжигании угля и других горючих ископаемых, а также вызвано выбросами промышленных предприятий. Причем, если загрязнение от промышленных предприятий, как правило, носит локальный характер, то выбросы при сжигании топлива распространяются повсеместно (Барсукова, 1997). Основная часть (60–80%) от выбросов в атмосферу кадмия, цинка и меди приходится на предприятия по переработке руд. Содержание этих металлов в атмосфере может более чем в 1000 раз превышать их обычные концентрации в воздухе. Например, в пыли ряда машиностроительных предприятий обнаружено до 2800 мг/кг свинца, а при производстве цемента – до 1400 мг/кг (Сагет, 1982).

Транспортные средства также являются одним из главных источников загрязнения почв и растений тяжелыми металлами. В частности, около 60–70% всех выбросов в атмосферу свинца связано с использованием свинецсодержащего бензина (Минеев и др., 1981; Снакин, 1998). Вдоль дорог с активным движением автотранспорта свинцом загрязняется полоса земли шириной 50–100, а иногда и 300 м (Савицкене и др., 1993). Основное же его количество оседает на почву в пределах 10–15 м и концентри-

руется в слое глубиной до 10 см. Исследованиями также установлено, что содержание свинца в почвах вблизи автомагистралей в десятки, а иногда и в сотни раз превышает фоновые значения (Лепнева, Обухов, 1987; Сагт, 1987; Amrhein et al., 1994). Помимо свинца с выхлопными газами автотранспорта выбрасываются кадмий, кобальт, хром, медь, цинк, железо, молибден, стронций (Парибок, 1983).

При длительном техногенном поступлении тяжелых металлов в окружающую среду содержание их в почве может быть очень высоким. Причем, в почвах, загрязняемых металлургическими предприятиями, накапливается не только профилирующий, но и другие металлы, сопутствующие ему в рудах. Например, в почве около одного из цинкоплавильных заводов в Польше на глубине 1–5 см содержалось цинка 13800, свинца – 249-2480, кадмия – 15-270 мг/кг (Greszta et al., 1985).

Среди антропогенных источников поступления тяжелых металлов в почву определенную роль играют и агротехнические мероприятия: внесение удобрений, пестицидов и орошение (Алексеев, 1987; Nicholson et al., 1994; Grant et al., 1998; Никифорова, 2003). В частности, при использовании минеральных удобрений в почву вносится свинца от 7 до 225 мг/кг сухой массы почвы, при применении органических удобрений – от 6 до 15 мг/кг (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989). Содержание кадмия в минеральных удобрениях колеблется от 0.3 до 179 мг/кг сухой массы (Williams, David, 1977). Даже при относительно небольшом содержании кадмия в фосфорных удобрениях, его ежегодное поступление в почву составляет 10 г/га (Sauerheck, Rictz, 1981). Сточные воды, используемые в сельском хозяйстве, также являются источником загрязнения почв тяжелыми металлами. Кадмий, цинк и некоторые другие элементы чаще всего становятся основными токсикантами, ограничивающими применение осадков сточных вод в качестве удобрения. Например, содержание кадмия в осадках сточных вод достигает 90, а цинка – 6000 мг/кг сухой массы (Касатиков и др., 1990), что в 1.5-3.0 раза превышает принятые нормы ПДК (предельно допустимых концентраций).

Таким образом, естественное (фоновое) содержание тяжелых металлов в окружающей среде, как правило, незначительное. Основной же причиной увеличения их концентрации является хозяйственная деятельность человека. Однако, независимо от

источника загрязнения территории тяжелыми металлами, повышение их уровня в почве практически всегда приводит к увеличению концентрации токсичных ионов в растениях. И поскольку тяжелые металлы поступают в организм человека и животных, в основном, с растительной пищей, создавая серьезную угрозу их здоровью, вопросы, связанные с поглощением ионов металлов растениями и их транспортом в надземные органы, представляют не только чисто научный, но и большой практический интерес.

1.2. Поступление тяжелых металлов в растения

Важное место при исследовании влияния тяжелых металлов на растения занимает изучение процессов их поглощения и передвижения. Растения способны поглощать из окружающей среды в больших или меньших количествах практически все химические элементы. Однако с точки зрения минерального питания тяжелые металлы можно разделить на две группы: 1) необходимые в незначительных концентрациях для метаболизма растений (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Mo^{2+}), которые становятся токсичными, если их содержание превышает определенный уровень; 2) не участвующие в метаболизме растений (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+}), которые токсичны даже в очень низких концентрациях (Siedlecka, 1995).

Наземные растения могут поглощать тяжелые металлы из двух источников – почвы и воздуха (Парибок и др., 1981; Виноградов, 1985). В контексте данной работы остановимся только на поступлении этих элементов через корни.

Механизмы поглощения тяжелых металлов корнями включают пассивный (не-метаболический) перенос ионов в клетку без использования дополнительной энергии, и активный (метаболический) процесс поглощения, сопряженный с затратой энергии, которая используется для перемещения ионов против градиента электрохимического потенциала (Costa, Morel, 1993; Lux et al., 2011).

Пассивный транспорт тяжелых металлов в клетку осуществляется посредством катионных неселективных каналов трех видов: 1) кальциевых каналов, активируемых деполяризацией мембраны (ДАСС – *depolarization-activated calcium channels*), 2) кальциевых каналов, активируемых гиперполяризацией мембраны (НАСС – *hyperpolarization-activated calcium channels*) и 3) катионных каналов, не чувствительных к изменению электрического потенциала (ВИСС – *voltage-insensitive cation channels*) (White, 2005; DalCorso et al., 2008; Verbruggen et al., 2009; Kudo et al., 2011).

Активный транспорт тяжелых металлов в клетку происходит с участием специальных белков-переносчиков. В последние десятилетия достигнут значительный прогресс в идентификации трансмембранных транспортеров металлов, что отражено в целом ряде работ, в том числе обзоров (Hall, Williams, 2003; Eide, 2006; Krämer et al.,

2007; Verbruggen et al., 2009; Blindauer, Schmid, 2010; Ueno et al., 2010; Hassan, Aarts, 2011; Waters, Sankaran, 2011; Uraguchi, Fujiwara, 2012; Khan et al., 2014). На основании анализа литературы можно сделать вывод, что в поступлении и транспорте ионов тяжелых металлов в клетках растений принимают участие большое количество белков, относящиеся к различным семействам. Наиболее изученные семейства: ZIP (*zink-iron-regulated transporter*), в том числе подсемейство IRT (*iron regulated transporter*); ABC (*ATP-binding cassette*) подсемейство PDR (*pleiotropic drug resistance*) и подсемейство MRP (*multidrug resistance-associated proteins*); OPT (*oligopeptide transporters*) подсемейство YS (*yellow-stripe*) и подсемейство YSL (*yellow-strip1-like*); P_{1B}-АТФ-азы подсемейство HMA (*heavy metal ATPase*); CDF (*cation diffusion facilitator*); NRAMP (*natural resistance associated macrophage protein*); CTR (*copper transporter family*); САХ (*cation exchanger*). При этом обнаружено, что все они участвуют в транспорте металлов-микроэлементов как при их недостатке в почве, так и при избытке. Специфических транспортеров для тяжелых металлов, не являющихся необходимыми для растений, не выявлено. В данном разделе остановимся только на тех белках, которые у растений-исключателей участвуют в транспорте металлов через плазмалемму, в том числе в их загрузке в ксилему и флоэму.

ZIP-белки малоизбирательны и могут транспортировать несколько двухвалентных катионов металлов (Grotz et al., 1998; Cohen et al., 2004; Ishimaru et al., 2006; Waters et al., 2007; Assunção et al., 2010; Conte, Walker, 2011). На сегодняшний день у целого ряда видов растений обнаружено участие этих белков в поглощении корнями и транспорте через плазмалемму таких катионов, как Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , а также Cd^{2+} (табл. 2). В частности, показано, что усиление экспрессии генов *AtZIP1*, *AtZIP2* и *AtZIP5* приводит к увеличению содержания цинка в корнях растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Hassan, Aarts, 2011), а гена *OsZIP1* – цинка и кадмия в корнях риса (*Oryza sativa* L.) (Ramesh et al., 2003). Экспрессия генов других представителей этого семейства (*ZIP3/4/9*) в большей степени возрастает в условиях дефицита цинка в субстрате (van de Mortel et al., 2006). Предполагается, что ZIP-транспортеры различаются также локализацией на внутриклеточных мембранах и в разных тканях корня (van de Mortel et al., 2006).

Таблица 2

Белки ZIP-семейства, участвующие в транспорте катионов тяжелых металлов через плазмалемму (по: Waters, Sankaran, 2011)

Вид растения	Белок	Катионы металлов					Источник
		Cu ²⁺	Fe ²⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺	Cd ²⁺	
<i>Arabidopsis thaliana</i>	IRT1		+	+	+	+	Korshunova et al., 1999; Rogers et al., 2000 Vert et al., 2001 Lin et al., 2009 Grotz et al., 1998 Grotz et al., 1998 Hassan, Aarts, 2011 Wintz et al., 2003; Assunção et al., 2010 Van de Mortel et al., 2006 Van de Mortel et al., 2006 Van de Mortel et al., 2006 Waters et al., 2007
	IRT2		+		+		
	IRT3		+		+		
	ZIP1				+		
	ZIP3				+		
	ZIP5				+		
	ZIP2	+			+		
	ZIP4	+			+		
	ZIP8				+		
	ZIP10				+		
	ZIP12				+		
<i>Cucumis sativus</i>	IRT1		+				
<i>Glycine max</i>	ZIP1				+	+	Moreau et al., 2002
<i>Hordeum vulgare</i>	IRT1		+	+	+	+	Pedas et al., 2008 Pedas et al., 2009
	ZIP3				+		
	ZIP5				+		
	ZIP8				+		
<i>Medicago truncatula</i>	ZIP1				+		Lopez-Millan et al., 2004
	ZIP3		+				
	ZIP4			+			
	ZIP7			+			
	ZIP5		+		+		
<i>Oryza sativa</i>	ZIP6		+		+		Bughio et al., 2002; Lee, An, 2009 Ishimaru et al., 2006; Nakanishi et al., 2006 Ramesh et al., 2003 Ramesh et al., 2003 Lee et al., 2010b Yang et al., 2009 Lee et al., 2010c
	IRT1		+			+	
	IRT2		+			+	
	ZIP1				+	+	
	ZIP3				+		
	ZIP5				+		
	ZIP7				+		
	ZIP8		+		+		

Основная функция транспортных белков **IRT1** и **IRT2** – перенос ионов Fe^{2+} через плазмалемму в клетки корня (Ishimaru et al., 2012). При этом у двудольных растений и однодольных видов, не относящихся к семейству *Poaceae*, со стратегией I транспорта Fe^{2+} эти белки, как полагают, являются основными транспортерами ионов железа (II), однако они могут участвовать и в транспорте других ионов (Mn^{2+} , Zn^{2+} и Cd^{2+}) (Rogers et al., 2000; Conte, Walker, 2011). При этом у гипераккумуляторов он в настоящее время считается важным кандидатом на роль основного переносчика кадмия (Hassan, Aarts, 2011). Исследований, касающихся изучения роли этого белка в транспорте ионов тяжелых металлов у злаков крайне мало. Однако обнаружено его участие в ассимиляции Fe^{2+} и всасывании комплекса Fe^{3+} -фитосидерофоры (Vert et al., 2002). Показано, также, что при усилении экспрессии гена *OsIRT1* в клетках корня риса возрастает содержание кадмия в корнях и побегах растений (Lee, An, 2009).

У растений из семейства *Poaceae* реализуется стратегия II, и Fe^{3+} транспортируется в комплексе с фитосидерофорами с участием белка – **YS1**. Этот белок обнаружен у целого ряда видов из этого семейства: у кукурузы (Yen et al., 2001), ячменя (Murata et al., 2006), риса (Lee et al., 2009). Функционирует он в симпорте с протоном (Schaaf et al., 2004). Установлено, что у ячменя (*Hordeum vulgare* L.) HvYS1 является специфическим транспортером, который переносит только комплексы Fe^{3+} с фитосидерофорами (Harada et al., 2007), тогда как у кукурузы (*Zea mays* L.) ZmYS1 и у риса OsYS1 белки способны транспортировать также комплексы Co^{2+} , Cu^{2+} и Zn^{2+} (Ma, Nomoto, 1993). У мутантных растений кукурузы с отсутствием гена *YS1* транспорт комплексов Zn^{2+} с фитосидерофорами в клетки корня был нарушен (von Wiren et al., 1996).

NRAMP – семейство транспортеров, участвующих в переносе двухвалентных ионов металлов в цитоплазму (Krämer et al., 2007). Наиболее изученными белками из этого семейства являются NRAMP3 и NRAMP4, локализованные на тонопласте и осуществляющие транспорт ионов из вакуоли в цитозоль. Относительно недавно было высказано предположение, что возможным участником транспорта тяжелых металлов (в частности, Cd^{2+} и Mn^{2+}) через плазмалемму является белок **NRAMP5** (Ishimaru et al., 2012). Он выявлен на наружной стороне плазматической мембраны клеток

эндодермы и экзодермы корня риса. В опытах с рисом, выращенным в условиях повышенной УФ-радиации, были выделены мутантные растения с очень низкой способностью к накоплению кадмия, что оказалось связанным с функционированием гена *OsNRAMP5* (Ishikawa et al., 2012). Кроме того, при сравнении степени участия белков OsIRT1 и OsIRT2 с белком OsNRAMP5 в транспорте ионов кадмия было обнаружено, что именно последний является основным транспортером этого металла у растений риса (Sasaki et al., 2012). Позднее было выявлено, что OsNRAMP5 транспортирует также ионы марганца и цинка (Uraguchi, Fujiwara, 2013).

Специфическими транспортерами, которые осуществляют транспорт только ионов меди (II) через плазмалемму, являются белки подсемейства **СОРТ** (*copper transporter*) семейства CTR. У *Arabidopsis thaliana* и риса выявлены семь белков этого типа (СОРТ1–СОРТ7), экспрессия генов которых была обнаружена практически во всех тканях корня и побега (Yuan et al., 2011; Puig, 2014). При этом экспрессия четырех из них – СОРТ1, СОРТ2, СОРТ4 и СОРТ6 – усиливалась в присутствии избытка ионов меди (Jung et al., 2012). Обнаружено также, что в присутствии кадмия у *A. thaliana* возрастал уровень экспрессии генов *AtCOPT1*, *AtCOPT2* и *AtCOPT6*, что приводило к увеличению содержания меди в корнях растений (Gayomba et al., 2013). При этом *copt1copt2copt6* мутантные растения оказались гораздо менее устойчивыми к кадмию по сравнению с диким типом.

Помимо активности белков-переносчиков и катионных каналов на поглощение тяжелых металлов корнями растений большое влияние оказывают свойства почвы, в частности тип почвы, ее химический и механический состав, pH, содержание органического вещества, обменная катионная способность, микрофлора и др. (Ильин, 1991; Rauser, 1999; Sanità di Torpi, Gabbrielli, 1999). Существенное влияние оказывают и другие ионы, находящиеся в почве (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989). При этом наибольший антагонизм проявляют элементы одинаковой валентности, способные образовывать сходные комплексы (Wierzbicka, 1987; Hart et al., 1998). Например, свинец подавляет поглощение и передвижение в побеги железа, марганца и цинка (Kannan, Kerpler, 1976). Всасывание кадмия корнями растений снижается при добавлении в раствор Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} и Fe^{2+} (Costa, Morel, 1993; Jalil et al., 1994; Gussarsson et

al., 1995). В свою очередь, выявлен ингибирующий эффект кадмия на поглощение и аккумуляцию Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} и Ca^{2+} (Metwally et al., 2005; Liu et al., 2006; Zhang et al., 2010).

Соотношение пассивного и активного механизмов поступления тяжелых металлов в растения во многом зависит от их концентрации в почве. Отмечено, что при содержании металлов в микроколичествах (в пределах фонового уровня) основной вклад вносит активное метаболическое поглощение (Cataldo et al., 1983; Godbold, 1991). При наличии же во внешней среде высоких концентраций металлов поглощение носит преимущественно неметаболический характер, и является результатом их диффузии в свободное пространство корня (Culter, Rains, 1974).

Поступление тяжелых металлов в растения корневым путем может регулироваться механизмами, которые уменьшают их концентрацию в ризосфере. В частности, клетки корня выделяют слизи, способные связывать металлы в почве, ограничивая тем самым их проникновение в растение. Помимо этого растения выделяют в ризосферу целый ряд соединений, связывающих ионы тяжелых металлов и осаждающих их на поверхности корня. Такими соединениями являются органические кислоты, аминокислоты, фенолы, пептиды, ферменты (в частности, редуктазы). В результате этого создается своеобразный барьер для проникновения свободных токсичных ионов в клетки корня растений (Чиркова, 2002; Wenzel et al., 2003; Xiong et al., 2008). Растения семейства *Poaceae* помимо органических кислот выделяют в ризосферу фитосидерофоры – органические вещества, которые синтезируются из метионина и принадлежат к семейству мугеиновых кислот. Основной функцией фитосидерофоров считается хелатирование Fe^{3+} , необходимое для лучшего его поглощения (Haydon, Cobbett, 2007). При этом обнаружено, что уровень экспрессии генов белков, участвующих в биосинтезе этих кислот, возрастает при дефиците железа в растениях (Nagasaka et al., 2009). Помимо железа фитосидерофоры играют важную роль и в поглощении цинка, как это было обнаружено у ячменя и риса (Suzuki et al., 2008). Причем у риса они участвуют еще и в распределении данного металла по растению. Имеются сведения и об усилении поглощения растениями кадмия. Так, выделение фитосидерофоров в ризосферу растениями сорго, пшеницы (Römheld, Awad, 2000) и кукурузы (Kochian, 2000)

приводило к увеличению количества металла в клетках их корней. Вместе с тем высказано мнение, что выделение фитосидерофоров корнями злаков может препятствовать поглощению растением некоторых металлов, не являющихся жизненно необходимыми для растений, за счет связывания их ионов в ризосфере (Hall, 2002).

1.3. Транспорт тяжелых металлов по растению

Обнаружено, что общее содержание тяжелых металлов в органах растений зависит от двух процессов: активности поглощения металла клетками корня и эффективности его перемещения по растению, где важную роль играет радиальный транспорт ионов (Clemens, 2006b).

Радиальный транспорт ионов тяжелых металлов по тканям корня до сосудов ксилемы может осуществляться как по апопласту, так и по симпласту. Известно, что апопластный путь движения катионов металлов возможен в тех областях корня, где отсутствуют пояски Каспари, например, в зоне меристематических клеток, в начале зоны растяжения и в начале зоны появления корневых волосков (Lux et al., 2004). Он осуществляется посредством диффузии через клеточные стенки и внутриклеточное свободное пространство (Мейчик и др., 2003). Вклад апопласта в поступление токсичных ионов в проводящие сосуды, как полагают, невелик, при этом он возрастет с увеличением концентрации металла в субстрате (Redjala et al., 2009). Однако экспериментальных данных по этому вопросу крайне мало.

В симпластном транспорте ионов тяжелых металлов через плазмалемму клеток в сосуды ксилемы участвуют белки-переносчики **HMA2** и **HMA4** (Hussain et al., 2004; Verret et al., 2004). Эти белки обнаружены в клетках проводящих тканей практически во всех органах растений, относящихся и к исключателям, и к гипераккумуляторам (Eren, Argüello, 2004; Hussain et al., 2004). Многочисленными экспериментами показано, что мутации по генам *AtHMA4* и *AtHMA2* делают растения *Arabidopsis thaliana* неспособными транспортировать цинк из корней в побеги (Hussain et al., 2004). У двойных мутантов *hma2hma4* с пониженной функцией этих генов практически все поступившие в растения ионы металла накапливаются в корнях, тогда как в надземных органах цинк полностью отсутствует (Puig, Penarrubia, 2009). Показано также, что подавление экспрессии генов *HMA2* и *HMA4* у *A. thaliana* почти полностью блокирует перемещение кадмия из корней в побеги (Wong, Cobbett, 2008). Кроме того, в уровне экспрессии генов этих белков выявлены значительные межвидовые и органоспецифические различия. Например, у риса при действии металла наиболее высо-

кий уровень экспрессии гена *OsHMA2* был обнаружен в корнях (Sato-Nagasawa et al., 2012), у ячменя (*HvHMA2*) – в листьях (Mills et al., 2012), а у пшеницы (*Triticum aestivum* L.) (*TaHMA2*) – в узлах стебля (Tan et al., 2013). В литературе имеются также данные об участии HMA2-белков в загрузке флоэмы у злаков (Yamaji et al., 2013; Khan et al., 2014). В частности, у риса белок OsHMA2 был обнаружен в паренхимных и ситовидных клетках флоэмы (Yamaji et al., 2013). Авторы полагают, что этот белок участвует на заключительном этапе транспорта металлов из ксилемы.

Предполагается, что тяжелые металлы могут транспортироваться в сосуды ксилемы и в комплексе с хелаторами, например, с глутатионом или фитохелатинами, однако механизм этого транспорта не изучен (Clemens, 2006b; Verbruggen et al., 2009). На транспорт тяжелых металлов из корня в стебель оказывают влияние такие процессы, как перенос ионов через плазмалемму клеток корня, симпластический транспорт до сосудов ксилемы, загрузка в ксилему и связывание ионов металлов в ксилемном соке различными лигандами (Harris, Taylor, 2004).

В целом ряде исследований показано, что тяжелые металлы могут транспортироваться и по сосудам флоэмы в системе органов “донор–акцептор” (Cakmak et al., 2000; Harris, Taylor, 2001). С использованием радиографических методов у растений разных видов зафиксирован флоэмный транспорт изотопов ^{109}Cd , ^{63}Ni , ^{65}Zn из листьев в цветки и плоды (семена), а также от листа к листу или к корню (Cakmak et al., 2000; Harris, Taylor, 2001; Page, Feller, 2005). Транспорт металлов по флоэме играет важную роль в доставке питательных элементов, в том числе и микроэлементов, относящихся к тяжелым металлам, в развивающиеся семена (Bauer, Hell, 2006). Отметим, что в последнее время все большую актуальность приобретает проблема увеличения содержания тяжелых металлов в зерне при выращивании хлебных злаков или зернобобовых культур на загрязненных ими почвах. Например, кадмий в количествах, заметно превышающих ПДК, установленного для хлебных злаков (0.2 мг/кг сухого веса), был обнаружен в зерне пшеницы (Harris, Taylor, 2001), риса (Shah, Dubey, 1998) и ячменя (Chen et al., 2007) при выращивании этих видов на почвах, содержащих металл. При этом, как было выявлено у риса, более 90% кадмия поступает в зерно именно по фло-

эме (Tanaka et al., 2007). Хотя в целом, несмотря на важность этого вопроса, поступление ионов металлов во флоэму изучено в гораздо меньшей степени, чем в ксилему.

К настоящему времени доказано, что по флоэме тяжелые металлы могут транспортироваться в комплексе с никотинамином, GSH и фитохелатинами, которые были обнаружены во флоэмном соке (Van Belleghem et al., 2007; Mendoza-Cózatl et al., 2008). При этом никотинамин связан, как полагают, в основном с микроэлементами (Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}), и в транспорте этих комплексов предполагается участие YSL-белков (Curie et al., 2009; Klatte et al., 2009; Verbruggen et al., 2009). Эти белки обнаружены на внутренних мембранах клеток, прилегающих к сосудам флоэмы, как в побегах, так и в корнях (DiDonato et al., 2004; Le Jean et al., 2005; Schaaf et al., 2005; Curie et al., 2009). Вероятно, они помогают поступлению комплексов металлов с никотинамином из сосудов флоэмы в развивающиеся ткани. На сегодняшний день белки, осуществляющие транспорт комплексов тяжелых металлов с фитохелатинами во флоэму, неизвестны.

Таким образом, несмотря на значительный прогресс, достигнутый к настоящему времени в понимании механизмов поступления и транспорта тяжелых металлов по растению, все еще остается достаточно много вопросов, для выяснения которых необходимо проведение дальнейших исследований. Помимо теоретической важности, лучшее понимание механизмов транспорта тяжелых металлов, а также выяснение вклада различных белков-переносчиков в передвижении необходимых растению элементов и тех, которые не играют функциональной роли, будет способствовать созданию сельскохозяйственных культур с высоким качеством продукции и низким содержанием тяжелых металлов в органах, используемых в пищу.

1.4. Накопление тяжелых металлов растениями и их распределение по органам, тканям и внутри клетки

По способности накапливать тяжелые металлы растения можно разделить на три группы: 1) аккумуляторы, накапливающие металлы, главным образом, в надземных органах как при низком, так и высоком содержании их в почве; 2) индикаторы, в которых концентрация металла отражает его содержание в окружающей среде и 3) исключатели, у которых поступление металлов в побеги ограничено, несмотря на их высокую концентрацию в окружающей среде и накопление в корнях (Baker, 1981; Antosiewicz, 1992). В данной работе рассматриваются только растения, относящиеся к группе исключателей.

Известно, что в зависимости от вида растений содержание в них тяжелых металлов может изменяться во много раз (до 100 и более) (Покровская, 1995). Более того, разные виды растений, а также сорта (линии) одного вида различаются по способности накапливать тяжелые металлы даже при одной и той же их концентрации в почве (Kuboi et al., 1986; Yang et al., 1995; Grant et al., 1998). Например, при выращивании овощных культур на загрязненных кадмием почвах концентрация металла в листьях салата, шпината, сельдерея и капусты оказалась выше, чем в листьях томата, кукурузы, бобов и гороха (Davis, White, 1981). Выявлены существенные различия в содержании кадмия во всех органах (в том числе в клубнях) двух сортов картофеля (Dunbar et al., 2003) и в зерне изогенных линий твердой пшеницы (Harris, Taylor, 2001).

На накопление тяжелых металлов оказывает влияние и возраст растений (Мельничук, 1990). В экспериментах И.И. Скрипниченко и Б.Н. Золотаревой (1981) установлено, что содержание свинца в надземных органах 30-дневных растений овса по сравнению с 7-дневными существенно уменьшалось (в 1.5–14 раз в зависимости от концентрации металла в корнеобитаемой среде). В отличие от этого у растений бобов отмечено увеличение содержания цинка и кадмия в корнях и побегах от фазы 4-х листьев к фазе созревания семян. У пшеницы же с возрастом растений содержание цинка в надземной биомассе повышалось, а кадмия – снижалось (Гармаш, 1989).

Накопление тяжелых металлов в растениях может также зависеть от сезона и погодных условий года. Например, у растений бука концентрация кадмия в ксилемном

соке резко повышалась в апреле и ранней осенью, а в летние месяцы – сохранялась на сравнительно низком уровне (Glavas et al., 1990). Аналогичные результаты получены и в отношении травянистых растений: наименьшее содержание кадмия и свинца в фитомассе пастбищных растений отмечено в летние месяцы, а ранней весной и поздней осенью оно повышалось (Vetter, 1982 – цит. по Ильин, 1991). Полагают, что это обусловлено несовпадением темпов прироста биомассы растений (которые летом достигают максимума) с более или менее равномерным поступлением тяжелых металлов из почвы (Ильин, 1991).

Распределение тяжелых металлов по органам растений. В отличие от накопления характер распределения тяжелых металлов по органам в большинстве случаев не зависит от эдафических и сезонных факторов и определяется, главным образом, свойствами металлов и видовыми особенностями растений (Choudhary et al., 1994; Yang et al., 1995). Типичное распределение металлов по органам у растений-исключателей следующее (по убыванию): корень > стебель > листья > плоды или семена (Ильин, Степанова, 1981; Wagner, 1993; Grant et al., 1998). При этом у разных видов растений, а также сортов (генотипов) оно может несколько различаться в процентном соотношении, что связано с особенностями поглощения ионов металлов корнями и их перемещения из корней в побеги (Florjin, Van Beusichem, 1993a; Guo et al., 1995; Hart et al., 1998).

Способность корней задерживать бóльшую часть тяжелых металлов снижает их поступление в надземные органы растений, что является важным адаптационным механизмом, обеспечивающим их нормальный рост и развитие в условиях высокого содержания этих элементов в почве (Wagner, 1993; Grant et al., 1998). В то же время, многочисленными опытами установлено, что с увеличением концентрации тяжелых металлов во внешней среде, наряду с возрастанием их содержания в корнях, повышается количество металлов и в надземных органах – стеблях и листьях, и даже в соцветиях и семенах. Это говорит о том, что защитные механизмы и барьеры, функционирующие на уровне клеток и тканей корня, не в состоянии полностью предотвратить попадание тяжелых металлов в побеги растений. Однако в среднем, надземные орга-

ны содержат в 10–15 раз (Krupa, Baszynski, 1995; Kovačević et al., 1999), а по некоторым данным в 200 раз меньше тяжелых металлов (Шевякова и др., 2003), чем корни.

Содержание тяжелых металлов в репродуктивных органах и семенах, как правило, невелико вследствие функционирования разнообразных защитных механизмов, связывающих ионы металлов в клетках корня, побега или листьев (Ильин, 1991; Moral et al., 1994). Это имеет большое биологическое значение, связанное с сохранением способности к репродукции и семенной продуктивности. Тем не менее, некоторые металлы, в частности, кадмий, обладая большой подвижностью, способен к перемещению в генеративные органы (Harris, Taylor, 2001). На примере культурных злаков показано, что кадмий может поступать в соцветие как по ксилеме из корня, так и по флоэме из листьев с потоком ассимилятов (Greger, Löfstedt, 2004; Tanaka et al., 2007). При этом он накапливается в относительно больших количествах в зерне, что представляет серьезную угрозу здоровью человека и животных.

Проблема увеличения содержания тяжелых металлов в зерне хлебных злаков при их выращивании на загрязненных почвах приобретает в последнее время все большую актуальность. Полагают, что высокое содержание тяжелых металлов в зерне злаков в большей степени связано с увеличением активности их транспорта из корня в стебель и концентрацией в надземных органах, а не с интенсивностью поглощения корнями (Greger, Löfstedt, 2004; Uraguchi et al., 2009). В этой связи изучение механизмов передвижения металлов из корней в надземные органы злаков чрезвычайно актуально, поскольку может способствовать правильному выбору культур, используемых для выращивания на загрязненных металлами почвах (или почвах, где существует угроза подобного загрязнения), и получению более экологически чистой продукции, а также созданию новых сортов, обладающих способностью снижать поступление кадмия в зерно.

Распределение тяжелых металлов по тканям. При изучении распределения тяжелых металлов в тканях корня установлено, что большая их часть локализована в ризодерме и коре (Серегин, Иванов, 1997а; Wójcik, Tukiendorf, 1999). При этом, как выяснено, первичная кора корня растений, относящихся к группе исключателей, яв-

ляется основной аккумулирующей тканью для ионов кадмия и свинца (Серегин, 2009). Структурные особенности клеток эндодермы и центрального цилиндра ограничивают поступление металлов в сосуды ксилемы, а, следовательно, и в надземные органы растения (Серегин, Иванов, 2001), хотя и не для всех тяжелых металлов. В частности, известно, что эндодерма не ограничивает радиальное передвижение ионов цинка, тогда как для ионов никеля эндодерма играет роль ткани-аккумулятора (Серегин, 2009). Однако с повышением концентрации металла в среде увеличивается его содержание и в эндодерме (Leblowa et al., 1986; Punz, Sieghardt, 1993; Wójcik, Tukiendorf, 2005). Например, с помощью радиографических и гистохимических методов показано накопление большого количества кадмия и свинца у растений в эндодерме корня и частичное попадание его в центральный цилиндр (Нестерова, 1989; Серегин, Иванов, 1997б; Wójcik, Tukiendorf, 2005).

Сравнительно слабо изучено проникновение металлов в меристемы корней. С использованием радиографического и спектрометрического анализа установлено присутствие ^{65}Zn и ^{106}Cd в апикальной меристеме как главного, так и боковых корней пшеницы (Haslett et al., 2001; Page, Feller, 2005). По данным некоторых авторов (Lane, Martin, 1982; Wierzbicka, 1987) свинец практически отсутствует в области покоящегося центра, возможно, из-за барьеров в апопласте (Lane, Martin, 1982). По данным И.В. Серегина (Серегин, 2009) в зонах деления и растяжения корня отсутствуют физиологические барьеры для передвижения тяжелых металлов, поэтому ткани апикального участка накапливают их ионы, что является одной из причин ростигибирующего действия этих химических элементов.

Сведений о распределении тяжелых металлов в тканях листьев и стебля растений сравнительно немного. Выявлено значительное накопление цинка и кадмия в клетках эпидермиса листьев ячменя (Brune et al., 1994, 1995) и кукурузы (Wójcik, Tukiendorf, 2005), а также у чувствительных экотипов *Silene vulgaris* (Moench) Garcke (Chardonens et al., 1998). Преимущественное накопление кадмия, никеля и цинка в покровной ткани было обнаружено в листе кукурузы (Серегин, 2009). Вместе с тем, если в клетках мезофилла листа растений *S. vulgaris* отмечено очень низкое содержание кадмия по сравнению с эпидермальными клетками (Chardonens et al., 1998), то в

клетках мезофилла и эпидермиса листа ячменя содержание цинка и кадмия было практически равным (Brune et al., 1995). Брун с соавт. (Brune et al., 1994), изучая аккумуляцию цинка в тканях листа ячменя, установили, что при низкой концентрации металла в питательном растворе (0.002 мМ/л) более 80% цинка (от общего содержания в листе) находилось в протопласте клеток мезофилла. Авторы полагают, что это связано с тем, что цинк необходим для нормального роста растений. При высокой концентрации цинка (0.4 мМ/л) в питательном растворе содержание цинка в клетках эпидермиса увеличилось в 19 раз, хотя его содержание в клетках мезофилла возросло при этом только в 2.5 раза. Аналогично изменялось содержание кадмия в тканях листа ячменя при увеличении его концентрации в растворе (Brune et al., 1995). Такое распределение металлов в тканях листа рассматривается в качестве способа защиты хлоропластов и, следовательно, процесса фотосинтеза от их токсического действия (Крупа et al., 1993; Thomas, Singh, 1996). Небольшое количество тяжелых металлов было обнаружено в проводящих тканях первого листа: цинка – у ячменя (Brune et al., 1994), а кадмия и свинца – у кукурузы (Серегин, Иванов, 1997б).

Распределение тяжелых металлов в клетке весьма неравномерно. Значительная часть поступившего металла задерживается в клеточной оболочке (Рудакова и др., 1988; Taylor, 1991; Серегин, Иванов, 1997б; 2001). Связывание тяжелых металлов клеточной стенкой выявлено как для клеток корня (Wagner, 1993; Lozano-Rodríguez et al., 1997; Grant et al., 1998; Cakmak et al., 2000), так и листа (Brune et al., 1994; Lozano-Rodríguez et al., 1997; Ramos et al., 2002). Например, доля кадмия, локализованного в клеточной стенке листьев салата, составила 64% от его общего содержания в клетке (Ramos et al., 2002), а доля цинка, прочно связанного в клеточной стенке листьев ячменя, оказалась еще выше – 77% (Brune et al., 1994). Имобилизация тяжелых металлов клеточной стенкой считается одним из наиболее важных защитных механизмов от их токсического действия (Рудакова и др., 1988; Davies et al., 1991).

При высоких концентрациях металла в корнеобитаемой среде его ионы проникают через клеточную стенку и плазмалемму в цитоплазму клеток. При этом избыток ионов металлов из цитозоля удаляется в вакуоль. Существуют многочисленные дока-

зательства вакуолярной изоляции ионов металлов в клетках корня и побега (Vogeli-Lange, Wagner, 1990; Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999; Navari-Izzo, Quartacci, 2001). Например, значительное количество цинка и кадмия (63% и 73% от общего содержания в клетке, соответственно) обнаружено в вакуоли клеток листа ячменя (Brune et al., 1994, 1995). Особенно высокие концентрации кадмия, аккумулирующиеся в виде аморфных кристаллов размером до 150 мкм, выявлены в вакуолях трихом (эпидермальных волосков) (Salt et al., 1995; Küpper et al., 2000; Choi et al., 2001). Имобилизация ионов тяжелых металлов в вакуоли помогает исключить их из метаболически активных компартментов клетки (Carrier et al., 2003).

Незначительное количество тяжелых металлов было выявлено в хлоропластах, митохондриях и ядре (Khan et al., 1984; Wierzbiska, 1987; Carrier et al., 2003). Так, в исследованиях Бруна с соавт. (Brune et al., 1994) показано, что при повышении концентрации цинка в гидропонной среде в 200 раз его содержание в хлоропластах клеток листа ячменя практически не меняется. В хлоропластах клеток листа салата количество кадмия оказалось также невысоким (Ramos et al., 2002). Очевидно, ионы тяжелых металлов в хлоропластах не накапливаются, несмотря на то, что в их мембранах обнаружена Cd^{2+}/Zn^{2+} транспортирующая АТФаза, указывающая на возможность поступления металлов в эти органеллы (Ferro et al., 2003).

Имеются также сведения, что определенное количество тяжелых металлов накапливается в других клеточных органеллах. К примеру, опыты с радиоактивно меченым цинком выявили его нахождение в рибосомальной, ядерной и митохондриальной фракциях клеток корня и листа конских бобов (Polar, 1976). Присутствие свинца обнаружено в ядрах и митохондриях клеток корней проростков редьки (Lane, Matrin, 1982).

Таким образом, растения способны поглощать и накапливать ионы тяжелых металлов как необходимых для их жизнедеятельности, так и металлов, функциональная роль которых пока не выяснена. На уровне целого растения градиент концентрации тяжелых металлов уменьшается от корня к соцветиям, что ограничивает их поступление в репродуктивные органы (соцветия, плоды, семена). На уровне тканей значительное количество металлов локализуется в ризодерме, коре и эпидермисе. На кле-

точном уровне избыток металлов аккумулируется в связанном малоактивном состоянии в клеточной стенке и вакуоли, в результате чего снижается их токсическое действие на цитоплазму клетки.

1.5. Влияние тяжелых металлов на некоторые физиологические процессы у растений

Изучение влияния тяжелых металлов на физиологические процессы растений началось еще в 70-е годы прошлого столетия, и к настоящему времени накоплен довольно большой фактологический материал, который представлен в экспериментальных статьях, обзорах и монографиях (Clemens, 2001; Серегин, Иванов, 2001; Vassilev, 2002; Иванов и др., 2003; Meharg, 2005; Серегин, Кожевникова, 2006; Broadley et al., 2007; Титов и др., 2007; Башмаков, Лукаткин, 2009; Hasan et al., 2009; Sanità di Toppi, Meharg, 2011; Yang, Chu, 2011; Гришко, Сыщиков, 2012 и др.). Установлено, что в присутствии тяжелых металлов тормозятся рост и развитие растений, происходят многочисленные структурно-функциональные изменения в фотосинтетическом аппарате, нарушаются процессы дыхания, транспирации, транспорта веществ и т.д. В результате этого снижается продуктивность отдельных растений и целых фитоценозов, а иногда даже полностью разрушаются растительные сообщества (Ali et al., 2000; Khudsar et al., 2004; Яблоков, 2007; Алексеев, 2008). Последние достижения биохимии, молекулярной биологии и генетики позволили более глубоко проанализировать механизмы воздействия тяжелых металлов на физиологические процессы. Тем не менее, приходится констатировать, что до сих пор некоторые аспекты их действия на растительный организм изучены недостаточно полно.

1.5.1. Рост и развитие

Исследованию воздействия тяжелых металлов на процессы роста растений посвящено довольно большое число публикаций (Bazzaz et al., 1974; Ковда и др., 1979; Первунина, Зырин, 1980; Stiborova et al., 1986; Нестерова, 1989; Алексеева-Попова, 1991; Breskle, 1991; Титов и др., 1995; Maksymiec, 1997; Vassilev, Yordanov, 1997; Prasad et al., 2001; Sandalio et al., 2001; Иванов и др., 2003; Демченко и др., 2005 и др.), в том числе целый ряд обзоров (Foy et al., 1978; Barceló, Poschenrieder, 1990; Мельничук, 1990; Гуральчук, 1994; Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999; Серегин, Иванов, 2001; Vassilev, 2002 и др.). Анализ этих работ показывает, что торможение роста является

наиболее общим проявлением токсичности тяжелых металлов для растений, что связано, в первую очередь, с их прямым действием на деление и растяжение клеток.

Влияние тяжелых металлов на рост делением. Известно, что наиболее интенсивно деление клеток происходит в апикальных меристемах корня и побега, и формирование всех органов растения связано в первую очередь с функционированием меристематических клеток (Полевой, Саламатова, 1991; Медведев, 2004). Поэтому исследования, касающиеся влияния тяжелых металлов на деление клеток, проводят в большинстве случаев с использованием меристем корня. Изучение митотической активности клеток меристемы корня у разных видов растений (гороха, лука, ячменя, *Crepis capillaris* (L.) Wallr., *Lathyrus odoratus* L.) показало, что в присутствии тяжелых металлов в высоких концентрациях замедляется интенсивность клеточных делений, уменьшается количество клеток на всех фазах митоза, увеличивается продолжительность фаз и всего митотического цикла (Ваулина и др., 1978; Мельничук и др., 1982; Powell et al., 1986; Breskle, 1991; Бессонова, 1991; Серегин, Иванов, 2001).

Помимо негативного влияния на митотическую активность клеток, тяжелые металлы могут замедлять пресинтетический (G_1) и постсинтетический (G_2) этапы клеточного деления (Liso et al., 1984; Powell et al., 1986).

Следует также отметить, что повышенные концентрации тяжелых металлов могут вызывать в меристематических клетках корней различные цитогенетические нарушения. Например, при увеличении концентрации кадмия в субстрате у растений *C. capillaris* наблюдалась сильная спирализация хромосом во всех фазах клеточного деления, неравное расхождение хромосом к полюсам клетки или полное отсутствие расхождения, появление тетраплоидных клеток (Ваулина и др., 1978). Аналогичные данные получены и в отношении других тяжелых металлов: цинка, никеля, свинца (Van Assche, Clijsters, 1990; Бессонова, 1991; Довгалюк и др., 2001; Демченко и др., 2005). Некоторые тяжелые металлы (кадмий, никель) вызывают также повреждение ядра (Liu et al., 2003/4), нарушают синтез РНК и ингибируют активность рибонуклеазы (Shan, Dubey, 1998).

В основе отмеченных выше нарушений клеточного деления прежде всего лежит способность связывания ионов металлов с сульфгидрильными группами белков вере-

тена и ферментов, ответственных за прохождение митоза, в результате чего эти белки теряют свою активность (Бессонова, 1991; Иванов и др., 2003; Серегин, Кожевникова, 2006).

Сведений о влиянии тяжелых металлов на апикальные меристемы стебля высших растений в доступной нам литературе обнаружить не удалось. Вместе с тем, вполне логично предполагать возможность такого влияния.

Влияние тяжелых металлов на рост растяжением. Тяжелые металлы оказывают негативное действие и на растяжение клеток. Так, кадмий в концентрации 50 мкМ ингибировал рост растяжением клеток корня у растений кукурузы, риса и пшеницы (Wójcik, Tukiendorf, 1999). Повышение содержания цинка в питательной среде до 32 мкМ замедляло рост клеток корня у *Festuca rubra* L. (Powell et al., 1986), а увеличение уровня свинца до 20 мкМ – клеток стебля у разных сортов риса (Yang et al., 2000). Высокие концентрации никеля замедляли скорость роста клеток растяжением в корне пшеницы (Демченко и др., 2005). Выявлено, что механизм воздействия тяжелых металлов на рост растяжением связан, в первую очередь, со снижением эластичности клеточных стенок. Обладая большим сродством к SH-группам, ионы металлов образуют прочные связи с компонентами клеточной стенки, тем самым, препятствуя ее растяжению (Burzyński, Jakobi, 1983). Уменьшение эластичности клеточных стенок в присутствии тяжелых металлов может быть обусловлено повреждением структуры микротрубочек (Иванов и др., 2003) и нарушением водного режима клеток (Roshenrieder et al., 1989). Кроме того, ингибирование металлами роста растяжением может быть связано с нарушением проницаемости мембран вследствие увеличения количества активных форм кислорода и возрастания перекисного окисления липидов (Tamas et al., 2006; Sharma, Dietz, 2009).

По степени ингибирования роста растений можно судить об устойчивости видов (сортов, генотипов) к тяжелым металлам.

Влияние тяжелых металлов на прорастание семян. Процесс прорастания семян является довольно устойчивым к действию тяжелых металлов (Shah, Dubey, 1998; Лянгузова, 1999; Холодова и др., 2005). Однако у разных видов растений (бобов, гороха, риса, *Crepis capillaris*; *Vaccinium myrtillus* L.) была обнаружена некото-

рая задержка начальных этапов роста в их присутствии (Ваулина и др., 1978; Алексеева-Попова, 1987; Мельничук, 1990; Shan, Dubey, 1998; Лянгузова, 1999; Sharma, Dubey, 2005; Елькина, 2006). Полагают, что тяжелые металлы проникают через семенную оболочку лишь на заключительной стадии набухания (Wierzbicka, Obidzińska, 1998) и вызывают задержку прорастания за счет влияния на процессы деления и растяжения клеток (Ваулина и др., 1978; Бессонова, 1991). Однако, в результате действия механизмов детоксикации, в частности, связывания избытка ионов металлов аминокислотами, поступающими из запасующих тканей зародыша, у корня и стебля появляется возможность для дальнейшего роста (Nrragu, 1978; Динеева и др., 1993; Лапиров, Микрякова, 2001).

Влияние тяжелых металлов на рост корня. Хорошо известно, что возрастающие дозы тяжелых металлов вызывают у растений в первую очередь замедление роста корней (Нестерова, 1989; Мельничук, 1990; Vassilev et al., 1995; Titov et al., 1996; Yang et al., 2000 и др.). Это связано с тем, что корни являются первым барьером на пути транспорта металлов из почвы в растение, и именно корень берет на себя основную функцию по их аккумуляции и детоксикации (Нестерова, 1989; Punz, Sieghardt, 1993). Под влиянием тяжелых металлов уменьшаются длина главного корня и количество боковых корней, отмирают корневые волоски, снижается биомасса корней (Denny, Wilkins, 1987; Barceló, Poschenrieder, 1990; Ouzounidou et al., 1997; Серегин, Иванов, 1997б; Vassilev et al., 1998а и др.). Например, уменьшение длины и биомассы корня в присутствии кадмия отмечено у растений гороха (Sandalio et al., 2001), фасоли (Poschenrieder et al., 1989), подсолнечника (Azevedo et al., 2005); при действии высоких концентраций цинка – у растений *Festuca rubra* (Powell et al., 1986), *Betula pendula* Roth. (Denny, Wilkins, 1987), ячменя (Brune et al., 1994). Отмеченные изменения в корневой системе приводят к снижению поглощения питательных веществ и воды, что негативно отражается на росте и развитии всего растения, а при высоких концентрациях тяжелых металлов может вызвать и его гибель.

Сравнивая ингибирующее действие разных тяжелых металлов на рост корней проростков кукурузы по суточному приросту корня, В.Б. Иванов с соавт. (Иванов и др., 2003) разделили металлы на три группы: сильнотоксичные (Cu^{2+} , Ag^{+}), средне-

токсичные (Cd^{2+} и Hg^{2+}) и слаботоксичные (Co^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}). В целом, тяжелые металлы, по мнению авторов, можно рассматривать как неспецифически действующие на рост корня химические элементы, а их токсичность зависит от способности ионов металлов образовывать прочные ковалентные связи и от устойчивости их соединений с SH-группами белков.

Влияние тяжелых металлов на рост надземной части растений. Негативное действие тяжелых металлов проявляется также в угнетении роста надземной части растений, хотя и в меньшей степени, чем корней (Little, Martin, 1972; Ernst, 1976; Скрипниченко, Золотарева, 1981; Титов и др., 1995 и др.). При этом уменьшается высота побега, снижается площадь листовой пластинки, что было обнаружено у растений из разных семейств (например, *Fabaceae*, *Compositae*, *Brassicaceae*, *Cucurbitaceae*) в присутствии различных металлов (Barceló et al., 1986; Brune et al., 1994; Krupa, Moniak, 1998; Таланова и др., 1999; Khudsar et al., 2004; Kosobrukhov et al., 2004 и др.). Высокие концентрации тяжелых металлов не только ингибируют рост вегетативных органов, но также приводят к уменьшению размеров соцветий и биомассы плодов, снижению числа образовавшихся семян (Ильин и др., 1985; Vassilev et al., 1996; Khurana et al., 2006), а в некоторых случаях растение вообще может потерять способность к формированию генеративной сферы (Vassilev et al., 1995).

Помимо непосредственного влияния тяжелых металлов на клеточное деление и растяжение рост растений может замедляться в результате их опосредованного действия, связанного с изменением гормонального баланса (Veselov et al., 2003), нарушениями фотосинтеза (Vassilev et al., 1997), водного режима (Barceló, Poschenrieder, 1990), минерального питания (Siedlecka, 1995), дыхания (Pavlovkin et al., 2006).

Нельзя не отметить также, что в небольших концентрациях тяжелые металлы могут оказывать стимулирующее влияние на ростовые процессы. Например, ионы кадмия повышали процент проросших семян у растений гороха (Мельничук, 1990). В присутствии свинца увеличивались высота растений, количество боковых побегов и длина колоса у растений пшеницы (Степанюк, 1998). В работах некоторых авторов показано стимулирующее действие тяжелых металлов (кадмия, цинка и свинца) на рост корней (Baker, Walker, 1990; Hart et al., 1998; Wojcik, Tukiendorf, 1999 и др.). По-

добный эффект низких концентраций металлов может быть связан с активацией клеточного деления, а также с увеличением размеров клеток (Liu et al., 2003/4). В отношении кадмия высказано предположение, что его стимулирующее действие может быть вызвано изменением баланса гормонов, в частности, гиббереллинов (Мельничук, Лишко, 1991), а также активизацией синтеза хелатирующих соединений в клетке (Meuwly, Rauser, 1992).

Влияние тяжелых металлов на развитие растений изучено в гораздо меньшей степени, чем их воздействие на рост. В относительно немногочисленных работах, посвященных этому вопросу, о задержке или ускорении развития исследователи обычно судят по изменению скорости прохождения растениями отдельных фенологических фаз. Например, в опытах Вассилева с соавт. (Vassilev et al., 1998b) отмечено замедление развития у обработанных кадмием (в концентрации 45 мг/кг почвы) растений ячменя. Отставание в сроках наступления фенофаз было более выражено на ранних фазах развития (проростков, 3-х листьев), тогда как фаза цветения у опытных растений наступала почти одновременно с контрольными. Авторы также выявили, что под влиянием более высоких доз металла увеличивается продолжительность вегетационного периода, а иногда растение вообще не переходит к генеративному развитию. Значительную задержку фенологического развития отмечали также А.П. Ищенко и В.В. Бутник (Ищенко, Бутник, 1991) у растений пшеницы под действием кобальта и кадмия в высоких концентрациях. Вместе с тем, при действии металлов в низких концентрациях у некоторых видов растений наблюдается даже ускорение развития. Например, Е.А. Гончарук (Гончарук, 2000) показал, что при концентрациях кадмия 10 мг/кг почвы у растений льна-долгунца происходит более быстрое прохождение фаз развития.

Таким образом, характер и сила воздействия тяжелых металлов на рост растений определяется, в первую очередь, их содержанием в корнеобитаемой среде. В относительно низких концентрациях они могут стимулировать ростовые процессы, тогда как в присутствии высоких – ингибируют их. Негативное влияние тяжелых металлов на отдельные ростовые показатели, прежде всего, связано с их непосредственным действием на деление и растяжение клеток, обусловленным, в первую очередь, высоким

сродством ионов металлов с SH-группами белков, а также с опосредованным влиянием на другие физиологические процессы. Кроме того, степень ингибирования металлами ростовых процессов зависит от токсичности конкретного металла для растений, продолжительности его действия, чувствительности вида (сорта, генотипа). В высоких концентрациях тяжелые металлы оказывают негативное действие и на развитие растений, приводя к отставанию сроков наступления очередных фенофаз.

1.5.2. Продуктивность

Нарушения жизнедеятельности растений, наблюдаемые в неблагоприятных условиях окружающей среды, проявляются в первую очередь в замедлении роста, а также снижении накопления биомассы. При этом накопление биомассы выступает как интегральный процесс, отражающий итог всех функциональных и метаболических изменений в растениях, поэтому этот показатель может использоваться в качестве универсального индикатора при оценке физиологического состояния растений (Шевелуха, 1992). Как показывают исследования негативное действие тяжелых металлов на растения также проявляется в значительном снижении биологической продуктивности. Однако если об изменениях в их присутствии в накоплении биомассы надземных и подземных органов указано в довольно большом количестве работ, то данных по семенной продуктивности крайне мало.

Так, в целом ряде работ показано, что с увеличением концентрации тяжелых металлов в субстрате у растений значительно уменьшается (по сравнению с контролем) биомасса корня и побега. Например, повышение содержания кадмия в корнеобитаемой среде до 25 мкМ снижало урожай зеленой массы у ячменя (Vassilev et al., 1996), а до 50 мкМ – у пшеницы (Bingham et al., 1975), кукурузы и риса (Wójcik, Tukiendorf, 1999). В присутствии меди в концентрации 160.5 мкМ накопление биомассы корня и побега у растений бобов уменьшалось по отношению к контролю на 70 и 38%, соответственно (Cook et al., 1997). При повышении концентрации свинца в субстрате до 2000 мг/кг сухая биомасса подземных и надземных органов растений *Plantago major* L. понижалась соответственно на 43% и 50% (Kosobrukhov et al., 2004). Под влиянием

свинца в концентрации 800 мг/кг почвы уменьшалась сухая биомасса побега у разных сортов риса (Liu et al., 2003). Снижение продуктивности надземной биомассы у растений в присутствии тяжелых металлов связано с их негативным действием на физиологические процессы.

Что касается влияния тяжелых металлов на продуктивность семян или плодов, то в единичных работах обнаружено, что в присутствии повышенных концентраций кадмия, свинца и цинка в субстрате снижается урожай семян, например, у растений пшеницы и бобов (Ильин и др., 1985), ячменя (Vassilev et al., 1996).

Необходимо также обратить внимание на то, что высокие концентрации тяжелых металлов в почве не только снижают накопление надземной биомассы и урожай семян культурных растений, но и ухудшают качество урожая, уменьшая количество важных питательных элементов, незаменимых аминокислот, витаминов (Покровская, 1995). Кроме того, поступая в растения и накапливаясь в больших количествах в органах, которые используются в пищу, они создают угрозу для здоровья человека (Vassilev et al., 1996).

1.5.3. Фотосинтез

Среди физиологических процессов, определяющих рост и продуктивность растений, наиболее важным является фотосинтез. Не случайно, изучению влияния тяжелых металлов на фотосинтез посвящено довольно большое число исследований, затрагивающих разные стороны этого процесса (Clijsters, Van Assche, 1985; Stiborova et al., 1988; Greger, Ögren, 1991; Krupa, Baszyński, 1995; Василев и др., 1995; Siedleska, Krupa, 1996; Ali et al., 2000; Караваев и др., 2001 и др.). Анализ проведенных работ показывает, что фотосинтетический аппарат (ФСА) растений и сам процесс фотосинтеза очень чувствительны к повышению содержания тяжелых металлов в окружающей среде, что проявляется в нарушении многих параметров функционирования ФСА.

Влияние тяжелых металлов на анатомическую структуру листа. Помимо уменьшения в присутствии тяжелых металлов размеров листовой пластинки, о чем

упоминалось выше, определенные изменения наблюдаются и в анатомической структуре листа. В частности, уменьшаются размеры клеток мезофилла, число и размеры устьиц, размеры хлоропластов (Molas, 1997). Указанные изменения были обнаружены под действием целого ряда тяжелых металлов, в том числе, кадмия, свинца, цинка, у растений ячменя (Woźny et al., 1995), пшеницы (Ouzounidou et al., 1997), *Myriophyllum spicatum* L. (Stoyanova, Tchakalova, 1997), *Plantago major* (Kosobrukhov et al., 2004) и др. Помимо этого, отмечено уменьшение толщины клеточных стенок мезофилла, например, в присутствии кадмия у растений редиса (Vitória et al., 2003/4), никеля – у растений пшеницы (Kovačević et al., 1999).

Влияние тяжелых металлов на содержание фотосинтетических пигментов.

Многие авторы считают, что снижение интенсивности фотосинтеза у растений при воздействии тяжелых металлов связано, в первую очередь, с их негативным влиянием на фотосинтетические пигменты (Stobart et al., 1985; Krupa, 1988; Tukendorf, Baszynski, 1991; Khudsar et al., 2001 и др.). Хорошо известно, что основным неспецифическим признаком действия металлов на растения является хлороз листьев, свидетельствующий об уменьшении количества зеленых пигментов. Обнаружено снижение содержания хлорофиллов *a* и *b* в листьях растений в присутствии высоких концентраций кадмия (Krupa, 1988), свинца (Woźny et al., 1995; Kosobrukhov et al., 2004), меди (Burzyński, Kłobus, 2004), цинка (Panda et al., 2003; Khudsar et al., 2004).

Главной причиной снижения содержания зеленых пигментов у растений при действии тяжелых металлов считается подавление биосинтеза хлорофилла (Burzyński, 1985; Horváth et al., 1996; Molas, 1997), что связано, в первую очередь, с непосредственным влиянием металлов на активность ферментов биосинтеза. Основными точками ингибирования при этом выступают образование фотоактивного хлорофиллидредуктазного комплекса и синтез δ -аминолевулиновой кислоты (Stobart et al., 1985). Например, свинец вызывает уменьшение содержания синтезированной δ -аминолевулиновой кислоты в проростках огурца (Burzyński, 1985). Кадмий оказывает негативное влияние на активность дегидразы δ -аминолевулиновой кислоты при образовании порфобилиногена. Этот же металл снижает фотоактивность протохлорофиллида и протохлорофиллидоксиоредуктазы, взаимодействуя с сульфгидрильными

группами белков (Stobart et al., 1985; Baryla et al., 2001; Schoefs, Franck, 2003; Myśliwa-Kurdziel, Strzałka, 2004). Кроме того, нарушение биосинтеза хлорофилла в присутствии кадмия, меди, никеля, свинца и цинка может быть вызвано вытеснением этими ионами Mg^{2+} из молекулы хлорофилла (Souza, Rauser, 2003). Некоторые металлы, например медь, в больших концентрациях замедляют связывание молекул хлорофиллов с белками в светособирающих комплексах фотосистем (Caspi et al., 1999). Опосредованное действие металлов на биосинтез хлорофилла связано, как полагают, с дефицитом железа, возникающего в результате конкуренции их ионов с ионами железа при транспорте через мембраны клеток (Greger, Ögren, 1991; Fodor et al., 1995).

Есть сведения, что уменьшение концентрации зеленых пигментов в условиях повышенного содержания тяжелых металлов может быть также вызвано активизацией процесса деградации хлорофилла (Мельничук, 1990; Somashekaraiah et al., 1992), однако экспериментальных данных по этому вопросу в литературе обнаружить не удалось.

Каротиноиды менее подвержены негативному действию тяжелых металлов по сравнению с хлорофиллами. Учитывая, что каротиноиды рассматриваются как один из факторов, обеспечивающих устойчивость растений к различным видам стресса, можно предполагать, что сохранение их содержания на постоянном уровне связано с выполняемой ими защитной ролью и характерно для более устойчивых видов (сортов, генотипов) (Крупа, 1988; Василев и др., 1995; Khudsar et al., 2001; Таланова и др., 2001a).

Влияние тяжелых металлов на ультраструктуру хлоропластов. Нарушения в ультраструктуре хлоропластов в присутствии тяжелых металлов являются одной из важных причин снижения содержания пигментов у растений и, в целом, уменьшения интенсивности фотосинтеза (Molas, 1997). В мембранах хлоропластов обнаружены Zn^{2+}/Cd^{2+} белки-переносчики, что говорит о возможности попадания тяжелых металлов в эти органеллы (Ferro et al., 2003) и, следовательно, их непосредственном воздействии на ультраструктурную организацию хлоропластов (Barceló et al., 1988a; Padmaja et al., 1990; Molas, 2002; Carrier et al., 2003; Vassilev et al., 2004). В частности, при действии высоких концентраций кадмия изменяется структура внешней мембра-

ны хлоропластов (Barceló et al., 1988a), а также мембран тилакоидов (Skórzyńska-Polit, Baszyński, 1997). Это может быть результатом гидролиза липидов и освобождения жирных кислот (Maksymiec et al., 1992). При действии кадмия (Prasad, 1995; Sandalio et al., 2001), никеля (Molas, 1997) и меди (Maksymiec et al., 1994) в высоких концентрациях у растений разных видов увеличивается количество пластоглобул, что говорит об усилении деградации органелл. В работах некоторых авторов показано уменьшение под воздействием тяжелых металлов количества гран и нарушение их структуры (Molas, 1997; Siedlecka, Krupa, 1999). Граны имели неправильную форму и содержали меньшее количество тилакоидов. Наблюдалась также деградация тилакоидов стромы (Skórzyńska, Baszyński, 1993). При действии свинца уменьшалось число гран в хлоропласте и число тилакоидов в гране у растений ячменя (Woźny et al., 1995).

Отмеченные нарушения в структуре хлоропластов приводят к снижению содержания хлорофиллов в листьях растений, а также вызывают инактивацию кислородо-выделяющих центров фотосистемы II (ФС II) и замедление электронного транспорта (Atal et al., 1991; Siedleska, Krupa, 1996).

Влияние тяжелых металлов на световую фазу фотосинтеза. Ионы тяжелых металлов оказывают сильное негативное действие на световые реакции фотосинтеза и структуру фотосистем (Li, Miles, 1975; Siedleska, Krupa, 1996; Tukendorf, Baszynski, 1991). Наиболее чувствительна к ионам металлов ФС II (Clijsters, Van Assche, 1985; Krupa, Baszynski, 1995), активность которой оценивается на основании анализа кинетики замедленной флуоресценции хлорофилла (Schreiber et al., 1994). В отличие от быстрой флуоресценции, при которой для излучения квантов достаточно присутствия отдельных молекул хлорофилла, для возникновения замедленной флуоресценции необходим весь ФСА, вследствие чего замедленную флуоресценцию используют также в качестве критерия при оценке его целостности (Zaharieva et al. 1999). Изменения в присутствии тяжелых металлов таких параметров флуоресценции хлорофилла, как максимальный (F_m) и минимальный (F_0) выход флуоресценции, переменная флуоресценция (F_v), а также квантовая эффективность ФС II (F_v/F_m), были обнаружены у целого ряда видов растений, в частности, при действии кадмия – у растений бобов (Krupa et al., 1993), пшеницы (Ouzounidou et al., 1997), подсолнечника (Azevedo et al.,

2005) и ячменя (Vassilev, Manolov, 1999), при действии меди – у растений бобов (Maksymiec et al., 1995). Эти изменения указывают на определенные нарушения в ФСА растений (Schreiber et al., 1994; Maxwell, Johnson, 2000). Помимо этого обнаружено снижение фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (qP) и одновременно повышение уровня нефотохимического тушения (qN). Сильное увеличение qN может являться результатом угнетения активности цикла Кальвина (Сааков, 2002), а также нарушения утилизации фотосинтетической энергии (Krupa, Moniak, 1998). Уменьшение же qP связывают с нарушениями в цепи транспорта электронов (Сааков, 2002).

Данных о влиянии тяжелых металлов на фотосистему I (ФС I) очень мало, тем не менее установлено, что некоторые тяжелые металлы (в частности, кадмий) повреждают светособирающие антенные комплексы реакционных центров как ФС II, так и ФС I (Siedlecka, Krupa, 1999; Fagioni et al., 2009).

Наиболее важными причинами снижения активности ФС II в присутствии повышенных концентраций тяжелых металлов, как предполагается, являются изменение структуры белков реакционного центра (Pätsikkä et al., 2001), а также взаимодействие ионов некоторых металлов (Cd^{2+} , Zn^{2+}) с ионами, входящими в состав кислородовыделяющего центра (Mn^{2+} , Ca^{2+} , Cl^-) (Maksymiec et al., 1994; Krupa, Baszyński, 1995; Šeršeň, Králová, 2001). Например, Серсен и Кралова (Šeršeň, Králová, 2001) обнаружили прямое действие кадмия на Mn-содержащий кластер. Проводя эксперименты с изолированными хлоропластами растений шпината Новакова с соавт. (Nováková et al., 2004) доказали, что «мишенью» действия тяжелых металлов, в частности кадмия, является также первичный донор электронов реакционного центра ФС II – P-680. В опытах Моханти с соавт. (Mohanty et al., 1989) избыток меди дестабилизировал вторичный акцептор электронов реакционного центра ФС II – молекулу пластохинона (Q_B). Имеются сведения и о повреждении тяжелыми металлами светособирающих антенных комплексов реакционных центров ФС I и ФС II (Becerril et al., 1988; Siedleska, Krupa, 1999). В целом ФС I считается относительно устойчивой к действию тяжелых металлов, однако, некоторые нарушения обнаружены и здесь (Baszynski et al., 1988; Ouzounidou, 1996). Показано, в частности, подавление работы ФС I медью, обуслов-

ленное взаимодействием металла с ферредоксином (Shioli et al., 1978), а также изменениями в количестве пластоцианина, содержащего атомы меди (Lidon, Henriques, 1993).

В литературе имеются данные о том, что тяжелые металлы влияют на перенос электронов в фотохимических реакциях (Becerril et al., 1988; Krupa, Baszynski, 1995). Например, кадмий в концентрациях 14, 28 и 42 мг/кг субстрата снижал скорость электронного транспорта в мембране тилакоидов растений ячменя (Vassilev et al., 2004). У растений люцерны, клевера и бобов кадмий ингибировал транспорт электронов и протонов на уровне пластохинона при переходе электронов от ФС II к ФС I (Atal et al., 1991). Полагают, что возможной причиной ингибирования тяжелыми металлами фотосинтетического электронного транспорта являются изменения в ультраструктуре хлоропластов, в частности, повреждение тилакоидов (Maksymiec et al., 1995). Кроме того, нарушения в переносе электронов могут быть связаны с вызываемым тяжелыми металлами дефицитом железа (Siedleska, Baszynski, 1993).

Влияние тяжелых металлов на темновую фазу фотосинтеза. Как показывают исследования, ионы тяжелых металлов вызывают серьезные нарушения и в реакциях темновой фазы фотосинтеза. При этом основными «мишенями» их токсического действия служат ферменты цикла Кальвина, что, по мнению некоторых авторов (Stiborova et al., 1986; Sheoran et al., 1990; Siedleska, Krupa, 1999; Караваев и др., 2001), является главной причиной их отрицательного влияния на фотосинтез. В ряде работ обнаружена инактивация металлами, в частности кадмием, основного фермента темновой фазы – рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О) (Weigel, 1985; Sheoran et al., 1990; Monnet et al., 2001). Снижение активности фермента может быть вызвано нарушением его четвертичной структуры в результате взаимодействия тяжелых металлов с SH-группами (Stiborova et al., 1988). Кроме того, такие металлы, как кадмий и цинк, уменьшают активность РБФК/О, заменяя Mg^{2+} в молекуле фермента (Siedleska et al., 1998). Негативное действие металлов на скорость реакций темновой фазы фотосинтеза связано также с ингибированием синтеза некоторых ферментов цикла Кальвина *de novo*, например глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Vallee,

Ulmer, 1972). Обнаружено также снижение уровня экспрессии генов, кодирующих ряд ферментов (Hajduch et al., 2001).

Нельзя не отметить, что существуют и косвенные причины замедления скорости реакций темновой фазы фотосинтеза в присутствии тяжелых металлов. Они связаны, например, со снижением поступления в клетки CO_2 , вследствие уменьшения числа устьиц (Barylá et al., 2001) или их закрывания (Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999).

Помимо непосредственного действия тяжелых металлов на отдельные составляющие процесса фотосинтеза возможно и их опосредованное влияние, связанное с изменениями в процессе дыхания (Greger, Lindberg, 1987), с нарушениями водного обмена и минерального питания (Ouzounidou et al., 1997; Siedlecka, Krupa, 1999). Например, на питательной среде с дефицитом железа активность двух фотосистем у растений ячменя значительно уменьшалась, повышение же уровня железа в растворе снижало негативный эффект кадмия (Siedlecka, Krupa, 1999). Снижение количества магния в растениях в присутствии тяжелых металлов приводило к уменьшению количества хлорофилла, что в результате также отрицательно сказалось на фотосинтезе (Greger, Lindberg, 1987). В экспериментах В.В. Талановой с соавт. (Таланова и др., 2005) после кратковременного (3 ч) воздействия нитратом свинца в концентрациях 0.1 мМ и 1 мМ на проростки огурца было отмечено снижение нетто-фотосинтеза, и одновременное уменьшение транспирации. Вызывая быстрое закрывание устьиц, свинец снижает транспирацию, ограничивает поступление CO_2 в лист и, следовательно, уменьшает скорость фотосинтеза. Аналогичную реакцию на действие кадмия у растений кукурузы и подсолнечника отмечали также Баззас с соавт. (Bazzaz et al., 1974b).

Описанное выше негативное влияние тяжелых металлов на фотосинтез характерно для их высоких концентраций. Нельзя, однако, не отметить возможность стимулирующего действия низких концентраций металлов на отдельные составляющие этого процесса (Stiborova et al., 1986; Sheoran et al., 1990; Vassilev et al., 1998b). В частности, показано увеличение содержания хлорофиллов в листьях кукурузы и ячменя в присутствии цинка и свинца в концентрациях 1 мМ (Stiborova et al., 1986). В присутствии цинка в концентрациях 5-20 мМ наблюдалось увеличение активности

РБФК/О у растений *Lolium perenne* L. (Monnet et al., 2001). Возможно, что усиление фотосинтетических процессов связано с увеличением активности ФС II (Tukendorf, Baszynski, 1991), а также обусловлено общей активизацией метаболизма растений в ответ на действие слабого по величине стресса, вызванного тяжелыми металлами.

Таким образом, тяжелые металлы могут воздействовать на фотосинтез, уменьшая содержание фотосинтетических пигментов и активность ферментов цикла Кальвина, нарушая ультраструктуру хлоропластов, а также замедляя скорость электронного транспорта. Степень ингибирования фотосинтеза во многом зависит от концентрации металла в субстрате и от устойчивости к нему растений. Высокие концентрации металлов снижают интенсивность процесса ассимиляции CO_2 как за счет прямого действия их ионов на отдельные реакции фотосинтеза, так и в результате опосредованного действия на другие физиологические процессы. Помимо этого, ингибирующее действие тяжелых металлов на фотосинтез может быть также связано с изменениями в анатомической структуре листа.

1.5.4. Водный обмен

Важную роль в жизнедеятельности растений и формировании их продуктивности играет водный обмен. Известно, что при повышении содержания тяжелых металлов в субстрате заметно снижается относительное содержание воды в клетках растений, что связано, в первую очередь, с уменьшением числа и диаметра сосудов ксилемы и флоэмы (Barceló, Poschenrieder, 1990; Wojick, Tukiendorf, 1999; Kovačević et al., 1999; Poschenrieder, Barceló, 1999). При очень высоких концентрациях металлов по указанной причине может происходить настолько сильное ограничение поступления воды, что наблюдается гибель растений (Сливинская, 1992). Уменьшение тургора растительных тканей в условиях повышенного содержания тяжелых металлов может быть связано также со снижением эластичности клеточных стенок сосудов, обусловленным частичным замещением кальция ионами других металлов (Barceló et al., 1988b), и с изменением проницаемости мембран и усилением выхода ионов K^+ из клеток корня и стебля (Poschenrieder et al., 1989; Kovačević et al., 1999; Llamas et al., 2000;

Neill et al., 2008). Кроме того, уменьшение размеров корневой системы и числа корневых волосков приводит к снижению всасывающей поверхности корня и, как следствие, к уменьшению содержания воды в клетках растений (Barceló et al., 1988a; Veselov et al., 2003).

В условиях загрязнения тяжелыми металлами наблюдается и изменение фракционного состава воды в сторону повышения количества связанной воды. Это приводит к увеличению водоудерживающей способности тканей и снижению интенсивности транспирации (Тарабрин, 1980).

В присутствии повышенных концентраций тяжелых металлов уменьшается водный потенциал растений, в том числе осмотический потенциал (Bishnoi et al., 1993; Vassilev et al., 1997; Kholodova et al., 2011). Степень снижения этого показателя при действии тяжелых металлов зависит в равной степени от их концентрации в корнеобитаемой среде и от времени обработки. Например, в экспериментах Пошенрайдер с соавт. (Poschenrieder et al., 1989) водный потенциал листьев фасоли в присутствии кадмия в концентрации 3 мкМ не изменялся в течение 120 часов обработки, но при увеличении времени обработки до 144 часов происходило его снижение (от -0.23 МПа у контрольных до -0.37 МПа у опытных растений). Возможными причинами уменьшения водного потенциала листьев в присутствии тяжелых металлов является изменение эластичности клеточных оболочек (Barceló, Poschenrieder, 1990) и значительное уменьшение объема клеток, вызванное потерей воды клетками листа (Kholodova et al., 2011).

Известно, что водный баланс целого растения определяет соотношение интенсивности поглощения воды и транспирации. Многими исследователями отмечено, что при обработке растений тяжелыми металлами наблюдается значительное снижение уровня транспирации, в некоторых случаях даже большее, чем ингибирование фотосинтеза (Bazzaz et al., 1974b). Подобный эффект был обнаружен, например, в листьях гороха (Sandalio et al., 2001), кукурузы и подсолнечника (Bazzaz et al., 1974) при обработке растений кадмием, в листьях пшеницы – в присутствии никеля (Bishnoi et al., 1993). Поскольку уровень транспирации коррелирует с устьичной проводимостью (Smýkalová, Zámečniková, 2003), то уменьшение транспирации при действии металлов

может являться результатом закрытия устьиц (Bazzaz et al., 1974; Pearson, Kirkham, 1981; Pietrini et al., 2003). Например, под воздействием свинца в концентрациях 0.1 мМ и 1 мМ заметно снижалась устьичная проводимость у растений огурца (Таланова и др., 2005). В присутствии кадмия и никеля в концентрации 10 мМ у листьев пшеницы после 4-часовой обработки она составляла 60-90% от контрольного варианта (Bishnoi et al., 1993). Возможным объяснением закрытия устьиц в условиях загрязнения тяжелыми металлами является индуцированные их ионами изменения в регуляции K^+ -каналов в замыкающих клетках в результате резкого повышения уровня АБК и утечки ионов калия из клеток (Poschenrieder et al., 1989).

Помимо воздействия тяжелых металлов на устьица, снижение транспирации может быть связано с уменьшением размеров листьев (Barceló et al., 1988a) и корневой системы (Hardiman, Jacoby, 1984), а также с нарушением поступления в замыкающие клетки ионов K^+ и Ca^{2+} (Barceló, Poschenrieder, 1990).

В целом, тяжелые металлы в высоких концентрациях оказывают ярко выраженное негативное воздействие на водный обмен растений. Это связано как с непосредственным влиянием металлов на эластичность клеточных стенок, размеры устьиц, число и диаметр сосудов проводящей системы, так и с их опосредованным действием. В результате листья растений теряют тургор, что отрицательно сказывается на всех физиологических процессах.

Необходимо констатировать, что по сравнению с ростом и фотосинтезом, действие тяжелых металлов на водный обмен растений изучено в гораздо меньшей степени, хотя предполагают, что его нарушение под влиянием металлов является одной из главных причин фитотоксичности металлов (Vassilev et al., 1998a).

Таким образом, тяжелые металлы вызывают у растений многочисленные изменения, происходящие на разных уровнях: организменном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном. Имея большое количество «мишеней» для своего действия, тяжелые металлы способны отрицательно влиять на многие стороны жизнедеятельности растений. Анализ литературы показывает, что степень ингибирования тяжелыми металлами физиологических процессов в большой степени определяется концентрацией металла в окружающей среде, а также зависит от его токсичности,

продолжительности действия и чувствительности или устойчивости к металлу вида (сорта, генотипа). При невысоких концентрациях тяжелых металлов наблюдаемые в растениях изменения не нарушают основные физиологические процессы и их согласованность, а иногда даже вызывают активизацию части из них. Однако в присутствии высоких концентраций тяжелых металлов в клетках и тканях происходят многочисленные необратимые структурно-функциональные изменения, наблюдается рассогласование отдельных физиологических процессов, вследствие чего рост и развитие замедляются или полностью прекращаются, а в отдельных случаях может наступать гибель растений.

Вместе с тем проведенный анализ литературы показал, что полученные разными авторами результаты во многих случаях трудно сопоставимы. Это, прежде всего, связано с различиями в методике проведения экспериментов. В частности, с разными концентрациями металла, неодинаковыми способами обработки им растений, разными экспозициями и т.д. Различаются также объекты исследований (виды, сорта, генотипы), совершенно не учитываются возраст и фаза развития изучаемых растений. В итоге, несмотря на большое количество публикаций и значительный прогресс, который достигнут за последние годы в изучении влияния тяжелых металлов на физиологические процессы у растений, по-прежнему довольно сложно сделать какие-то более широкие обобщения, что, на наш взгляд, существенно снижает эффективность проводимых исследований. Кроме того, большое число исследований, посвященных изучению ответной реакции растений на действие тяжелых металлов, ограничиваются констатацией факта доза-эффект, не связывая полученные данные с оценкой металлоустойчивости конкретных видов (сортов, генотипов), хотя именно физиологические показатели могут служить надежными критериями такой оценки.

1.6. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам

Устойчивость растений к тяжелым металлам принято рассматривать как способность переносить их действие в повышенных, токсических концентрациях (Prasad, 1995; Macnair et al., 1999; Macnair, 2007). Начало исследований механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам относится к 50-м годам прошлого века, когда впервые по целому ряду физиологических показателей и процессов были выявлены различия между растениями, произрастающими на загрязненных и не загрязненных металлами почвах.

К настоящему времени опубликовано довольно много обобщающих работ, посвященных механизмам устойчивости растений к воздействию тяжелых металлов, как отечественных (Алексеева-Попова и др., 1983; Нестерова, 1989; Гуральчук, 1994; Феник и др., 1995; Барсукова, 1997; Демидчик и др., 2001; Серегин, 2001; Серегин, Иванов, 2001; Серегин, Кожевникова, 2006; Репкина и др. 2013), так и зарубежных (Foy et al., 1978; Rauser, 1990, 1995, 1999; Antosiewicz, 1992; Prasad, 1995; Zenk, 1996; Das et al., 1997; Sanità di Toppi, Gabrielli, 1999; Cobbett, 2000; Hall, 2002; Meharg, 2005; Verbuggen et al., 2009; Hassan, Aarts, 2011; Gallego et al., 2012; Uraguchi, Fujiwara, 2012) авторов. Их анализ показывает, что способность растений произрастать в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами обеспечивается наличием у них широкого спектра разнообразных механизмов устойчивости, действующих на разных уровнях организации растительного организма (Yang et al., 2005; Титов и др., 2007, 2014).

Механизмы, действующие на уровне тканей, органов и целого организма, изучены пока недостаточно. Известно лишь, что в растении имеется «барьер», которые препятствуют поступлению тяжелых металлов в надземные органы, и таким образом обеспечивают их устойчивость. На тканевом уровне – это эндодерма и оболочки клеток центрального цилиндра корня, которые задерживают транспорт ионов металлов в сосудистую систему и, следовательно, его попаданию в стебель и листья. На организменном уровне проявляются механизмы устойчивости, отражающие взаимодействие частей и органов в системе целого растения (Полевой, Саламатова, 1991). К числу та-

ких механизмов можно отнести: 1) задержку поглощения тяжелых металлов корнями вследствие выделения в ризосферу веществ, связывающих их ионы; 2) способность растения регулировать транспорт тяжелых металлов из корней в побег; 3) участие трихом в их выведении из клеток (Косицин, Алексеева-Попова, 1983; Vassilev et al., 1998b; Clemens et al., 2002).

В гораздо большей степени изучены клеточные механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам. Принято считать, что все клеточные механизмы соответствуют двум разным стратегиям выживания организмов в условиях стресса: «избегания» (*avoidance*), когда растение тем или иным образом ограничивает поступление токсичных ионов в клетки, или «устойчивости» (*tolerance*) – стратегии, связанной с действием внутриклеточных механизмов их детоксикации (Regvar, Vogel-Mikuš, 2008). Механизмы избегания включают внеклеточное осаждение тяжелых металлов в ризосфере, уменьшение всасывания ионов за счет выделения клетками корня различных хелаторов, сорбцию тяжелых металлов клеточной стенкой (Delisle et al., 2001; Llugany et al., 2003). К клеточным механизмам устойчивости относят удаление токсичных ионов через плазмалемму в апопласт, связывание и обезвреживание токсичных ионов в цитоплазме различными хелаторами, компартментацию свободных ионов и комплексов в вакуоль. Важную роль в металлоустойчивости играет также антиоксидантная система клетки.

В этом разделе обобщены известные на сегодняшний день сведения, касающиеся лишь некоторых из перечисленных выше клеточных механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам.

1.6.1. Участие плазмалеммы в устойчивости растений к тяжелым металлам

Плазмалемма является первой «живой» мишенью воздействия тяжелых металлов на клетку, поэтому любые изменения концентрации их ионов в среде отражаются в первую очередь на ее структуре и функциях (Kenderešová et al., 2012).

Хорошо известно, что плазмалемма – это основной барьер для транспорта ионов тяжелых металлов в цитоплазму клетки и из нее, который проходит с участием целого ряда интегральных белков, являющихся структурными элементами мембраны. Меха-

низмы поступления ионов металлов в клетку растения через плазматическую мембрану активно изучаются, и на сегодняшний день по этому вопросу имеется уже довольно большое число публикаций, в том числе обзорного характера (Clemens et al., 2002; Hall, Williams, 2003; Krämer et al., 2007; Verbruggen et al., 2009; Hossian et al., 2012 и др.). Несмотря на это, ее роль в металлоустойчивости растений до сих пор активно обсуждается. В частности, выявлено, что участие плазмалеммы в механизмах устойчивости растений к тяжелым металлам связано, во-первых, с задержкой поступления ионов металлов в клетку при увеличении их содержания во внешней среде и, во-вторых, с удалением катионов металлов из клетки при повышении их концентрации во внутриклеточном пространстве (Hall, 2002).

Задержка поступления токсичных ионов в клетку может происходить вследствие изменения липидного состава плазмалеммы при действии на растения тяжелых металлов. В частности, обнаружено, что в присутствии тяжелых металлов (например, кадмия и меди) у разных видов растений наблюдаются изменения в составе липидов (увеличивается количество гликолипидов и уменьшается – фосфолипидов) и жирных кислот (увеличивается количество ненасыщенных жирных кислот), направленные на поддержание целостности и нормальной структурированности клеточной мембраны и, как результат, на сохранение контроля за транспортом избытка токсичных ионов в клетку (Розенцвет, 2006; Nouairi et al., 2006; Кузнецова и др., 2008; Розенцвет и др., 2011a; Morsy et al., 2012).

Помимо этого, уменьшение количества поступивших в клетку через плазматическую мембрану катионов тяжелых металлов может являться следствием деполяризации мембраны – сдвига электрического потенциала в сторону более положительных значений (Nichol et al., 1993; Pavlovkin et al., 2006).

Интересные данные были получены при изучении ультраструктуры клетки меристемы корня чеснока в присутствии высоких концентраций свинца (Jiang, Liu, 2010). Авторы обнаружили инвагинации плазматической мембраны во внутриклеточное пространство и рядом расположенные везикулы, содержащие большое количество ионов металла. Предполагается, что это может являться одним из важных меха-

низмов предотвращения передвижения свободных ионов свинца в цитоплазму и органоиды клетки.

Транспорт ионов тяжелых металлов через плазмалемму из клетки осуществляется с участием белков-транспортеров, принадлежащих к разным семействам, которые поддерживают равновесие между содержанием ионов металлов в апопласте и внутри клетки (Krämer et al., 2007; Maestri et al., 2010). Этот механизм снижения токсического действия тяжелых металлов довольно хорошо изучен у дрожжей, бактерий (Silver, 1996), а также у животных (Palmiter, Findley, 1995). Растительная клетка в этом плане исследована в гораздо меньшей степени.

Тем не менее предполагается (на основе сходства аминокислотных последовательностей с микробными и животными белками), что наиболее вероятными кандидатами на роль белков-транспортеров, осуществляющих перенос токсичных ионов через плазмалемму в апопласт, являются белки из семейств P_{1B}-АТФаз и АВС (*ATP-binding cassette*) (Axelsen, Palmgren, 2001; Mills et al., 2005; Kim et al., 2007; Tan et al., 2013). Однако биологические функции, клеточная локализация и металлоспецифичность этих транспортеров в растениях до сих пор полностью не изучены.

Из P_{1B}-АТФаз в качестве возможных переносчиков тяжелых металлов через плазматическую мембрану из клетки называются **НМА2- и НМА4-белки** (*heavy metal ATPase*), участвующие в транспорте Cd²⁺ и Zn²⁺ при загрузке в ксилему и флоэму (Argüello et al., 2007; Tan et al., 2013). В частности, обнаружено, что высокий уровень экспрессии гена *AtHMA4*, введенного в клетки дрожжей, повышает их устойчивость к кадмию и цинку, при этом содержание металлов в клетках снижается. По мнению авторов, это доказывает возможность работы НМА4-белка как транспортера, осуществляющего передвижение ионов металлов из клетки (Mills et al., 2005). Однако фактологического материала по этому вопросу на сегодняшний день недостаточно.

В ряде исследований показана также возможность вывода тяжелых металлов из клеток за счет транспорта их ионов через плазмалемму в свободное пространство в антипорте с протоном, аналогично механизму, существующему у животных клеток и микроорганизмов (Silver, 1996; Xu et al., 2007). Так, при введении гена *Escherichia coli ZntA*, кодирующего протонную помпу, осуществляющую транспорт Cd²⁺, Pb²⁺ и Zn²⁺

в антипорте с H^+ , в клетки *A. thaliana*, у растений увеличивалась устойчивость к кадмию и свинцу, и одновременно снижалось содержание металлов в клетке (Lee et al., 2003a). Китайские ученые (Shen et al., 2012) также высказали предположение об участии транспортного белка **СAX3** из семейства *СAX* (*cation exchanger*), которые функционируют как Ca^{2+}/H^+ -антипортер, в транспорте ионов кадмия из клетки в межклеточное пространство, что способствует повышению устойчивости растений к кадмию. Однако, фактических доказательств этому пока также очень мало.

В целом можно сделать вывод о том, что плазмалемма безусловно играет важную роль в обеспечении устойчивости растений к тяжелым металлам. Вместе с тем имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в этой области.

1.6.2. Детоксикация тяжелых металлов в клетке

Несмотря на функционирование целого ряда механизмов, препятствующих поступлению тяжелых металлов в клетки растений, при высоких их концентрациях в окружающей среде значительное количество токсичных ионов все-таки проникает в клетку, где в этом случае начинают действовать внутриклеточные механизмы их детоксикации, которые включают в себя связывание ионов тяжелых металлов в цитоплазме различными лигандами и транспорт таких комплексов, а также свободных ионов в вакуоль.

Связывание ионов тяжелых металлов в цитоплазме. Одним из наиболее важных механизмов детоксикации тяжелых металлов в клетке является их связывание в цитоплазме с образованием хелатов – комплексных соединений ионов металлов с органическими лигандами (Wagner, 1993; Prasad, 1995; Rauser, 1999; Clemens et al., 2002; Haydon, Cobbett, 2007). Лигандами (соединениями, образующими с металлом хелат) могут быть органические кислоты (Rauser, 1999; Haydon, Cobbett, 2007), аминокислоты (Krämer et al., 1996), непротеиновые тиолы (глутатион и фитохелатины) (Rauser, 1995; Cobbett, 2000) и металлотионеины (Rauser, 1999; Clemens, 2001).

Органические кислоты, такие как цитрат (лимонная кислота), малат (яблочная

кислота) или оксалат (щавелевая кислота), способны образовывать прочные связи с ионами тяжелых металлов и благодаря этому играть важную роль в металлоустойчивости растений (Rauser, 1999). Повышение уровня этих кислот в присутствии разных тяжелых металлов отмечалось в целом ряде исследований. Например, возрастание содержания яблочной, лимонной и щавелевой кислот в побегах *Lolium perenne*, корнях кукурузы и листьях ячменя было обнаружено при повышенных концентрациях никеля в корнеобитаемой среде (Yang et al., 1997; Jócsák et al., 2005), яблочной и щавелевой – в листьях растений *Paraserianthes falcataria* L. при действии свинца (Setyaningsih et al., 2012). При этом выявлено, что эффективность хелатирования тяжелых металлов органическими кислотами и связанное с этим повышение металлоустойчивости растений зависит от токсичности металла, а также от биологических особенностей вида растений (Ernst et al., 1992; Schat, Ten Bookum, 1992).

Помимо органических кислот в связывании тяжелых металлов участвуют и аминокислоты, в первую очередь, гистидин и никотинамин, комплексы которых с ионами металлов обнаружены в цитоплазме (Hall, 2002; Haydon, Cobbett, 2007).

Считают, что гистидин – наиболее важная аминокислота, участвующая в детоксикации тяжелых металлов в клетке. Благодаря наличию карбоксильных, амино- и имидазольных групп он является хелатором многих двух- и трехвалентных катионов. Так, обнаружены комплексы гистидина с никелем, цинком, кадмием и доказано его участие в повышении устойчивости к этим металлам целого ряда видов растений (Salt et al., 1999; Callahan et al., 2006).

Помимо гистидина, комплексы с тяжелыми металлами образует и никотинамин. Эта аминокислота, не входящая в состав белков, имеет функциональные группы, способные связывать ионов металлов (Mari et al., 2006; Haydon, Cobbett, 2007; Rellán-Álvarez et al., 2008). Комплексы необходимых растению тяжелых металлов, в частности, железа, меди и цинка с никотинамином обнаружены в ксилемном соке и доказано его участие в дальнем транспорте ионов меди и цинка по ксилеме, а железа – по флоэме (Liao et al., 2000; Takahashi et al., 2003; Rellán-Álvarez et al., 2008). Помимо этого показана способность этой аминокислоты связывать тяжелые металлы, не являющиеся микроэлементами, например, кадмий (Trampczynska et al., 2010). У растений се-

мейства *Roaseae* никотинамин является предшественником фитосидерофоров, которые участвуют в хелатировании ионов тяжелых металлов в ризосфере корней.

В целом в присутствии тяжелых металлов у растений увеличивается содержание органических кислот и аминокислот, которые связывают ионы металлов с образованием комплексов, снижая их токсическое действие и тем самым способствуя повышению металлоустойчивости. Однако, как доказано многочисленными исследованиями, наиболее важную роль в детоксикации тяжелых металлов в клетке играют непротеиновые тиолы – глутатион и фитохелатины. Тиолы содержат в своей молекуле сульфгидрильные группы, непосредственно связанные с органическим радикалом (R-SH), которые обеспечивают их молекулам возможность связывать катионы металлов.

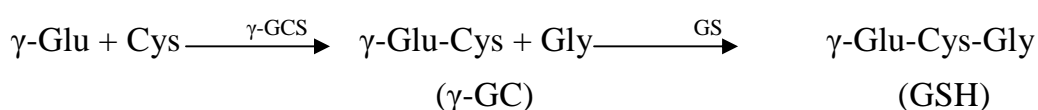
Глутатион – низкомолекулярный трипептид с высоким содержанием серы (Seth et al., 2012). Молекулы глутатиона обнаружены в клетках большинства живых организмов, в том числе растений. Функции глутатиона в клеточном метаболизме многочисленны. Он является одним из наиболее эффективных низкомолекулярных антиоксидантов и защищает клетку от повреждающего действия активных форм кислорода, участвует в поддержании внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала и целостности мембран, в сигналинге, является запасной и транспортной формами серы в клетке, участвует в детоксикации ксенобиотиков, в первую очередь гербицидов, и тяжелых металлов (Zhu et al., 1999; Pietrini et al., 2003; Noctor et al., 2011). У растений глутатион является также предшественником фитохелатинов (Cobbett, Goldsbrough, 2002).

В норме глутатионовый пул на 95 % представлен восстановленной формой (GSH) и лишь 5 % – составляет его окисленная форма (GSSG). Баланс ферментативно сдвинут в сторону восстановленной формы за счет активности фермента глутатион-редуктазы, локализованного в цитозоле, пластидах, митохондриях и пероксисомах (Noctor et al., 2011). Отношение восстановленный/окисленный глутатион является одним из важнейших параметров, который характеризует уровень окислительного стресса у растений при действии различных неблагоприятных факторов среды, в том числе тяжелых металлов.

Синтез глутатиона в растительной клетке происходит в хлоропластах и цито-

плазме (Mendoza-Cózatl et al., 2002; Гришко, Сыщиков, 2012). Синтезируясь преимущественно в листьях, он по проводящим сосудам транспортируется в клетки корня и плодов (семян) (Gómez, Pallás, 2004).

Молекула глутатиона синтезируется из глутамата (Glu), цистеина (Cys) и глицина (Gly). Первая реакция синтеза катализируется ферментом γ -глутамилцистеин-синтетазой (γ -GCS или γ -ECS) с образованием γ -глутамилцистеина (γ -GC), вторая – ферментом глутатионсинтетазой (GS) с образованием глутатиона (GSH) (Vatamaniuk et al., 1999; Li et al., 2006; Mendoza-Cózatl, Moreno-Sánchez, 2006).



Выявлено, что повышение активности ферментов синтеза глутатиона коррелирует с усилением экспрессии соответствующих генов γ -GCS и GS, при этом увеличивается и количество GSH в клетках (Xiang, Oliver, 1998; Li et al., 2006). Заметное усиление биосинтеза глутатиона при стрессовых воздействиях возможно только при увеличении уровня экспрессии обоих генов (Mendoza-Cózatl, Moreno-Sanchez, 2006).

Благодаря своим уникальным окислительно-восстановительным и нуклеофильным свойствам глутатион играет очень важную роль в защите растительных клеток от токсического действия тяжелых металлов (Chen et al., 2010). Наличие в его молекуле SH-группы, которая содержит остаток цистеина, дает возможность связывать катионы тяжелых металлов, образуя комплексы, которые затем транспортируются в вакуоли. В настоящее время доказано, что образование такого комплекса и его транспорт через тонопласт является важным механизмом, обеспечивающим детоксикацию тяжелых металлов в клетках растений (Lux et al., 2011; Mendoza-Cózatl et al., 2011). В формировании металл-GSH комплекса участвует фермент глутатион-S-трансфераза (GST), увеличение активности которой обнаружено в присутствии целого ряда тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} и Zn^{2+}). При этом показано, что повышение уровня экспрессии гена *GST* в клетках растений приводит к увеличению количества связан-

ных ионов металлов и способствует возрастанию металлоустойчивости растений (Semane et al., 2007).

С другой стороны, формирование комплексов GSH с металлами может приводить к заметному снижению пула глутатиона, что сопровождается усилением окислительного стресса. Однако при отсутствии сильных повреждений в клетке синтез GSH относительно быстро запускается, восстанавливая его содержание (Halušková et al., 2009).

К ферментам глутатионового цикла относится и глутатионредуктаза (GR), которая участвует в превращении окисленного глутатиона (GSSG) в восстановленный (GSH) и способствует восстановлению нарушенного баланса между GSH и GSSG (Stevens et al., 1997). Увеличение активности этого фермента, как полагают, создает возможность образования комплексов глутатиона с металлами даже при очень высоком уровне окислительного стресса (Noctor et al., 2002) и является одним из важных элементов защиты растений от действия тяжелых металлов (Mishra et al., 2006; Yamparelli et al., 2007; Anjum et al., 2012). К примеру, обнаружено, что усиление активности этого фермента у генетически модифицированных растений табака в присутствии кадмия и никеля, приводило к увеличению их устойчивости к этим металлам (Gratão et al., 2008), а у риса – к высоким концентрациям свинца (Verma, Dubey, 2003). Судя по литературным данным, характер изменения содержания GSH в клетках растений под влиянием тяжелых металлов может быть разным (табл. 3). Но, на наш взгляд, это прежде всего связано с различиями в постановке и проведении исследований, в частности, с использованием разных металлов и их концентраций, разными экспозициями и т.д. Заметное влияние на содержание оказывает также вид (сорт, генотип) растений и даже орган. Например, у разных генотипов ячменя, независимо от их устойчивости к кадмию, в присутствии металла более сильное снижение содержания GSH наблюдалось в корнях, по сравнению со стеблями и листьями (Wu et al., 2004). Имеются также сведения о возможных изменениях в содержании глутатиона в клетках растений в зависимости от их возраста и фазы развития, однако данных, касающихся такого рода изменений в присутствии тяжелых металлов, в известной нам литературе нет.

Таблица 3

Характер изменения содержания глутатиона в клетках растений
под влиянием тяжелых металлов (по: Anjum et al., 2012)

Металл	Концентрация, мкМ	Экспозиция, сут	Вид растения	Орган	Содержание GSH	Источник
Cd ²⁺	5	7	<i>Oryza sativa</i>	корень	возрастает	Hassan et al., 2008
	5	10	<i>Hordeum vulgare</i>	корень, стебель, лист	возрастает	Wu et al., 2004
	10	4	<i>Triticum aestivum</i>	проростки	снижается	Lin et al., 2007
	45	10	<i>Pisum sativum</i>	корень	возрастает	Metwally et al., 2005
	50	7	<i>Oryza sativa</i>	корень	возрастает	Guo et al., 2007
Cu ²⁺	50	7	<i>Arabidopsis thaliana</i>	лист	возрастает	Drażkiewicz et al., 2003
	100	12	<i>Brassica napus</i>	корень	снижается	Russo et al., 2008
	100	12	<i>Brassica napus</i>	лист	возрастает	Russo et al., 2008
Hg ²⁺	10	4	<i>Medicago sativa</i>	корни	снижается	Zhou et al., 2009
	30	7	<i>Medicago sativa</i>	проростки	возрастает	Ortega-Villasante et al., 2005
Pb ²⁺	100	1	<i>Pisum sativum</i>	корни	возрастает	Malecka et al., 2009
	100	4	<i>Pisum sativum</i>	корни	снижается	Malecka et al., 2009
Zn ²⁺	50	3	<i>Phaseolus vulgaris</i>	проростки	возрастает	Cuypers et al., 2001

Спорным на сегодня остается вопрос о том, приводит ли возрастание количества глутатиона и предшествующее этому увеличение экспрессии генов, участвующих в контроле его биосинтеза, напрямую к повышению устойчивости растений к тяжелым металлам. Так, например, у трансформированных растений *Arabidopsis thaliana* с повышенным уровнем экспрессии генов *AtGS* и *AtGCS* в присутствии кадмия обнаружено усиление синтеза глутатиона, при этом устойчивость растений к металлу повышалась (Xiang et al., 2001). Мутантные растения *Populus nigra* L. сверхэкспрессией гена γ -*GCS* оказались более устойчивыми к кадмию по сравнению с диким типом (Ivanova et al., 2011). Устойчивые к кадмию генотипы гороха (Metwally et al., 2005) и устойчивые к цинку генотипы *Cajanus cajan* (L.) Mill. (Garg, Kaur, 2013) имели гораздо большее содержание GSH в клетках корня в присутствии соответствующих тяжелых металлов, чем более чувствительные генотипы. Вместе с тем, у мутантных растений *Arabidopsis thaliana* с повышенным уровнем экспрессии гена γ -*GCS* в присутствии ртути хотя и наблюдалось увеличение уровня GSH в клетках, однако устойчивость растений при этом не увеличивалась (Li et al., 2006), а в некоторых случаях – уменьшалась (Xiang et al., 2001). Высокий уровень экспрессии гена γ -*GCS* у растений томатов также не приводил к возрастанию их устойчивости к кадмию (Goldsbrough, 1998). А в экспериментах Ли с соавт. (Li et al., 2005a) повышенная экспрессия гена γ -*GCS* у трансгенных линий арабидопсиса коррелировалась даже со сверхчувствительностью к кадмию, несмотря на высокое содержание в клетках GSH. Полагают, что такие различия в результатах могут быть связаны как с биологическими особенностями видов, различными концентрациями тяжелых металлов и продолжительностью экспозиции, используемых в опытах, так и с разными объектами, выбранными для трансформации растений.

Необходимо также подчеркнуть, что в целом ряде исследований обнаружена прямая зависимость между содержанием глутатиона в клетках и количеством ионов металлов в органах растений (Сыщиков, 2002; Maier et al., 2003; Tausz et al., 2004; Ogawa et al., 2011 и др.). Однако в работах других авторов такая зависимость не выявлена. Например, у генотипов гороха с высоким содержанием GSH в клетках корня

при действии кадмия концентрация металла в корне оказалась гораздо ниже, чем у генотипов с низким его содержанием (Metwally et al., 2005).

В целом, можно уверенно говорить о том, что глутатион и ферменты глутатионового цикла играют значительную роль в механизмах детоксикации тяжелых металлов в клетке, обеспечивая связывание токсичных ионов в клетках растений. Важная роль глутатиона определяется также его участием в синтезе фитохелатинов. Вместе с тем необходимо констатировать, что целый ряд аспектов, касающихся зависимости между уровнем глутатиона и активностью ферментов глутатионового цикла и устойчивостью растений к тяжелым металлам, все еще остаются не изученными.

Фитохелатины (ФХ) – семейство низкомолекулярных пептидов, состоящих из линейных цепей остатков глутаминовой кислоты и цистеина и способных благодаря наличию SH-групп связывать тяжелые металлы (Grill et al., 1985; Reddy, Prasad, 1992; Rauser, 1995; Souza, Rauser, 2003).

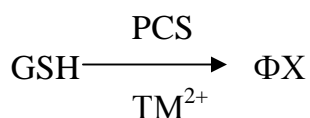
Впервые ФХ были идентифицированы в делящихся клетках дрожжей *Schizosaccharomyces poble* в присутствии кадмия и были названы кадистинами (Murasugi et al., 1981). У высших растений они были обнаружены в 1980 г. при изучении устойчивых к меди растений *Agrostis gigantea* Roth. (Rauser, Curvetto, 1980) и устойчивых к кадмию растений бобов (Weigel, Jäger, 1980). В настоящее время эти тиолы более известны как ФХ. Многочисленными экспериментами доказана их важная роль в связывании ионов тяжелых металлов в цитоплазме (Cobbett, 2000; Серегин, 2001; Nakazawa et al., 2002; Clemens et al., 2003 и др.). При этом считается, что все высшие растения способны к синтезу ФХ.

ФХ не являются генными продуктами и синтезируются из глутатиона (Reese, Wagner, 1987; Grill et al., 1989; Rauser, 1999; Nakazawa et al., 2002; Heiss et al., 2003). Их основная формула $[\gamma\text{-Глу-Цис}]_n\text{-Гли}$, где $n=2-11$ (Grill et al., 1985; Steffens, 1990). Вместе с тем у молекулы имеются различные структурные вариации, которые позволяют отнести ФХ к разным семействам. Например, С-терминальный глицин может быть заменен на β -аланин (гомофитохелатины), серин (оксиметилфитохелатины), глутамин или терминальная аминокислота может вообще отсутствовать. ФХ с С-терминальными β -Ала, Глу и Сер относят к изофитохелатаинам (Rauser, 1995). Воз-

можно, что отмеченные изменения характерны для отдельных семейств высших растений. Например, оксиметилфитохелатины обнаружены у некоторых злаков (Klarheck et al., 1994), гомофитохелатины – у бобовых (Grill et al., 1989). ФХ, имеющие на С-терминальном конце молекулы глутамина выявлены только в корнях кукурузы (Rauser, Meuwly, 1995), а не содержащие аминокислоту – выделены из корней и побегов пшеницы и ржи (Wójcik, Tukiendorf, 1999), а также из корней *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth.ex Kurz. (Grill et al., 1985).

Синтез ФХ индуцируется ионами различных тяжелых металлов, что свидетельствует о неспецифичности этого механизма детоксикации. В частности, индукторами их образования могут выступать Cd^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} и др. (Schat et al., 2002; Stolt et al., 2003). Наиболее эффективны в этом плане Cd^{2+} и Hg^{2+} (Souza, Rauser, 2003; Wójcik, Tukiendorf, 2005). Имеются данные о том, что ионы свинца хотя и активируют синтез ФХ, но комплексов с ними не образуют (Leopold et al., 1999).

В 1989 году было установлено (Grill et al., 1989), что образование ФХ происходит путем удлинения пептидной цепи глутатиона с участием фермента γ -глутамилцистеинилдипептидилтранспептидазы или фитохелатинсинтазы (PCS):



PCS – конститутивный фермент, молекула которого является димером и состоит из двух субъединиц (Vatamaniuk et al., 2000; Maier et al., 2003). Ранее полагали, что активация молекулы фермента происходит вследствие взаимодействия иона металла с остатками цистеина и гистидина в молекуле фермента (Ha et al., 1999). При этом наиболее сильными активаторами у всех видов растений являются кадмий и ртуть, а далее по способности к активации фермента металлы могут располагаться в зависимости от вида растений по-разному (табл. 4).

Таблица 4

Способность ионов тяжелых металлов к активации фитохелатинсинтазы
у разных видов растений (по: Серегин, 2001; Shaw et al., 2006)

Вид растения	Ионы тяжелых металлов	Источник
<i>Lycopersicon esculentum</i>	$Cd^{2+} > Ag^+ > Cu^{2+} > Au^+ > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Hg^{2+} = Pb^{2+}$	Chen et al., 1997
<i>Rauvolfia serpentina</i>	$Hg^{2+} > Cd^{2+} = Fe^{2+} > Cu^{2+} > Au^+ > Pb^{2+} = Zn^{2+}$	Grill et al., 1987
<i>Rubia tinctorum</i>	$Hg^{2+} > Cd^{2+} > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$	Maitani et al., 1996
<i>Silene cucubalus</i>	$Cd^{2+} > Ag^+ > Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+} > Au^+$	Grill et al., 1989

Однако более поздние исследования показывают, что решение вопроса о механизме активации синтеза PCS не столь однозначно. В обзоре Клеменса (Clemens, 2006а) представлены два возможных варианта активации: 1) основным активатором синтеза фермента является не сам ион металла, а его комплекс с GSH или с фитохелатинами (Vatamaniuk et al., 2004); 2) субстратом для активации служит комплекс металла с GSH, а ион металла активирует синтез фермента, являясь частью этого субстрата (Cobbett, Goldsbrough, 2002; Nies, 2003).

В работе Коббетта (Cobbett, 1999) представлена гипотетическая модель функционирования PCS в присутствии кадмия, согласно которой С-терминальный домен молекулы действует как локальный сенсор ионов металла. Остатки цистеина связывают ионы кадмия, перенося их на N-терминальный домен, который обладает каталитической активностью. Активация N-терминального домена катализирует реакцию взаимодействия части молекулы GSH (а именно, γ -Глу-Цис) с другой молекулой GSH или уже синтезированной молекулой $ФХ_n$ с образованием $ФХ_{n+1}$.

Известно, что синтез ФХ регулируется на уровне экспрессии генов, кодирующих ферменты синтеза глутатиона, а также генов, кодирующих PCS. Первоначально гены PCS были идентифицированы в 1995 г. у растений *Arabidopsis thaliana* (Howden et al., 1995), когда было обнаружено, что мутантные растения *A. thaliana* с отсутствием гена

AtPCS (*cad 1*), выращенные на питательной среде с кадмием, имеют высокий уровень GSH и низкий – ФХ (по сравнению с диким типом) и при этом характеризуются повышенной чувствительностью к металлу. Впервые же эти гены были выделены в конце прошлого века независимо тремя разными группами ученых (Clemens et al., 1999; Ha et al., 1999; Vatamaniuk et al., 1999), которые доказали, что увеличение уровня экспрессии генов *AtPCS1* и *TaPCS1* у растений *Arabidopsis thaliana* и пшеницы коррелировало с активным синтезом фитохелатинов в клетках *S. pombe*. В настоящее время ген *PCS1* выявлен у многих видов высших растений.

Большой интерес представляют результаты исследований, в которых в геноме *A. thaliana* был обнаружен второй ген PCS (*AtPCS2*), не являющийся результатом дубликации гена *AtPCS1*. Предположительно он так же, как и *AtPCS1*, экспрессируется во всех клетках и кодирует PCS (Cazale, Clemens, 2001). Но уровень его экспрессии в большинстве тканей гораздо ниже, чем *AtPCS1* (Cobbett, Goldsbrough, 2002). Аналогичные данные получены и на растениях риса, однако необходимость функционирования двух генов у растений в настоящее время не доказана (Clemens, 2006a).

На сегодняшний день установлено, что в присутствии целого ряда тяжелых металлов уровень экспрессии генов *PCS1* и *PCS2* возрастает как в корнях, так и в листьях растений, что приводит к увеличению содержания в клетках ФХ. Вместе с тем далеко не всегда повышение уровня экспрессии генов и увеличение количества этих тиолов приводит к возрастанию металлоустойчивости растений (Pomponi et al., 2006). В некоторых случаях наблюдается даже обратный эффект – повышение чувствительности растений к металлам (Lee et al., 2003b). Что касается конкретного механизма участия ФХ в устойчивости растений к тяжелым металлам, то доказано, что их основная роль заключается в связывании токсичных ионов в клетке, образовании с ними комплексов по типу хелатов и дальнейшем их транспорте в вакуоль.

Последующие исследования показали, что благодаря наличию цис-тиоловых групп ФХ в цитоплазме клеток образуют с ионами тяжелых металлов (в частности, с кадмием) низкомолекулярные комплексы (LMW), которые затем транспортируются в вакуоль, где формируются высокомолекулярные комплексы (HMW), обеспечивающие максимальную детоксикацию металла (Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999; Clemens,

Simm, 2003). При относительно невысоких концентрациях кадмия в клетке образуются только LMW-комплексы, при увеличении концентрации металла в корнеобитаемой среде количество ионов, связанных LMW- и HMW-комплексами, практически равно, а при высоких концентрациях металла в его детоксикации участвуют в основном HMW-комплексы.

Обнаружено также, что увеличение числа тиоловых групп в молекуле увеличивает ее связывающую способность, т.е. число ионов металлов, которые могут быть связаны одной молекулой (Chekmeneva et al., 2011). Кроме того, с увеличением длины цепочки молекулы возрастает и стабильность комплекса Me-ФХ_n. Происходит ли затем распад комплексов и возможно ли вторичное использование ФХ, поступивших в вакуоль, пока не ясно. Тем не менее есть предположение, что после того как ионы металлов, например кадмия, освобождаются из комплекса с ФХ в вакуолях клеток, сами тиолы подвергаются гидролизу (Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999).

Неоднозначны также результаты исследований, направленных на изучение зависимости между количеством ФХ и их комплексов и уровнем металлоустойчивости растений. В целом ряде исследований показано, что растения (виды, экотипы, генотипы, клеточные линии) с высоким уровнем синтеза ФХ в клетках обладают гораздо большей устойчивостью к тяжелым металлам, чем с низким уровнем этих тиолов (Cobbett, 2000; Clemens, 2006a; Wawrzyński et al., 2006). В то же время имеются работы, в которых подобная зависимость не выявлена (Schat, Kalff, 1992; Ebbs et al., 2002; Hassan, Aarts, 2011).

В целом анализ литературы позволяет сделать вывод о том, что синтез ФХ в растениях в ответ на действие тяжелых металлов является одним из наиболее важных механизмов их детоксикации в клетках. У растений-исключателей основное участие ФХ в металлоустойчивости, по-видимому, заключается в преимущественном связывании токсичных ионов в клетках корня, что предотвращает их перемещение в надземные органы.

Металлотионеины (МТ) представляют собой низкомолекулярные белки (8–10 кД). В их составе около 30 % приходится на серосодержащую аминокислоту цистеин, сульфгидрильные группы которой способны связывать ионы тяжелых металлов (Rob-

inson et al., 1993; Gallego et al., 2012). МТ у растений – это цитозольные белки (Gallego et al., 2012). Они могут находиться в цитоплазме в свободном виде или быть связанными с мембранами органелл (Zhigang et al., 2006).

Впервые МТ, как связывающие кадмий белки, обнаружены в 1957 г. у животных, в клетках почек лошади (Margoshes, Vallee, 1957). В дальнейшем они были выявлены у многих организмов, включая бактерии, грибы и эукариоты (животные и растения) (Robinson et al., 1993). Активное изучение МТ у растений начали проводить в 80-х годах прошлого века после их выделения из пшеницы, выращенной в присутствии цинка (Lane et al., 1987). Поиск аналогии между металлосвязывающими белками растений и животных выявил у них заметные различия в расположении остатков цистеина. Вследствие этого все МТ были разделены на два класса. МТ I класса идентифицированы в основном в клетках животных, а МТ II класса – в клетках растений, некоторых грибов, цианобактерий и дрожжей (Reddy, Prasad, 1992; Robinson et al., 1993; Rauser, 1999).

Доказано, что МТ являются генными продуктами и образуются в ответ на действие тяжелых металлов (Robinson et al., 1993; Cobbett, Goldsbrough, 2002). По сравнению с GSH или ФХ синтез МТ идет относительно медленно (Yang, Chu, 2011). Пространственная структура молекулы МТ имеет гантелеобразную форму и состоит из двух доменов (α и β), которые различаются по своей функциональной роли. Предполагают, что N-терминальный участок β домена участвует в гомеостазе необходимых растению металлов, например, цинка, тогда как C-терминальный участок α домена связывает их избыточное количество и/или ионы токсичных металлов (Willner et al., 1987; Cherian et al., 1994). Область связывания двух доменов обеспечивает стабильность молекулы МТ (Domenech et al., 2007).

На сегодняшний день у растений известны 4 типа МТ (MT1, MT2, MT3 и MT4), которые различаются числом и расположением цистеиновых остатков (Cobbett, Goldsbrough, 2002). При этом обнаружены семь изоформ, кодируемых разными генами, имеющими различную локализацию. В частности, у *Arabidopsis thaliana* гены *MT1a* и *MT1c* идентифицированы в хромосоме 1; гены *MT 2a* и *MT 3* – в хромосоме 3; *MT 4a* и *MT 4b* – в хромосоме 2, а *MT 2b* – в хромосоме 5 (Guo et al., 2008; Blindauer,

Leszczyszyn, 2010). Как оказалось, такое же расположение они имеют и в геноме риса (Hsieh et al., 1995).

Помимо этого выявлено, что экспрессия генов разных типов МТ носит органо- и тканеспецифичный характер. Так, экспрессия гена МТ 1-го типа в большей степени проявляется в корнях, чем в стеблях и листьях (Hudspeth et al., 1996), а 2-го типа – наоборот, в листьях (Zhou, Goldsbrough, 1994). МТ 3-го типа идентифицированы в основном в зрелых плодах (Clendennen, May, 1997) и в листьях некоторых видов растений (Guo et al., 2003), тогда как 4-го типа – только в развивающихся семенах (Lane et al., 1987; Chyan et al., 2005). Показательный пример различной локализации изоформ в тканях представлен в работах, выполненных на растениях *A. thaliana*. Так, наибольшее содержание транскриптов генов *MT 2a* и *MT 3* в присутствии повышенных концентраций меди в среде роста зафиксировано в трихомах, клетках мезофилла листа и в клетках кончика корня, а транскриптов генов *MT 1a* и *MT 2b* – во флоэме листьев и корня (Guo et al., 2003). Гены, кодирующие все четыре типа МТ, обнаружены пока только у *A. thaliana*, риса и сахарного тростника (Cobbett, Goldsbrough, 2002).

Содержание МТ в клетке, как правило, невелико, но оно существенно повышается под влиянием тяжелых металлов (Grill et al., 1985; Zenk, 1996). Например, в присутствии кадмия (1 мМ) содержание МТ увеличивалось в клетках корня ячменя с 12 мкг/г сухой массы у контрольных растений до 360 – у опытных, т.е. в 30 раз (Данилин, 2010). В корнях растений рапса содержание транскриптов гена *MT 1* повышалось уже в самом начале воздействия меди (50 мкМ), через сутки их количество возрастало в 5 раз, а через 10 сут – в 15 раз (Иванова, 2011). В присутствии свинца, цинка, кадмия и меди усиливалась экспрессия генов МТ у растений *Festuca rubra* (Ma et al., 2003).

Необходимо также отметить, что эндогенные МТ трудно изолировать из клеток растений, что может быть обусловлено их низкой стабильностью в присутствии кислорода (Guo et al., 2008; Cobbett, Goldsbrough, 2002). Поэтому доказательства способности этих белков связывать ионы тяжелых металлов в клетках высших растений чаще всего получают методом гетерологической экспрессии с участием *E. coli* или *S. cerevisiae* (Guo et al., 2008).

МТ идентифицированы в клетках как устойчивых к тяжелым металлам видов растений, так и чувствительных (Ma et al., 2003). При этом, во многих случаях повышение уровня экспрессии генов МТ и содержания этих белков в органах приводит к увеличению устойчивости растений к тяжелым металлам (Bovet et al., 2006).

В то же время увеличение уровня МТ в клетках может приводить к резкому возрастанию концентрации тяжелых металлов в корнях растений. Так, еще в 1992 г. Эванс с соавт. (Evans et al., 1992) обнаружили, что увеличение экспрессии генов белков МТ из корней гороха в *E. coli* в присутствии меди в среде роста сопровождалось заметным увеличением содержания металла в клетках. В дальнейшем в целом ряде исследований выявлено, что уровень экспрессии генов МТ зависит от концентрации металлов в окружающей среде. В частности, такая зависимость обнаружена у растений *Arabidopsis thaliana* (Eapen, D'Souza, 2005) и риса (Huang, Wang, 2010). На основании этого авторы предполагают возможность использования уровня экспрессии генов МТ в качестве надежного критерия загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами, каким в настоящее время является данный показатель в клетках водных и наземных беспозвоночных (Dallinger et al., 2004; Navarro et al., 2009).

Однозначно доказано, что все типы МТ могут функционировать как хелаторы тяжелых металлов (Guo et al., 2008). Однако вследствие разной локализации МТ в тканях и органах растений, как полагают, возможны и различия в их функциях в растительной клетке (Cobbett, Goldsbrough, 2002). В подтверждение этого обнаружено участие белков МТ 1a и МТ 2b в метаболизме меди и цинка (Lee et al., 2004; Merrifield et al., 2004) и их дальнем транспорте по растению (Guo et al., 2003). МТ из растений риса (OsMT 2b) (Wong et al., 2004), хлопчатника (*Gossypium herbaceum* L.) (GhMT 3a) (Xue et al., 2009) и *Hevea brasiliensis* Wild. ex A. Juss. (HbMT 2) (Zhu et al., 2010) обладали сильной антиоксидантной активностью. Есть также данные об участии МТ 1-го типа в процессе старения листа у растений рапса L., *A. thaliana* и риса (Buchanan-Wollaston, 1994; García-Hernández et al., 1998; Hsieh et al., 1995), а МТ 4 – в пыльцевом эмбриогенезе (Reynolds, Crawford, 1996).

В целом можно констатировать, что основная роль МТ в металлоустойчивости растений заключается в связывании ионов тяжелых металлов в цитоплазме расти-

тельной клетки.

Изоляция ионов тяжелых металлов в вакуоли. Еще одним важным механизмом, обеспечивающим устойчивость растений-исключателей к тяжелым металлам, является изоляция токсичных ионов в вакуолях клеток корней, что не только нейтрализует их негативное влияние на клеточный метаболизм, но и предотвращает их поступление в надземные органы (Lin, Aarts, 2012). На сегодняшний день доказано, что транспорт катионов тяжелых металлов через вакуолярную мембрану происходит с участием белков-переносчиков, расположенных на тонопласте, ему также способствует изменение активности водородных помп (вакуолярной H^+ -АТФазы и пирофосфатазы). Полагают, что активность транспортных систем тонопласта играет важную роль в естественном отборе растений, наиболее устойчивых к тяжелым металлам (Verkleij et al., 1998; Chardonens et al., 1999).

Еще в конце 80-х – начале 90-х годов было высказано предположение, что свободные ионы тяжелых металлов (в частности, кадмия, который изучен в наибольшей степени) и их комплексы с ФХ активно транспортируются из цитоплазмы в вакуоль через тонопласт (Reese, Wagner, 1987; Vogeli-Lange, Wagner, 1990; Salt, Rauser, 1995). При этом полагали, что эти комплексы диссоциируют с образованием свободных ионов кадмия и молекул ФХ. Затем ионы кадмия связываются с органическими кислотами и аминокислотами, присутствующими в вакуолярном соке, и таким образом инактивируются (Vogeli-Lange, Wagner, 1990; Reese et al., 1992).

В настоящее время доказано, что ионы тяжелых металлов транспортируются в вакуоль как в свободном виде, так и в связанном с GSH или ФХ. В переносе токсичных ионов через тонопласт принимают участие целый ряд белков-транспортеров. Среди них HMA3, CAH2 и CAH4, MTP1 и MTP3 переносят свободные ионы металлов, а ABC1, ABC2 и YCF1 переносят комплексы тяжелых металлов с GSH или ФХ (рис. 2). Участие некоторых из них в устойчивости растений на сегодняшний день все еще обсуждается.

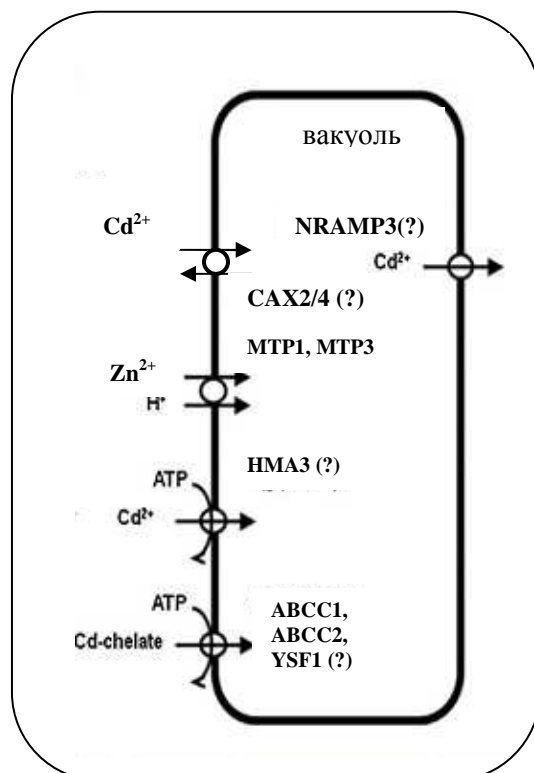


Рис. 2. Белки, участвующие в транспорте ионов тяжелых металлов через тонопласт у растений-исключателей (по: Lux et al., 2011)

Транспортный белок **HMA3** (*heavy metal ATase*), относящийся к P_{1B}-типу АТФаз (т.е. образующих в ходе реакции промежуточный фосфорилированный продукт – аспартилфосфат), осуществляет перенос свободных ионов тяжелых металлов через тонопласт за счет энергии АТФ. Опыты показали, что этот белок участвует в транспорте целого ряда ионов тяжелых металлов, в частности, цинка, кадмия, никеля. Большая часть исследований, посвященных HMA3-белкам и экспрессии соответствующих им генов, проведено на растениях – гипераккумуляторах. Однако повышение экспрессии генов *HMA3* в присутствии тяжелых металлов обнаружено и у растений-исключателей. Например, уровень содержания транскриптов генов увеличивается в присутствии кадмия в корнях пшеницы (Tan et al., 2013), риса (Satoh-Nagasava et al., 2012) и ячменя (Mills et al., 2012). Тем не менее единого мнения о возможном участии

HMA3-генов в повышении устойчивости растений к кадмию в литературе нет. У *Arabidopsis thaliana* (Van Belleghem et al., 2007) увеличение экспрессии *AtHMA3* приводило к возрастанию концентрации кадмия в растениях, при этом их устойчивость к токсичным ионам повышалась. У этого же вида сверхэкспрессия гена *AtHMA3* корреспондировалась с повышением устойчивости растений не только к Cd^{2+} , но и к Co^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} . Увеличение устойчивости, как полагают, происходит посредством регулирования транспорта этих металлов в вакуоль (Morel et al., 2009). С другой стороны, у растений *Nicotiana tabacum* L. и *N. rustica* L. возрастание экспрессии *HMA3*-генов в присутствии кадмия не вызывало увеличения их устойчивости к ионам металла (Bovet et al., 2006).

Транспортные белки **CAX2** и **CAX4** (*cation/proton exchanger*) осуществляют перенос свободных ионов тяжелых металлов через тонопласт за счет энергии протонного градиента в антипорте с H^+ (Clemens, 2006b; Kabała, Janicka-Russak, 2011). Усиление экспрессии гена *CAX2*, контролирующего синтез этого белка, в присутствии кадмия обнаружено у целого ряда видов растений, но его роль в механизмах металлоустойчивости до сих пор окончательно не установлена. Обнаружено лишь, что экспрессия генов *AtCAX2* и *AtCAX4* в корнях растений табака увеличивала их устойчивость к кадмию и цинку (Korenkov et al., 2007). Имеются также данные о том, что усиление активности CAX-белков, изменяя концентрацию протонов на мембране, может способствовать поступлению через тонопласт низкомолекулярных комплексов ионов тяжелых металлов с ФХ (Yang, Chu, 2011).

Участие белков **MTP1** и **MTP3** (*metal tolerance protein*), относящихся к CDF-семейству (*cation diffusion facilitator*), в транспорте ионов тяжелых металлов через тонопласт впервые было обнаружено у растений *A. thaliana* при воздействии избыточных концентраций цинка в субстрате (van der Zaal et al., 1999). В дальнейшем была доказана роль этих белков в изоляции цинка в вакуоли клеток и у других видов растений, а также выявлено, что они функционируют как $\text{Zn}^{2+}/\text{H}^+$ антипортер (Kobae et al., 2004; Krämer, 2005; Arrivault et al., 2006; Van de Mortel et al., 2006). В частности, повышение экспрессии генов *MTP1* и *MTP3* в присутствии цинка наблюдали в корнях и стеблях *Medicago truncatula* Gaertn. (Chen et al., 2009), в корнях, стеблях и

семенах ячменя (Podar et al., 2012), в корнях, стеблях и листьях риса (Lan et al., 2012, Yuan et al., 2012). У риса уровень экспрессии гена *OsMTP1* был более высоким в зрелых листьях и стеблях, причем не только при действии Zn^{2+} , но и Cd^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} (Lan et al., 2012; Yuan et al., 2012). Авторы также выявили, что экспрессия этого гена, встроенного в геном дрожжей, увеличивала их устойчивость к кадмию и цинку. В настоящее время доказана способность МТР-белков транспортировать через тонопласт ионы и других тяжелых металлов.

Белки-транспортеры **MRP1/ABCC1** и **MRP2/ABCC2** (*multidrug resistance-associated protein*) относятся к наиболее многочисленному семейству транспортных белков ABC-типа (*ATP-binding-cassette*), которые, как известно, осуществляют трансмембранный перенос низкомолекулярных соединений, в том числе, глутатиона и его производных (Klein et al., 1998; Lu et al., 1998). У растений белок MRP1/ABCC1 впервые был идентифицирован у *Arabidopsis thaliana* (Lu et al., 1997) и было доказано, что он, а также его гомолог MRP1/ABCC2 находятся на тонопласте и являются транспортерами ионов тяжелых металлов (Lu et al., 1998; Tommasini et al., 1998). Последующие исследования показали, что оба белка (AtABCC1 и AtABCC2) способны транспортировать в вакуоли комплексы ФХ- Cd^{2+} , ФХ- As^{3+} (Song et al., 2010; Yang, Chu, 2011) и ФХ- Hg^{2+} (Park et al., 2012). Более того, они, по-видимому, выполняют основную роль в транспорте комплексов тяжелых металлов с ФХ. Есть также доказательства участия этих белков в устойчивости растений к Cd^{2+} и Hg^{2+} (Kang et al., 2010; Park et al., 2012).

Имеются немногочисленные данные об участии в транспорте комплексов тяжелых металлов с органическими молекулами через тонопласт белков из подсемейства **YSL** (*yellow stripe like*), относящихся к семейству ОПТ (*oligopeptide transporter*) (Yen et al., 2001). Например, у *A. thaliana* увеличение экспрессии *AtYSL*-гена приводило к повышению концентрации железа в клетках корня, с одной стороны, а с другой – к увеличению уровня никотинамина в вакуолях клеток. Это позволило авторам предположить участие этих белков в переносе комплекса Fe^{2+} с никотинамином через тонопласт (Martinoia et al., 2000).

Вакуолярные протонные помпы – **вакуолярная H^+ -АТФаза и пиррофосфатаза** – являются генераторами электрохимического протонного градиента, который требуется для сопряженного (вторичного) транспорта ионов металлов через тонопласт (Maeshima, 2001). Благодаря их работе поддерживается необходимый уровень рН в цитоплазме клетки, подкисляется вакуолярный сок, что способствует функционированию целого ряда транспортных систем (Алехина, Харитонашвили, 2005; Gruenberg, van der Goot, 2006).

По современным представлениям вакуолярная H^+ -АТФаза высших растений представляет собой белковый комплекс, состоящий из нескольких субъединиц, кодируемых разными генами (Sze et al., 1992; Dietz et al., 2001). При этом выявлено, что повышение экспрессии генов некоторых из субъединиц в условиях действия стресс – факторов сопровождается увеличением активности фермента (Golldack, Dietz, 2001). В свою очередь, повышение активности вакуолярной H^+ -АТФазы способствует усилению транспорта ионов, в том числе тяжелых металлов, и нейтральных молекул в вакуоль (Kluge et al., 2003), что может положительно сказываться на металлоустойчивости растений (Dietz et al., 2001).

Впервые наличие протон-зависимого транспорта кадмия в вакуоль было экспериментально доказано в опытах с везикулами тонопласта корней овса (Salt, Wagner, 1993). Авторы показали, что вакуолярная H^+ -АТФаза может обеспечивать активность белков, функционирующих как Cd^{2+}/H^+ -антипортер.

На примере цинка и никеля показано, что действие тяжелых металлов на транспортную активность вакуолярной H^+ -АТФазы зависит от их концентрации в корнеобитаемой среде и продолжительности воздействия. И если в присутствии относительно невысоких концентраций металлов активность вакуолярной H^+ -АТФазы повышается, то более высокие концентрации снижают активность фермента, что предположительно связано со снижением способности протонной помпы поддерживать необходимый электрохимический градиент вследствие конформационных изменений структуры фермента (Kabała, Janicka-Russak, 2011). Существует мнение, что более устойчивые к тяжелым металлам виды (экоотипы, генотипы) растений имеют более низкую концентрацию металлов в цитоплазме именно в связи с увеличением активности

вакуолярной H^+ -АТФазы и, как следствие, усилением транспорта кадмия в вакуоль, по сравнению с менее устойчивыми растениями (Kabała et al., 2010). Однако это утверждение требует дальнейших исследований.

На тонопласте имеется еще одна протонная помпа, альтернативная вакуолярной H^+ -АТФазе – пирофосфатаза, источником энергии для которой служит пирофосфат (Maeshima, 2001). В отличие от вакуолярной H^+ -АТФазы пирофосфатаза состоит из единственного полипептида (Rea et al., 1992; Maeshima, 2000). У высших растений имеется две ее изоформы: K^+ -зависимая и K^+ -независимая (Belogurov, Lahti, 2002). Доминирующую позицию пирофосфатаза занимает на тонопласте клеток молодых, растущих тканей, а также в зрелых тканях с повышенной кислотностью вакуолярного сока (Gaxiola et al., 2007).

В присутствии тяжелых металлов обнаружено изменение транспортной активности пирофосфатазы. Так, было показано ее увеличение в присутствии цинка и никеля в везикулах тонопласта корней огурца (*Cucumis sativus* L.) (Kabała, Janicka-Russak, 2011). При этом возрастала экспрессия гена *CsVPI*, ответственного за синтез этого белка. Показано также, что действие тяжелых металлов на транспортную активность пирофосфатазы в гораздо меньшей степени зависит от концентрации тяжелых металлов в среде роста, чем вакуолярной H^+ -АТФазы (Kabała, Janicka-Russak, 2011).

В целом транспортная система тонопласта обеспечивает перемещение ионов тяжелых металлов в вакуоль, способствуя их изоляции в клетке, и таким образом участвует в обеспечении металлоустойчивости растений. Однако функционируют ли все эти белки одновременно или дифференцированно во времени, пока неизвестно. Нет окончательного ответа и на вопрос о непосредственной роли этих белков и соответствующих им генов в повышении устойчивости растений к тяжелым металлам.

Таким образом, при поступлении ионов тяжелых металлов в клетки начинают функционировать механизмы их детоксикации, включающие в себя связывание ионов различными хелаторами (органическими кислотами, аминокислотами, глутатионом и фитохелатинами, металлотионеинами) и транспорт свободных ионов и их комплексов в вакуоль с участием транспортной системы тонопласта. Активность этих механизмов в клетках корня у растений-исключателей обеспечивает задержку значительной части

токсичных ионов в подземных органах, что во многом определяет их устойчивость к тяжелым металлам.

1.6.3. Участие антиоксидантной системы в устойчивости растений к тяжелым металлам

Одним из наиболее опасных последствий повышения содержания тяжелых металлов в растениях является развитие в клетках окислительного стресса, вызванного образованием избыточного количества активных форм кислорода (АФК), обладающих чрезвычайно высокой реакционной способностью (Hegedus et al., 2001; Qureshi et al., 2007; Sandalio et al., 2009). При этом некоторые тяжелые металлы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях в клетке и могут непосредственно генерировать АФК в реакциях Габера-Вейса и Фентона (Co^{2+} , Cr^{2+} , Cu^{2+} и Fe^{2+}), тогда как другие (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} и др.) не принимают участие в этих реакциях и вызывают накопление АФК опосредованно, например, за счет вызываемых ими нарушений в структуре хлоропластов и митохондрий (Sandalio et al., 2001) или инактивации ферментов антиоксидантной защиты (Dietz et al., 1999; Schützendübel, Polle, 2002).

К АФК относят: супероксидный анион-радикал $\text{O}_2^{\bullet-}$, пероксид водорода H_2O_2 , гидроперекисный радикал HO_2^{\bullet} , гидроксил-радикал HO^{\bullet} , синглетный кислород $^1\text{O}_2$ и озон O_3 (Gallego et al., 1996; Dixit et al., 2001; Van Breusegem et al., 2001; Romero-Puertas et al., 2004; Полесская, 2007). Основными генераторами АФК являются хлоропласты и митохондрии, где идут процессы, в которых окислительно-восстановительные реакции играют ключевую роль, а также пероксисомы, содержащие большое количество ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции (Apel, Hirt, 2004; Mhamdi et al., 2010; Креславский и др., 2012). У высших растений АФК в небольших количествах (10^{-8} – 10^{-11} М) образуются в ходе целого ряда метаболических процессов в клетке, однако в норме они быстро инактивируются благодаря работе антиоксидантной системы (АОС). При действии же неблагоприятных факторов внешней среды, в том числе тяжелых металлов, образование АФК значительно усиливается, вызывая повреждение белков и нуклеиновых ки-

слот, окисление липидов (Finkel, Holbrook, 2000; Колупаев, 2007; Djebali et al., 2008; Paradiso et al., 2008). Например, в присутствии кадмия в клетках корня и листа гороха окислительный стресс вызывает заметное увеличение количества поврежденных белков, образованных вследствие их карбонилирования (необратимого окислительного повреждения) активными формами кислорода (Romero-Puertas et al., 2002). Для нуклеиновых кислот наиболее токсичной формой АФК является гидроксил-радикал, повышение содержания которого приводит к нарушению пуриновых и пиримидиновых оснований молекулы ДНК (Halliwell, Gutteridge, 1999). Кроме того, синглетный кислород вызывает нарушения в молекуле одного из пуриновых оснований – гуанина (Wiseman, Halliwell, 1996), выявленные в присутствии мышьяка в клетках корней и листьев бобов (Lin et al., 2008).

Окислительный стресс является также причиной перекисного окисления липидов (ПОЛ), при котором возникает целый каскад последовательных свободнорадикальных реакций с образованием различных химических соединений (спиртов, альдегидов, кетонов), обладающих высокой биологической активностью и токсичностью (Halliwell, 2006). В результате ПОЛ нарушается структура клеточных мембран, снижается их пластичность, изменяется проницаемость (Romero-Puertas et al., 2002; Varcioni et al., 2011).

Об интенсивности ПОЛ в клетке можно судить по содержанию соединений, образующихся в результате реакций окисления липидов, которые реагируют с тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенных продуктов (TBARS – thiobarbituric acid reactive substances). Например, повышение уровня TBARS обнаружено в присутствии кадмия в суспензии клеток растений кофейного дерева (Gomes-Junior et al., 2006), в корнях пшеницы (Khan et al., 2007), а при действии свинца – в стеблях риса (Verma, Dubey, 2003). Во многих исследованиях в качестве маркера для определения ПОЛ в органах растений используют малоновый диальдегид (МДА) (Verma, Dubey, 2003; Jin et al., 2008; Hu et al., 2009). Тяжелые металлы в большинстве случаев вызывают увеличение уровня МДА, что свидетельствует о возрастании интенсивности ПОЛ (Dixit et al., 2001; Guo et al., 2004; Nouairi et al., 2009; Amirjani, 2012). Так, при выращивании ячменя на растворах, содержащих тяжелые металлы в концентрациях,

вызывающих 30%-е снижение биомассы растений, в клетках листа наблюдалось повышение содержания МДА, которое в значительной степени зависело от типа металла. Помимо этого, на уровень МДА в клетках влияют концентрация тяжелых металлов в среде выращивания и продолжительность их воздействия (Guo et al., 2004; Luknys et al., 2012), обнаружены также ткане- и органоспецифические различия.

Основными причинами возникновения окислительного стресса в клетках растений в присутствии тяжелых металлов, независимо от их окислительно-восстановительной активности, являются: ингибирующее действие их ионов на скорость электронного транспорта на мембранах хлоропластов и митохондрий, изменения в структуре антиоксидантных ферментов в результате связывания токсичных ионов с сульфгидрильными группами белков, а также замена в молекуле фермента необходимых ионов металлов на токсичные ионы, что приводит к снижению их активности. Наконец, в присутствии тяжелых металлов уменьшается содержание некоторых антиоксидантных неферментных соединений, таких как глутатион, вследствие использования его молекул на синтез ФХ. Все это способствует увеличению содержания АФК в клетке растений и развитию окислительного стресса (Сазанова и др., 2012; Hossian et al., 2012).

Однако, несмотря на явно выраженные негативные последствия, вызываемые повышением содержания АФК в клетках, растения обладают довольно высокой устойчивостью к окислительному стрессу. Это обусловлено наличием у них достаточно эффективной системы антиоксидантной защиты (Hall, 2002; Полесская, 2007; Gattalero et al., 2009). Сам термин «антиоксидант» применяют к большому числу веществ разной химической природы, которые защищают клетку от повреждений, вызванных действием АФК (Salt, 2004). К антиоксидантам относят целый ряд ферментов и неферментативных низкомолекулярных химических соединений, которые образуют единую антиоксидантную систему (АОС) растений.

Основными антиоксидантными ферментами являются: супероксиддисмутаза, каталаза, гваякол-зависимая пероксидаза, глутатион-S-трансфераза, а также ферменты аскорбат-глутатионового цикла, среди которых аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза (Noctor, Foyer, 1998).

Супероксиддисмутаза (СОД; КФ 1.12.1.1) участвует в процессе нейтрализации $O_2^{\bullet -}$ с образованием H_2O_2 . Считается, что именно СОД обеспечивает «первую линию» защиты клеток от АФК, катализируя реакцию дисмутации супероксид-радикала в различных компартментах клетки (Asada, 1994; Ahsan et al., 2009). В растительных клетках присутствуют три типа СОД, различающихся ионом металла, входящим в их молекулу в качестве кофактора, и локализацией в клетке. В частности, Fe-СОД локализована преимущественно в хлоропластах, Mn-СОД – в митохондриях и пероксисомах, CuZn-СОД – в апопласте, цитозоле, хлоропластах, пероксисомах и глиоксисомах (Полесская, 2007; Gill, Tuteja, 2010). Обнаружено также, что различные формы СОД обладают неодинаковой чувствительностью к тяжелым металлам, например, к кадмию: CuZn-СОД более чувствительная, особенно ее цитозольная изоформа, Mn-СОД – менее чувствительная, тогда как Fe-СОД является наиболее устойчивой изоформой (Palma et al., 1998; Sandalio et al., 2001).

Каталаза (КАТ; КФ 1.11.1.6) в основном находится в пероксисомах и митохондриях и с высокой скоростью разлагает перекись водорода до воды и кислорода. Но, поскольку фермент имеет низкое сродство к H_2O_2 , он начинает функционировать только при относительно высоких ее концентрациях в клетке (Гарифзянов и др., 2011).

Аскорбатпероксидаза (АПО; КФ 1.11.1.11) является основным ферментом для ликвидации перекиси водорода в клетке, используя при этом в качестве донора электронов аскорбиновую кислоту. Этот фермент присутствует в хлоропластах, митохондриях, цитозоле, пероксисомах и в апопласте, некоторые его изоформы связаны с мембранами. Его активность коррелирует с устойчивостью растений к окислительному стрессу, вызванному действием тяжелых металлов.

Глутатионпероксидаза (ГПО; КФ 1.11.1.9) локализована в плазмалемме, цитоплазме и матриксе митохондрий. Фермент восстанавливает перекись за счет окисления глутатиона, а также участвует в утилизации пероксидов жирных кислот, нуклеиновых кислот, белков.

Гваяколпероксидаза (ГвПО; КФ 1.11.1.7) локализована в цитозоле, вакуолях, клеточной стенке. Восстанавливает перекись за счет окисления фенольных соедине-

ний (Asada, 1994). Фермент участвует в защите клетки от окислительного стресса в тех компартментах (вакуоли, клеточная стенка), в которых нет АПО, однако имеется большое количество фенолов (Чиркова, 2002). ГПО и ГвПО обладают повышенной чувствительностью к тяжелым металлам, поэтому их активность может служить одним из первых показателей окислительного стресса в растениях, вызванного их ионами (Mac Farlane, Burchett, 2001).

Глутатионредуктаза (ГР; КФ 1.6.4.2) ключевой фермент аскорбат-глутатионового цикла, который катализирует реакцию восстановления GSSG в GSH, сопровождающуюся окислением НАДФН (Foyer, Halliwell, 1976). Участие этого фермента в механизмах антиоксидантной защиты связано с поддержанием необходимого пула GSH в клетке в присутствии тяжелых металлов (Lascano et al., 2001; Hossian, Fujita, 2010).

Глутатион-S-трансфераза (GST; КФ 2.5.1.18) играет важную роль в инактивации продуктов окислительных нарушений биомолекул, образованных вследствие повышения уровня АФК в клетке. Фермент катализирует конъюгацию восстановленной формы глутатиона с разнообразными гидрофобными и электрофильными субстратами (Прадедова и др., 2011), участвует в восстановлении аскорбата из дегидроаскорбата (Dixon et al., 2002) и в детоксикации липидных радикалов, образованных в процессе ПОЛ (Гришко, Сыщиков, 2012).

Согласно результатам многих исследований, активность антиоксидантных ферментов в присутствии тяжелых металлов, как правило, увеличивается, что способствует снижению уровня АФК. Возрастание активности является следствием синтеза ферментов *de novo* (Foyer et al., 1997) и, как предполагается, практически не зависит от концентрации металла и вида растений.

Необходимо также отметить, что в целом ряде исследований активность разных антиоксидантных ферментов может изменяться по-разному при воздействии тяжелых металлов на растения. Например, в присутствии кадмия (40 мкМ) в корнях гороха снижалась активность СОД, тогда как активность АПО увеличивалась (Dixit et al., 2001). В корнях риса при действии этого же металла в концентрации 50 мкМ активность СОД и GST увеличивались, а АПО и КАТ снижались (Hu et al., 2009), в листьях

рапса уже при действии металла в концентрации 10 мкМ при снижении активности КАТ увеличивалась активность ГПО (Nouairi et al., 2009), а в листьях *Arabidopsis thaliana* при уменьшении активности АПО заметно возрастала активность ГР в присутствии кадмия в концентрации 5 мкМ (Skórzyńska-Polit et al., 2003/2004). Вместе с тем имеется также ряд публикаций, в которых описано только снижение активности ферментов антиоксидантной защиты в присутствии тяжелых металлов. Так, под влиянием кадмия снижалась активность КАТ у растений фасоли (Chaoui et al., 1997), подсолнечника (Gallego et al., 1996) и гороха (Lozano-Rodriguez et al., 1997; Dixit et al., 2001). В присутствии этого же металла у растений *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. уменьшалась активность СОД, АПО, ГР и КАТ (Iannelli et al., 2002), у гороха – ГПО (Dixit et al., 2001), у кукурузы – АПО (Rellán-Álvarez et al., 2006), у рапса – активность СОД, КАТ и АПО (Nouairi et al., 2009). При действии меди у растений овса снижалась активность КАТ и АПО (Luna et al., 1994). Среди основных причин уменьшения активности ферментов при действии тяжелых металлов авторы указывают ингибирование их биосинтеза и нарушение структуры молекул. Но, поскольку авторами не отмечено в этих условиях сильного торможения роста растений, не исключена возможность того, что увеличивалась активность других ферментов антиоксидантной защиты, которые не были исследованы в указанных работах.

Анализ литературы не позволяет сделать однозначные выводы и относительно влияния разных металлов на активность антиоксидантных ферментов. Например, при выращивании растений ячменя на питательных растворах, содержащих Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} и Zn^{2+} в концентрациях, вызывающих примерно равное ингибирование длины корня, активность ГПО и GST в корнях была практически одинаковой (Nalušková et al., 2009). Возможно, что активность ферментов в большей степени зависит от продолжительности воздействия токсичных ионов. Так, в присутствии цинка и хрома активность КАТ после двух дней экспозиции на растворе с металлами увеличивалась, тогда как после четырех дней – уменьшалась, активность же ГПО увеличивалась на 4-й и 6-й день, а к 8-м суткам снижалась (Panda et al., 2003). При действии кадмия на растения табака активность СОД в листьях через 3 часа увеличивалась, а через 21 час – снижалась (Iannone et al., 2010), а у растений гороха в присутствии это-

го же металла активность ГПО увеличивалась на 6-е сут и возвращалась на уровень контрольного варианта на 10-е сут (Гришко, Сыщиков, 2012). Обнаружены также различия в активности антиоксидантных ферментов в зависимости от органа. Например, в корнях рапса при действии меди активность ГР снижалась, а в листьях, наоборот, повышалась (Russo et al., 2008). Изменения в активности ферментов в присутствии тяжелых металлов, связанные с возрастом растений или фазой их развития, в литературе практически не обсуждаются.

В последние годы большое внимание уделяется изучению влияния тяжелых металлов на экспрессию генов, ответственных за синтез антиоксидантных ферментов (Sandalio et al., 2001; Fornazier et al., 2002; Yoshimura et al., 2004). Результаты проводимых в этой области исследований выявили значительное увеличение уровня их экспрессии при действии разных тяжелых металлов. Например, при действии ртути возрастало содержание транскриптов генов *GPX*, *GR 1* и *GR 2* в клетках растений гороха (Sävenstrand, Strid, 2004) и люцерны (Ortega-Villasante et al., 2007). В присутствии кадмия в корнях и листьях *Arabidopsis thaliana* повышался уровень экспрессии генов *AtSOD*, *AtAPX*, *AtGR*, *AtCAT* (Smeets et al., 2008), в корнях риса – генов *OsGST1*, *OsGST2*, *OsGST3*, *OsAPX* и *OsGR* (Lee et al., 2010a), а у растений *Lolium perenne* кадмий индуцировал повышенную экспрессию генов ферментов СОД, АПК, ГПО и ГР (Luo et al., 2011). Предполагается, что возрастание уровня экспрессии некоторых генов антиоксидантных ферментов приводит к увеличению устойчивости растений к тяжелым металлам (Lee et al., 2007; Iannone et al., 2010), однако экспериментальных данных, подтверждающих это, сравнительно мало.

Помимо антиоксидантных ферментов в устранении избыточных количеств АФК принимают участие и неферментные низкомолекулярные соединения, важнейшими из которых являются аскорбиновая кислота, восстановленный глутатион, α -токоферол, каротиноиды и пролин. Значение неферментных низкомолекулярных антиоксидантов в клетке в условиях окислительного стресса, вызванного действием тяжелых металлов, велико. При быстром истощении конститутивного пула ферментов вследствие негативного влияния ионов тяжелых металлов на структуру их молекул, с одной стороны, и необходимости определенного времени для их синтеза *de novo*, с

другой, антиоксидантную защиту осуществляют, в основном, ферментные соединения АОС (Кения и др., 1993).

В настоящее время большое внимание уделяется выявлению зависимости между уровнем активности компонентов АОС (ферментов и ферментных соединений) и устойчивостью растений к тяжелым металлам (Verma, Dubey, 2003; Foyer, Noctor, 2005; Ху и др., 2007). При изучении других видов стрессового воздействия обнаружено, что более устойчивые виды (сорта, генотипы) обладают более высоким содержанием соединений – антиоксидантов, а также большей активностью ферментов антиоксидантной защиты (Hegedus et al., 2001; Wu et al., 2003; Benavides et al., 2005; Ершова и др., 2011). При этом устойчивость растений к окислительному стрессу может обеспечиваться увеличением активности как одного, так и нескольких ферментов (Shi et al., 2006). В отношении тяжелых металлов такого рода данных гораздо меньше. Тем не менее, обнаружена прямая зависимость между устойчивостью разных сортов гороха к кадмию и содержанием в клетках корня GSH (Metwally et al., 2003). Устойчивые к этому же металлу генотипы *Phragmites australis* обладали более высокой активностью таких ферментов-антиоксидантов, как ГР и ГПК (Iannelli et al., 2002). Очевидно, дальнейшее изучение этого вопроса имеет важное практическое значение при отборе устойчивых видов растений для целей фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

В последние годы активно обсуждаются вопросы возможного управления устойчивостью растений к действию неблагоприятных факторов среды за счет повышения уровня низкомолекулярных антиоксидантов и активности антиоксидантных ферментов. Особый интерес в этом аспекте приобретает оценка соразмерных изменений разных компонентов АОС (Гарифзянов и др., 2011).

В целом тяжелые металлы вызывают у растений сильный окислительный стресс, связанный с резким повышением уровня АФК в клетке. Однако эффективная работа АОС, которая включает в себя целый ряд ферментов и ферментных низкомолекулярных соединений, в значительной степени инактивирует их негативное действие на растения. Поэтому увеличение активности компонентов АОС является важным механизмом защиты клеток растений от влияния тяжелых металлов наравне со связывани-

ем токсичных ионов фитохелатинами и транспортом таких комплексов в вакуоль. И только высокие концентрации тяжелых металлов приводят к потере способности АОС контролировать уровень АФК, что в конечном счете может привести к гибели клеток и растения в целом.

Таким образом, у растений имеется целый ряд механизмов, обеспечивающих им возможность нормально расти и развиваться в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в окружающей среде. Важное место среди них занимают клеточные механизмы устойчивости, среди которых: ограничение их поступления в клетку, выведение токсичных ионов из цитоплазмы через плазмалемму в свободное пространство, связывание тяжелых металлов различными хелаторами в цитоплазме; изоляция свободных ионов или их комплексов в вакуоли, а также индукция компонентов АОС (рис. 3).

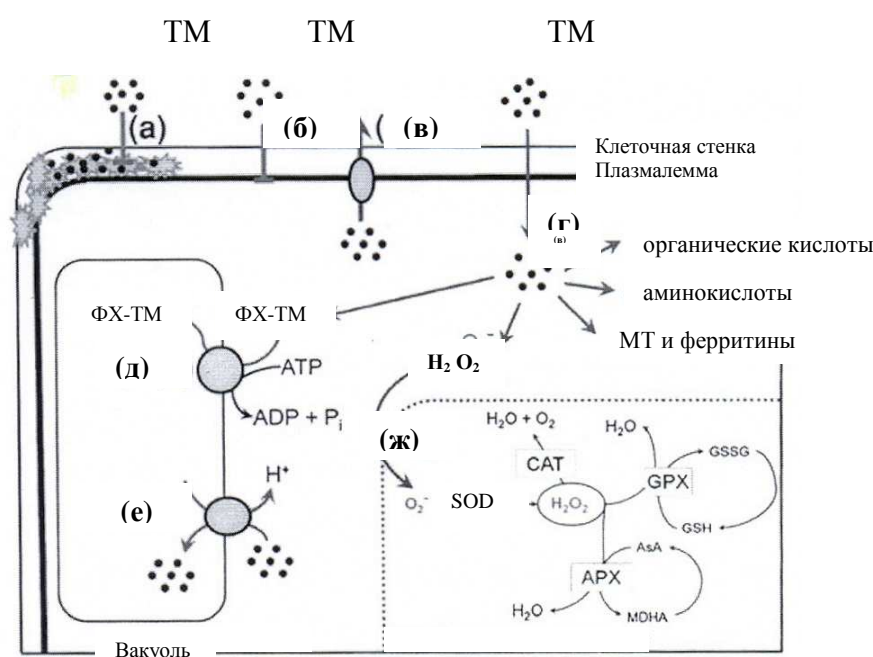


Рис. 3. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам (ТМ): (а) связывание ионов ТМ корневыми выделениями в ризосфере и клеточной стенкой, (б) ограничение поступления через плазмалемму, (в) выведение токсичных ионов из цитоплазмы через плазмалемму в апопласт, (г) связывание тяжелых металлов различными хелаторами в цитоплазме с образованием комплексов; (д; е) изоляция в вакуоли комплексов и свободных ионов, (ж) – индукция элементов АОС (по: Manara, 2012)

1.7. Устойчивость растений семейства *Poaceae* (*Gramineae*) к тяжелым металлам

Семейство *Poaceae* является одним из наиболее крупных семейств покрытосеменных растений, произрастающих почти во всех климатических зонах и играющих важную ценотическую роль. Практически во всех типах растительности злаки занимают содоминирующее, а местами (луга, степи, саванны) – доминирующее положение в фитоценозах. Это семейство имеет также чрезвычайно важное хозяйственное значение. К нему принадлежат основные зерновые культуры – кукуруза, овес, пшеница, рис, рожь, сорго, ячмень и другие, которые составляют значительную часть рациона питания человека. Кроме того, представители этого семейства широко используются в качестве кормовых растений для домашних животных, многие из них являются основными компонентами естественных сенокосов и пастбищ (Цвелев, 1976). Необходимо отметить и такую важную роль дикорастущих злаков как их участие в восстановлении почв, нарушенных вследствие антропогенного воздействия (Безель, Жуйкова, 2007). Последнее представляет особый интерес, т.к. загрязнение почв сельскохозяйственного назначения различными поллютантами приобрело в последние десятилетия характер крупномасштабной экологической проблемы.

Влияние тяжелых металлов на представителей семейства *Poaceae* широко изучается во многих странах мира, и к настоящему времени накоплен большой фактологический материал. Однако, в основном, эти исследования касаются важных сельскохозяйственных культур, наиболее изученными из которых являются рис и кукуруза. Повышенное внимание при этом уделено вопросам накопления и распределения тяжелых металлов в органах растений, а также их действия на основные физиологические процессы и продуктивность, что связано с их важным прикладным значением. Дикорастущие виды злаков изучены в этом плане в гораздо меньшей степени и, в основном, с точки зрения их способности произрастать на территориях с повышенным уровнем тяжелых металлов.

На сегодняшний день известно, что способность злаков к поглощению ионов металлов во многом зависит от видовых особенностей растений. Например, кадмий в гораздо большей степени поглощают рис, рожь и ячмень, и в меньшей степени – ку-

куруза и пшеница (Wójcik, Tukiendorf, 1999; Puertas-Mejia et al., 2010). Интересно, что способность к накоплению металлов варьирует не только между видами, но и между сортами и генотипами. Так, достаточно большие различия в концентрации металлов в надземных органах были обнаружены у разных сортов риса (Ueno et al., 2009), а также у разных генотипов пшеницы (Zhang et al., 2002), *Avena strigosa* Schreb. и *Crotalaria juncea* L. (Uraguchi et al., 2006). Известно также, что линии твердой пшеницы аккумулируют больше кадмия в побегах и зерне, чем линии мягкой пшеницы (Hart et al., 1998).

На интенсивность поступления тяжелых металлов в растения злаков оказывают большое влияние свойства почвы, в том числе, ее кислотность. Например, при снижении pH почвы с 7.0 до 5.5 содержание металла в корне райграса возрастало в 4 раза (Gunnarsson, 1983). У проростков риса наибольшее его поглощение отмечено в интервале pH от 4.5 до 5.5 (Kitagishi, Yamane, 1981).

По классификации Бейкера (Baker, 1981) большинство видов семейства *Poaceae* относятся к «исключателям», и основное количество ионов тяжелых металлов, поступивших в растения, у них задерживается в корнях. Например, установлено, что количество кадмия в корнях пшеницы в 20 раз выше, чем в побегах, и в 200 раз выше, чем в зерне (Zhang et al., 2002). Преимущественное накопление кадмия в подземных органах отмечено также и у других представителей культурных и дикорастущих видов злаков (Punz, Siedhardt, 1993; Kovačević et al., 1999; Wójcik, Tukiendorf, 2005; Nocito et al., 2008).

Ионы тяжелых металлов (среди которых необходимые в небольших количествах, а также те, необходимость которых для растений в настоящее время не доказана) поступают из почвы в свободное пространство клеток корня. Однако у злаков выявлен целый ряд механизмов, как имеющихся у других видов растений, так и характерных только для видов этого семейства, препятствующих этому. В частности, клетки корня выделяют слизи, способные связывать металл в почве, ограничивая тем самым его проникновение в растение. Кроме того, у злаков, в отличие от представителей других семейств, синтезируются фитосидерофоры – низкомолекулярные соединения, участвующие в хелатировании Fe^{3+} (Hall, Williams, 2003), которые, как показывают

исследования, могут способствовать еще и связыванию некоторых ионов металлов, например кадмия, в ризосфере (Hall, 2002).

На пути транспорта кадмия в клетку у растений имеется еще один важный барьер – клеточная стенка, которая способна снизить проникновение металла в протопласт за счет связывания токсичных ионов пектинами (Ramos et al., 2002), а также изменения физико-химических свойств. В частности, у некоторых видов злаков усиливается суберинизация оболочек клеток эндодермы и лигнификация клеток коры и периферических тканей проводящего цилиндра (Lux et al., 2011). Имеются также сведения, что у злаков, в частности, у риса, клеточная стенка в присутствии кадмия пропитывается силикатами (Lux et al., 1999).

Как и у других видов растений, у злаков обнаружены белки, осуществляющие транспорт ионов тяжелых металлов в клетку и из клетки через плазмалемму. Вместе с тем у пшеницы выявлен белок-транспортер **TaTM 20** (*Triticum aestivum Transmembrane 20*) (Kim et al., 2008), гомолог которого был обнаружен ранее в клетках эмбрионов злаков (Jahrmann et al., 2005), который осуществляет транспорт ионов тяжелых металлов (в частности, кадмия) из клетки за счет энергии протонного градиента. Интересно, что у других видов растений, например *Arabidopsis thaliana*, он не обнаружен, на основании чего авторы не исключают возможность его функционирования только у однодольных растений. Помимо белков-переносчиков, транспорт кадмия через плазмалемму может осуществляться через ионные каналы, например кальциевые, что установлено, в частности, в корнях риса (Kim et al., 2002).

Изучение радиального транспорта тяжелых металлов по тканям корня до ксилемы показало, что их ионы могут передвигаться довольно быстро. Например, у риса время, необходимое для радиального транспорта кадмия, составляет менее 10 мин с момента добавления металла в питательный раствор (Fujimaki et al., 2010). При этом ионы металла могут транспортироваться как по апопласту до эндодермы, так и по симпласту. Из корня в надземные органы транспорт ионов осуществляется по ксилеме в составе ксилемного сока, в основном, в комплексе с органическими кислотами (цитратом и малатом) или аминокислотами (аспарагином, глутамином, гистидином) (Clemens et al., 2002). Скорость движения кадмия из корня в побег сравнительно вы-

сока. В частности, с помощью радиоактивного Cd^{107} обнаружено, что он появляется в основании стебля риса уже через 1 час после помещения растений на питательный раствор, содержащий кадмий. Однако во влагалища листьев и листовые пластинки металл поступает более, чем за 36 часов от начала экспозиции, что, как полагают авторы, связано с его задержкой в узлах стебля (Fujimaki et al., 2010).

Известно, что у злаков перемещение ионов металлов из ксилемы во флоэму происходит в узлах стебля (Fujimaki et al., 2010). Наиболее вероятным кандидатом для осуществления такого транспорта для ионов кадмия (о других металлах информации в известной нам литературе нет) является белок **LCT1** (*low-affinity cation transporter*). Повышенная экспрессия гена *OsLCT1* была обнаружена в присутствии этого металла в узлах стебля риса во время созревания семян, особенно в верхнем, который связан с соцветием (Uraguchi et al., 2011). Снижение уровня экспрессии гена приводило к 50%-му уменьшению концентрации кадмия в зерне без заметных изменений в содержании металлов-микроэлементов. Показано также, что стеблевые узлы интенсивно накапливают кадмий, являясь своеобразным барьером для перемещения токсичных ионов в листья (Fujimaki et al., 2010).

По флоэме осуществляется транспорт кадмия от листа к листу и от листьев к соцветию (Harris, Taylor, 2001). Одним из немногих неэссенциальных тяжелых металлов, способных к перемещению в генеративные органы злаков, является кадмий (Harris, Taylor, 2001). В связи с большой практической значимостью исследования, посвященные изучению механизмов поступления кадмия в соцветие злаков, активно ведутся в целом ряде лабораторий. Анализ этих работ показывает, что кадмий может поступать в соцветие как по ксилеме из корня, так и по флоэме из листьев (в большей степени из флагового листа) с потоком ассимилятов (Greger, Löfstedt, 2004).

Проблема увеличения содержания тяжелых металлов в зерне при выращивании хлебных злаков на загрязненных почвах, приобретает в последнее время все большую актуальность. Установлены даже нормативы максимально возможного их количества. Например, по нормам Российской Федерации уровень кадмия в зерне не должен превышать 0.2 мг/кг, для свинца – 0,5 мг/кг сырого веса (СанПиН 2.3.2.1078-01). Однако при повышенных концентрациях металлов в почве их содержание в зерне зачастую

заметно превышает этот показатель. Например, кадмий в гораздо бóльших количествах был обнаружен в зерне пшеницы (Harris, Taylor, 2001), риса (Shah, Dubey, 1998) и ячменя (Chen et al., 2007) при выращивании этих видов на субстратах, содержащих металл. Полагают, что высокое содержание кадмия в зерне в большей степени связано с увеличением активности его транспорта из корня в стебель и концентрацией в надземных органах, а не с интенсивностью его поглощения корнями (Greger, Löfstedt, 2004; Uraguchi et al., 2009).

В целом, злаки способны накапливать кадмий не только в корнях, но и в надземных органах, в том числе в зерне, что представляет серьезную опасность для здоровья человека. Поэтому знание особенностей поступления металла в растение у разных видов (сортов, генотипов) злаков и понимание механизмов его передвижения в надземные органы может способствовать правильному выбору культур, используемых для выращивания на загрязненных кадмием почвах (или почвах, где существует угроза подобного загрязнения), и получению более экологически чистой продукции, а также созданию новых сортов, обладающих способностью снижать поступление кадмия в зерно.

Накапливаясь в большом количестве в растениях, тяжелые металлы оказывают негативное влияние на рост, развитие и другие физиологические процессы у злаков. В частности, обнаружено, что в присутствии высоких концентраций этих элементов у злаковых растений наблюдается уменьшение высоты побега, сокращение числа междоузлий, снижение накопления сырой и сухой биомассы, а также уменьшение размеров соцветия (Vassilev et al., 1995; Титов и др., 2002; Zhang et al., 2002; Demirevska-Kerova et al., 2006; Репкина и др. 2014).

Основными причинами снижения продуктивности надземной биомассы у злаков являются негативное воздействие кадмия на рост листьев и интенсивность фотосинтеза. Как и у большинства других видов, у растений семейства *Poaceae* вклад листьев в фотосинтетическую деятельность является основным, поэтому их суммарная поверхность тесно коррелирует с продуктивностью (Dofing, 1997). Особую роль при этом играет флаговый лист, который у злаков является главным поставщиком асси-

миллионов в колос и участвует в формировании и созревании зерна. Уменьшение его площади может приводить к частичной потере урожая семян.

Вопрос о влиянии кадмия на семенную продуктивность злаков в настоящее время изучен в гораздо меньшей степени, чем его воздействие на накопление биомассы. Тем не менее известно, что в присутствии повышенных концентраций металла в субстрате значительно снижается урожай семян у растений пшеницы (Ильин и др., 1985) и ячменя (Vassilev et al., 1996), снижается их биомасса. Данных, касающихся влияния тяжелых металлов на элементы семенной продуктивности злаков, практически нет.

Определенный интерес представляют также исследования, посвященные изучению способности некоторых видов дикорастущих злаков успешно расти и развиваться в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в почве, что связано с возможностью их использования в фиторемедиации загрязненных территорий. Фиторемедиация (от греческого “фитон” – растение и латинского “ремедиум” – восстанавливать) – современная эффективная и экономически выгодная технология очистки загрязненных почв с использованием зеленых растений (Cunningham, Ow, 1996; Chaney et al., 1997; Salt et al., 1998; Long et al., 2002; Прасад, 2003).

Растения, идеально подходящие для целей фиторемедиации, должны обладать следующими свойствами: 1) способностью аккумулировать металл (ы) преимущественно в надземных органах; 2) устойчивостью к накапливаемому металлу; 3) быстрыми темпами роста (Chaney et al., 1997; Прасад, 2003). К этим растениям относятся гипераккумуляторы (или сверхнакопители) тяжелых металлов. На сегодняшний день идентифицировано свыше 200 наземных видов растений, которые характеризуются высоким естественным (приобретенным в процессе эволюции) уровнем устойчивости к определенному металлу (например, Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) и обладают способностью аккумулировать высокие уровни этих металлов в побегах (Baker, Brooks, 1989; Chaney et al., 1997). Однако, большинство видов растений-гипераккумуляторов сравнительно небольшие по размерам, что ограничивает возможности их использования для широкомасштабной очистки загрязненных почв (Ebbs et al., 1997; Прасад, 2003). Поэтому в настоящее время предлагается использование высокопродуктивных растений, которые не являются гипераккумуляторами, но обладают довольно высокой ус-

тойчивостью к тяжелым металлам и формируют большую надземную биомассу, хотя и количество тяжелых металлов в ней сравнительно невысокое (Greger, Landberg, 1999; Carrier et al., 2003). Известно, что в природе имеются виды растений, способные успешно произрастать в присутствии довольно значительных концентраций тяжелых металлов в почве (Prasad, Freitas, 1999; Hall., 2002; Maksymiec, 2007). Среди них и представители семейства *Poaceae* (Atabaeva, Sarsenbayev, 2004; Безель, Жуйкова, 2007). Изучение существующих у них механизмов адаптации, позволяющих поддерживать в этих условиях основные физиологические процессы на достаточно высоком уровне, является важной научной и практической задачей. Предполагают, что многолетние злаки могут быть предпочтительны для фитостабилизации почв, загрязненных тяжелыми металлами – одной из вариантов технологии фиторемедиации, которая предполагает выращивание устойчивых к тяжелым металлам растений с целью уменьшения подвижности их ионов в почве и укрепления почвенного покрова. Тогда как однолетние дикорастущие виды представляют интерес с точки зрения их использования в фитоэкстракции – то есть, использование растений для удаления тяжелых металлов из почвы (Прасад, 2009). С этой точки зрения определенный интерес представляют виды с C_4 -типом фотосинтеза, которые бимеют быстрые темпы роста и способны накапливать довольно большую биомассу. Вместе с тем необходимо отметить, что исследований механизмов металлоустойчивости таких видов растений практически нет.

Таким образом, тяжелые металлы оказывают негативное воздействие на основные физиологические процессы у растений семейства *Poaceae*, что приводит к снижению продуктивности зеленой биомассы и семян, ухудшению качества растениеводческой продукции. Однако наличие у злаков различных механизмов устойчивости, как общих, характерных для большинства видов растений-исключателей, так и некоторых специфических, свойственных только представителям этого семейства, позволяет им произрастать в условиях довольно высоких концентраций тяжелых металлов в окружающей среде, что представляет большой интерес с точки зрения их использования в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв. Кроме того, знание механизмов поглощения тяжелых металлов растениями, их транспорта по расте-

нию и распределения по органам является чрезвычайно важным с точки зрения получения относительно «чистой» продукции, не представляющей опасности здоровью человека и животных. В этой связи изучение устойчивости культурных и дикорастущих представителей этого семейства к одному из наиболее сильно действующих абиотических факторов внешней среды – тяжелым металлам – является крайне важной и актуальной научной задачей.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объекты исследований

Объектами исследований явились виды растений из семейства *Poaceae*: культурные (овес посевной, ячмень обыкновенный), дикорастущие многолетние (*Agrostis gigantea*, *Bromopsis inermis*, *Dactylis glomerata*, *Elytrigia repens*, *Phleum pratense*) и дикорастущий однолетний (*Setaria viridis*) виды.

Овес посевной (*Avena sativa* L.). Однолетний культурный злак. Корневая система мочковатая. Стебель округлый, полый, с 4-7 междоузлиями, высотой 80-120 см. Листья ланцето-заостренные, шероховатые. Соцветие – метелка, раскидистая, пониклая; колоски обычно 2-3 цветковые. Плод – зерновка, удлинённая, с глубокой бороздкой (Цвелев, 1976). Овёс влаголюбив, холодостоек и менее требователен к почве, чем другие культурные злаки, поэтому он выращивается на территориях с прохладным и влажным летом. В северо-западной части Европы и России овес является одной из важнейших зерновых культур (Культурная флора, 1994). В наших исследованиях использовался сорт Фаленский 1 селекции Фаленской селекционной станции НИИСХ северо-востока им. Н.В. Рудницкого.

Ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare* L.). Однолетний культурный злак. Корневая система мочковатая. Стебель прямостоячий, полый, темно-зеленный, высотой до 100 см. Листья имеют линейную или ланцетовидную форму. Соцветие – колос (Цвелев, 1976). По сравнению с другими зерновыми злаками очень требователен к плодородию почвы и ее физико-химическому составу, однако обладает высокой устойчивостью к засухе, пониженным температурам и засолению (Куперман, 1968; Удовенко, Гончарова, 1982). Ячмень – важнейшая фуражная и зерновая культура, отличающаяся способностью формировать высокие урожаи зеленой массы и семян в разных климатических зонах (Шевелуха, 1992).

В наших исследованиях использовались яровые сорта: сорт Дина селекции Фаленской селекционной станции НИИСХ северо-востока им. Н.В. Рудницкого и Зазер-

ский 85 селекции Белорусского НИИ земледелия Министерства сельского хозяйства Беларуси.

Ежа сборная (*Dactylis glomerata* L.). Многолетний рыхлокустовый верховой злак высотой до 150 см и более, с короткими подземными побегами или без них. Корневая система мощная, проникает в почву на глубину более 1 м. Листья линейные, чаще плоские или вдоль сложенные, острошероховатые по краям, тонко заострённые. Соцветие – сжатая с боков метелка со скученными колосками. Колосок с 3-6 цветками. Плод – продолговатая, удлинённо-заостренная зерновка серовато-желтого цвета (Цвелев, 1976). Вид не требовательный к почвенным условиям, устойчив к засухе и засолению (Kostopoulou et al., 2010). Произрастает на лугах, лесных полянах, обочинах дорог (Медведев, Сметанникова, 1981). В Карелии встречается повсеместно, часто (Раменская, 1960). Используется в качестве ценного кормового растения. Известно применение этого вида для укрепления почв, нарушенных вследствие антропогенного воздействия.

Кострец безостый (*Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub). Многолетний корневищный верховой злак. Корневища расположены на глубине 10-15 см. Корневая система мочковатая, хорошо развитая. Стебли прямые, утолщенные, высотой 80-160 см. Листья широколинейные, часто шероховатые, светло-зеленые или серовато-зеленые. Соцветие – раскидистая метелка с зелеными (иногда красноватыми) продолговатыми безостыми колосками. Плод – сплюснутая, удлинённая, темно-коричневая зерновка (Цвелев, 1976). Устойчив к переувлажнению и кратковременному затоплению, засухе, а также зимо- и морозоустойчив. Обладает высокой конкурентоспособностью (Егорова, 1980; Медведев, Сметанникова, 1981). Успешно произрастает на основных типах почв лесной и лесостепной зон, исключая кислые, засоленные и заболоченные. В Карелии встречается повсеместно, часто (Раменская, 1960). Используется как кормовое растение, являясь ценным компонентом травосмесей. Применяется при создании спортивных площадок, газонов, а также для закрепления почв, подверженных эрозии. Улучшает структуру и плодородие почвы. Рекомендован также для использования в травянистых покрытиях придорожных полос авто- и железнодорожных магистралей (Елистратова, 2008).

Полевица гиганская (*Agrostis gigantea* Roth.). Многолетний корневищно-рыхлокустовый верховой злак. Стебли высотой 100-120 см, хорошо облиственные. Листья линейно-ланцетные, шероховатые. Соцветие – крупная, раскидистая метелка с длинными шероховатыми веточками и многочисленными колосками. Колоски одноцветковые, буровато-фиолетовые или зеленоватые. Зерновка овальная, очень мелкая, пленчатая (Цвелев, 1976). Растение морозостойкое, влаголюбивое, неприхотливое к плодородию почв. Предпочитает легкие песчаные почвы. Произрастает на влажных заболоченных лугах, реже встречается у дорог и на вторичных лугах. На территории Карелии встречается повсеместно, часто (Кравченко, 2007). Обнаружена возможность ее роста на территориях с сильным нефтяным загрязнением (Лапшина, Блойтен, 1999). Известно также ее использование для защиты почв от почвенной эрозии (Amundsen, 2009).

Пырей ползучий (*Elytrigia repens* (L.) Nevski). Многолетний корневищный верховой злак. Корневища ползучие горизонтальные, залегают на глубине от 5 до 15 см. Стебли прямостоячие, хорошо облиственные, высотой 80-130 см. Листья линейные, темно-зеленые. Цветки (от 3 до 8) собраны в колоски. Соцветие – колос. Зерновка продолговатая, на верхушке волосистая, с желобком (Медведев, Сметанникова, 1981). Зимостойкий, холодостойкий, засухоустойчивый злак, не требовательный к плодородию почвы. Обнаружена способность произрастать на почвах с разным рН и с высоким уровнем засоления (Timling, 2000). Произрастает на лугах, по обочинам дорог, часто как сорное растение на полях. На территории Карелии встречается повсеместно, часто (Раменская, 1960). Пырей используется как кормовая культура. Рекомендован также для использования в травянистых покрытиях придорожных полос авто- и железнодорожных магистралей (Елистратова, 2008).

Тимофеевка луговая (*Phleum pratense* L.). Многолетний рыхлокустовый верховой злак со вздутым основанием стебля и короткими ползущими корневищами. Корневая система мочковатая неглубоко проникает в почву. Стебли высотой до 120 см, прямые или коленчато-изогнутые в нижних междоузлиях. Листья шершавые, зеленые или серо-зеленые. Листовые пластинки широкие, на концах заострены. Соцветие – плотная колосовидная метелка (султан) цилиндрической формы. Колоски одноцветковые,

сильно сплюснутые с боков. Зерновка мелкая, яйцевидной или эллиптической формы, пленчатая (Медведев, Сметанникова, 1981). Растения этого вида обладают повышенной зимостойкостью, хорошо растут на всех типах почв независимо от кислотности, однако не устойчивы к длительной засухе и высоким температурам. Произрастает на лугах, лесных полянах, у дорог, на полях практически во всех климатических зонах (Цвелев, 1976). В Карелии встречается повсеместно, на юге республики – довольно часто, на севере – более редко (Раменская, 1960). Тимофеевка широко используется как кормовая культура, является ценным злаковым компонентом в травосмесях с бобовыми, а также для защиты почв от эрозии.

Щетинник зеленый (*Setaria viridis* (L.) Beauv.). Однолетний дикорастущий злак, характеризующийся C₄-типом фотосинтеза. Растения кустистые от основания стебля (Whitson et al., 1996). Корневая система мочковатая. Стебли прямые, высотой до 100 см. Листья линейно-ланцетные. Соцветие – цилиндрическая плотная колосовидная метелка (султан) бледно-зеленого цвета. Колоски 1-2 цветковые, яйцевидные, сжатые со спинки, в основании окружены зазубренными щетинками. Плод – пленчатая зерновка, овально-яйцевидной формы, выпуклая, желто-коричневого цвета. Не требователен к плодородию почвы, засухоустойчив. Обитает на пустырях, свалках, железнодорожных насыпях, а в южных районах еще и на полях различных сельскохозяйственных культур (Цвелев, 1976). В Карелии является адвентивным видом, обнаружен в Приладожском, Олонецком, Заонежском, Кемском районах и в г. Петрозаводске (Кравченко, 2007).

Щетинник имеет относительно маленький геном, чем объясняется возросший в настоящее время интерес к этому виду как к хорошему модельному объекту для изучения молекулярно-генетических аспектов C₄-фотосинтеза, а также механизмов устойчивости C₄-растений к различным абиотическим стрессорам (Brutnell et al., 2010; Li, Brutnell, 2011).

2.2. Условия проведения исследований

Исследования проводили в лабораторных, вегетационных и полевых условиях.

Физиолого-биохимические механизмы устойчивости культурных злаков к тяжелым металлам изучали в вегетационном опыте, используя песчаную культуру. Кадмий в концентрациях 40, 80 и 160 мг/кг субстрата, цинк в концентрациях 40, 80, 160 и 320 мг/кг субстрата в виде сернокислых солей и свинец в концентрациях 80, 160 и 320 мг/кг субстрата в виде уксуснокислой соли вносили перед посевом семян. Концентрации металлов были выбраны на основании предварительных опытов: более низкие концентрации не оказывали влияния на основные физиологические процессы у изученных видов злаков, а более высокие концентрации приводили к остановке роста растений. Семена ячменя сорта Дина и овса сорта Фаленский высевали в сосуды с песком (1 кг). Плотность посева – 12 растений на сосуд. Полив осуществляли модифицированным питательным раствором, содержащем 3.15 мМ NH_4NO_3 , 1.55 мМ KH_2PO_4 , 1.55 мМ MgSO_4 , 24 мкМ H_3BO_3 , 21 мкМ цитрата железа ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$), 10 мкМ MnSO_4 , 3.1 мкМ CuSO_4 , 2.55 мкМ $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 1.55 мкМ ZnSO_4 и 5 мМ $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH 6.4.

Оценку устойчивости злаков осуществляли по изменению (по отношению к контролю) линейных размеров корня и побега, подземной и надземной биомассы, некоторых параметров фотосинтетической активности и водного обмена при достижении растениями фазы проростков или 3-х листьев. Развитие растений оценивали по срокам наступления фенофаз и этапам органогенеза. При изучении влияния тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат (ФСА) растений были исследованы такие параметры, как содержание фотосинтетических пигментов, показатели мезоструктуры листа, функциональной активности фотосистемы II (ФС II), а также интенсивность фотосинтеза. Влияние тяжелых металлов на водный обмен растений оценивали по изменению (по отношению к контролю) интенсивности транспирации, устьичной проводимости, оводненности тканей корня и листа.

Для исследования продуктивности злаков в условиях высоких концентраций тяжелых металлов растения ячменя и овса выращивали в сосудах с песком объемом 5 л до фазы молочной спелости. О воздействии тяжелых металлов на продуктивность биомассы судили по изменению (по отношению к контролю) высоты главного побега, количества боковых побегов, биомассы надземных органов. Семенную продуктивность оценивали по длине и биомассе соцветия, количеству семян с одного растения и биомассе зерновки.

Изучение влияния возраста растений на их устойчивость к кадмию выполняли с использованием 3-х и 7-дневных проростков ячменя сорта Зазерский 85. Опыты проводили в лабораторных условиях. Растения выращивали в камерах искусственного климата при температуре воздуха 20–22 °С, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. По достижении растениями возраста 3-х (фаза прорастания семян) или 7-и (фаза всходов) дней, их переносили в пластиковые контейнеры с питательным раствором (см. выше) (контрольные варианты). В опытных вариантах к питательному раствору добавляли 100 мкМ кадмия в форме сульфата. Спустя 4 сут в корнях и листьях растений ячменя разного возраста определяли содержание металла в органах растений, оценивали его действие на некоторые показатели роста (прирост корня и побега, площадь листовой пластинки 1-го или 2-го листьев, сформированных за время экспозиции на растворе с кадмием и имеющих одинаковый возраст), фотосинтетической активности (содержание пигментов, функциональная активность ФС II, интенсивность фотосинтеза) и водного режима (состояние устьичного аппарата, интенсивность транспирации, устьичная проводимость, оводненность тканей корня и побега) растений.

Для изучения молекулярно-генетических механизмов металлоустойчивости злаков использовались в качестве условной модели 3-х и 7-дневные проростки ячменя (сорт Зазерский 85). Условия выращивания растений см. выше. Спустя 4 сут экспозиции у растений контрольного и опытного вариантов определяли уровень транскриптов генов (*HvGS*, *HvPCS*, *HvMT1* и *HvMT2*), продукты которых участвуют в синтезе хелаторов в клетке, а также содержание восстановленного глутатиона (GSH) и общее содержание фитохелатинов (ФХ); количество матриц генов (*HvHMA3*, *HvCAH2*) белков, участвующих в транспорте ионов металлов через тонопласт, и генов субъединиц

вакуолярной Н⁺-АТФазы (*HvVHA-E* и *HvVHA-c*); исследовали интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) по содержанию малонового диальдегида (МДА) и активность антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПО).

Изучение влияния тяжелых металлов на прорастание семян дикорастущих злаков проводили в лабораторных условиях в чашках Петри при температуре 22 °С. В контрольных вариантах использовали дистиллированную воду, в опытных вариантах – растворы сернокислых солей кадмия и цинка и уксуснокислого свинца в концентрациях 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³ и 10⁻² М. Энергию прорастания и всхожесть семян определяли: *A. gigantea* – на 7-е и 14-е сут, у *B. inermis* – на 4-е и 10-е сут, у *E. repens* – на 5-е и 14 сут, у *P. pratense* – на 4-е и 8-е сут, согласно ГОСТу № 12038-84.

При изучении устойчивости к тяжелым металлам дикорастущего однолетнего вида – *S. viridis* – проклюнувшиеся семена высаживали (по 12 штук) в сосуды с песком (1 кг). Перед посевом вносили кадмий в концентрациях 10, 20, 40 и 80 мг/кг субстрата и цинк в концентрациях 40, 80, 160 и 320 мг/кг субстрата в виде их сернокислых солей. Полив осуществляли модифицированным питательным раствором (см. выше). Спустя 20 сут после посева (фаза 3-х листьев) оценивали устойчивость растений к тяжелым металлам по изменению (по отношению к контролю) линейных размеров корня и побега, площади листовой пластинки 2-го листа, прироста биомассы подземных и надземных органов. Определение параметров фотосинтетической активности (содержание пигментов, функциональная активность ФС II, интенсивность фотосинтеза) и водного режима (состояние устьичного аппарата, интенсивность транспирации, устьичная проводимость, оводненность тканей корня и побега), а также измерение содержания GSH и ФХ в корнях и листьях растений проводили при использовании кадмия в концентрации 40 мг/кг субстрата, при которой наблюдались некоторые видимые изменения морфометрических показателей.

Продуктивность растений оценивали на 60 сут после посева (фаза начала созревания семян) по накоплению надземной биомассы контрольными и опытными растениями, площади листовой пластинки флагового листа, числу сформированных гене-

ративных побегов, длине и биомассе соцветия главного побега. В корнях и побегах определяли содержание тяжелых металлов.

Физиолого-биохимические механизмы устойчивости дикорастущих многолетних злаков к тяжелым металлам изучали в вегетационном опыте, используя песчаную культуру. Проклюнувшиеся семена злаков высаживали (по 12 штук) в сосуды (5 кг). Тяжелые металлы вносили перед посевом семян в концентрациях, при которых на 20-е сут после посева (согласно предварительным опытам) уменьшение высоты побега у всех видов злаков составило 40% от контроля: кадмий – 40 мг/кг субстрата; свинец – 400 мг/кг субстрата и цинк – 160 мг/кг субстрата. Полив осуществляли модифицированным питательным раствором (см. выше).

Спустя 60 сут (фаза кушения) определяли содержание тяжелых металлов в органах растений и оценивали металлоустойчивость злаков на основании изменения (по отношению к контролю) ряда показателей роста и развития (биомасса подземных и надземных органов, фенологическая фаза, число боковых побегов и число листьев на главном побеге, площадь листовой пластинки 5-го листа). Изучение влияния кадмия, свинца и цинка на ФСА и водный режим многолетних злаков проведено на двух видах злаков: *Elytrigia repens* и *Phleum pratense*. У растений контрольных и опытных вариантов определяли содержание фотосинтетических пигментов, функциональную активность ФС II, интенсивность фотосинтеза, состояние устьичного аппарата, интенсивность транспирации, устьичную проводимость, оводненность тканей корня и побега. На примере *Elytrigia repens* изучали интенсивность ПОЛ (по содержанию МДА) и активность антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ПО) в корнях и листьях растений в присутствии тяжелых металлов. Для изучения внутриклеточных механизмов детоксикации кадмия у дикорастущих злаков определяли содержание GSH и ФХ в клетках корня и листа.

Устойчивость многолетних дикорастущих злаков к техногенному загрязнению почвы тяжелыми металлами изучали в полевых условиях. Исследования проводили на участках, расположенных в 0,5, 4 и 8 км от двух наиболее крупных промышленных предприятий Республики Карелия: Кондопожского целлюлозно-бумажного комбината ОАО «Кондопога» (Кондопожский ЦБК) и Костомукшского горно-

обогачительного комбината ОАО «Карельский окатыш» (Костомукшский ГОК), которые выбирали по направлению господствующих на этих территориях ветров (в северо-западном направлении в районе г. Кондопоги и в северо-восточном направлении в районе г. Костомукша) (Атлас ...1989). Все изученные участки имеют вторичный растительный покров в луговидных сообществах, сформировавшихся на месте северотаежных хвойных лесов. Об устойчивости злаков к техногенному загрязнению почв судили на основании оценки их ценотической роли в изученных сообществах (по проективному покрытию видов растений), а также по состоянию доминирующих на этих участках видов злаков (*Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*).

2.3. Методы исследований

Размер апикальной меристемы стебля и этапы органогенеза определяли морфологическим методом по методике Ф.М. Куперман (1968) с помощью бинокулярной лупы МБС-10.

Площадь листовой пластинки злаков рассчитывали по формуле $S=2/3 \cdot l \cdot d$, где l – длина листа, d – ширина листа (Аникиев, Кутузов, 1961).

Содержание основных форм фотосинтетических пигментов (хлорофиллов a , b и каротиноидов) в листьях растений определяли спектрофотометрически с использованием спектрофотометра СФ-2000 (Спектр, Россия), экстрагируя 80%-ным ацетоном (Шлык, 1971). Расчет производили по формулам Вернона и Ветштейна (Гавриленко и др., 1975). Долю хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) от их общей суммы рассчитывали с учетом того, что весь хлорофилл b находится в светособирающем комплексе, а отношение хлорофиллов a/b в ССК равно 1.2 (Lichtenthaler, 1987).

Анализ мезоструктуры листа проводили в соответствии с методикой (Мокроносов, Борзенкова, 1978) с использованием светового микроскопа Микмед 2 (ЛОМО, Россия).

Измерение параметров флуоресценции хлорофилла осуществляли с использованием флуориметра MINI-PAM (Walz, Германия). Для оценки функционального состояния ФС II у растений нами были определены следующие параметры индукционных кривых флуоресценции хлорофилла.

F_0 – фоновый уровень флуоресценции, излучаемой комплексами ФС II с «открытыми» реакционными центрами, у которых Q_A находятся в окисленном состоянии. F_0 отражает постоянную составляющую флуоресценции, независимую от фотохимических реакций (Joshi et al., 2004). Она испускается входящими в состав антенного комплекса ФС II молекулами хлорофилла (Telfer et al., 1983).

F_m – максимальный уровень флуоресценции отражает разницу между уровнем флуоресценции при освещении адаптированного к темноте листа насыщающей вспышкой света и «нулевым сигналом». Соответствует полному восстановлению Q_A .

F_v – переменная флуоресценция, является разницей между F_m и F_o . Она обусловлена той частью световой энергии, которая в первичных реакциях фотосинтеза утилизируется при открытых реакционных центрах (Joshi, Mohanty, 1995; Рубин, Кренделева, 2003). Имеются данные о возможности использования F_v в качестве физиологического показателя, отражающего воздействия экологических факторов на растения (Лысенко и др., 2013).

F_v/F_m отражает максимальный квантовый выход фотохимии ФС II. Значительно понижение соотношения F_v/F_m в неблагоприятных условиях среды обусловлено ингибированием ФС II и уменьшением доли реакционных центров, не способных к восстановлению Q_B (De Prado et al., 1992; Ouzounidou et al., 1993).

Yield характеризует реальный квантовый выход ФС II, отражающий долю световой энергии, используемой комплексами ФС II в процессе электронного транспорта (Рубин, Кренделева, 2003).

qP – коэффициент фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла означает степень окисленности пула пластохинона Q_A – вторичного акцептора электронов ФС II. В большинстве случаев величина фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла контролируется метаболизмом углерода и зависит от притока электронов к Q_A и их оттока на пул пластохинонов (Корнеев, 2002).

NPQ – коэффициент нефотохимического тушения хлорофилла характеризует тепловую диссипацию в ФС II. Увеличение тепловой диссипации способствует снижению (тушению) флуоресценции хлорофилла (Müller et al., 2001).

ETR – скорость электронного транспорта в фотосинтетической электрон-транспортной цепи тилакоидов хлоропластов (Рубин, Кренделева, 2003)..

Интенсивность фотосинтеза, транспирации и устьичную проводимость оценивали с помощью установки для исследования CO_2 -газообмена и водяных паров НСМ-1000 (Walz, Германия).

Оводненность тканей анализировали весовым методом, высушивая растительные образцы в термостате до постоянного веса при температуре $105^\circ C$ (Аринушкина, 1970).

Подсчет числа устьиц, измерение размеров замыкающих клеток и устьичной щели осуществляли методом отпечатков с использованием светового микроскопа Микмед 2 (ЛОМО, Россия) и окуляр-микрометра (Жолкевич, Пильщикова, 1989). Площадь устьичной щели рассчитывали по формуле $S = \pi \cdot (L/2 \cdot d/2)$, где S – площадь, L – длина и d – ширина устьичной щели (Борзенкова, Храмцова, 2006).

Содержание тяжелых металлов в почве и органах растений определяли атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре AA-6800 (Shimadzu, Япония) и методом инверсионной вольтамперометрии на полярографе ABC-1.1 (Вольта, Россия). Разложение растительных образцов осуществляли в смеси HNO_3 и H_2O_2 в соотношении 4:1 с использованием микроволновой системы пробоподготовки MC-6 (Вольта, Россия).

Количество GSH и ФХ определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием жидкостного хроматографа Стайер (Аквилон, Россия). Для этого образцы корней и листьев замораживали в жидком азоте, после чего проводили экстракцию GSH и ФХ: 20 мг материала гомогенизировали в 2 мл раствора ледяной 6.3 мМ диэтилтриаминпентауксусной кислоты (ДТПА, “Sigma”) и 0.1% трифторуксусной кислоты (“Merck”). Гомогенат центрифугировали при 10 000 об./мин и 4°C. Полученные экстракты подвергали предколоночной дериватизации с монобромбином (mBBr, “Sigma”). К 250 мкл экстрактов добавляли 450 мкл 200 мМ 4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-пропансульфоновой кислоты (HEPPS, “Sigma”) (буфер, pH 8.2), содержащего 6.3 мМ ДТПА, смешивали с 10 мкл 25 мМ mBBr. Готовую смесь инкубировали в темноте при 45°C в течение 30 мин. Реакцию останавливали добавлением 300 мкл 1М метансульфоновой кислоты (МСА, “Alfa Aesar”). Образцы до анализа хранили при 4°C в темноте. Разделение GSH и ФХ проводили в аналитической колонке Phenomenex Luna 5u C18 при температуре колонки 37°C и скорости потока 0.5 мл/мин. согласно методике Е. Снеллер с соавт. (Sneller et al., 2000). Количество GSH и ФХ определяли по стандарту GSH (“Sigma”). Концентрацию ФХ выражали в нмоль GSH эквивалентного г сырого веса. Расчет площадей пиков осуществляли с помощью компьютерной программы МультиХром (Версия 1,5Х).

Уровень транскриптов генов определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Для выделения РНК навеску листьев ячменя (50 мг) растирали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора Yellow Solve (“Clonogene”). Определение качества и количества выделенной РНК проводили с помощью капиллярного электрофореза на микрочипах (Experion, “Био-Рад”). Для удаления остатков ДНК препарат РНК обрабатывали ДНКазой (10 ед/мл) (“Силекс”). кДНК синтезировали используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной транскриптазой и случайными (random) гексапраймерами («Силекс»). Количество и качество кДНК проверяли спектрофотометрически (SmartSpecPlus, «Био-Рад»). Амплификацию проводили в приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (“Био-Рад”), используя наборы для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green («Синтол»). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 1 мкл кДНК (100 нг), 10 мкл реакционной смеси, по 1 мкл прямого и обратного праймеров (10 мкМ), 1 мкл MgCl₂ и 17 мкл деионизованной воды, свободной от нуклеаз. Используемые праймеры (“Синтол”) для изученных генов представлены в таблице 1. В качестве референсного гена использовали актин. Протокол ПЦР: 5 мин при 95°C, далее 45 циклов 15 с при 95°C, 50 с при 60°C. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов: 1 мин при 95°C, 1 мин при 60°C, 10 с при 60°C (80 циклов, повышая в каждом цикле температуру на 0.5°C). Относительный уровень экспрессии гена растений, подвергнутых воздействию кадмия, вычисляли по формуле: Относительный уровень экспрессии = $2^{C_{\text{т(контрольный)}} - C_{\text{т(тестовый образец)}}$, где C_т – значения пороговых циклов. В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергнутых воздействию металла. Для ПЦР в режиме реального времени использовали праймеры («Синтол»), представленные в таблице 5. В качестве референсного гена использовали актин.

Таблица 5

Праймеры для проведения ПЦР в режиме реального времени

Ген	Нуклеотидная последовательность	
	прямого праймера	обратного праймера
<i>CAX2</i>	GGATTTCCAAAGGTGGCATT	CCTAAAGGTTTCCACCTAA
<i>GS</i>	CAAGAACCATCGGAGATCAG	CCTCTTTCTTGTTTCAGTTCC
<i>HMA3</i>	GCAGTGCCTAGCATCCTATAATCC	CTGTTGGCTGAGATTTGTTTGGTC
<i>MT1</i>	CTGACTTGGAGGAGAAGAGCG	GACCTCCTCGAACCGCACCTT
<i>MT2</i>	GCACCACCGCCACCTCCTCCC	GGTTGCAGGTGCAGTTGGGGC
<i>PCS</i>	AATCTACGGCCTCATCATCG	CACGGGATGAGAGGATGATG
<i>VHA-E</i>	CGCCGACGCCAAGATGAACGACA	AGCACTTTGATACGGGAAGCATT
<i>VHA-c</i>	AAATCTACGGCCTCATCATCG	CACGGGATGAGAGGATGATG
<i>Actin</i>	GGGACCTCACGGATAATCTAATG	AACCTCCACTGAGAACAACATTAC

Определение содержания МДА и активность антиоксидантных ферментов проводили спектрофотометрически с использованием спектрофотометра СФ-2000 (Спектр, Россия). Для выяснения содержания МДА использовали реакционную среду, содержащую 0.25% раствор тиобарбитуровой кислоты (ТБК) в 10% трихлоруксусной кислоте (Heat, Packer, 1968). Растительный материал гомогенизировали в реакционной среде. Гомогенат выдерживали на водяной бане при 95 °С в течение 30 минут, быстро охлаждали в сосуде со льдом и центрифугировали 10 мин при 10000 g. Оптическую плотность супернатанта измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (Спектр, Россия) при D = 532 и 600 нм. Концентрацию ТБК-реагирующих продуктов рассчитывали по формуле $C_{\text{МДА}} = (D_{532} - D_{600})/\epsilon \cdot m$, где $C_{\text{МДА}}$ – концентрация МДА (мМ/г сырого веса), D_{532} и D_{600} – оптическая плотность образца при соответствующих длинах волн, ϵ – коэффициент экстинкции МДА, равный $155 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$, m – масса навески (г).

Для определения содержания растворимых белков и активности антиоксидантных ферментов растительный материал гомогенизировали в 0.1 М К/Na- фосфатном буфере (рН = 7.8) при температуре 4°С. Гомогенат центрифугировали 20 мин при

15000 g и 4°C. Для анализа использовали полученный супернатант. Содержание растворимых белков определяли по методу Бредфорд (Bradford, 1976), используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин.

Для определения активности каталазы (КАТ) использовали спектрофотометрический метод (Aebi, 1984). Скорость разложения H_2O_2 определяли по изменению оптической плотности раствора при длине волны 240 нм в течение 1 минуты. Реакционная среда содержала 0.01М раствор H_2O_2 в 0.1М К/Na- фосфатном буфере (pH = 7.0). Реакцию запускали добавлением 50 мкл супернатанта. Активность фермента рассчитывали по формуле $A_{КАТ} = (\Delta E_{мин} \cdot V) / \epsilon \cdot m_{белка}$, где $A_{КАТ}$ – активность КАТ (мкМ H_2O_2 /мг белка мин), $\Delta E_{мин}$ – среднее изменение оптической плотности за 1 минуту, V – общий объем реакционной среды, ϵ – коэффициент экстинкции H_2O_2 ($0.036 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), $m_{белка}$ – масса белка в пробе, мг.

Активность пероксидазы (ПО) определяли спектрофотометрически, используя в качестве субстрата гваякол (Maehly, Chance, 1954). Реакционная среда содержала 0.1 М К/Na-фосфатный буфер (pH = 7.4), 0.1% гваякола и 0.03% H_2O_2 . Реакцию запускали добавлением 40 мкл супернатанта. Динамику изменения оптической плотности раствора регистрировали на спектрофотометре при длине волны 470 нм. Активность фермента рассчитывали по формуле $A_{ПО} = (\Delta E_{мин} \cdot V) / \epsilon \cdot m_{белка}$, где $A_{ПО}$ – активность ПО (мкМ гваякола/мг белка · мин), $\Delta E_{мин}$ – среднее изменение оптической плотности за 1 минуту, V – общий объем реакционной среды, ϵ – коэффициент экстинкции гваякола ($26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), $m_{белка}$ – масса белка в пробе, мг.

Общую активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление тетразолия нитросинего (NBT) (Beauchamp, Fridovich, 1971). Реакционная смесь объемом 2 мл содержала 100 мкл супернатанта, 0.01М К/Na-фосфатный буфер (pH = 7.8), 10мМ L-метионина, 54 мкМ тетразолия нитросинего, 0.025% Тритон X-100 и 3 мкМ рибофлавина. Реакционную смесь помещали на 30 минут на свет. Оптическую плотность раствора измеряли при 560 нм на спектрофотометре. Расчет активности фермента проводили по формуле $A_{СОД} = \log(E_{контр.}/E_{опыт}) / \log 2 \cdot m_{белка}$, где $A_{СОД}$ – активность СОД (усл.ед. активности/мг

белка), $E_{\text{контр}}$ – оптическая плотность светового контроля, $E_{\text{опыт}}$ – оптическая плотность опытного образца, $m_{\text{белка}}$ – масса белка в пробе, мг.

Все представленные данные по изучению влияния тяжелых металлов на растения, проведенные в лабораторных и вегетационных условиях, являются средними из трех – пяти независимых опытов. Повторность вариантов в каждом опыте была трехкратной. Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла для разных измерений от 6 до 20 растений. Аналитическая повторность при проведении химических анализов 3–5-кратная.

В опытах по определению **влияния тяжелых металлов на прорастание семян** многолетних злаков использовалось четыре повторности каждого варианта опыта по 25 семян в каждой (ГОСТ 12038-84).

В **полевых исследованиях** при изучении устойчивости многолетних дикорастущих злаков к техногенному загрязнению почвы тяжелыми металлами на пробных площадях (10 x 10 м) проводили геоботанические описания фитоценозов (Шенников, 1964). Латинские названия растений даны в соответствии со сводкой С.К. Черепанова (Черепанов, 1995). Проективное покрытие видов растений определяли по шкале Браун-Бланке. Для определения содержания тяжелых металлов в почве исследуемых участков проводили отбор почвенных образцов. Глубина изъятия – 0-20 см, слой, на котором залегает основная масса корней травянистых растений. Каждый образец состоит из 5 точечных проб, отобранных методом «конверта» (ГОСТ 17.4.3.01-83).

Оценку состояния доминирующих на изученных участках видов злаков (*Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*) в условиях промышленного загрязнения почвы тяжелыми металлами выполняли на основании показателей роста генеративного побега (высота побега, размеры листовой пластинки подфлагового листа и длина соцветия). Уровень внутрипопуляционной изменчивости признаков оценивали по величине коэффициента вариации (V, %).

Содержание тяжелых металлов в почвенных и растительных образцах определяли атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре АА-6800 (Shimadzu, Япония) или методом инверсионной вольтамперометрии на полярографе АВС-1.1 (Вольта, Россия).

Повторности и статистическая обработка данных. Изучение влияния тяжелых металлов на прорастание семян проводили в 4-кратной повторности по 25 семян. В вегетационных экспериментах биологическая повторность в пределах одного варианта опыта для разных измерений составляла от 5 до 20 растений. Аналитическая повторность при проведении химических анализов была 3-5-кратной. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз. Для проведения полевых исследований на участках, расположенных на разном расстоянии от источника загрязнения на каждой пробной площади закладывали по 5 учетных площадок размером 1 x 1 м. Объем выборки растений доминирующих видов злаков составлял не менее 20 растений в пределах одной пробной площади (Методические указания ..., 1979). Исследования проводились с 2006 по 2011 гг.

Обработку экспериментальных данных проводили с помощью методов вариационной статистики, используя программы MS Excel. Достоверность различий оценивали на основании *t*-критерия Стьюдента. В таблицах и на рисунках представлены средние значения и их стандартные ошибки. В работе обсуждаются величины, достоверные при $P \leq 0.05$.

ГЛАВА 3. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Устойчивость растений к тяжелым металлам принято рассматривать как их способность расти, развиваться и формировать семена в присутствии высоких концентраций этих элементов в окружающей среде. Многочисленными исследованиями доказано, что адаптация растений к воздействию тяжелых металлов связана с определенными изменениями, происходящими на разных уровнях организации растительного организма, среди которых важную роль играют изменения, происходящие на уровне физиологических процессов. К тому же многие физиологические показатели являются хорошими критериями при оценке металлоустойчивости отдельных видов (сортов, генотипов) растений. В данной главе представлены результаты изучения некоторых физиолого-биохимических механизмов устойчивости культурных злаков к тяжелым металлам, действующих на разных уровнях организации.

Считается, что культурные злаки в целом менее устойчивы к действию тяжелых металлов, чем дикорастущие, однако и среди них выделяются виды с относительно высокой степенью устойчивости. На основании анализа литературных данных был сделан вывод, что из широко культивируемых злаков (без учета сортовых особенностей) наиболее устойчивыми к тяжелым металлам являются овес и ячмень. В этой связи изучение механизмов металлоустойчивости проводилось на растениях этих двух видов.

3.1. Влияние тяжелых металлов на рост, развитие и продуктивность культурных злаков

3.1.1. Рост

Как известно, торможение роста является наиболее общим проявлением негативного действия тяжелых металлов на растения. При этом отдельные показатели роста служат надежными критериями их устойчивости (или чувствительности) к этим химическим элементам.

Прорастание семян. Прорастание семян является крайне важным моментом в жизни растений, поскольку знаменует переход от начальной фазы развития к последующим (Серебряков, 1952). Оно сопровождается активацией генома и различных физиолого-биохимических процессов (Зауралов, Лукаткин, 1997; Обручева, Антипова, 1999). Прорастание семян и начальный рост проростков во многом определяют дальнейшее развитие растений и, в конечном счете, их продуктивность (Гумилевская и др., 1995; Обручева, Антипова, 1997 и др.). В этой связи надежным критерием устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды являются показатели энергии прорастания и всхожести семян. Кроме того, оценка устойчивости растений к действию стресс-фактора по прорастанию семян дает возможность сравнивать разные виды (сорта, генотипы) (Методика диагностики..., 1970). Тем не менее, необходимо констатировать, что работ по изучению влияния тяжелых металлов на прорастание семян сравнительно мало (Ваулина и др., 1978; Алексеева-Попова, 1987; Мельничук, 1990; Бессонова, 1991; Vassilev et al., 1996; Titov et al., 1996; Mahmood et al., 2007; Cheng et al., 2008) и выполнены они, в большинстве, в условиях лабораторного опыта.

Нами для оценки устойчивости культурных злаков к тяжелым металлам были проведены вегетационные эксперименты, которые позволили оценить действие кадмия, свинца и цинка на прорастание семян в условиях, приближенных к естественным. В результате исследований было установлено, что на 3-и сутки после посева процент проросших семян изученных злаков заметно уменьшался (по сравнению с контрольным вариантом) с увеличением концентрации тяжелых металлов в субстрате

(табл. 6, 7, 8). Однако задержка прорастания носила временный характер, и на 7-е сутки всхожесть семян злаков и в контрольном, и в опытных вариантах составила 100% или приближалась к этому значению.

Таблица 6

Влияние кадмия на всхожесть семян ячменя с. Дина и овса с. Фаленский

Концентрация кадмия, мг/кг субстрата	Количество проросших семян, %			
	Ячмень		Овес	
	3 сут	7 сут	3 сут	7 сут
0	85 ± 1.2	100	82 ± 1.5	100
40	67 ± 1.2*	100	70 ± 1.2*	100
80	18 ± 1.3*	98 ± 1.3	65 ± 1.1*	98 ± 1.3
160	10 ± 1.3*	92 ± 1.2	34 ± 1.3*	94 ± 1.0

Примечание. * – здесь и в таблицах 7 и 8 различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 7

Влияние свинца на всхожесть семян ячменя с. Дина и овса с. Фаленский

Концентрация свинца, мг/кг субстрата	Количество проросших семян, %			
	ячмень		овес	
	3 сут	7 сут	3 сут	7 сут
0	85 ± 1.2	100	82 ± 1.5	100
80	80 ± 1.1	100	71 ± 1.3*	100
160	59 ± 1.2*	100	68 ± 1.1*	100
320	22 ± 1.3*	100	32 ± 1.2*	100

Таблица 8

Влияние цинка на всхожесть семян ячменя с. Дина

Концентрация цинка, мг/кг субстрата	Количество проросших семян, %	
	3 сут	7 сут
0	81 ± 1.0	100
40	93 ± 1.2	100
80	68 ± 1.9*	100
160	28 ± 1.1*	100
320	19 ± 0.7*	100

Данные о замедлении прорастания семян разных видов растений в присутствии тяжелых металлов были получены также другими авторами (Ваулина и др., 1978; Мельничук и др., 1990; Алексеева-Попова, 1987; Бессонова, 1991; Лянгузова, 1999; Крылова, Васильева, 2011). Ранее полагали, что покровы семян проницаемы для ионов некоторых металлов, например, свинца и кадмия, и заметные различия в прорастании семян у разных видов растений могут быть связаны с различной проницаемостью семенной оболочки. Позднее было доказано, что катионы тяжелых металлов проникают через семенную оболочку лишь на заключительной стадии набухания, когда начинают нарушаться семенные покровы (Wierzbicka, Obidzinska, 1998). При этом основной причиной, вызывающей задержку прорастания, является негативное действие тяжелых металлов на процессы деления и растяжения клеток (Ваулина и др., 1978; Мельничук и др., 1984; Бессонова, 1991). Однако вследствие связывания катионов металлов аминокислотами, поступающими из запасующих тканей в процессе роста зародыша или другими хелатирующими молекулами, синтезируемыми в клетке, у корня и стебля появляется возможность для дальнейшего роста (Мельничук, Лишко, 1991; Динеева и др., 1993; Лапиров, Микрякова, 2001).

Интересно, что при сравнении прорастания семян растений из разных семейств в присутствии тяжелых металлов, можно обнаружить лучшую всхожесть семян злаков

по сравнению с другими видами. Например, в присутствии свинца (10 мкМ) всхожесть семян пшеницы практически не отличалась от контрольного варианта, тогда как у гречихи (сем. *Polygonaceae*) число проросших семян в опытном варианте оказалось заметно ниже, чем в контроле (Мазей, Медная, 2011). В присутствии повышенных концентраций цинка (100 мг/кг субстрата и выше) уменьшалось число всхожих семян у рапса (сем. *Brassicaceae*), тогда как у ячменя при этих же концентрациях всхожесть семян была такой же, как и в контрольном варианте (Радионов и др., 2007).

В целом, несмотря на некоторую задержку в присутствии тяжелых металлов прорастания семян ячменя и овса на 3-и сут, отрицательного воздействия кадмия, свинца и цинка на всхожесть семян не наблюдалось.

Рост корня и побега. Известно, что в высоких концентрациях тяжелые металлы оказывают ингибирующее действие на рост растений, степень которого зависит от токсичности металла, его концентрации, а также видовой принадлежности растений.

В наших исследованиях также обнаружилось негативное воздействие кадмия, свинца и цинка на рост культурных злаков, которое усиливалось с увеличением их концентрации в субстрате. При этом в большей степени у злаков ингибировался рост корня (рис. 4), что, очевидно, связано с тем, что корни являются первым барьером на пути транспорта тяжелых металлов в растение и у исключателей, к которым относятся все злаки, накапливают их в гораздо больших количествах (Jordan, 1975; Ковда и др., 1979; Нестерова, 1997 и др.). Замедление роста побега было выражено в меньшей степени (рис. 5). В частности, при действии кадмия в концентрации 160 мг/кг субстрата длина корня снижалась более, чем на 80% по отношению к контролю у ячменя и на 70% у овса, тогда как высота побега – лишь на 60 и 50%, соответственно.

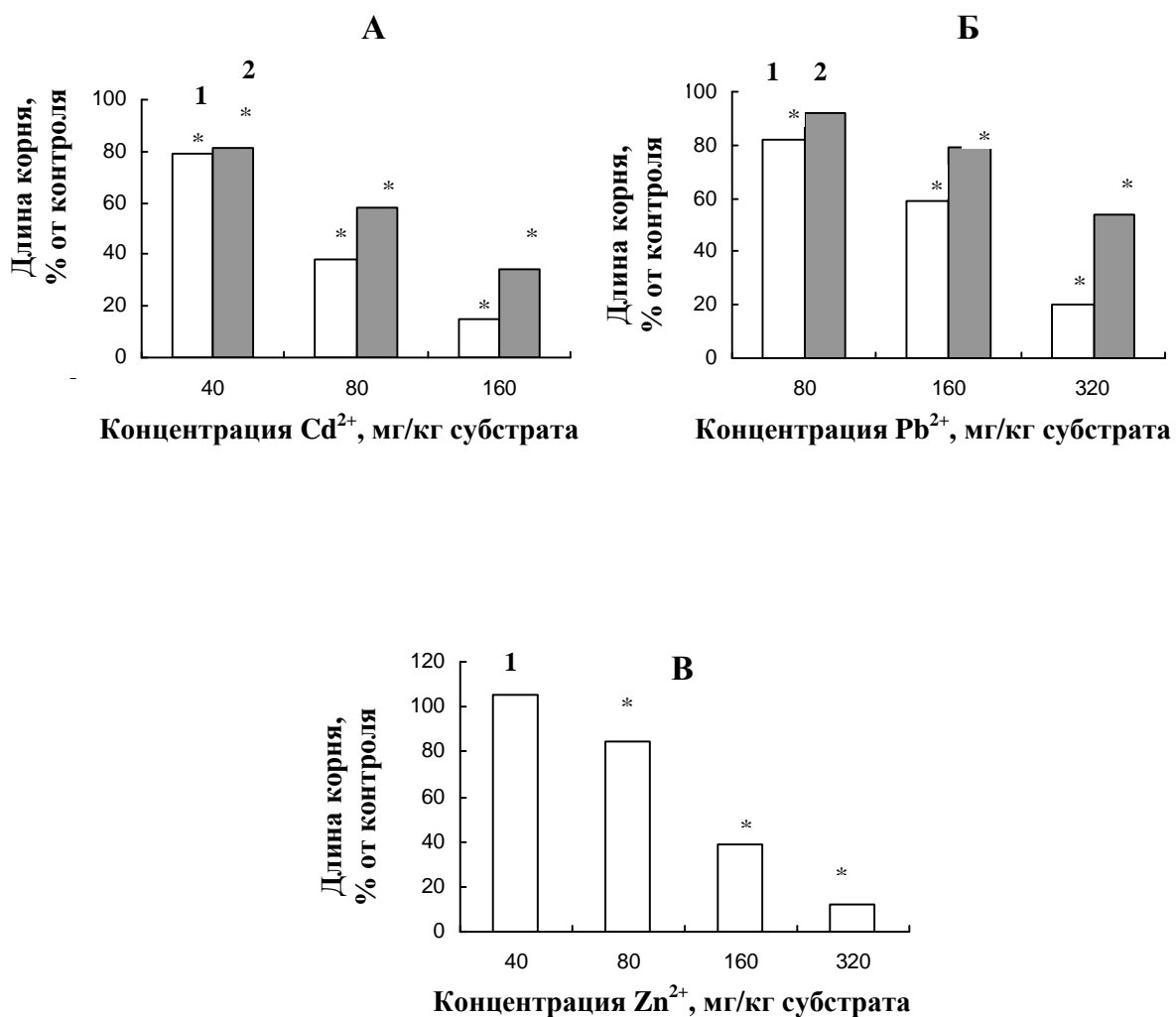


Рис. 4. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на длину корня проростков ячменя с. Дина (1) и овса с. Фаленский (2).

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольных вариантов длина корня составляла 16.9 ± 0.9 см (ячмень) и 15.7 ± 0.6 см (овес).

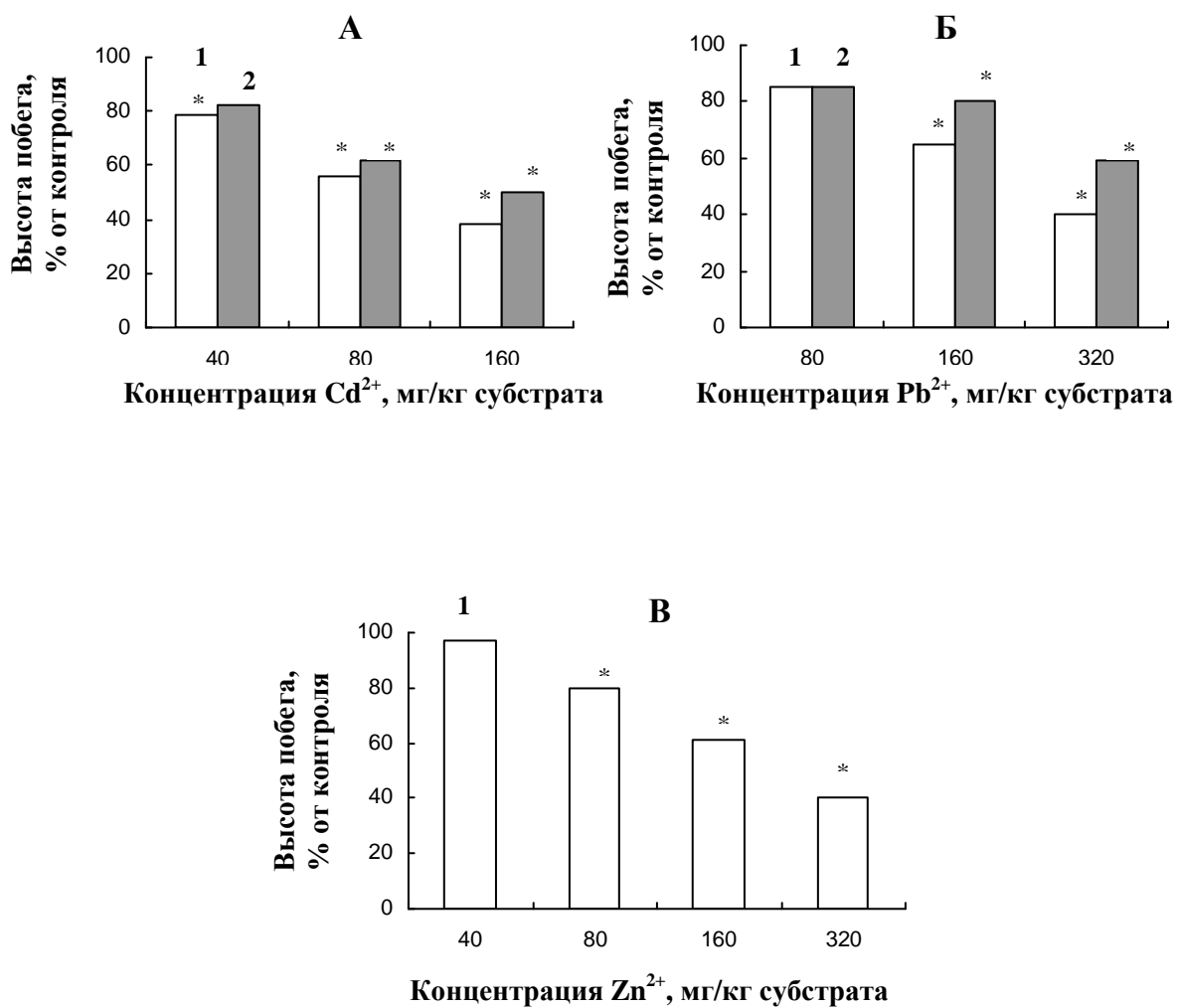


Рис. 5. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на высоту побега проростков ячменя с. Дина (1) и овса с. Фаленский (2).

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольных вариантов высота побега составляла 16.8 ± 0.7 см (ячмень) и 14.3 ± 0.7 см (овес).

В присутствии свинца в наибольшей концентрации длина корня у ячменя снижалась на 80%, тогда как высота побега – лишь на 60%, у овса – на 50% и 40%, соответственно. Аналогичные данные получены и в присутствии цинка.

Отмеченное в наших опытах более сильное ингибирование роста корня под влиянием высоких концентраций тяжелых металлов является характерным для видов, относящихся к «исключателям», и связано, вероятно, в значительной степени с замедлением клеточного деления (Gabrielli et al., 1990; Punz, Sieghardt, 1993). Причем предполагается, что в присутствии свинца оно в большей степени связано с действием ионов металла на микротрубочки (Wierzbicka, 1988), тогда как ионы кадмия блокируют клеточное деление вследствие нарушения цитокенеза (Ваулина и др., 1978; Мельничук, 1990). В присутствии цинка в высоких концентрациях увеличивается продолжительность фаз митоза и всего митотического цикла (Серегин и др., 2011).

Кроме того, возможными причинами замедления роста растений в условиях избытка тяжелых металлов в корнеобитаемой среде могут быть также нарушения водного режима и минерального питания, а также изменение гормонального баланса, в частности, увеличение количества АБК (Алексеева-Попова и др., 1983; Barcelo, Poshienrieder, et al., 1990; Talanova et al., 2000).

Менее сильное ингибирующее действие тяжелых металлов в отношении роста побега по сравнению с ростом корня у обоих видов злаков связано, очевидно, с меньшим количеством ионов металлов, поступающих в надземные органы, вследствие эффективной работы механизмов их детоксикации в клетках корня.

Отдельно следует отметить влияние тяжелых металлов на рост листа. Помимо того, что это основной орган фотосинтеза, листья вегетативного побега злаков, особенно те, которые формируются в начале вегетации, составляют большую часть надземной биомассы, обеспечивая высокую продуктивность растений. Наши исследования показали, что в присутствии тяжелых металлов площадь листовой пластинки уменьшалась в гораздо меньшей степени, чем длина корня или высота побега (рис. 6). При этом видовых различий практически не наблюдалось.

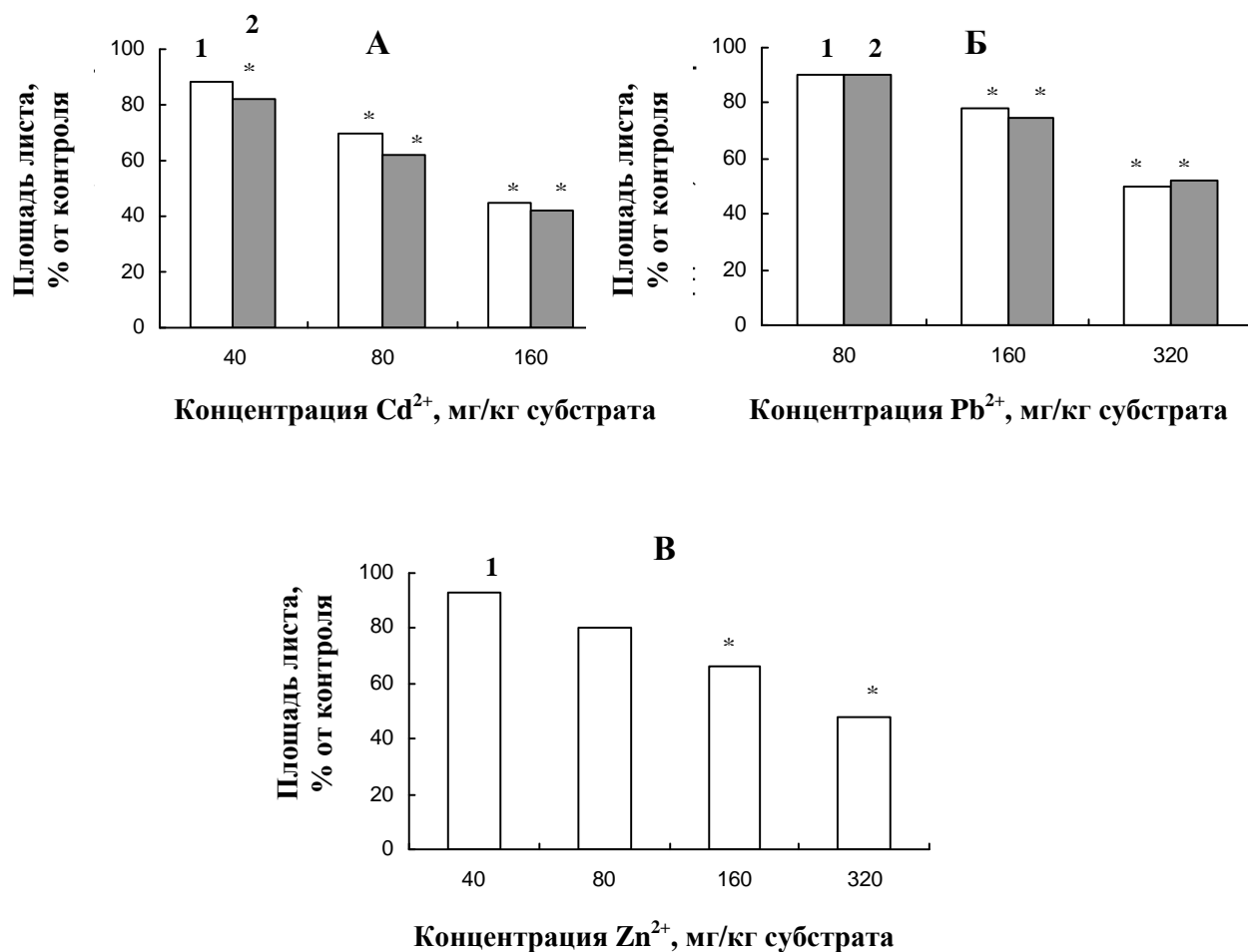


Рис. 6. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на площадь листовой пластинки 1-го листа у проростков ячменя с. Дина (1) и овса с. Фаленский (2).

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольных вариантов площадь листа составляла $3.6 \pm 0.08 \text{ см}^2$ (ячмень) и $3.2 \pm 0.07 \text{ см}^2$ (овес).

Заметное уменьшение размеров листьев в присутствии высоких концентраций тяжелых металлов обнаружено у многих видов растений, с которыми проводились подобные исследования, в том числе у культурных злаков (Ouzounidou et al., 1997; Vassilev et al., 1998a; Sandalio et al., 2001; Kosobrukhov et al., 2004 и др.). Причины задержки роста листовой пластинки в присутствии избытка тяжелых металлов в среде предположительно связаны с непосредственным влиянием металлов на деление клеток листа, ингибированием клеточного метаболизма (Huang et al., 1974), а так же с их

опосредованным действием на физиологические процессы. Например, Стиборова (Stiborova, 1986) считает, что уменьшение размеров листа в присутствии тяжелых металлов является результатом интегральных изменений целого ряда физиологических процессов, и прежде всего, фотосинтеза, а Н.В. Алексеева-Попова (Алексеева-Попова, 1987) связывает его с нарушением минерального питания, вследствие дезорганизации процессов поглощения и транспорта ионов. Очевидно, что при высоких концентрациях тяжелых металлов может иметь место комплекс разных причин. У злаков рост листовой пластинки осуществляется благодаря функционированию интеркалярной меристемы, расположенной в основании листа (Sarry et al., 2006). Обнаружено, что тяжелые металлы могут оказывать отрицательное действие на деление клеток интеркалярной меристемы, увеличивая, в частности, частоту цитогенетических нарушений (Geras'kin et al., 2006).

Мы в своих исследованиях изучали влияние тяжелых металлов на размеры листовых пластинок первых трех листьев ячменя и овса по мере окончания их роста. Результаты экспериментов выявили интересный факт, что с увеличением концентрации металлов в корнеобитаемой среде площадь листовых пластинок всех листьев как у ячменя (рис. 7), так и у овса (рис. 8) изменялась (по отношению к контролю) практически одинаково, что, на наш взгляд, связано с морфогенезом злаков, у которых первые три листа уже заложены в апикальной меристеме стебля на I этапе органогенеза (Бурень, 1985), в связи с чем, степень ингибирования тяжелыми металлами «стартового» роста этих листьев одинакова.

В целом сохранение размеров листьев у злаков в присутствии довольно высоких концентраций тяжелых металлов в субстрате, можно расценивать как один из важных адаптационных механизмов, способствующих поддержанию активности ФСА в неблагоприятных условиях среды.

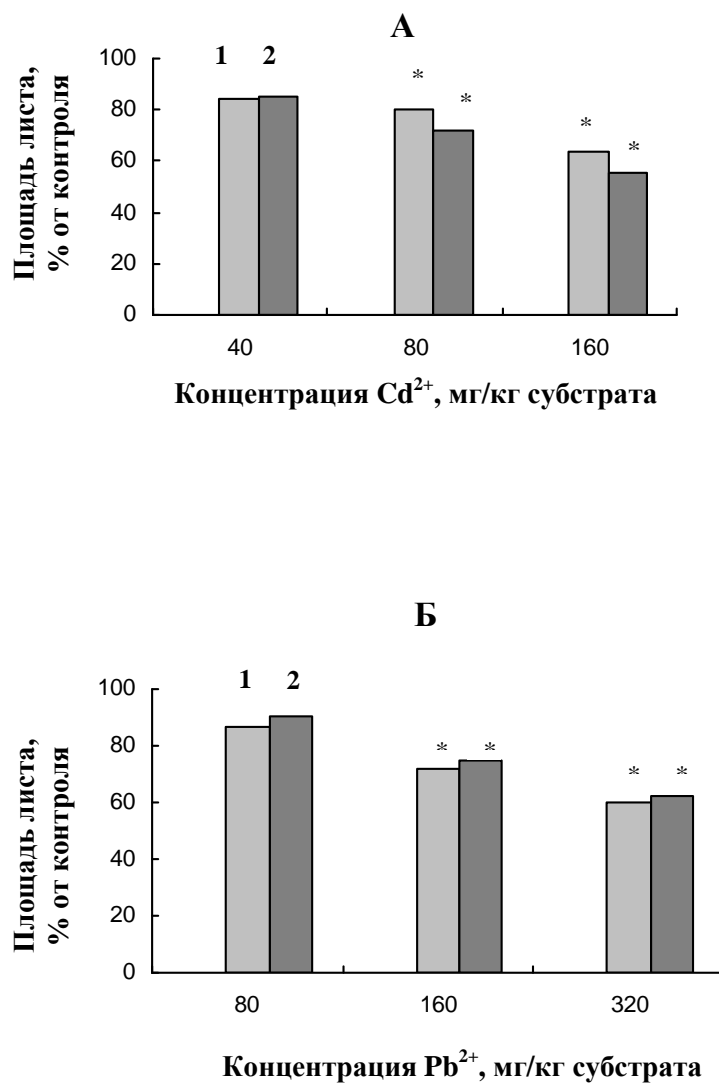


Рис. 7. Влияние кадмия (А) и свинца (Б) на площадь листовых пластинок 2-го и 3-го листа растений ячменя с. Дина.

1 – 2-ой лист; 2 – 3-ий лист.

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольного варианта площадь 2-го листа составляла $8.4 \pm 0.2 \text{ см}^2$; 3-го листа – $14.4 \pm 1.5 \text{ см}^2$.

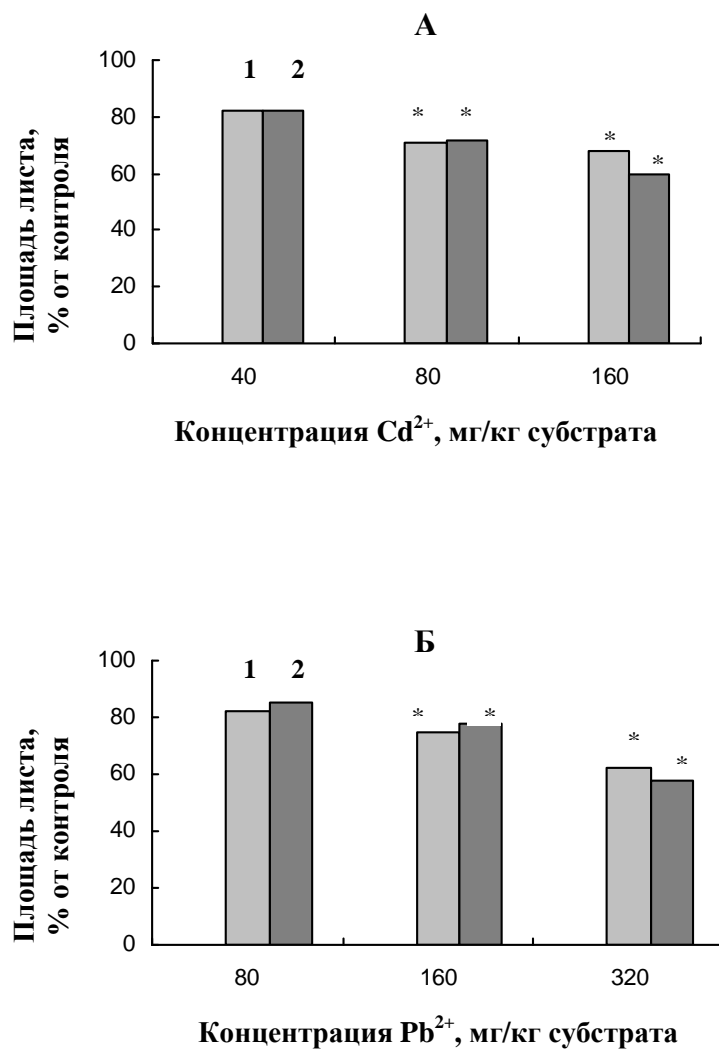


Рис. 8. Влияние кадмия (А) и свинца (Б) на площадь листовых пластинок 2-го и 3-го листа растений овса с. Фаленский.

1 – 2-ой лист; 2 – 3-ий лист.

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольного варианта площадь 2-го листа составляла $7.3 \pm 0.3 \text{ см}^2$; 3-го листа – $13.3 \pm 1.2 \text{ см}^2$.

Рост и дифференциация стеблевых апикальных меристем. Способность растения к постоянному росту связана с функционированием апикальных меристем. Именно в апикальных меристемах происходят процессы, определяющие дальнейший рост и морфогенез органов (Иванов, 1974). Их важность для жизнедеятельности растений связана еще и с тем, что это основные места синтеза таких гормонов как цитокинины (апикальная меристема корня) и ауксины (апикальная меристема стебля) (Полевой, Саламатова, 1991). Известно, что клетки меристем очень чувствительны к различным видам стрессового воздействия – высоким и низким температурам, засухе, засолению, повышенному уровню радиации (Гродзинский, 1989; Довгалюк и др., 2001). В отношении тяжелых металлов исследований гораздо меньше, и все они касаются апикальных меристем корня. Так показано, что под действием ионов металлов в меристемах замедляется интенсивность клеточных делений, снижается количество клеток на всех фазах митоза (Бессонова, 1991; Нестерова, 1991; Breskle, 1991 и др.). Данные же относительно действия тяжелых металлов на апикальную меристему стебля в доступной нам литературе отсутствуют.

Апикальная меристема стебля (конус нарастания, апекс) – часть верхушки побега до основания примordia, расположенного выше первого дифференцированного листового зачатка. Важность изучения влияния тяжелых металлов на рост и развитие апикальных меристем стебля злаков связана с тем, что у них рост растяжением начинается только после образования на конусе нарастания всех структурных элементов будущего растения. В силу этого, состояние меристемы уже на первых этапах развития отражает потенциальную продуктивность растений (Чельцова, 1980). В наших исследованиях для оценки влияния тяжелых металлов на состояние апикальной меристемы культурных злаков мы использовали такие морфофизиологические показатели, как длина конуса нарастания и степень его дифференциации. Анализ полученных результатов показал, что действие металлов на апикальную меристему стебля обнаруживается уже на начальных этапах развития растений. Так в фазу проростков кадмий уже в концентрации 40 мг/кг субстрата приводил к уменьшению длины конуса нарастания у ячменя и овса на 20 и 30% по сравнению с контролем, соответственно (рис. 9).

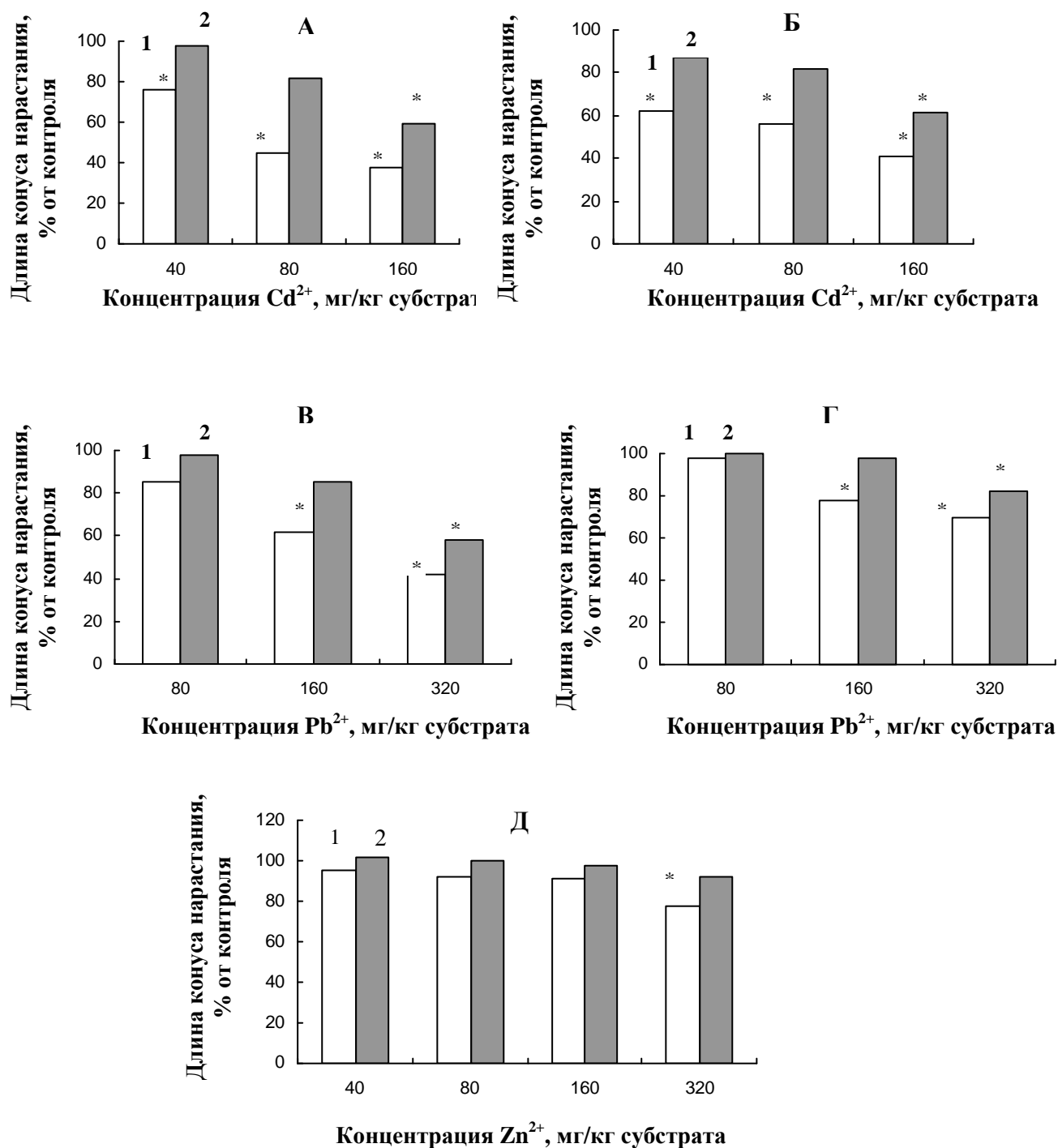


Рис. 9. Влияние кадмия, свинца и цинка на длину конуса нарастания у растений ячменя с. Дина (А, В, Д) и овса с. Фаленский (Б, Г).

1 – фаза проростков; 2 – фаза 3-х листьев. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольных вариантов длина конуса нарастания в фазу проростков составляла 0.47 ± 0.02 мм (ячмень) и 0.49 ± 0.02 мм (овес), в фазу 3-х листьев – 0.97 ± 0.03 мм и 0.95 ± 0.03 мм, соответственно.

Дальнейшее же повышение концентрации металла вызывало снижение указанного показателя более, чем в 2 раза. Ингибирующее действие свинца в отношении длины конуса нарастания злаков наблюдалось при концентрациях 160 и 320 мг/кг субстрата, а цинка – только при концентрациях 320 мг/кг субстрата.

Вместе с тем, уже через 7 сут (к фазе 3-х листьев) негативное действие тяжелых металлов в отношении длины конуса нарастания ослабевало, и лишь наиболее высокие их концентрации приводили к некоторому уменьшению (по отношению к контролю) этого показателя. При этом несколько снижалось количество закладываемых на конусе нарастания сегментов (будущих элементов соцветия) – колосковых бугорков (ячмень) и осей второго порядка (овес) (рис. 10).

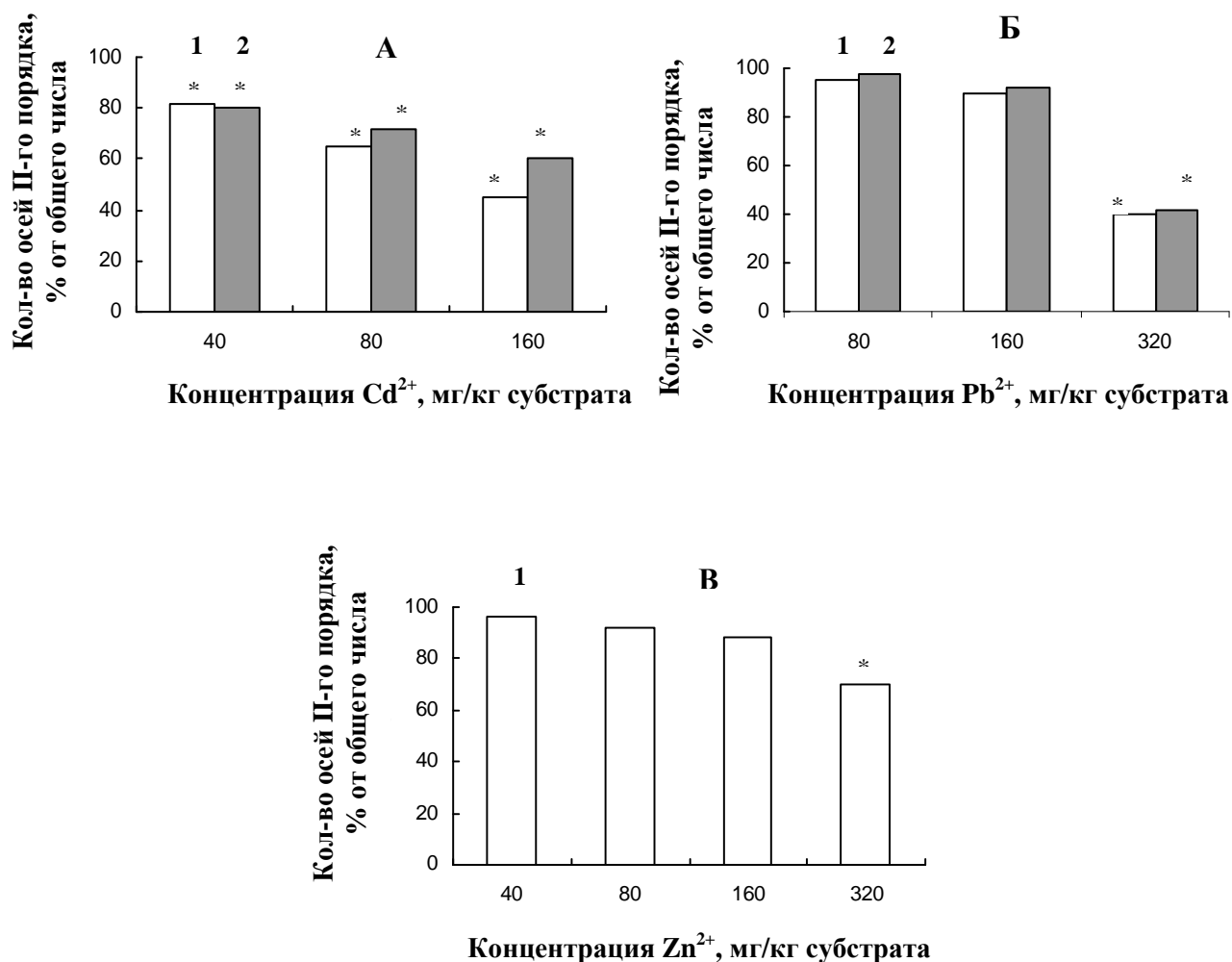


Рис. 10. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на количество осей II-го порядка на конусе нарастания растений ячменя с. Дина (1) и овса с. Фаленский (2) на IV этапе органогенеза.

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольных вариантов кол-во осей II-го порядка составляло 5.4 ± 0.2 шт. (ячмень) и 4.8 ± 0.3 шт.

Как известно, состояние растительного организма на каждом этапе развития определяется специфическими для этого этапа процессами (Батыгин, Семашко, 1988). Проведенные нами морфофизиологические исследования затрагивали изменения в апикальной меристеме стебля растений, находящихся на ранних этапах органогенеза (I–IV). Согласно Ф.М. Куперман (1968) эти этапы характеризуются следующими изменениями в конусе нарастания. На I–II этапе происходит образование зачаточных узлов, междоузлий и листьев в основании конуса. От прохождения этого этапа зависит габитус растения. На III–IV этапах органогенеза стеблевой апекс вытягивается и начинается его дифференциация - образование осей II-го порядка (будущих элементов соцветия), количество которых в дальнейшем повлияет на семенную продуктивность растений.

Обнаруженное нами уменьшение размеров конуса нарастания возникает, очевидно, из-за снижения меристематической активности клеток в присутствии избытка тяжелых металлов. По аналогии с другими видами стрессовых воздействий, можно предположить, что в клетках апекса снижается концентрация нуклеиновых кислот и белков (Аветисова, 1970), увеличивается вакуолизация цитоплазмы (Егорова, 1998), сокращается число митозов (Шматько и др., 1994). Возможными причинами отмеченного замедления роста и дифференциации апикальных меристем стебля в присутствии тяжелых металлов могут выступать, по нашему мнению, непосредственное их влияние на клеточное деление, а также опосредованное действие, связанное с уменьшением снабжения элементами минерального питания или нарушениями в фотосинтетическом аппарате растений.

Уменьшение негативного воздействия тяжелых металлов на рост конуса нарастания на более поздней фазе развития (3-х листьев) злаков может быть объяснено активацией адаптационных механизмов, в том числе внутриклеточных механизмов детоксикации их ионов, которые позволяют довольно быстро восстановить деление клеток в меристеме и перейти к формированию зачатков органов будущего соцветия.

3.1.2. Развитие

Термин “развитие” в широком смысле этого слова применяют к тем изменениям, через которые проходит организм за время своего жизненного цикла (Уоринг, Филлипс, 1984). Рост и развитие растений – два, как правило, взаимосвязанных, протекающих одновременно процесса. При неблагоприятных условиях среды изменение темпов роста может приводить и к изменению в темпах развития, что, как полагают, является одной из приспособительных реакций растений (Жученко, 1988).

Как уже было сказано в обзоре литературы, работ, касающихся влияния тяжелых металлов на развитие растений, крайне мало и, к тому же, все они основываются лишь на наблюдениях за изменением сроков наступления фенологических фаз. Исходя из этого, одной из задач нашего исследования было изучение влияния тяжелых металлов на развитие культурных злаков, используя при этом не только фенологический (визуальный), но и морфофизиологический метод исследований, позволяющий более точно оценивать происходящие в растениях изменения.

Фенологическое развитие. Проведенные нами фенологические наблюдения показали, что в присутствии кадмия на 10-е сут после посева визуальных отличий между растениями контрольного и опытных вариантов с использованием концентрации металла 40 и 80 мг/кг субстрата нет: все растения находятся в фазе проростков (рис. 11). И только при действии металла в наибольшей концентрации (160 мг/кг субстрата) обнаружилось некоторое отставание в сроках наступления фенофазы: 70% растений овса и 30% растений ячменя находились в фазе проростков, тогда как остальные – еще в фазе всходов. Аналогичные результаты получены нами и в присутствии свинца. При этом в фазе всходы находились лишь 15 и 20% растений ячменя и овса, соответственно. На 15-е сут при действии обоих металлов растения контрольных и всех опытных вариантов достигли фазы 3-х листьев. Цинк в изученных нами концентрациях не влиял на фенологическое развитие растений.

На основании проведенных опытов можно сделать вывод, что при использованных нами концентрациях тяжелых металлов визуально определить замедление темпов развития злаков довольно трудно, а следовательно, основываясь только на фенологи-

ческих наблюдениях нельзя получить ясного и четкого представления о влиянии этих химических элементов на онтогенез растений.

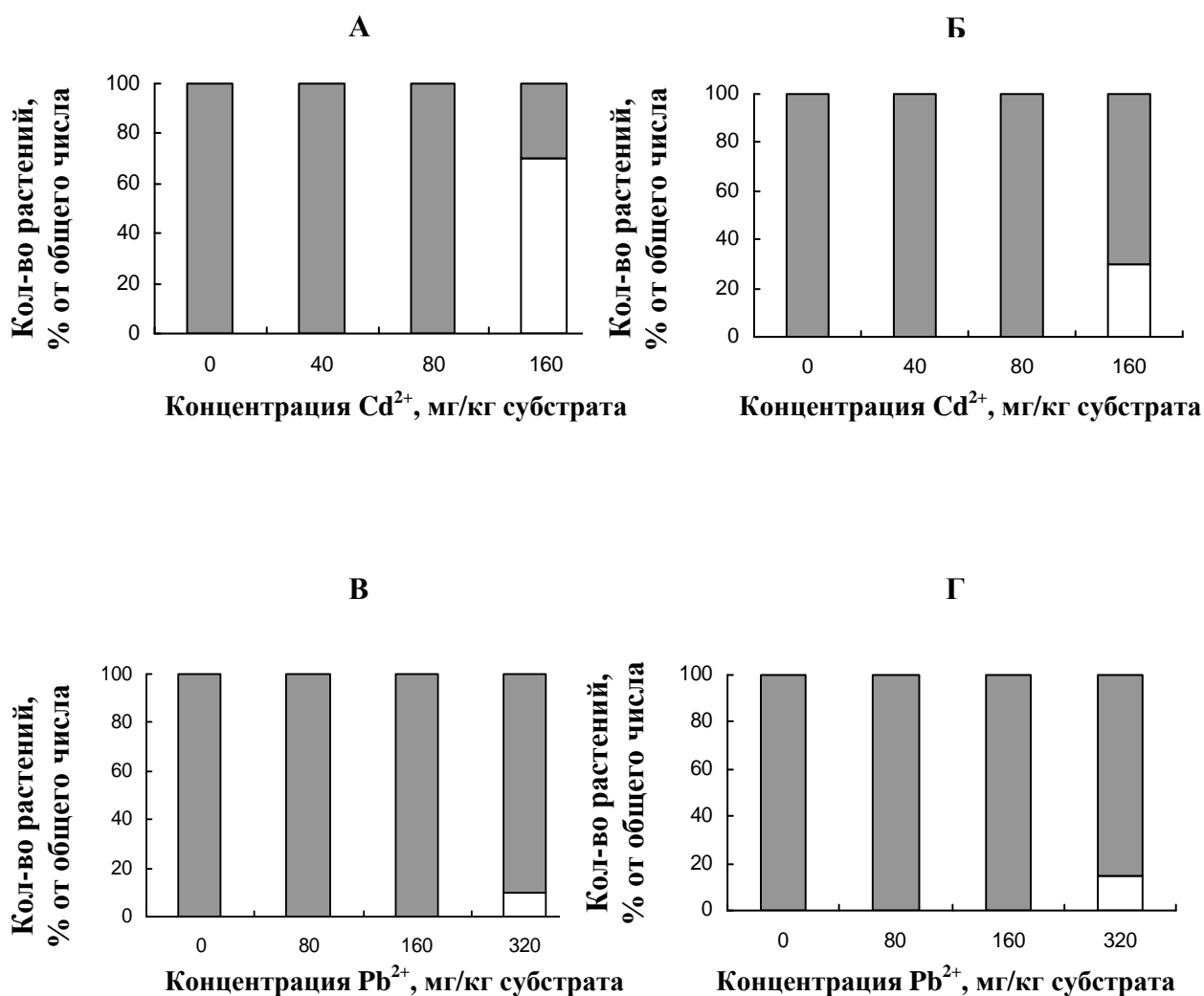


Рис. 11. Влияние кадмия и свинца на темпы фенологического развития ячменя с. Дина (А, В) и овса с. Фаленский (Б, Г) (10 сут после посева).

□ – фаза всходов; ■ – фаза проростков.

Темпы органогенеза. Известно, что помимо периодизации жизненного цикла растений по фенологическим фазам, характеризующимся четко выраженными морфологическими изменениями, существует его подразделение по этапам органогенеза, позволяющее проследить последовательность хода органо-образовательных процессов. В качестве основного критерия разделения этапов принята разнокачественность физиологических функций и различия анатомо-морфологического строения органов растения в процессе их развития (Куперман, 1968). В основу изучения развития растений по этапам органогенеза положены наблюдения за изменением состояния их стеблевых апикальных меристем. Этот метод хорошо зарекомендовал себя при изучении устойчивости растений к засолению (Чуприна, 1972; Морозова, 1972), низким температурам (Куперман, 1984), повышенной радиации (Гродзинский, 1989), так как является высокоинформативным и простым в применении. Кроме того, с его помощью можно оценить степень угнетения растений уже на ранних этапах их развития, когда по внешним признакам это еще не наблюдается. Исходя из сказанного, мы предприняли попытку выяснить, могут ли изменения в прохождении этапов органогенеза служить критерием металлоустойчивости растений на ранних этапах развития однолетних злаков.

Результаты наших исследований показали, что оказывая негативное воздействие на рост конуса нарастания, тяжелые металлы вызывают замедление органообразовательных процессов на ранних этапах развития. В частности, в фазу проростков растения ячменя в контрольном варианте по состоянию конуса нарастания находились на II этапе органогенеза (рис. 12), а у овса 20% из них – даже на III этапе (рис. 13). В опытных вариантах у злаков отмечалось замедление темпов органогенеза, и при действии металлов в наибольших концентрациях практически у всех растений отмечался I этап органогенеза.

На наш взгляд замедление темпов органогенеза злаков в присутствии высоких концентраций тяжелых металлов может быть связано с задержкой клеточного деления в апикальной меристеме стебля. Кроме того, известно, что переход от одного этапа органогенеза к другому осуществляется лишь при соответствующих изменениях клеточного метаболизма в верхушечных меристемах и физиологических процессов,

проходящих в самом растении (Куперман, 1984). При нарушении этих условий, что, очевидно, и происходит в присутствии тяжелых металлов, наступление этапов задерживается.

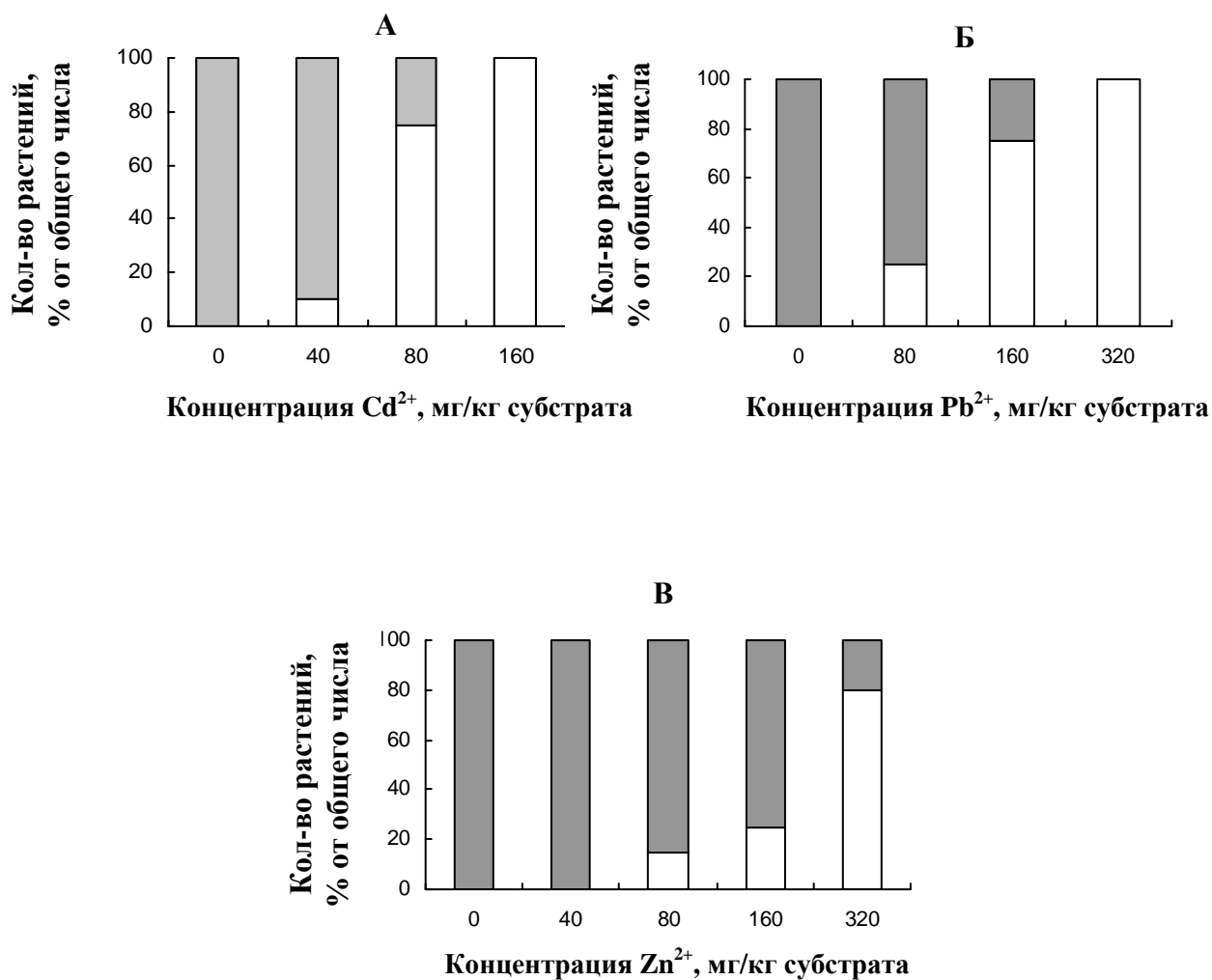


Рис. 12. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на темпы органогенеза ячменя
с. Дина (фаза проростков)

□ – I этап органогенеза; ■ – II этап.

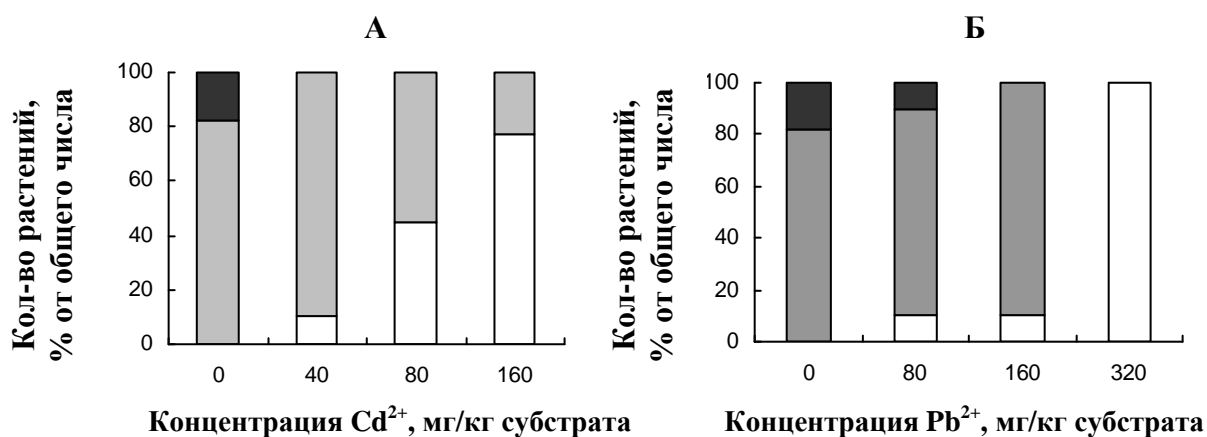


Рис. 13. Влияние кадмия (А) и свинца (Б) на темпы органогенеза овса с. Фаленский (фаза проростков).

□ – I этап органогенеза; ■ – II этап; ■ – III этап.

Однако в фазу 3-х листьев отставание в темпах органогенеза опытных растений от контрольных глаживалось (рис. 14, 15), что, очевидно, связано с уменьшением негативного воздействия металлов на рост апикальной меристемы стебля. В результате даже в присутствии наиболее высоких концентраций металлов растения переходили к III и IV этапам органогенеза, на которых происходит формирование будущих элементов соцветия.

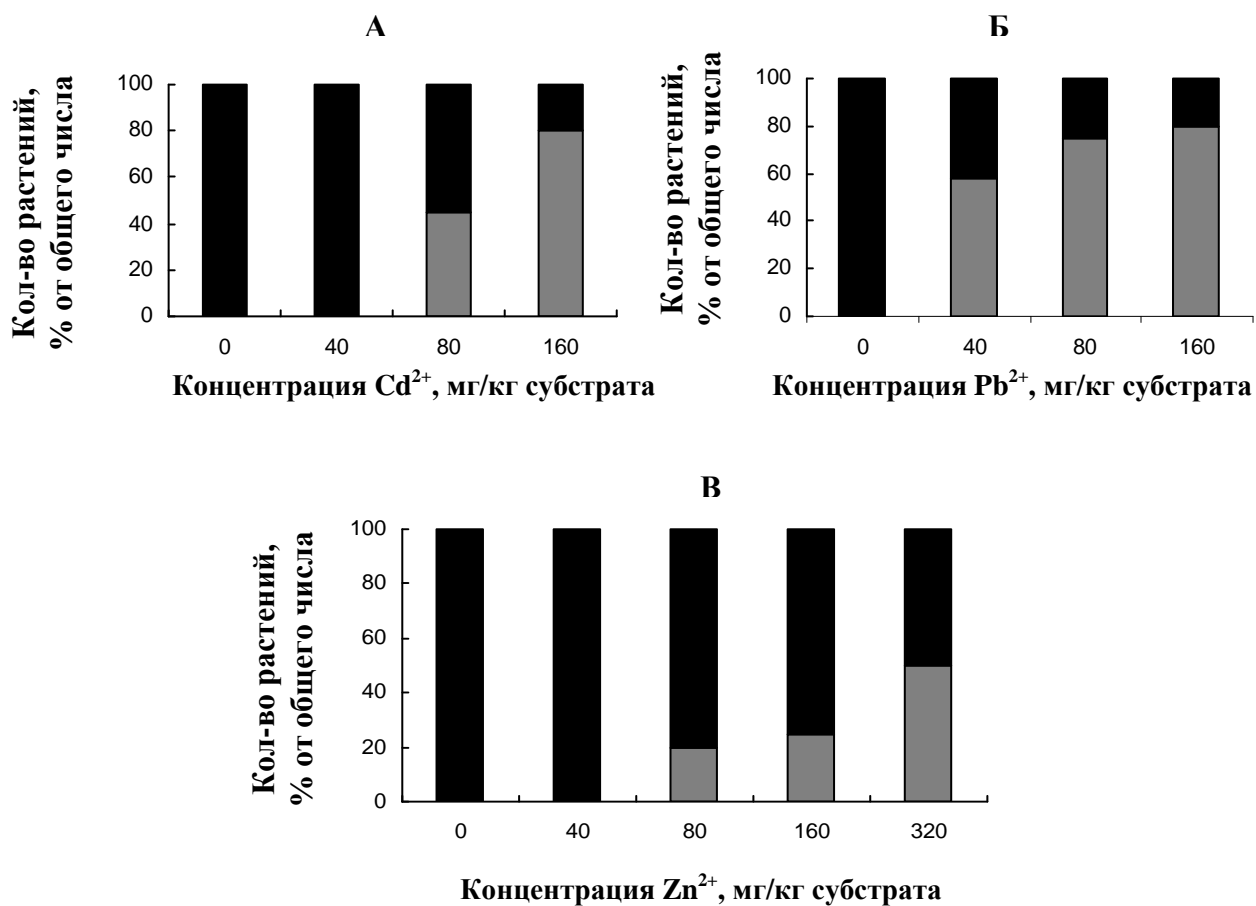


Рис. 14. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на темпы органогенеза ячменя с. Дина (фаза 3-х листьев).

■ – III этап органогенеза; ■ – IV этап.

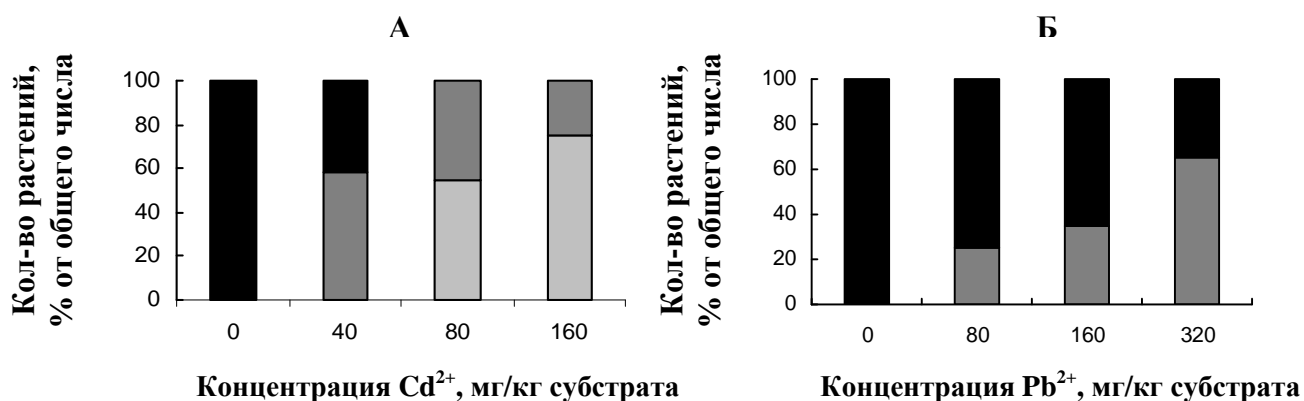


Рис. 15. Влияние кадмия (А) и свинца (Б) на органогенез растений овса с. Фаленский (фаза 3-х листьев).

□ – II этап органогенеза; ■ – III этап; ■ – IV этап.

В целом, на ранних этапах развития злаков тяжелые металлы тормозят темпы органообразовательных процессов, что могло бы привести к нарушению формообразования, изменению морфологических признаков и, в конечном счете, к уменьшению продуктивности растений. Однако обнаруженная нами у ячменя и овса возможность в процессе дальнейшего роста и развития быстро восстанавливать размеры апикальной меристемы, очевидно, вследствие функционирования механизмов детоксикации ионов металлов, обеспечивает им возможность перейти к этапам органогенеза, на которых происходит закладка генеративной сферы.

3.1.3. Накопление надземной биомассы

Нарушения жизнедеятельности растений, наблюдаемые в неблагоприятных условиях окружающей среды, проявляются в первую очередь в изменениях линейных размеров и накоплении биомассы. При этом накопление надземной биомассы выступает как интегральный показатель, отражающий итог всех функциональных и метаболических изменений в растениях, поэтому биомасса побега может использоваться в качестве универсального индикатора при оценке физиологического состояния растений и их устойчивости к стрессовым воздействиям (Шевелуха, 1992).

Об отрицательном влиянии тяжелых металлов на биомассу побега у культурных видов злаков уже упоминалось ранее в работах других авторов (Vassilev et al., 1996; Wójcik, Tukiendorf, 1999; Таланова и др., 2001б; Liu et al., 2003; Demirevska-Kerova et al., 2006; Krantev et al., 2008; Ci et al., 2010 и др.).

Результаты наших исследований также показали, что в фазе проростков у ячменя и овса при повышении концентрации кадмия, свинца и цинка в субстрате биомасса побега заметно уменьшается по сравнению с контрольным вариантом (рис. 16). Однако уже к фазе 3-х листьев ингибирующее действие тяжелых металлов в отношении этого показателя ослабевало, и лишь наиболее высокие концентрации металлов приводили к достоверному снижению надземной биомассы растений (рис. 17).

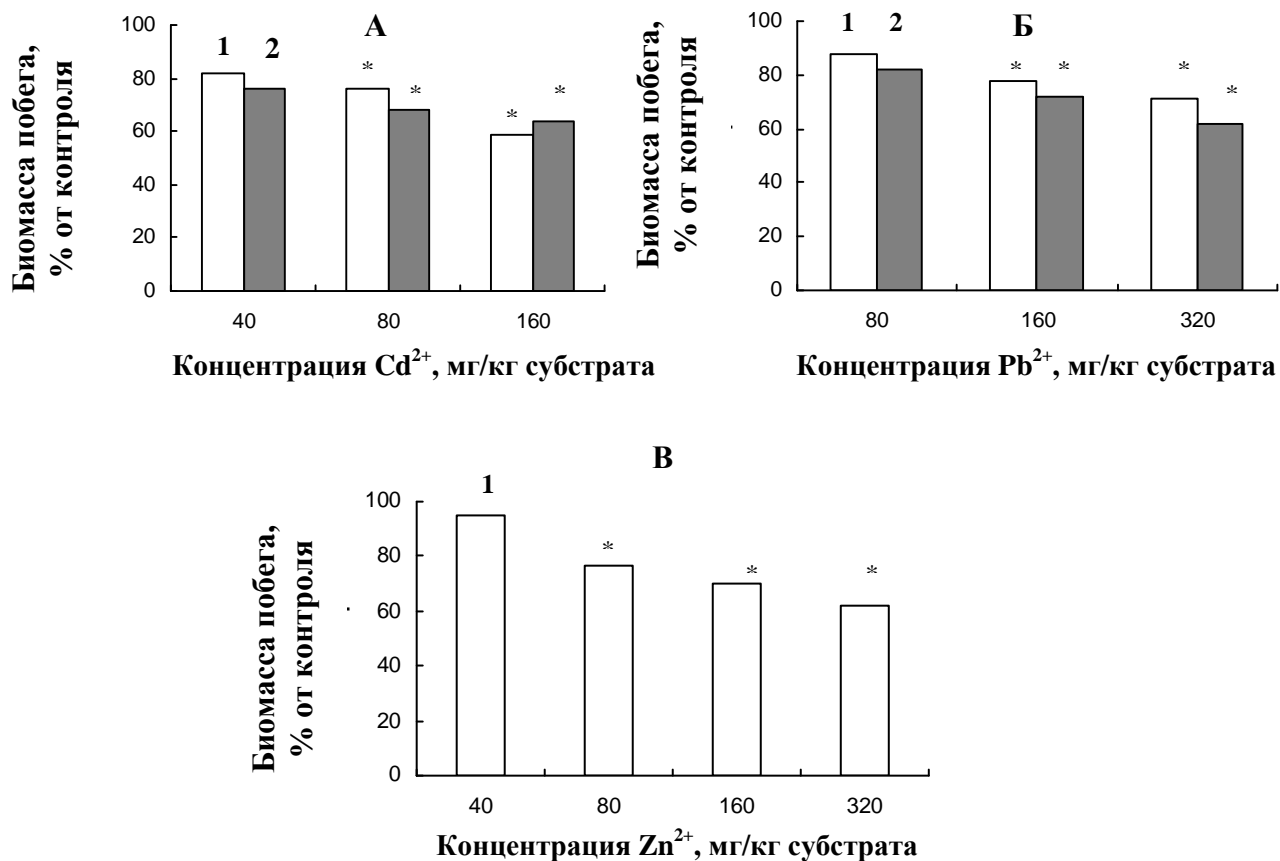


Рис. 16. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на сухую биомассу побега ячменя с. Дина (1) и овса с. Фаленский (2) (фаза проростков).

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольных вариантов сухая биомасса побега составляла 23.5 ± 1.2 мг (ячмень) и 16.6 ± 0.7 мг (овес).

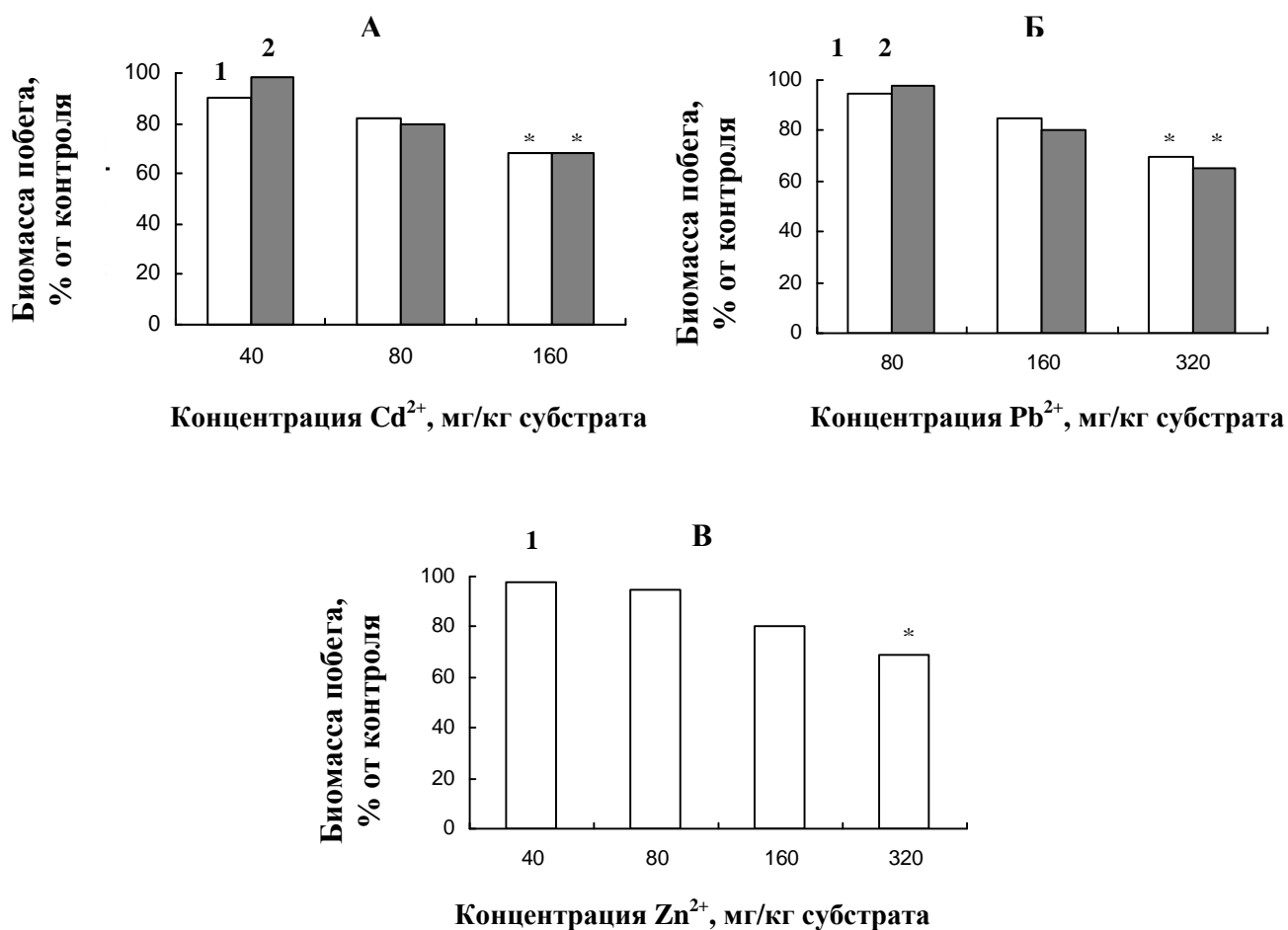


Рис. 17. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на сухую биомассу побега ячменя с. Дина (1) и овса с. Фаленский (2) (фаза 3-х листьев).

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

У растений контрольных вариантов сухая биомасса побега составляла 67.2 ± 2.5 мг (ячмень) и 35.3 ± 2.2 мг (овес).

Еще одним довольно информативным параметром устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды является изменение соотношения биомассы побега к биомассе корня при действии стресс-факторов. Нарушение этого соотношения, как известно, негативно отражается на физиологических процессах у растений, в частности, на минеральном питании и водном обмене, и в дальнейшем может привести к снижению урожая зеленой массы и семян (Кудоярова и др., 1999).

В наших исследованиях в фазу проростков у растений контрольных вариантов отношение биомассы побега к биомассе корня было равно 1 или близко этому значению, свидетельствуя о сбалансированном росте корня и побега (рис. 18), а в фазу 3-х листьев оно возрастало в среднем до 2.5 за счет более активного роста надземных органов. У растений опытных вариантов в фазу проростков изученный показатель увеличивался (по сравнению с контролем) с повышением их концентрации в субстрате, что было связано с более сильным угнетением роста корня, по сравнению с побегом. Однако в фазу 3-х листьев, отношение биомассы побега к биомассе корня приближалось к уровню контрольных вариантов, главным образом за счет восстановления роста побега. Лишь при действии кадмия, свинца и цинка в наиболее высоких концентрациях наблюдалось некоторое его уменьшение, обусловленное более сильным негативным воздействием металлов на рост надземных и подземных органов.

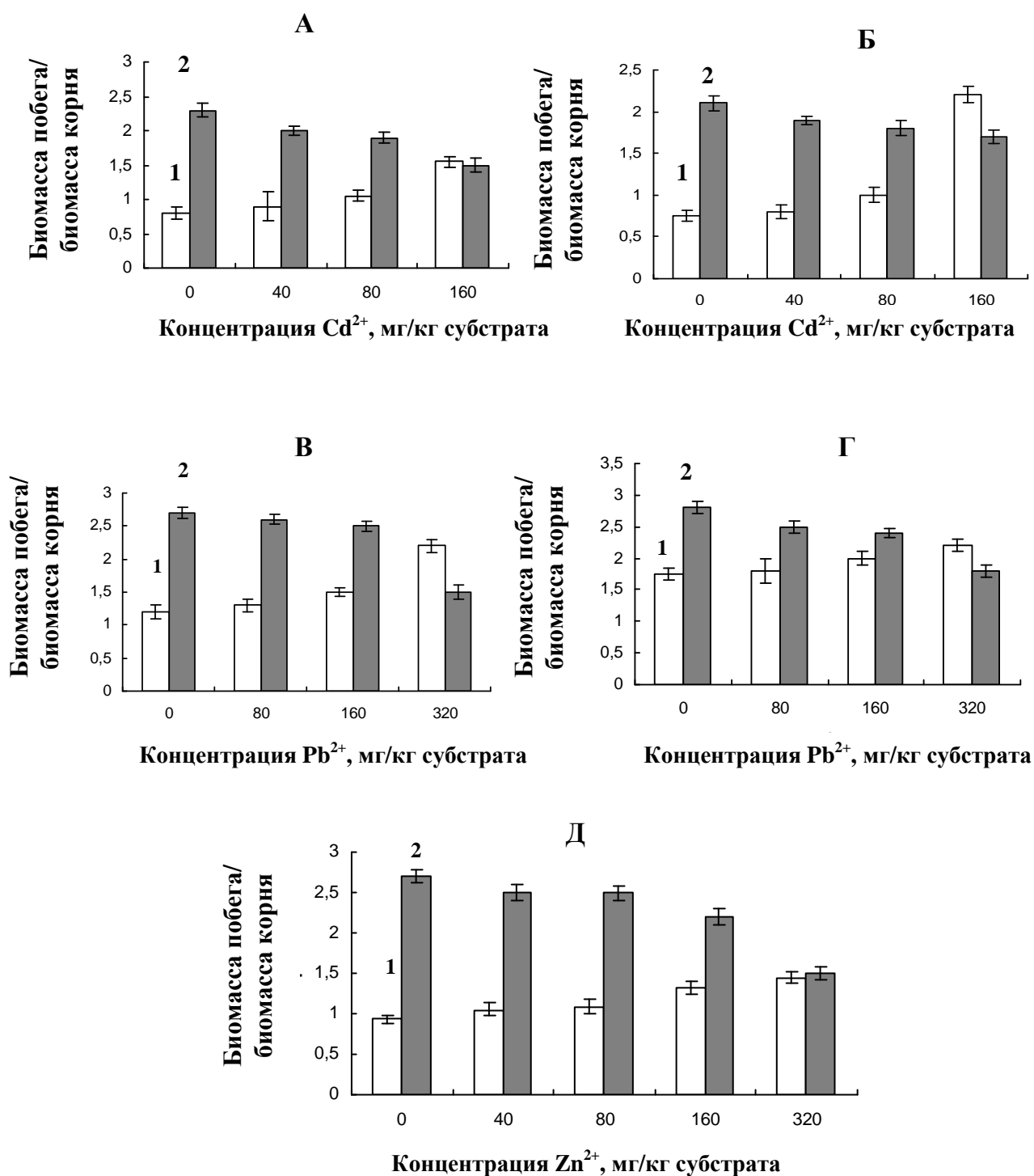


Рис. 18. Влияние кадмия, свинца и цинка на отношение сухой биомассы побега к сухой биомассе корня у растений ячменя с. Дина (А, В, Д) и овса с. Фаленский (Б, Г) на 10-е (1) и 15-е сут (2) после посева.

Обнаруженное нами на более ранних фазах развития злаков снижение ингибирующего действия тяжелых металлов на рост растений, а также их способность к быстрому восстановлению деления клеток апикальной меристемы, обеспечило злакам возможность на более поздних фазах развития не только накопить высокий уровень надземной биомассы, но и сформировать соцветие и, в дальнейшем, семена.

В частности, даже в присутствии наибольших из изученных концентраций тяжелых металлов растения перешли к генеративному развитию и сформировали семена., несмотря на некоторое (менее, чем на 30% по сравнению с контролем) уменьшение высоты главного побега и надземной биомассы у ячменя и овса в вариантах с наиболее высокими концентрациями кадмия, свинца и цинка (табл. 9, 10, 11).

Не было обнаружено также и замедления развития злаков. Однако с увеличением концентрации тяжелых металлов у злаков формировалось меньшее количество боковых побегов, в том числе генеративных. Вместе с тем снижение числа боковых побегов в неблагоприятных условиях среды может являться адаптационным механизмом. Поскольку между главным и боковыми побегами существует конкуренция за ассимиляты, то, блокируя процесс побегообразования, растение обеспечивает условия для формирования полноценных семян на центральном колосе (Удовенко, Гончарова, 1982).

Необходимо также отметить, что площадь флагового листа уменьшалась также лишь при действии наиболее высоких концентраций металлов, причем в меньшей степени, чем другие изученные показатели. Поскольку флаговый лист у злаков является основным поставщиком ассимилятов в соцветие и участвует в формировании и наливе зерна (Головки и др., 2004), поддержание его размеров у опытных растений на уровне контрольных может способствовать сохранению семенной продуктивности.

Таблица 9

Влияние кадмия на некоторые показатели роста и развития растений ячменя с. Дина и овса с. Фаленский в фазу созревания семян

Концентрация кадмия, мг/кг субстрата	Показатели роста и развития				
	высота главного побега, см	площадь флагового листа, см ²	надземная сырая биомасса растения, г	общее число побегов, шт./растение	число генеративных побегов, шт./растение
Ячмень					
0	82.3±6.4	1.33±0.11	7.45±0.49	4.0±0.2	2.8±0.2
40	82.2±0.8	1.30±0.33	6.53±0.33	3.5±0.2	2.2±0.2
80	73.6±0.9	1.29±0.18	5.41±0.18	2.7±0.1*	2.1±0.1*
160	67.7±1.9*	0.59±0.05*	3.04±0.39*	2.5±0.2*	1.8±0.1*
Овес					
0	100.2±0.8	5.21±0.42	5.69±0.16	2.64±0.09	2.4±0.1
40	82.1±0.7	5.11±0.08	6.31±0.21	2.75±0.11	2.1±0.1
80	76.5±0.7	5.10±0.02	5.23±0.25	2.21±0.08	1.6±0.1*
160	69.8±0.9*	5.02±0.07*	4.47±0.21*	2.61±0.11	1.8±0.1*

Примечание. * – здесь и в табл. 10 и 11 различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 10

Влияние свинца на некоторые показатели роста и развития растений ячменя с. Дина и овса с. Фаленский в фазу созревания семян

Концентрация свинца, мг/кг субстрата	Показатели роста и развития				
	высота главного побега, см	площадь флагового листа, см ²	надземная сырая биомасса растения, г	общее число побегов, шт./растение	число генеративных побегов, шт./растение
Ячмень					
0	56.2±1.4	8.6±0.71	5.41±0.91	3.3±0.2	3.6±0.3
80	54.4±1.0	7.8±1.02	4.43±0.83	3.4±0.4	3.3±0.5
160	55.1±1.7	7.9±0.52	5.12±0.52	2.6±0.4*	2.3±0.3*
320	52.6±1.7*	7.2±1.21*	4.61±0.71	2.1±0.5*	2.5±0.5*
Овес					
0	68.66±2.1	10.14±0.39	4.25±0.20	3.7±0.2	3.7±0.2
80	66.03±1.6	10.10±0.56	3.56±0.17	3.5±0.1	3.5±0.1
160	65.65±2.8	11.10±0.79	3.31±0.21	3.3±0.2	3.3±0.2
320	62.89±1.9*	11.23±0.67	3.64±0.20	3.1±0.2*	2.1±0.2*

Таблица 11

Влияние цинка на некоторые показатели роста и развития растений ячменя с. Дина в фазу созревания семян

Концентрация цинка, мг/кг субстрата	Показатели роста и развития				
	высота главного побега, см	площадь флагового листа, см ²	надземная сырая биомасса растения, г	общее число побегов, шт./растение	число генеративных побегов, шт./растение
0	52.4±0.6	3.63±0.48	4.98±0.28	3.52±0.2	2.91±0.16
40	55.7±1.4	3.54±0.42	4.89±0.23	2.91±0.16	2.62±0.13
80	60.7±0.9	3.43±0.26	5.81±0.41	2.70±0.19*	2.70±0.19
160	65.1±1.6*	2.17±0.20*	4.04±0.35*	1.88±0.38*	1.38±0.17*
320	63.7±1.9*	–	3.14±0.39*	1.55±0.15*	1.35±0.13*

Примечание. Прочерк – лист не развернулся.

3.1.4. Семенная продуктивность

Известно, что негативное действие тяжелых металлов на растения проявляется также в снижении урожая семян (плодов) (Ильин и др., 1985; Vassilev et al., 1996). Однако такого рода данные единичны, хотя именно способность растений в неблагоприятных условиях среды формировать семена является одной из наиболее важных составляющих их устойчивости. Более устойчивыми могут считаться те растения, которые способны не только выживать в экстремальных условиях, но и успешно завершать полный цикл своего развития (Жученко, 1999).

В наших исследованиях растения ячменя и овса даже в присутствии наиболее высоких концентраций тяжелых металлов смогли сформировать семена. При этом было обнаружено некоторое отрицательное влияние тяжелых металлов на некоторые элементы семенной продуктивности ячменя и овса. Так, при действии металлов у растений снижались длина и биомасса соцветия, уменьшались число зерен в колосе (метелке) и масса зерновки. При этом в присутствии кадмия (табл. 12) снижение биомассы соцветия у обоих видов в большей степени определялось уменьшением массы зерновки, тогда как в присутствии свинца (табл. 13) и цинка (табл. 14) – числом зерен.

Таблица 12

Влияние кадмия на элементы семенной продуктивности
главного побега растений ячменя с. Дина и овса с. Фаленский

Концентрация кадмия, мг/кг субстрата	Элементы семенной продуктивности			
	длина соцветия, см	биомасса со- цветия, г	число зерен в колосе (метелке), шт.	биомасса зер- новки, мг
Ячмень				
0	3.20±0.82	0.72±0.06	8.55±0.23	84.21±2.61
40	3.18±0.10	0.72±0.05	8.09±0.38	89.01±1.32
80	2.88±0.14	0.53±0.10*	6.95±0.39*	56.26±2.56*
160	2.07±0.15*	0.29±0.04*	5.82±0.29*	49.83±1.38*
Овес				
0	11.63±0.21	0.79±0.04	16.28±0.60	48.53±2.67
40	12.01±0.26	0.85±0.05	20.01±0.80	42.48±2.65
80	11.40±0.21	0.64±0.05	16.36±0.92	39.12±1.45*
160	9.60±0.48*	0.43±0.06*	14.00±0.82	30.71±2.61*

Примечание. * – здесь и в табл. 13 и 14 различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 13

Влияние свинца на элементы семенной продуктивности
главного побега растений ячменя с. Дина и овса с. Фаленский

Концентрация свинца, мг/кг субстрата	Элементы семенной продуктивности			
	длина соцветия, см	биомасса со- цветия, г	число зерен в колосе (ме- телке), шт.	биомасса зер- новки, мг
	Ячмень			
0	4.82±0.02	1.24±0.12	13.02±0.6	95.38±2.50
80	3.81±0.2	1.25±0.10	10.22±0.6*	93.14±2.23
160	3.90±0.1*	1.37±0.21	10.43±0.5*	92.73±1.89
320	3.72±0.3*	0.90±0.08*	9.41±0.7*	95.74±1.75
	Овес			
0	12.69±0.24	0.75±0.05	20.20±1.00	37.13±1.21
80	12.57±0.27	0.66±0.04	20.00±0.74	33.00±0.96
160	13.13±0.37	0.64±0.03	17.09±0.60*	35.11±1.32
320	11.25±0.54*	0.54±0.02*	15.64±0.55*	34.53±1.48

Таблица 14

Влияние цинка на элементы семенной продуктивности ячменя с. Дина

Концентрация цинка, мг/кг субстрата	Элементы семенной продуктивности			
	длина соцветия, см	биомасса со- цветия, г	число зерен в колосе, шт.	биомасса зерновки, мг
0	3.93±0.17	0.68±0.01	8.7±0.69	78.16±1.45
40	3.96±0.14	0.58±0.06*	8.4±0.65	69.05±1.65
80	4.41±0.13	0.53±0.06*	7.1±0.91*	74.65±1.65
160	3.18±0.13*	0.52±0.04*	6.8±0.61*	76.42±1.52

В известной нам литературе сведений о влиянии тяжелых металлов на компоненты репродуктивной сферы растений крайне мало. Так, в опытах по прорастанию пыльцы *in vitro* показано, что в присутствии тяжелых металлов снижается количество проросших пыльцевых зерен и замедляется рост пыльцевых трубок у растений томатов (Хорхе и др., 1997). Кроме того, у ряда видов древесных растений обнаружена связь между накоплением тяжелых металлов в цветочных почках и количеством aberrаций в мейозе, а также стерильностью пыльцевых зерен (Бессонова, Лыженко, 1991).

Поскольку у ячменя и овса, как растений-исключателей тяжелые металлы накапливаются, в основном, в корнях, тогда как в побеги, а тем более в соцветия, поступает значительно меньшая их часть, обнаруженное нами отрицательное воздействие кадмия, свинца и цинка на элементы семенной продуктивности, является, очевидно, в большей степени, опосредованным, связанным с изменениями других физиологических процессов. Например, установлено, что овес отличается повышенной чувствительностью к нарушению водного обмена в период развития генеративных органов и семян (Шевелуха, 1992). Ячмень же очень чувствителен к минеральному питанию в период формирования генеративных органов (Головко и др., 2004), поэтому уменьшение поступления некоторых необходимых элементов вследствие увеличения уров-

ня тяжелых металлов в корнеобитаемой среде, могло привести к некоторому снижению семенной продуктивности растений.

Таким образом, наблюдения за ходом процессов роста и развития культурных злаков в присутствии высоких концентраций кадмия, свинца и цинка в субстрате выявили их высокую устойчивость к тяжелым металлам. Несмотря на негативное воздействие этих химических элементов на рост апикальной меристемы стебля, значительное уменьшение в их присутствии размеров корня и побега, а также некоторую задержку темпов органогенеза на ранних этапах развития, злаки оказались способными адаптироваться к этим условиям и не только произрастать длительное время в условиях повышенных концентраций металлов в субстрате, но и переходить к генеративному развитию и формировать семена.

В ходе исследований обнаружено также, что степень ингибирующего действия тяжелых металлов на показатели роста и развития ячменя и овса зависит в большей степени от токсичности металла и его концентрации, а также от фазы развития растений, тогда как межвидовые различия были выражены в гораздо меньшей степени. Вследствие этого дальнейшие эксперименты по изучению механизмов устойчивости культурных злаков к тяжелым металлам проведены только на ячмене. При выборе объекта учитывалось, что яровой ячмень является хорошим модельным объектом для физиолого-биохимических и молекулярно-генетических исследований вследствие его относительно быстрого роста, довольно высокой устойчивости к стрессовым воздействиям различной природы (Palmgren et al., 2008; Schneider et al., 2009). Кроме того, на сегодняшний день, судя по международной базе нуклеотидных последовательностей (GenBank), геном у этого вида злаков изучен более полно, по сравнению с овсом.

Учитывая также, что свинец – это малоподвижный металл, который практически не поступает в надземные органы, в дальнейших опытах были использованы только два металла: кадмий и цинк.

3.2. Влияние тяжелых металлов на фотосинтез растений

ФСА отличается очень высокой чувствительностью к воздействию тяжелых металлов, поэтому металлоустойчивость растений напрямую связана с устойчивостью их ФСА. Известно, что негативное влияние тяжелых металлов на фотосинтетические процессы обусловлено целым рядом функциональных и структурных изменений в ФСА (Sheoran et al., 1990; Molas, 1997; Таланова и др., 2001; Vassilev, 2002; Kosobrukhov et al., 2004; Титов и др., 2007). В этой связи нами изучены основные «мишени» их воздействия на фотосинтетические процессы у культурных злаков.

3.2.1. Мезоструктура листа

Понятие «мезоструктура», предложенное А.Т. Мокроносовым, включает ряд морфо-физиологических показателей листа, позволяющих охарактеризовать его ассимиляционную способность на клеточном уровне. Обнаружено, что показатели мезоструктуры листа значительно варьируют в зависимости от экологических условий произрастания растений и тем самым обеспечивают их адаптацию к неблагоприятным факторам внешней среды (Мокроносов и др., 2006). Хорошо известны адаптационные изменения мезоструктуры листьев при действии на растения низких и высоких температур, засоления и засухи. Исследований же показателей мезоструктуры листа у растений, произрастающих в условиях избытка тяжелых металлов в окружающей среде, сравнительно немного.

Проведенный нами анализ мезоструктуры листа ячменя показал, что даже в присутствии относительно низких концентраций кадмия и цинка в корнеобитаемой среде в клетках мезофилла происходят определенные изменения. В частности, в присутствии кадмия уже в самой низкой из использованных концентраций уменьшается (по отношению к контролю) площадь клеток, причем за счет сокращения их длины. Помимо этого, при действии металла в концентрациях 80 и 160 мг/кг субстрата снижаются размеры хлоропластов (о чем свидетельствует уменьшение объема клетки, за-

нимаемой одним хлоропластом). Вместе с тем возрастает число хлоропластов на единицу площади клетки (табл. 15).

Таблица 15

Влияние кадмия на мезоструктуру листа растений ячменя с. Дина

Показатели мезоструктуры листа	Концентрация кадмия, мг/кг субстрата			
	0	40	80	160
Длина клетки мезофилла, мкм	32.5±0.9	27.4±0.9*	27.7±0.6*	24.9±0.6*
Ширина клетки мезофилла, мкм	17.1±0.5	18.2±0.4	18.2±0.5	17.7±0.4
Площадь клетки мезофилла, мкм ²	559.8±26.9	502.9±27.0*	503.1±15.8*	443.3±20.3*
Число хлоропластов на единицу площади клетки, шт.	24±0.9	23±0.7	29±1.2*	28±0.6*
Объем клетки, приходящийся на один хлоропласт (КОХ), мкм ³	400.1±26.2	438.3±23.3	339.0±18.7*	382.4±18.9*

Примечание. * – здесь и в табл. 16 различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

В отличие от кадмия, в присутствии цинка в концентрациях 160 и 320 мг/кг субстрата наблюдалось заметное уменьшение числа хлоропластов в клетке на единицу площади. Однако при этом увеличивались площадь клеток мезофилла и размеры хлоропластов (табл. 16).

Таблица 16

Влияние цинка на мезоструктуру листа растений ячменя с. Дина

Показатели мезоструктуры листа	Концентрация цинка, мг/кг субстрата			
	0	80	160	320
Длина клетки мезофилла, мкм	24.9±0.7	27.3±0.8*	28.6±0.7*	28.2±0.9*
Ширина клетки мезофилла, мкм	19.9±0.5	18.7±0.3	20.4±0.5	20.4±0.6
Площадь клетки мезофилла, мкм ²	498.2±21.6	515.9±20.6	591.3±25.5*	553.4±32.3*
Число хлоропластов на единицу площади клетки, шт.	25±1.3	26±0.6	22±0.7*	22±1.1*
Объем клетки, приходящийся на один хлоропласт (КОХ), мкм ³	479.4±31.6	496.3±15.8	513.7±29.5*	538.32±32.2*

Несмотря на то, что содержание тяжелых металлов в листьях растений-исключателей обычно невелико, в литературе имеются некоторые данные об адаптационных изменениях в мезоструктуре листьев. Так, у растений, произрастающих на загрязненных тяжелыми металлами территориях, снижается диаметр клетки палисадного и губчатого мезофилла, однако повышается толщина мезофилла, что было обнаружено, например, у *Betula czerepanovii* Orlova (Лукина, 2011), *Taraxacum officinale*

Wigg. s. l. и *Tussilago farfara* L. (Фазлиева, Киселева, 2013), *Brachiaria decumbens* Stapf. (Gomes et al., 2011). Уменьшение числа хлоропластов было обнаружено в листьях гороха посевного в присутствии кадмия, однако при этом увеличивалось число клеток мезофилла (Sandalio et al., 2001). Обнаруженные нами изменения в мезоструктуре листа злаков при действии тяжелых металлов, на наш взгляд, также можно считать адаптивными и способствующими сохранению интенсивности фотосинтеза растений в этих условиях.

3.2.2. Содержание основных форм фотосинтетических пигментов

Одним из видимых симптомов токсичности тяжелых металлов у растений является хлороз листьев, образующийся вследствие снижения содержания фотосинтетических пигментов. Хлорозы листьев и уменьшение в них количества хлорофиллов и каротиноидов отмечены в многочисленных работах у растений разных видов и при действии разных металлов (Krupa, 1988; Panda et al., 2003; Kosobrukhov et al., 2004; Khudsar et al., 2004; Иванова и др., 2010 и др.). У представителей семейства *Poaceae* наличие хлороза в верхней части листовой пластинки может служить надежным показателем степени загрязнения почв тяжелыми металлами даже при относительно низких их концентрациях в почве. Это связано с тем, что на кончиках листьев у злаков (где хлороз проявляется в большей степени) находятся стареющие, и, соответственно, более чувствительные к токсическому действию металлов клетки (Krupa, Moniak, 1998).

Как известно, фотосинтетические пигменты участвуют в поглощении энергии света на фотофизической стадии, осуществляют преобразование энергии в фотохимических реакциях фотосинтеза и являются важнейшими компонентами электрон-транспортной цепи (Мокроносков и др., 2006). Исходя из этого многие авторы считают, что снижение уровня фотосинтеза у растений в присутствии тяжелых металлов связано, в первую очередь, с их негативным влиянием на фотосинтетические пигменты (Stobart et al., 1985; Krupa, 1988; Tukendorf, Baszynski, 1991; Khudsar et al., 2001 и др.).

В наших опытах кадмий во всех изученных концентрациях вызывал заметное снижение содержания хлорофиллов *a* и *b* (рис. 19 А). В отличие от этого, цинк в концентрациях 160 и 320 мг/кг субстрата приводил к уменьшению содержания хлорофилла *b* (рис. 19 Б). Количество же хлорофилла *a* значительно уменьшалось лишь при действии металла в наибольшей из изученных концентраций. В целом кадмий в изученных концентрациях оказывал более сильное ингибирующее действие на содержание зеленых пигментов в листьях растений ячменя, чем цинк. При этом в присутствии обоих металлов содержание хлорофилла *b* снижалось в большей степени, чем хлорофилла *a*. Так, в присутствии кадмия в концентрации 160 мг/кг субстрата содержание хлорофил-

ла *a* оказалось на 40% меньше, чем в контроле, а хлорофилла *b* – на 50%. При действии цинка в концентрации 320 мг/кг субстрата эти значения составили 12 и 23%, соответственно.

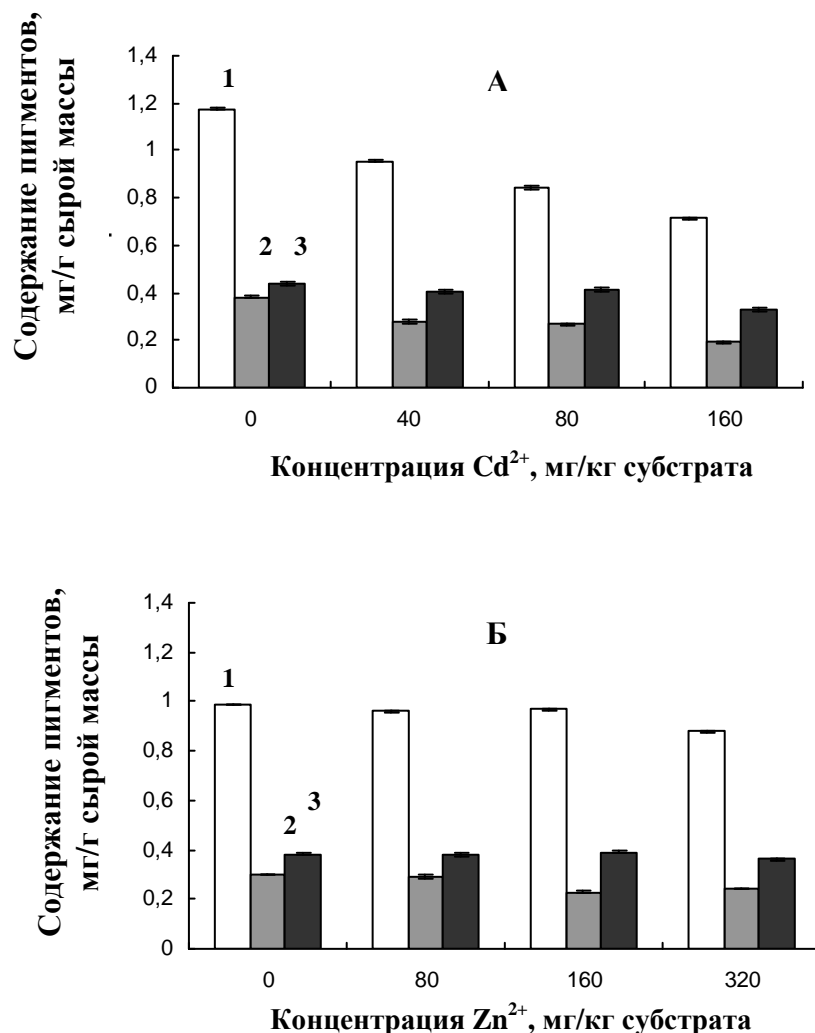


Рис. 19. Влияние кадмия (А) и цинка (Б) на содержание хлорофиллов *a* (1), *b* (2) и каротиноидов (3) в листьях растений ячменя с. Дина

Как уже было указано в Главе 1.4, главной причиной снижения содержания зеленых пигментов в присутствии тяжелых металлов является подавление биосинтеза хлорофилла (Burzyński, 1985; Horváth et al., 1996; Molas, 1997), что связано, в первую очередь, с непосредственным действием металлов на активность ферментов биосин-

теза, а в присутствии кадмия еще и вследствие вытеснения его ионами ионов Mg^{2+} из молекулы пигмента (Souza, Rauser, 2003). Опосредованное действие металлов на биосинтез хлорофилла связано, как полагают, с дефицитом железа (Greger, Ögren, 1991; Fodor et al., 1995). Помимо этого, уменьшение содержания зеленых пигментов в условиях повышенных концентраций тяжелых металлов может быть вызвано активизацией процесса деградации хлорофилла (Мельничук, 1990; Somashekaraiah et al., 1992).

Следует обратить внимание на то, что с повышением концентрации металлов в субстрате снижалась доля хлорофиллов в ССК (табл. 17), что приводило к ухудшению светопоглощающих свойств ФСА. Аналогичный эффект тяжелых металлов на ФСА растений ранее был обнаружен и другими авторами (Molas et al., 1997; Тужилкина, 2002).

Таблица 17

Влияние кадмия и цинка на содержание хлорофиллов в листьях растений ячменя с. Дина

Концентрация металла, мг/кг субстрата	Сумма хлорофиллов ($a+b$), мг/г сырого веса	Отношение хлорофиллов (a/b)	Содержание хлорофиллов в ССК, мг/г сырого веса	Содержание хлорофиллов в ССК, %
Кадмий				
0	1.556±0.002	3.08±0.03	0.838±0.05	54
40	1.285±0.003*	2.92±0.02	0.722±0.06	56
80	1.111±0.002*	3.15±0.01*	0.590±0.03*	53
160	0.906±0.003*	3.74±0.02*	0.420±0.04*	46
Цинк				
0	1.287±0.003	3.30±0.06	0.658±0.04	51
80	1.252±0.003	3.30±0.05	0.640±0.02	51
160	1.200±0.004*	4.24±0.66*	0.504±0.04*	41
320	1.114±0.003*	3.78±0.03*	0.513±0.03*	46

Примечание. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Вместе с тем содержание каротиноидов в присутствии тяжелых металлов не изменялось (см. рис. 19А и Б). Поскольку каротиноиды, как известно, выполняют в процессе фотосинтеза ряд важнейших функций, в том числе, и антенную, действуя в качестве дополнительных «светосборщиков» (Lichtenthaler, 1987; Мокроносов и др., 2006), а также являются одним из основных антиоксидантных соединений в клетке, эти пигменты рассматриваются как один из факторов, обеспечивающих устойчивость растений к различным видам стрессовых воздействий. Кроме того, каротиноиды участвуют в синтезе АБК, которая, как известно, является «гормоном стресса». Уменьшение ее уровня приводит к снижению устойчивости растений к любого вида стрессовым воздействиям. В этой связи сохранение концентрации каротиноидов у ячменя на постоянном уровне даже в присутствии наиболее высоких концентраций кадмия и цинка можно рассматривать в качестве одного из механизмов устойчивости ФСА растений к этим тяжелым металлам.

Вместе с тем известно, что тяжелые металлы в высоких концентрациях могут приводить к значительному снижению количества этих пигментов у растений из других семейств. Так, уменьшение количества каротиноидов в присутствии кадмия обнаружено в листьях *Betula pendula* var *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti (10^{-5} М) (Кузнецова, 2009), при действии кадмия (100 мкМ) и меди (100 мкМ) у *Hydrilla verticillata* (L. fil.) Royle (Розенцвет и др., 2011б), при действии свинца (2 мг/кг почвы) – у *Jatropha curcas* (L.) (Shu et al., 2011) и др.

3.2.3. Квантовая эффективность фотосистемы II

Ингибирующее влияние тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза объясняется также его воздействием на световые реакции и структуру фотосистем (Li, Miles, 1975; Siedleska, Krupa, 1996; Tukendorf, Baszynski, 1991). Наиболее чувствительна к стрессовым воздействиям ФС II (Van Assche, Clijsters, 1985; Krupa, Baszynski, 1995), активность которой оценивается на основании анализа кинетики замедленной флуоресценции хлорофилла (Schreiber et al., 1994).

ФС II играет центральную роль в генерировании и регуляции электронного транспорта в хлоропластах. Поэтому показатели, отражающие эффективность ее работы важны для оценки активности ФСА. На основе измерений величин F_0 , F_v , F_v/F_m , $Yield$, qP , NPQ и др. может быть получена общая информация о состоянии ФС II (Рубин, 2005). Отсутствие у растений значительных изменений указанных параметров флуоресценции хлорофилла при действии тяжелых металлов свидетельствует об устойчивости их ФСА растений к этому виду стрессового воздействия (Schreiber et al., 1994; Maxwell, Johnson, 2000).

В наших исследованиях значимое уменьшение уровня фоновой, максимальной и переменной флуоресценции наблюдалось в присутствии кадмия в концентрациях 80 и 160 мг/кг субстрата и цинка в концентрации 320 мг/кг субстрата (табл. 18, 19). При этих же концентрациях отмечалось и некоторое замедление ETR. Тем не менее, показатели F_v/F_m и $Yield$ оставались во всех вариантах опыта на уровне контроля, свидетельствуя об отсутствии повреждений в ФС II. Помимо этого, в присутствии кадмия в наибольшей концентрации несколько снижалась величина qP , что связывают с нарушениями в цепи транспорта электронов (Сааков, 2002). Однако при этом повышалась величина NPQ , указывая на действие защитных механизмов, препятствующих деструкции ФС II.

В литературе имеются данные о том, что тяжелые металлы непосредственно влияют на перенос электронов в фотохимических реакциях, замедляя скорость транспорта электронов в мембране тилакоидов (Becerril et al., 1988; Atal et al., 1991; Krupa, Baszynski, 1995; Vassilev et al., 2004).

Таблица 18

Влияние кадмия на показатели флуоресценции хлорофилла
у растений ячменя с. Дина

Показатели флуоресценции хлорофилла	Концентрация кадмия, мг/кг субстрата			
	0	40	80	160
F_0	587±26	609±13	484±28*	460±54*
F_m	2382±93	2610±75	1903±21*	1895±91*
F_v	1795±68	2001±63	1419±25*	1435±38*
F_v/F_m	0.754±0.009	0.766±0.008	0.746±0.013	0.757±0.01
<i>Yield</i>	0.589±0.009	0.591±0.008	0.584±0.02	0.582±0.02
qP	0.96±0.04	0.96±0.02	0.98±0.09	0.89±0.03*
NPQ	0.46±0.01	0.45±0.01	0.48±0.04	0.53±0.04*
ETR	95.84±3.28	89.42±1.51	73.70±2.38*	62.94±3.11*

Примечание. Здесь и в табл. 20: F_0 , F_m и F_v – уровень фоновой, максимальной и переменной флуоресценции; F_v/F_m и *Yield* – максимальная и реальная эффективность ФСП; qP и NPQ – коэффициенты фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла; ETR – скорость электронного транспорта. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 19

Влияние цинка на показатели флуоресценции хлорофилла
у растений ячменя с. Дина

Показатели флуоресценции хлорофилла	Концентрация цинка, мг/кг субстрата			
	0	80	160	320
F_0	577±38	555±33	596±12	475±13*
F_m	2566±101	2451±132	2416±78	1780±94*
F_v	1989±63	1896±87	1820±67	1350±82*
F_v/F_m	0.775±0.009	0.774±0.03	0.774±0.008	0.758±0.01
<i>Yield</i>	0.58±0.01	0.62±0.01	0.60±0.02	0.58±0.02
qP	0.87±0.01	0.86±0.01	0.90±0.01	0.97±0.02*
NPQ	0.40±0.01	0.40±0.01	0.42±0.05	0.44±0.02*
ETR	88.26±2.52	82.30±2.05	78.12±1.95*	74.32±3.81*

При этом полагают, что возможными причинами замедления фотосинтетического электронного транспорта при действии тяжелых металлов являются повреждение мембран тилакоидов (Maksymiec et al., 1995), изменения физико-химических свойств их липидного бислоя, в частности изменением соотношения липидов, имеющих насыщенные и ненасыщенные углеводородные цепи (Тихонов, 1999), а также ингибирование тяжелыми металлами транспорта между пластохинонами Q_A и Q_B (Полищук и др., 2009).

Сходную реакцию ФСА в присутствии тяжелых металлов наблюдали ранее другие авторы у разных сортов пшеницы (Ouzounidou et al., 1997), ячменя (Vassilev, Manolov, 1999), кукурузы (Munirah et al., 2015). По общему мнению, отсутствие значительных изменений параметров флуоресценции хлорофилла указывает на сохранение высокого уровня эффективности ФСА злаков и является показателем их металлоустойчивости.

3.2.4. Интенсивность фотосинтеза

Известно, что высокие концентрации металлов, оказывая негативное влияние на отдельные составляющие фотосинтеза, замедляют скорость процесса. Среди наиболее важных причин ингибирующего действия тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза называются: изменения в анатомической и мезо-структуре листа (Vitoria et al., 2003/4; Kosobrukhov et al., 2004 и др.), нарушения в структурной организации хлоропластов (Molas, 1997; Alkhatib et al., 2011), уменьшение содержания фотосинтетических пигментов (Vassilev et al., 1998b; Таланова и др., 2001a; Nouairi et al., 2006 и др.), нарушения в световых и темновых реакциях фотосинтеза (Sheoran et al., 1990; Tuken-dorf, Baszynski, 1991; Di Cagno et al., 2001; Krantev et al., 2008 и др.). Однако подобные нарушения наблюдаются, в основном, у менее устойчивых к тяжелым металлам видов (сортов) растений, или при действии их более высоких концентраций.

В наших опытах лишь наибольшие концентрации тяжелых металлов приводили к замедлению скорости фотосинтеза у растений ячменя. Так, в присутствии кадмия в концентрации 160 мг/кг субстрата интенсивность фотосинтеза снижалась на 40 % по отношению к контролю, а в присутствии цинка в концентрации 320 мг/кг субстрата – на 32 % (рис. 20).

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют об устойчивости ФСА растений ячменя к тяжелым металлам. В присутствии довольно высоких концентраций кадмия (40 и до 80 мг/кг субстрата) и цинка (80 и 160 мг/кг субстрата) интенсивность фотосинтеза сохраняется на уровне контрольного варианта, что обеспечивается адаптационными изменениями в мезоструктуре листа, устойчивостью ФС II, а также сохранением концентрации каротиноидов.

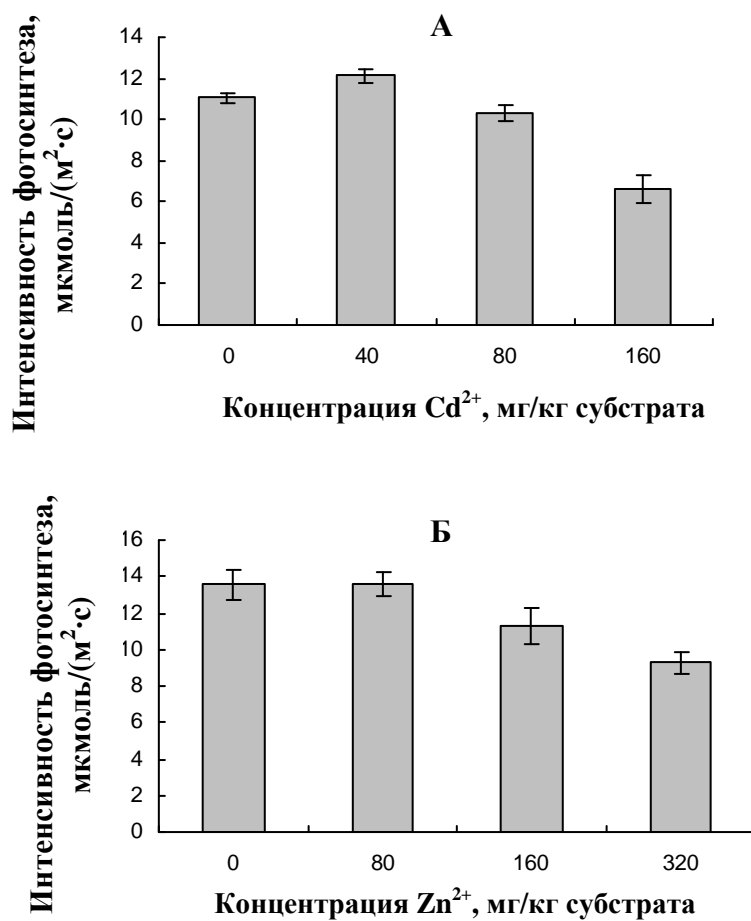


Рис. 20. Влияние кадмия (А) и цинка (Б) на интенсивность фотосинтеза растений ячменя с. Дина

3.3. Влияние тяжелых металлов на водный обмен растений

Водный обмен – одна из наиболее важных составляющих жизнедеятельности растений. Поддержание в клетках и тканях определенного уровня водного баланса является обязательным условием не только нормального роста и развития растений, но и их устойчивости к факторам внешней среды (Barceló, Poschenrieder, 1990). У культурных злаков водный режим играет одну из ключевых ролей в формировании продуктивности, нарушения его параметров могут приводить к значительным снижениям надземной биомассы и семенной продуктивности растений (Шевелуха, 1992).

Тем не менее известно, что почти любые изменения в окружающей среде тем или иным образом отражаются на водном обмене растений (Кудоярова и др., 2001). О негативном влиянии тяжелых металлов на этот процесс уже описывалось в Главе 1.3. При этом выявлено, что наиболее чувствительным к их действию показателем является интенсивность транспирации. Так, в целом ряде исследований у растений разных видов, произраставших в условиях повышенных концентраций тяжелых металлов, зафиксировано замедление скорости транспирации. Подобный эффект был обнаружен и у культурных видов злаков, например, при действии кадмия – у пшеницы (Veselov et al., 2003; Ci et al., 2010), кукурузы (Bazzaz et al., 1974b) и риса (Uraguchi et al., 2009), в присутствии высоких концентраций цинка – у ячменя (Brune et al., 1994). Хорошо известно, что уменьшение интенсивности процесса может быть связано с уменьшением размеров и поглотительной способности корней, с частичным закрытием устьиц. Имеются также данные о том, что в присутствии тяжелых металлов уменьшение скорости транспирации может быть связано со снижением количества и диаметра сосудов ксилемы (Barceló, Poschenrieder, 1990).

В наших опытах более высокие концентрации тяжелых металлов также вызывали заметное снижение интенсивности транспирации (табл. 20). При этом в присутствии кадмия в концентрации 160 мг/кг субстрата и цинка в концентрации 320 мг/кг субстрата степень ингибирования скорости транспирации была сходной со степенью ингибирования интенсивности фотосинтеза (см. рис. 17). Поскольку уровни транспирации и фотосинтеза коррелируют с устьичной проводимостью (Smýkalová, Zámeč-

niková, 2003), то замедление скорости этих процессов при действии кадмия и цинка является, очевидно, результатом частичного закрытия устьиц (Pietrini et al., 2003), что подтверждается выявленным нами снижением устьичной проводимости.

Таблица 20

Влияние тяжелых металлов на интенсивность транспирации и устьичную проводимость у растений ячменя с. Дина

Концентрация кадмия, мг/кг субстрата	Интенсивность транспирации, ммоль/(м ² ·с)	Устьичная проводимость, ммоль/(м ² ·с)
Кадмий		
0	4.08±0.12	164.68±6.71
40	4.71±0.13	177.60±6.60
80	2.96±0.16*	114.56±7.35*
160	0.98±0.25*	94.00±8.99*
Цинк		
0	4.44±0.13	131.77±5.20
80	4.46±0.09	140.67±8.22
160	3.50±0.31*	116.97±6.26*
320	2.50±0.20*	106.18±4.08*

Примечание. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Вместе с тем обнаруженное нами снижение скорости транспирации у ячменя при действии кадмия и цинка можно рассматривать и с точки зрения адаптационных механизмов, дающих возможность растениям поддерживать необходимый уровень оводненности тканей при уменьшении размеров корневой системы (Salt et al., 1995), что и было отмечено в наших опытах (табл. 21).

Таблица 21

Влияние тяжелых металлов на оводненность
тканей корня и побега у растений ячменя с. Дина

Концентрация металлов, мг/кг суб- страта	Оводненность тканей корня, %	Оводненность тканей побега, %
Кадмий		
0	87.7±0.9	86.3±1.2
40	90.9±1.2	89.3±0.8
80	87.6±1.4	90.0±1.0
160	89.2±0.8	89.2±0.7
Цинк		
0	90.3±0.5	85.4±0.5
80	91.6±0.5	85.9±0.7
160	88.4±1.2	86.5±1.2
320	88.4±1.2	85.9±1.0

Помимо замедления скорости транспирации при уменьшении размеров корневой системы, поддержание высокого уровня оводненности клеток можно объяснить и тем, что у ячменя, в отличие от большинства других видов сосудистых растений, основную роль в транспорте воды к сосудам ксилемы играет симпластический путь, позволяющий в неблагоприятных условиях среды более эффективно (по сравнению с апопластическим) осуществлять контроль за поступлением воды в клетки, усиливая водопоглотительную способность корней (Steudle, Jeschke, 1983; Веселов и др., 2007).

В целом, проведенные нами исследования показали, что кадмий и цинк в высоких концентрациях замедляют интенсивность транспирации и снижают устьичную проводимость у ячменя. Однако снижение скорости транспирации при замедлении роста корня, а также преимущественно симпластический транспорт воды в клетках,

характерный для растений этого вида, позволяют им сохранять высокий уровень оводненности тканей корня и побега, что способствует повышению их металлоустойчивости. Нельзя не отметить также, что снижение транспирации уменьшает поток токсичных ионов в листья, что может рассматриваться в качестве защитно-приспособительного механизма, действующего на уровне целого растения (Uraguchi et al., 2009).

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что культурные злаки обладают высокой устойчивостью к тяжелым металлам. Хорошая всхожесть их семян, способность на ранних этапах развития восстанавливать деление клеток апикальной меристемы стебля и сохранять активный рост побега при замедлении роста корня, а также поддерживать высокий уровень активности ФСА и оводненности тканей позволяют растениям не только произрастать длительное время в условиях повышенных концентраций кадмия, свинца и цинка в корнеобитаемой среде, но и переходить к генеративному развитию и формировать семена.

3.4. Влияние возрастных различий на устойчивость культурных злаков к кадмию

На протяжении всего жизненного цикла в растениях постоянно происходят различные анатомо-морфологические и физиолого-биохимические изменения, многие из которых достаточно хорошо изучены. Например, имеются данные о возрастных различиях в соотношении уровня гормонов (Полевой, 2001), содержании пигментов (Сытник и др., 1978), скорости фотосинтеза (Мокроносов, 1983) и дыхания (Семихатова, 1998). В основе этих изменений, прежде всего, лежат молекулярно-генетические процессы, связанные с дифференциальной активностью генома, которые и обеспечивают, в конечном счете, реализацию всей программы развития растения (Батыгин, 1986).

С другой стороны известно, что характер адаптивных реакций, имея генетическую природу, также во многом зависит от возраста растений (Жученко, 1988). Например, возрастные различия в устойчивости растений обнаружены по отношению к таким стрессорам как низкие температуры (Батыгин, 1986), дефицит воды (Шматько, Григорюк, 1992), повышенный уровень радиации (Fellenberg, 1982). При этом выявлено, что в период прорастания семян и у молодых проростков устойчивость обычно невысока, тогда как в период формирования вегетативных органов растений, она заметно возрастает. Что касается влияния возрастных различий на устойчивость растений к тяжелым металлам, то об этом известно крайне мало. В литературе имеются лишь единичные сведения, указывающие на их существование, в частности, по отношению к кадмию (Shaw, Rout, 1998; Vassilevet al., 1998b; Drażkiewicz et al., 2003). Однако природа этих различий по сути дела не обсуждается.

На основании этого нами была поставлена задача: выяснить влияние возраста растений на их устойчивость к кадмию, как наиболее токсичному тяжелому металлу. Для ее выполнения мы в качестве условной модели использовали 3-х и 7-дневные проростки ячменя. Несмотря на близость их календарного возраста, изученные растения находились в существенно разном возрастном состоянии. Так, в возрасте 3-х дней у ячменя зафиксирован I этап органогенеза. Проросток в этот момент еще гетеро-

трофный, у него активно растет зародышевый корень, затем появляется колеоптиль и шильце первого листа (Куперман, 1982). В эту фазу у растений усиливается интенсивность дыхания и поглощение воды в клетки (Николаева и др., 1999). В возрасте 7-и дней у растений отмечался II этап органогенеза. На этом этапе происходит дифференциация конуса нарастания и формирование основных вегетативных органов растения (узлов, междоузлий и листьев), что в значительной мере предопределяет его будущий габитус. Проросток при этом переходит на автотрофное питание, у него разворачивается первый лист и появляются придаточные корни (Куперман, 1982; Батыгин, 1986). В фазе всходов у растений существенно повышается содержание хлорофилла и возрастает интенсивность фотосинтеза (Сытник и др., 1978). Следовательно, каждому из изученных нами возрастных состояний соответствуют вполне конкретные анатомо-морфологические и физиолого-биохимические особенности. Более того, как следует из литературы, с этими различиями в определенной степени может быть связана и их неодинаковая устойчивость к неблагоприятным факторам среды (Жученко, 1988).

Поскольку известно, что степень ингибирования тяжелыми металлами физиологических процессов в значительной мере зависит от их количества в органах растений (Herren, Feller, 1996; Vassilev et al., 1998b), нами был проведен анализ содержания кадмия в корне и побеге проростков ячменя разного возраста. Оказалось, что после 4-суточной экспозиции на растворе с кадмием содержание металла в подземных органах 7-дневных проростков было в 1.3 раза выше, чем у 3-дневных. Количество же кадмия в сформированных в присутствии металла листьях (первом у 3-дневных проростков и втором - у 7-дневных) было практически равным (табл. 22).

Таблица 22

Влияние возрастных различий на содержание кадмия (в мкг/г сырого веса)
в корнях и листьях растений ячменя с. Зазерский 85
после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом

Возраст растений до обработки Cd ²⁺ (100 мкМ)	Содержание кадмия, мкг/г сырого веса	
	Корень	Лист
3-дневные	20.50±0.68*	2.42±0.06
7-дневные	27.02±0.51	2.61±0.37

Примечание. Содержание кадмия в корнях растений контрольных вариантов 0.31±0.01 мкг/г сырой массы, в стеблях и листьях – менее 0.01 мкг/г сырого веса.

* – различия между растениями разного возраста достоверны при $P \leq 0.05$.

Проведенные нами исследования влияния кадмия на физиологические процессы и показатели у ячменя выявили ярко выраженные различия в ответной реакции растений разного возраста. В частности, при действии металла на 3-дневные проростки отмечено замедление роста корня и побега, при этом прирост длины наиболее развитого корня был более, чем на 40% меньше, чем в контроле, прирост высоты побега снижался на 30% (рис. 21). При внесении же металла в корнеобитаемую среду 7-дневных растений, заметных различий в приросте корня и побега между опытными и контрольными вариантами отмечено не было, несмотря на более высокое содержание металла в корнях.

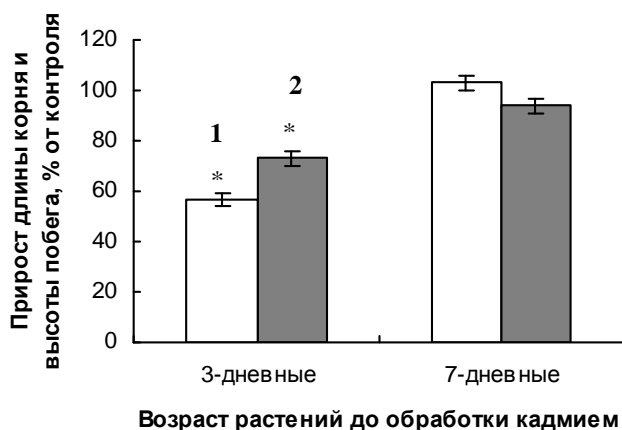


Рис. 21. Влияние кадмия на рост проростков ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом (100 мкМ).

1 – прирост длины корня, 2 – прирост высоты побега.

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Изучение показателей активности ФСА и водного обмена было проведено на листьях, развернувшихся во время экспозиции на растворе с кадмием (1-ом или 2-ом листе в зависимости от возраста проростков), что позволило исключить возможные дополнительные эффекты, связанные с разным возрастом самого листа.

В ходе экспериментов выявлено, что, несмотря на практически равное количество кадмия в изучаемых листьях активность ФСА различалась у растений разного возраста. Так, после воздействия металла на 3-дневные проростки заметно уменьшалось содержание хлорофиллов и каротиноидов (на 17-18% по сравнению с контролем), замедлялась скорость электронного транспорта (на 24%), снижалась интенсивность фотосинтеза (на 23%) (табл. 23). При воздействии же металла на 7-дневные растения показатели ФСА оставались на уровне близком к контролю, и только несколько уменьшалось содержание хлорофиллов, что, однако, не отразилось на интенсивности фотосинтеза.

Таблица 23

Влияние кадмия на фотосинтетический аппарат растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом (100 мкМ)

Показатель	3-дневные растения		7-дневные растения	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Хл <i>a</i>	0.695±0.004	0.580±0.001*	0.934±0.010	0.821±0.002*
Хл <i>b</i>	0.183±0.007	0.151±0.003*	0.259±0.001	0.230±0.004*
Хл <i>a + b</i>	0.873±0.01	0.732±0.005*	1.193±0.010	1.051±0.009*
Car	0.284±0.002	0.237±0.001*	0.346±0.002	0.333±0.014
<i>Fv/Fm</i>	0.755±0.007	0.755±0.003	0.725±0.011	0.716±0.010
ETR	62.06±2.90	47.22±0.90*	52.56±2.30	55.72±2.32
ИФ	5.99±0.17	4.64±0.17*	10.20±0.38	10.00±0.35

Примечание. Хл *a* – содержание хлорофилла *a* (мг/г сырого веса); Хл *b* – содержание хлорофилла *b* (мг/г сырого веса); Car – содержание каротиноидов (мг/г сырого веса); *Fv/Fm* – максимальная квантовая эффективность фотосистемы II; ETR – скорость электронного транспорта (условные единицы); ИФ – интенсивность фотосинтеза (мкмоль/(м²·с)). * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Степень ингибирования кадмием параметров водного обмена также зависела от возраста растений (табл. 24). В частности, у более молодых проростков в присутствии металла на нижнем эпидермисе листа образовывалось меньшее количество устьиц (на 20% по отношению к контролю), уменьшались длина замыкающих клеток (на 17%) и площадь устьичной щели (на 34%). В результате у опытных растений не только замедлялся фотосинтез, но и снижались устьичная проводимость (на 39% по сравнению с контрольными растениями) и интенсивность транспирации (на 24%). В отличие от этого у проростков более старшего возраста негативное влияние металла на устьичный аппарат практически отсутствовало. Отмечено лишь некоторое уменьшение длины замыкающих клеток устьиц, однако при этом скорость транспирации и устьичная проводимость оставались на уровне близком к контролю.

Таблица 24

Влияние кадмия (100 мкМ) на некоторые показатели водного режима растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом (100 мкМ)

Показатель	3-дневные растения		7-дневные растения	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Кол-во устьиц	278.0±4.6	219.6±4.9*	279.5±4.7	279.5±5.8
Ду	50.38±0.79	41.88±0.79*	45.28±0.65	39.75±0.64*
S _{у.щ.}	152.6±7.8	116.7±5.7*	106.1±3.8	118.3±6.7
ИТ	1.44±0.10	1.07±0.07*	1.69±0.15	1.62±0.10
УП	98.3±7.6	72.02±1.63*	120.9±9.0	117.9±3.5

Примечание. Количество устьиц (шт/мм²); Ду – длина замыкающих клеток устьиц (мкм); S_{у.щ.} – площадь устьичной щели (мкм²); ИТ – интенсивность транспирации (ммоль/(м²·с)); УП – устьичная проводимость (ммоль/(м²·с)). * – различия с контролем достоверны при P ≤ 0.05.

Необходимо отметить, что некоторые из выявленных нами возрастных различий в ответной реакции растений на действие кадмия отмечались и у других растительных объектов. В частности, при внесении металла в концентрации 100 мкМ в корнеобитаемую среду 5-дневных проростков бобов за 4 сут экспозиции существенно уменьшался рост корня, тогда как у 8-дневных растений подобных изменений не наблюдалось (Shaw, Rout, 1998). Заметное уменьшение содержания хлорофилла *b* и каротиноидов в присутствии кадмия в концентрации 400 мкМ отмечено у более молодых растений озимого ячменя, при этом у растений более старшего возраста эти показатели оставались на уровне контрольного варианта (Vassilev et al., 1998b). У растений *Cajanus cajan*, находящихся на ранней фазе развития, при воздействии кадмия в концентрации 500 мкМ снижалась скорость фотосинтеза, а при внесении металла в субстрат на более поздней фазе подобный эффект не наблюдался. Кроме того, у более взрослых растений в меньшей степени ингибировалась активность РБФК/О (Sheoran et al., 1990). Однако с чем могут быть связаны выявленные различия, в этих работах не обсуждается.

Поскольку в наших исследованиях возраст исследуемых листьев (соответственно 1-го и 2-го) был одинаков, и содержание кадмия в них также практически не различалось, более высокую устойчивость 7-дневных проростков по сравнению с 3-дневными можно, на наш взгляд, объяснить возрастными изменениями в метаболизме растений. Известно, например, что с возрастом (в пределах ранних фаз развития) у растений усиливается интенсивность фотосинтеза листьев (Skórzyńska-Polit, Baszyński, 1997; Шерстнева, 2007), что наблюдалось нами в контрольном варианте. У культурных злаков в процессе генеративного развития изменяется интенсивность транспирации. Кроме того, для растений разного возраста характерна неравномерность потребления элементов минерального питания, в частности наибольшая потребность в жизненно необходимых элементах наблюдается на ранних фазах развития (Битюцкий, 2005). Имеются данные и о разной активности некоторых ферментов у растений разного возраста. Так, у более взрослых растений *Cajanus cajan* кадмий в концентрации 500 мкМ в меньшей степени ингибировал активность ряда ферментов цикла Кальвина по сравнению с более молодыми (Sheoran et al., 1990). Обнаружено также значитель-

ное увеличение активности ферментов антиоксидантной защиты (например, каталазы) при добавлении кадмия в питательную среду растений бобов на более поздней фазе вегетации, тогда как при действии металла на более ранней фазе этот эффект выражен слабее (Shaw, Rout, 1998). Помимо этого обнаружено, что в неблагоприятных условиях среды на ранних фазах развития растения стремятся обеспечить рост подземных и надземных органов, снижая при этом интенсивность основных физиологических процессов. В отличие от этого на более поздних этапах онтогенеза, когда происходит подготовка к закладке генеративных органов, растения сохраняют на высоком уровне активность ФСА и водный режим за счет торможения роста надземных органов (Удовенко, Гончарова, 1982; Жученко, 1988; Шевелуха, 1992; Воскресенская, 2009).

На основании полученных результатов исследований и анализа данных литературы нами было высказано предположение, согласно которому различия в устойчивости растений разного возраста к тяжелым металлам, в частности к кадмию, определяются не только их физиолого-биохимическими особенностями, характерными для определенной фазы развития, но и связаны с количественными и/или качественными различиями в активности действующих на разных этапах развития растений клеточных механизмов металлоустойчивости.

Для проверки этого предположения в дальнейшем были проведены исследования по изучению молекулярно-генетических механизмов устойчивости к кадмию у растений ячменя с учетом их возраста.

ГЛАВА 4. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВ К КАДМИЮ

Способность растений произрастать в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами обеспечивается наличием у них широкого спектра разнообразных механизмов устойчивости, действующих на разных уровнях организации растительного организма (Yang et al., 2005; Титов и др., 2007). В настоящее время благодаря широкому применению новых методов и, прежде всего, молекулярно-генетических, в понимании этих механизмов достигнут значительный прогресс. Хотя необходимо констатировать, что целый ряд аспектов устойчивости и адаптации растений к тяжелым металлам все еще остаются недостаточно полно изученными и требуют продолжения исследований.

4.1. Уровень транскриптов генов белков, участвующих в синтезе хелаторов тяжелых металлов, и содержание глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях растений ячменя при действии кадмия

Несмотря на функционирование целого ряда механизмов, препятствующих поступлению тяжелых металлов в растения, при высоких их концентрациях в окружающей среде определенное количество ионов все-таки проникает в клетку, где в этом случае начинают действовать внутриклеточные механизмы их детоксикации, включающие связывание ионов тяжелых металлов в цитоплазме различными хелаторами и транспорт таких комплексов, а также свободных ионов в вакуоль.

Одним из наиболее важных механизмов устойчивости растений к кадмию является связывание его ионов непротеиновыми тиолами (GSH и ФХ), а также низкомолекулярными белками – металлотионеинами (Wagner, 1993; Prasad, 1995; Rauser, 1999; Clemens et al., 2002; Haydon, Cobbett, 2007).

Роль глутатиона в металлоустойчивости растений в основном ограничивают его участием в синтезе ФХ в клетке. Однако обнаружено, что и сам GSH может связывать ионы тяжелых металлов в цитоплазме, тем самым снижая их токсичность для расте-

ний. При этом полагают, что у устойчивых к тяжелым металлам видов растений синтез GSH в присутствии этих элементов относительно быстро активируется, восстанавливая его содержание, тогда как у менее устойчивых – это происходит с большой задержкой, а в некоторых случаях синтез вообще не запускается (Halušková et al., 2009). На основании этого было предложено использовать показатель содержания GSH в клетках растений в качестве критерия устойчивости растений к тяжелым металлам (Garg, Kaur, 2013).

Известно, что скорость синтеза глутатиона зависит от активности участвующих в нем ферментов γ -глутамилцистеинсинтетазы (γ -GCS) и глутатионсинтетазы (GS), которая в свою очередь коррелирует с уровнем экспрессии соответствующих генов (Xiang, Oliver, 1998; Li et al., 2006).

В этой связи мы в своих исследованиях изучали влияние кадмия на уровень транскриптов гена *HvGS*, а также на содержание GSH в клетках корня и листа растений ячменя разного возраста. Проведенные эксперименты выявили, что после экспозиции на растворе с металлом количество транскриптов этого гена увеличивалось только в корнях и листьях 7-дневных (более устойчивых к кадмию) проростков (рис. 22). В отличие от этого у 3-дневных растений такого эффекта не наблюдалось.

При этом содержание GSH в корнях 3-дневных проростков заметно снижалось (по сравнению с контролем), тогда как у 7-дневных проростков – повышалось (рис. 23). В листьях изменения в содержании GSH оказались гораздо менее выражены.

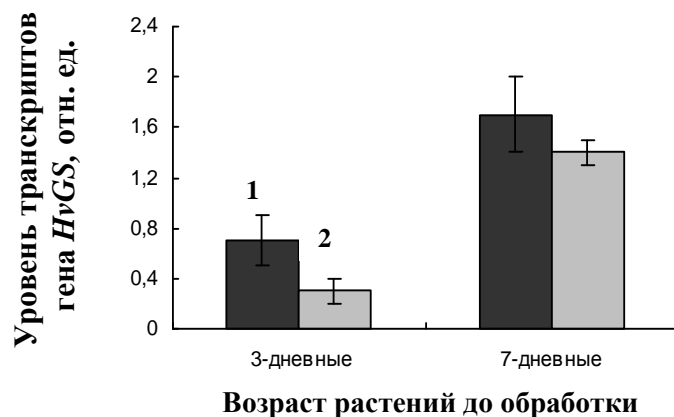


Рис. 22. Уровень транскриптов гена *HvGS* в корнях (1) и листьях (2) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100 мкМ). Уровень транскриптов гена у растений контрольного варианта принят за единицу.

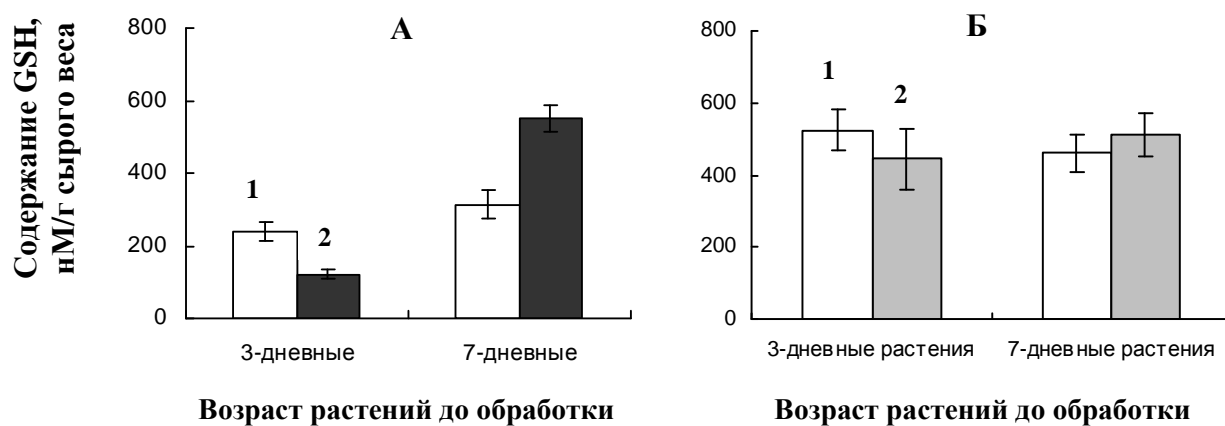


Рис. 23. Содержание GSH в корнях (А) и листьях (Б) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100 мкМ)
1 – контроль, 2 – опыт.

Уменьшение содержания GSH в корнях 3-дневных проростков в присутствии кадмия, отмеченное также другими авторами у растений пшеницы (Lin et al., 2007), риса (Hassan et al., 2008), гороха (Malecka et al., 2009) и др., связано в значительной степени с расходом его молекул на образование комплексов с тяжелыми металлами и синтез ФХ, а также с уменьшением экспрессии генов ферментов синтеза GSH и задержкой самого синтеза. Обнаруженное же нами довольно быстрое повышение его количества в корнях 7-дневных проростков явилось, по всей видимости, следствием активации его синтеза, о чем свидетельствует и повышение уровня транскриптов гена фермента *HvGS*.

Незначительные изменения в количестве GSH в листьях, возможно, объясняются тем, что в нормальных условиях среды листья синтезируют GSH в избытке, экспортируя его в другие органы, в присутствии же металла экспорт GSH резко сокращается, сохраняя его высокое содержание в листе и обеспечивая тем самым защиту клеток мезофилла от токсичных ионов (Heiss et al., 2003).

На сегодняшний день доказано, что при поступлении тяжелых металлов в клетки у растений активируется синтез ФХ из GSH, который регулируется на уровне экспрессии гена фермента фитохелатинсинтазы (PCS), а также генов, кодирующих ферменты синтеза глутатиона. Однако существует ли зависимость между экспрессией генов и количеством ФХ, с одной стороны, и уровнем металлоустойчивости растений, с другой – остается не ясным. Так, в целом ряде работ показано, что растения (виды, экотипы, генотипы, клеточные линии) с высоким уровнем синтеза ФХ в клетках обладают гораздо большей устойчивостью к тяжелым металлам, чем с низким уровнем этих тиолов (Cobbett, 2000; Clemens, 2006a; Wawrzyński et al., 2006). В то же время имеются работы, в которых подобная зависимость не выявлена (Schat, Kalff, 1992; Ebbs et al., 2002; Hassan, Aarts, 2011).

В наших опытах в присутствии кадмия у растений ячменя уровень транскриптов гена *HvPCS* увеличивался как у более устойчивых 7-дневных проростков, так и у менее устойчивых – 3-дневных после экспозиции на растворе с металлом. Более того, в корнях 3-дневных проростков он оказался почти в 2 раза выше, чем у 7-дневных (рис.

24). При этом содержание ФХ, наоборот, оказалось в 1.5 раза выше в корне более устойчивых 7-дневных растений (рис. 25).

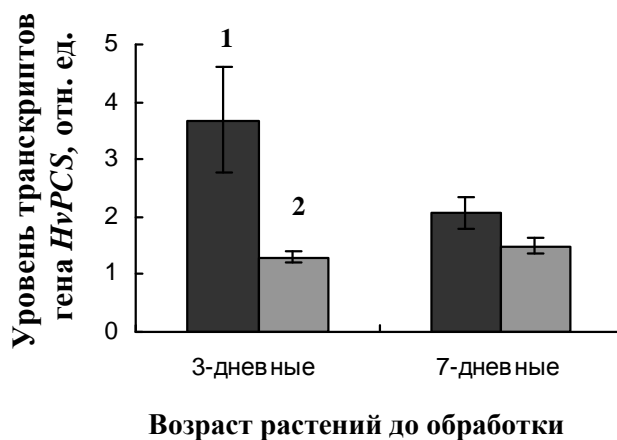


Рис. 24. Уровень транскриптов гена *HvPCS* в корнях (1) и листьях (2) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100 мкМ). Уровень транскриптов гена у растений контрольного варианта принят за единицу.

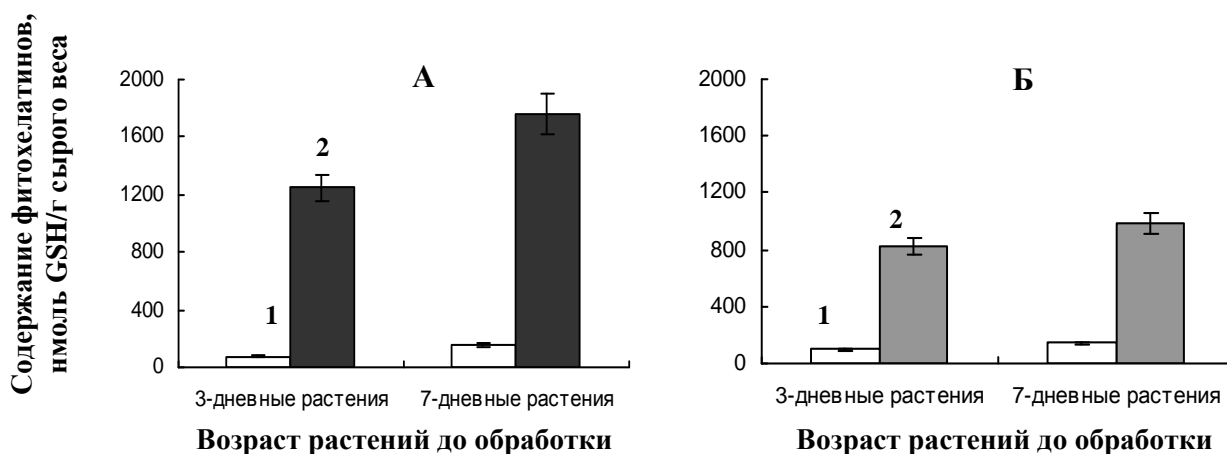


Рис. 25. Содержание фитохелатинов в корнях (А) и листьях (Б) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100 мкМ).

1 – контроль, 2 – опыт.

Обнаруженный эффект, очевидно, можно объяснить тем, что синтез фермента PCS ингибируется посредством механизма обратной связи высокими концентрациями ФХ в клетке. Поэтому более низкий уровень экспрессии гена в корне 7-дневных растений мог быть связан с бóльшим количеством ФХ в их клетках.

В листьях содержание ФХ также возрастало, причем практически в равной мере у растений разного возраста. Однако и их количество, и уровень транскриптов гена *HvPCS* были почти в 2 раза ниже, чем в корнях. Полученный эффект, скорее всего, был связан с меньшим количеством металла в надземных органах.

В целом наши данные согласуются с мнением, согласно которому у более устойчивых к тяжелым металлам растений (видов, сортов, генотипов) содержание ФХ в клетках корня больше, чем у менее устойчивых.

Помимо GSH и ФХ в связывании кадмия в цитоплазме клеток определенную роль играют металлотионеины (МТ) – низкомолекулярные белки, содержащие аминокислоту цистеин, сульфгидрильные группы которой связывают ионы ТМ (Zenk, 1996). Гены МТ являются так называемыми генами «домашнего хозяйства» (housekeeping genes), имеющимися во всех клетках. Роль этих белков в растительных клетках еще довольно слабо изучена. При этом обнаружено, что увеличение экспрессии генов МТ и количества этих белков в клетках может способствовать повышению устойчивости растений к высоким концентрациям ТМ, однако экспериментальных данных, подтверждающих это, относительно немного.

Мы в своих исследованиях исследовали влияние кадмия на количество матриц генов *HvMT1* и *HvMT2*, ответственных за синтез металлотионеинов 1-го и 2-го типов, у растений ячменя разного возраста. Результаты экспериментов показали, что после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом уровень транскриптов генов значительно увеличивается в корне и листе только 7-дневных проростков (рис. 26). У 3-дневных проростков изменений в уровне экспрессии этих генов не наблюдалось.

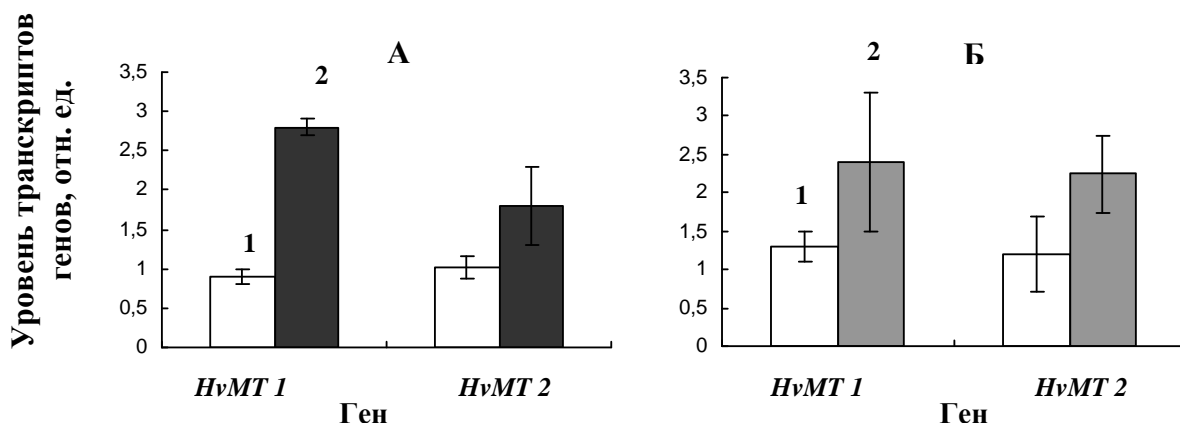


Рис. 26. Уровень транскриптов генов *HvMT1* и *HvMT2* в корнях (А) и листьях (Б) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100 мкМ)

1 – 3-дневные проростки, 2 – 7-дневные проростки. Уровень транскриптов генов у растений контрольного варианта принят за единицу.

В целом, в ответ на действие тяжелых металлов (в частности, кадмия) в клетках злаков активируется синтез хелатирующих веществ, участвующих в детоксикации их ионов. При этом, как мы и предполагали, между растениями разного возраста наблюдаются отчетливо выраженные различия в действующих механизмах детоксикации металлов как количественного, так и качественного характера. Более высокая устойчивость к кадмию 7-дневных проростков связана с усилением синтеза GSH в клетках, что способствует восстановлению общего пула глутатиона после использования его молекул на синтез ФХ, с более высоким содержанием ФХ в клетках корня и листа, а также с усилением синтеза МТ.

4.2. Участие генов, контролирующих синтез трансмембранных белков, и генов субъединиц вакуолярной H^+ -АТФазы в механизмах устойчивости растений ячменя к кадмию

Еще одним важным механизмом, обеспечивающим устойчивость растений к тяжелым металлам, является изоляция ионов в вакуолях клеток, что нейтрализует их негативное влияние на клеточный метаболизм. Действие этого механизма в клетках корня еще и предотвращает поступление тяжелых металлов в надземные органы (Lin, Aarts, 2012). Как показано в ряде исследований, ионы тяжелых металлов могут транспортироваться в вакуоль через вакуолярную мембрану как в свободном виде, так и в связанном с GSH или ФХ с участием целого ряда белков-переносчиков. Активность транспортных белков тонопласта и генов, участвующих в их синтезе, играет важную роль в детоксикации ионов тяжелых металлов в растительной клетке (Verkleij et al., 1998; Chardonens et al., 1999).

Нами изучено влияние кадмия на уровень транскриптов генов двух транспортных белков – HMA3 (*heavy metal ATPase*) и CAX2 (*cation/proton exchanger*), осуществляющих перенос свободных ионов кадмия в вакуоль.

HvHMA3. Среди белков переносчиков ионов тяжелых металлов через тонопласт хорошо известен в настоящее время транспортный белок **HMA3**, который осуществляет перенос свободных ионов тяжелых металлов через тонопласт в вакуоль за счет энергии АТФ. По последним данным, этот белок может также участвовать в транспорте кадмия из корней в стебли, что, в частности, было обнаружено у риса (Ueno et al., 2010; Satoh-Nagasawa et al., 2012).

Проведенные нами исследования выявили ряд органоспецифичных и возрастных различий в уровне транскриптов генов *HvHMA3* у растений ячменя в присутствии кадмия. Так, количество матриц гена *HvHMA3* возросло (в 3.2 раза) в корне 3-дневных (менее устойчивых к кадмию) проростков. В отличие от этого у 7-дневных (более устойчивых к металлу) проростков в корне изменения количества транскриптов гена не происходило, наблюдалось лишь некоторое его увеличение (в 1.6 раза) в клетках листа (рис. 27).

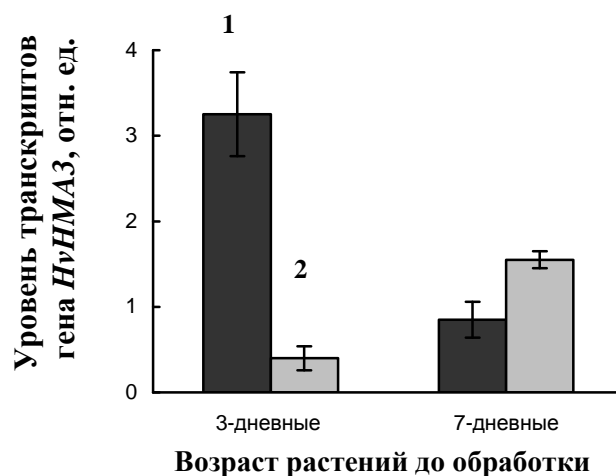


Рис. 27. Уровень транскриптов гена *HvHMA3* в корнях (1) и листьях (2) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100мкМ). Уровень транскриптов гена у растений контрольного варианта принят за единицу.

Относительно возможного участия HMA3 белков и соответствующих им генов в повышении устойчивости растений к кадмию в литературе нет единого мнения. Так, у *T. caerulea* (Ueno et al., 2011), который является гипераккумулятором металла, увеличение экспрессии *HMA3*-генов приводило к возрастанию концентрации кадмия в органах, при этом устойчивость растений к токсичным ионам повышалась. Увеличение количества транскриптов генов *AtHMA3* в корнях растений *Arabidopsis thaliana* коррелировало с высокой устойчивостью растений к кадмию, тогда как удаление этого гена (у мутантных растений), наоборот, приводило к возрастанию чувствительности к металлу (Caillate et al., 2009). В отличие от этого, у *Nicotiana tabacum* и *N. rustica* (Bovet et al., 2006), у риса (Miyadate et al., 2011) возрастание экспрессии *HMA3*-генов в корнях в присутствии кадмия не вызывало увеличения их устойчивости к ионам этого металла. В наших опытах также повышение уровня транскриптов гена *HvHMA3* в корнях 3-дневных проростков не сопровождалось повышением их устойчивости к кадмию.

HvCAX2. Помимо НМАЗ белков, транспортные белки семейства **CAX** осуществляют перенос свободных ионов тяжелых металлов через тонопласт за счет энергии протонного градиента в антипорте с H^+ (Clemens, 2006b; Kabała, Janicka-Russak, 2011). Кроме того, увеличение активности CAX-белков, изменяя концентрацию протонов на мембране, может способствовать поступлению через тонопласт также низкомолекулярных комплексов ионов тяжелых металлов с ФХ (Yang, Chu, 2011). Сведений, касающихся влияния тяжелых металлов на уровень экспрессии генов *CAX* в растительных клетках крайне мало. Обнаружено, что в присутствии целого ряда тяжелых металлов наблюдается увеличение количества транскриптов генов *CAX1*, *CAX2* и *CAX4*, контролирующих синтез соответствующих белков-транспортёров, однако их роль в механизмах металлоустойчивости до сих пор не установлена. В известной нам литературе имеются лишь несколько примеров. Так, в корнях трансформированных растений табака более высокий уровень экспрессии генов *Arabidopsis thaliana* – *AtCAX2* и *AtCAX4* – коррелировался с более высокой устойчивостью проростков к кадмию и цинку по сравнению с диким типом (Korenkov et al., 2007), а у *Alyssum lesbiacum* (P. Candargy) Rech.f. увеличение экспрессии гена *AtCAX1* коррелировало с высокой устойчивостью растений к никелю (Ingle et al., 2008).

В наших исследованиях после 4-суточной экспозиции на растворе с кадмием количество транскриптов гена *HvCAX2* увеличивалось в корнях и листьях как более устойчивых к кадмию 7-дневных проростков, так и менее устойчивых – 3-дневных. При этом в бóльшей степени (в 8.5 раза по сравнению с контролем) оно увеличивалось в корнях 3-дневных проростков, тогда как у 7-дневных – только в 3 раза (рис. 28). В листьях же, наоборот, количество матриц гена возрастало в большей степени у 7-дневных проростков.

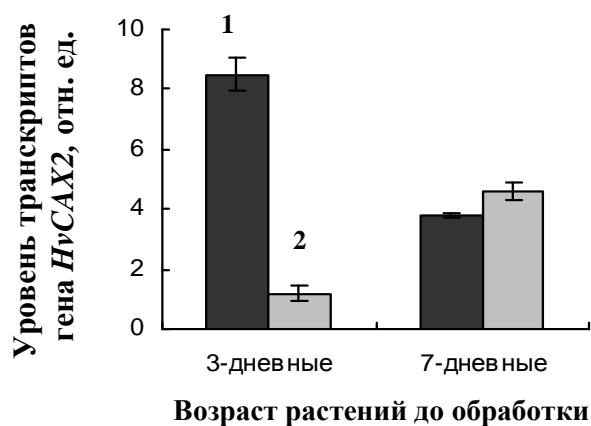


Рис. 28. Уровень транскриптов гена *HvCAH2* в корнях (1) и листьях (2) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100 мкМ). Уровень транскриптов гена у растений контрольного варианта принят за единицу.

Таким образом, наши опыты выявили, что при действии кадмия у менее устойчивых проростков ячменя в корнях резко возрастает количество транскриптов генов белков, участвующих в транспорте свободных ионов металла в вакуоль, тогда как более устойчивые проростки характеризуются более высоким уровнем экспрессии этих генов в листьях, что, очевидно, направлено на уменьшение количества свободных ионов в цитоплазме клеток листа. Возможно, это явилось одной из причин устойчивости ФСА растений этого возраста к кадмию.

Проведенные исследования позволяют с большой долей уверенности свидетельствовать об участии генов *HvHMA3* и *HvCAH2* в механизмах устойчивости растений ячменя к кадмию.

HvVHA E и *HvVHA c*. Известно, что вакуолярная H^+ -АТФаза обеспечивает работу антипортеров, в том числе САХ-белков (Maeshima, 2001). Как уже говорилось в Главе 1.5, вакуолярная H^+ -АТФаза высших состоит из нескольких субъединиц, кодируемых разными генами (Sze et al., 1992; Dietz et al., 2001). При этом выявлено, что повышение экспрессии генов даже нескольких субъединиц в условиях действия

стресс-факторов сопровождается увеличением активности фермента (Golldack, Dietz, 2001), что, в свою очередь, способствует усилению транспорта ионов, в том числе тяжелых металлов, и нейтральных молекул в вакуоль (Kluge et al., 2003). На основании этого было высказано предположение о возможном участии вакуолярной H^+ -АТФазы в металлоустойчивости растений (Dietz et al., 2001). Однако экспериментальных данных, подтверждающих это почти нет. Обнаружено лишь, что в присутствии кадмия в листьях табака увеличение экспрессии генов субъединицы **В** (Berezin et al., 2008) и в корнях ячменя – субъединицы **Е** фермента (Finkemeier et al., 2003) приводило к повышению его активности и сопровождалось ростом устойчивости растений к металлу. Вместе с тем, изучение экспрессии генов отдельных субъединиц вакуолярной H^+ -АТФазы при действии тяжелых металлов может способствовать лучшему пониманию механизмов их изоляции в вакуоли клеток.

В наших исследованиях мы определяли влияние кадмия на экспрессию генов двух субъединиц вакуолярной H^+ -АТФазы, различающихся по местоположению и функциям. Субъединица **Е** принадлежит цитозольной части молекулы фермента и осуществляет совместно с другими субъединицами (от **С** до **Н**) поддержание его активности, обеспечение контакта и сопряжения работы двух частей вакуолярной H^+ -АТФазы. Субъединица **с** входит в состав мембранного (интегрального) комплекса молекулы фермента, который отвечает за транспорт протонов через мембрану (Dietz et al., 2001; Gaxiola et al., 2007).

В результате проведенных нами исследований было обнаружено, что после 4-суточной экспозиции на растворе с кадмием количество транскриптов гена *HvVHA-E* в корнях растений ячменя возрастало независимо от возраста проростков и их устойчивости к металлу. Однако если у 7-дневных проростков оно превышало контроль в 5.5 раз, то у 3-дневных – лишь в 2.5 раза (рис. 29). В листьях растений количество матриц этого гена достоверно увеличивалась (в 2 раза) лишь у более взрослых из них.

Уровень транскриптов гена *HvVHA-c* возрастал только у 7-дневных проростков.

Существует мнение, что более устойчивые к тяжелым металлам виды (экотипы, генотипы) растений имеют более низкую концентрацию металлов в цитоплазме именно в связи с увеличением активности V -АТФазы и, как следствие, усилением

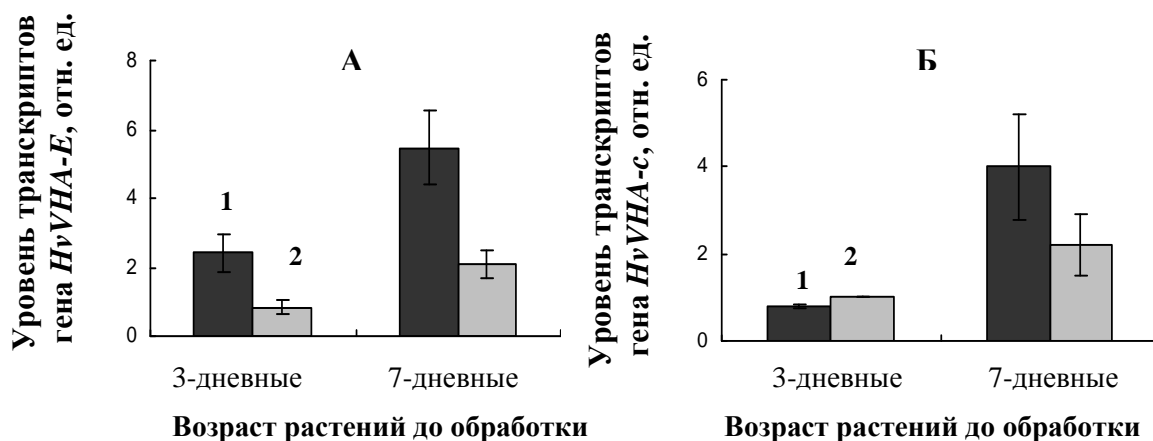


Рис. 29. Уровень транскриптов генов *HvVHA-E* (А) и *HvVHA-c* (Б) в корнях (1) и листьях (2) растений ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с Cd^{2+} (100мкМ).

Уровень транскриптов гена у растений контрольного варианта принят за единицу.

транспорта кадмия в вакуоль, по сравнению с менее устойчивыми растениями (Kabała et al., 2010). Наши исследования подтверждают это: при сопоставлении количества транскриптов генов двух субъединиц вакуолярной H^+ -АТФазы и устойчивости проростков разного возраста к кадмию отчетливо выявляется прямая зависимость, что позволяет с большой долей уверенности говорить об участии вакуолярной H^+ -АТФазы в механизмах повышения устойчивости растений к этому металлу.

Относительно причин выявленных у проростков возрастных различий в уровне экспрессии генов вакуолярной H^+ -АТФазы под влиянием кадмия в известной нам литературе сведений нет, хотя обнаружено, что онтогенетические изменения участвуют в регуляции экспрессии генов вакуолярной H^+ -АТФазы и могут приводить к изменению активности фермента (Löw et al., 1996). Не исключено, что возрастные изменения в активности вакуолярной H^+ -АТФазы могут быть связаны с онтогенетическими различиями в концентрации кальция в клетках корня, поскольку ионы Ca^{2+} играют одну из ключевых ролей в регуляции транспортных процессов на тонопласте (Ozolina et al., 2010).

В целом, результаты исследований показали, что как у устойчивых, так и у чувствительных к металлу проростков ячменя транспортная система тонопласта обеспечивает перемещение ионов кадмия в вакуоль, способствуя их изоляции в клетке. В этом процессе участвуют белки-переносчики катионов металлов через тонопласт (в том числе, НМА3 и САХ2) и вакуолярная H^+ -АТФаза. Однако если у менее устойчивых к кадмию 3-дневных проростков этот механизм функционирует только в корнях, то у более устойчивых 7-дневных еще и в листьях.

4.3. Интенсивность перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов в клетках корня и листа растений ячменя при действии кадмия

Тяжелые металлы в высоких концентрациях вызывают в клетках растений окислительный стресс, связанный с образованием избыточного количества активных форм кислорода (АФК) (Hegedus et al., 2001; Qureshi et al., 2007; Sandalio et al., 2009). Несмотря на то, что кадмий относится к металлам, которые не могут непосредственно генерировать АФК, он вызывает их накопление опосредованно за счет нарушений в структуре хлоропластов и митохондрий (Sandalio et al., 2001) или инактивации ферментов антиоксидантной защиты (Dietz et al., 1999; Schützendübel, Polle, 2002). Как показывают многочисленные исследования, тяжелые металлы в большинстве случаев вызывают увеличение интенсивности ПОЛ в клетках (Dixit et al., 2001; Guo et al., 2004; Nouairi et al., 2009; Amirjani, 2012 и др.). При этом авторы полагают, что интенсивность ПОЛ может служить надежным маркером для определения устойчивости растений к тяжелым металлам.

В этой связи нами проведено изучение влияния кадмия на содержание МДА в клетках корня и листа растений ячменя разного возраста. В результате исследований нами не было обнаружено ингибирующего действия кадмия на интенсивность ПОЛ в клетках корнях растений ячменя ни в одном из вариантов опыта. Некоторое его увеличение обнаружилось только в клетках листа 3-дневных проростков (рис. 31). От-

сутствие изменений в интенсивности ПОЛ свидетельствует об успешной работе системы антиоксидантной защиты, которая включает в себя целый ряд ферментов и неферментативных низкомолекулярных химических соединений (Hall, 2002; Полесская, 2007; Gamalero et al., 2009).

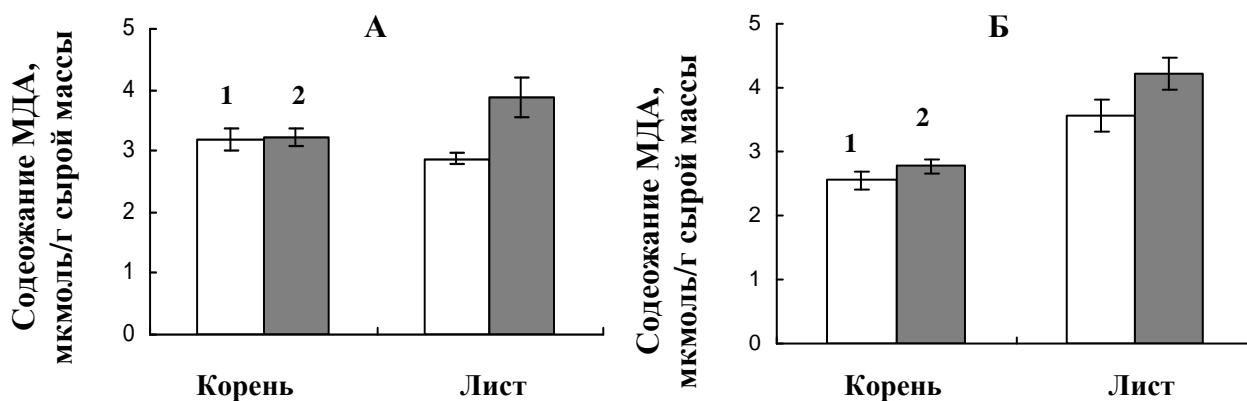


Рис. 31. Влияние кадмия на содержание МДА в корнях и листьях 3-дневных (А) и 7-дневных (Б) проростков ячменя с. Зазерский 85 после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом (100 мкМ).

1 – контроль; 2 – опыт.

Данные о влиянии тяжелых металлов на активность антиоксидантных ферментов весьма противоречивы. Ряд авторов указывает на увеличение активности ферментов в присутствии относительно высоких концентраций кадмия (Iannelli et al., 2002; Nouairi et al., 2009), тогда как другие обнаружили ее снижение (Dixit et al., 2001; Hu et al., 2009; Amirjani, 2012). Полагают, что такие различия могут быть связаны с разной интенсивностью и длительностью стрессового воздействия, а также видовыми особенностями растений (Карташов и др., 2008). Однако в целом большинство исследователей считают, что более устойчивые к стрессовому воздействию виды (сорта, генотипы) отличаются большей активностью антиоксидантных ферментов. Это подтверждают и эксперименты с трансгенными растениями с повышенным уровнем экспрессии генов некоторых из этих ферментов. Так, большую устойчивость к алюминию

имели растения пшеницы с высоким уровнем экспрессии гена *TaMnSOD1* (Basu et al., 2001). Описаны трансгенные растения *Pinus virginiana* Mill. с увеличенной активностью аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы и СОД, которые обладали повышенной устойчивостью к различным стрессовым воздействиям (Tang et al., 2005).

В наших исследованиях в присутствии кадмия в корнях растений ячменя увеличивалась активность антиоксидантных ферментов – СОД, КАТ и ПО, причем примерно в равной степени у проростков разного возраста (табл. 25). В листьях возрастание активности СОД и ПО оказалось даже более выраженным, чем в корнях, тогда как изменений активности КАТ не было обнаружено. Наиболее высокая активность отмечена у ПО в листе 3-дневных проростков.

Таблица 25

Влияние кадмия на активность антиоксидантных ферментов у проростков ячменя с. Зазерский 85 разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом (100 мкМ)

Фермент	3-дневные растения		7-дневные растения	
	контроль	Cd ²⁺	контроль	Cd ²⁺
Корень				
СОД, усл.ед. активности/мг белка	7.70 ± 0.41	10.20 ± 0.73*	5.33 ± 0.39	8.85 ± 0.51*
КАТ, мкмоль/мг белка · мин	4.40 ± 0.51	8.70 ± 0.70*	5.90 ± 0.80	17.61 ± 2.30*
ПО, мкмоль/мг белка · мин	20.91 ± 1.30	27.52 ± 2.21*	16.31 ± 2.29	29.10 ± 1.81*
Лист				
СОД, усл.ед. активности/мг белка	1.59 ± 0.16	4.33 ± 0.18*	1.50 ± 0.09	3.68 ± 0.22*
КАТ, мкмоль/мг белка · мин	18.20 ± 1.10	17.30 ± 1.2	20.7 ± 3.2	26.3 ± 2.6
ПО, мкмоль/мг белка · мин	0.46 ± 0.03	5.27 ± 0.62*	0.35 ± 0.03	3.23 ± 0.12*

Примечание. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

В единичных работах указывается на то, что содержание ферментов-антиоксидантов при стрессовых условиях может определяться возрастом растений (Полеская, 2007; Russo et al., 2008). Однако экспериментальных данных практически нет. В наших исследованиях у растений ячменя в присутствии кадмия наиболее выраженные качественные и количественные различия как в содержании МДА, так и в активности ферментов наблюдались между корнем и листом, тогда как между проростками разного возраста они оказались гораздо меньше.

Результаты исследований также показали, что из всех изученных ферментов наибольшее увеличение активности было обнаружено у ПО в листьях. Очевидно, это можно объяснить следующим: поскольку в результате дисмутации супероксид-радикалов под действием разных изоформ СОД происходит образование перекиси водорода, необходимым звеном антиоксидантной защиты растений являются ферменты, ликвидирующие перекись, среди которых гваяколовая ПО, которая, как известно, обладает повышенной чувствительностью к тяжелым металлам (Mac Farlane, Burchett, 2001; Гарифзянов и др., 2011).

В корнях, где концентрация тяжелых металлов гораздо выше, чем в листьях, увеличивается активность КАТ – фермента, который с очень высокой скоростью разлагает перекись водорода, но работает лишь в присутствии высокого ее содержания в клетке (Полеская, 2007). Повышение при этом активности еще и других ферментов-способствовало сохранению интенсивности ПОЛ в корнях на уровне контрольного варианта.

В целом, устойчивость растений ячменя к кадмию связана с функционированием антиоксидантной системы, элементы которой защищают клетки от окислительного стресса, вызванного повышенным уровнем АФК. В присутствии кадмия в клетках растений возрастает активность ферментов – СОД, КАТ и ПО. При этом степень увеличения активности в большей степени различается между органами растений и в гораздо меньшей степени – между проростками разного возраста. Тем не менее, у 3-дневных проростков, в отличие 7-дневных, несмотря на повышение активности СОД и ПО после экспозиции на растворе с металлом, несколько увеличивалась интенсивность ПОЛ в листьях, что, возможно, было связано с уменьшением у них содержания

GSH, который, как известно, является важным неферментативным антиоксидантом в клетке.

Таким образом, проведенные исследования показали, что между растениями разного возраста существуют заметные различия (как количественного, так и качественного характера) в активности некоторых действующих в клетках механизмов детоксикации кадмия. При этом более высокая устойчивость к металлу 7-дневных проростков связана с активацией экспрессии генов белков, участвующих в синтезе хелаторов металла, и с синтезом их молекул, что способствует связыванию ионов тяжелых металлов в цитоплазме и, таким образом, их инактивации, а также с увеличением уровня транскриптов генов транспортных белков, в том числе антипортера *CAH2* и субъединиц вакуолярной H^+ -АТФазы, обеспечивающих лучший транспорт ионов кадмия и, возможно, его комплексов в вакуоль как в корнях, так и в листьях растений. Увеличение при этом активности антиоксидантных ферментов, а также повышение уровня GSH позволяет растениям избежать окислительного стресса, вызванного действием тяжелых металлов.

В отличие от этого, у 3-дневных проростков, в большей степени функционируют механизмы, обеспечивающие транспорт токсичных ионов в вакуоль в клетках корня. Некоторое увеличение при этом содержания ФХ в корнях и листьях, а также возрастание активности ПО и СОД, способствующее инактивации АФК, обеспечивают возможность их дальнейшего роста в этих условиях.

ГЛАВА 5. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Негативное влияние тяжелых металлов на рост и развитие растений отражается на продуктивности не только отдельных видов, но и целых фитоценозов, что, в конечном счете, может вести к деградации растительных сообществ (Добровольский, 1992; Жиров и др., 2007; Алексеев, 2008). В этой связи в настоящее время возрастает актуальность изучения устойчивых к тяжелым металлам видов растений дикорастущей флоры. Такого рода исследования представляют как большой научный интерес с точки зрения лучшего понимания механизмов металлоустойчивости растений, так и определенную практическую значимость в связи с возможным использованием дикорастущих видов в восстановлении загрязненных тяжелыми металлами земель. Некоторые виды семейства *Poaceae* способны произрастать на загрязненных тяжелыми металлами территориях и, более того, выступать в роли устойчивых доминантов и содоминантов в травянистых сообществах, находящихся в условиях техногенного загрязнения (Атабаева, Sarsenbayev, 2004; Безель, Жуйкова, 2007; Прасад, 2009). Тем не менее, необходимо отметить, что механизмы устойчивости многолетних злаков к тяжелым металлам практически не изучены.

Исходя из этого, одной из задач нашей работы было оценить устойчивость к тяжелым металлам пяти видов дикорастущих злаков, произрастающих на территории Республики Карелия, и выявить некоторые физиолого-биохимические и молекулярные механизмы, лежащие в ее основе. Выбранные нами в качестве объектов исследования дикорастущие злаки различаются по эколого-биологическим характеристикам. Среди них однолетний вид – *Setaria viridis* и многолетние виды *Agrostis gigantea*, *Bromopsis inermis*, *Dactylis glomerata*, *Elytrigia repens* и *Phleum pratense*.

В литературе имеются сведения о негативном влиянии тяжелых металлов на ценопопуляции отдельных видов дикорастущих растений и в целом на растительные сообщества (Алексеева-Попова и др., 1983; Вайцховская, 1995а, б; Черненкоова, 2002; Мазная, Лянгузова, 2006; Жиров и др. 2007; Жуйкова, 2009). Однако вычлениить дейст-

вие металлов на растения в природных условиях, где может действовать целый комплекс неблагоприятных факторов внешней среды, а тем более изучить механизмы их металлоустойчивости, довольно сложно. Поэтому опыты по изучению влияния тяжелых металлов на физиологические процессы дикорастущих злаков и механизмов их металлоустойчивости были выполнены в лабораторных и вегетационных условиях.

5.1. Прорастание семян дикорастущих злаков в присутствии тяжелых металлов

Необходимо отметить, что исследований, касающихся влияния тяжелых металлов на процесс прорастания семян, особенно дикорастущих видов, крайне мало. Вместе с тем, способность семян прорасти в присутствии этих химических элементов рассматривается как один из важных показателей их металлоустойчивости. Кроме того, такого рода данные позволяют оценить влияние загрязнения почв тяжелыми металлами на семенное возобновление растений в естественных фитоценозах, что важно для определения перспектив использования тех или иных видов в фиторемедиации загрязненных этими химическими элементами территорий.

Проведенные нами опыты по изучению влияния возрастающих концентраций тяжелых металлов на прорастание семян злаков показали, что кадмий, свинец и цинк в концентрациях 10^{-5} и 10^{-4} М не оказывают сколько-нибудь заметного действия на всхожесть семян всех изученных нами видов злаков. Более того, на 3-4 сут (энергия прорастания) почти во всех вариантах опыта указанные концентрации стимулировали процесс прорастания у многолетних видов (табл. 26-28). Исключение составили только семена *Agrostis gigantea*, у которых в присутствии кадмия в концентрации 10^{-4} М число проросших семян оказалось меньше, чем в контроле. При повышении концентрации кадмия до 10^{-3} М и выше прорастания семян злаков на 3-4 сут не наблюдалось. Свинец и цинк оказались менее токсичными: при использовании свинца в концентрации 10^{-3} М прорастали семена всех видов, кроме *A. gigantea*, а в присутствии цинка в указанной концентрации энергия прорастания семян всех видов была выше, чем в контрольных вариантах. При использовании кадмия и свинца в концентрации 10^{-2} М прорастание семян злаков полностью ингибировалось, а в присутствии цинка в этой

концентрации отмечалось единичное прорастание семян *Elytrigia repens* и *Setaria viridis*.

Таблица 26

Влияние кадмия на энергию прорастания и всхожесть
семян дикорастущих злаков

Вид растения	Концентрация кадмия, М	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %
<i>Agrostis gigantea</i>	0	36 ± 0.8	68 ± 1.1
	10 ⁻⁵	57 ± 0.5*	82 ± 0.6*
	10 ⁻⁴	18 ± 3.0*	80 ± 7.0*
	10 ⁻³	0	7 ± 2.9*
	10 ⁻²	0	0
<i>Bromopsis inermis</i>	0	25 ± 4.5	89 ± 2.9
	10 ⁻⁵	51 ± 3.5*	94 ± 1.2
	10 ⁻⁴	63 ± 2.5*	87 ± 2.9
	10 ⁻³	0	18 ± 4.6*
	10 ⁻²	0	0
<i>Elytrigia repens</i>	0	25 ± 12.5	67 ± 2.9
	10 ⁻⁵	58 ± 1.0*	70 ± 0.5
	10 ⁻⁴	42 ± 1.0*	68 ± 0.5
	10 ⁻³	0	37 ± 8.7*
	10 ⁻²	0	0
<i>Phleum pratense</i>	0	44 ± 4.0	94 ± 0.1
	10 ⁻⁵	54 ± 9.0	96 ± 1.2
	10 ⁻⁴	59 ± 1.5*	90 ± 1.2*
	10 ⁻³	0	31 ± 4.0*
	10 ⁻²	0	0
<i>Setaria viridis</i>	0	17 ± 1.5	94 ± 1.2
	10 ⁻⁵	4 ± 1.0*	91 ± 2.6
	10 ⁻⁴	6 ± 1.0*	90 ± 1.7
	10 ⁻³	0	52 ± 1.2*
	10 ⁻²	0	0

Примечание. * – здесь и в таблицах 27 и 28 различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 27

Влияние свинца на энергию прорастания и всхожесть
семян дикорастущих злаков

Вид растения	Концентрация свинца, М	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %
<i>Agrostis gigantea</i>	0	36 ± 0.8	68 ± 1.1
	10 ⁻⁵	35 ± 6.5	87 ± 0.6*
	10 ⁻⁴	0	95 ± 1.7*
	10 ⁻³	0	67 ± 6.0
	10 ⁻²	0	0
<i>Bromopsis inermis</i>	0	25 ± 4.5	89 ± 2.9
	10 ⁻⁵	47 ± 4.5*	94 ± 1.2*
	10 ⁻⁴	59 ± 0.5*	98 ± 0.9*
	10 ⁻³	58 ± 1.0*	95 ± 0.6*
	10 ⁻²	0	0
<i>Elytrigia repens</i>	0	25 ± 12.5	67 ± 2.9
	10 ⁻⁵	56 ± 1.0*	82 ± 3.5*
	10 ⁻⁴	48 ± 2.0*	79 ± 4.0*
	10 ⁻³	61 ± 0.5*	83 ± 0.6*
	10 ⁻²	0	21 ± 7.5*
<i>Phleum pratense</i>	0	44 ± 4.0	94 ± 0.1
	10 ⁻⁵	57 ± 4.5*	95 ± 0.6
	10 ⁻⁴	65 ± 0.5*	94 ± 0.1
	10 ⁻³	38 ± 2.0	92 ± 1.2
	10 ⁻²	0	0
<i>Setaria viridis</i>	0	17 ± 1.5	85 ± 1.7
	10 ⁻⁵	17 ± 0.5	92 ± 1.2
	10 ⁻⁴	15 ± 1.5	89 ± 1.7
	10 ⁻³	14 ± 2.0	85 ± 1.7
	10 ⁻²	0	0

Таблица 28

Влияние цинка на энергию прорастания и всхожесть семян
дикорастущих злаков

Вид растения	Концентрация цинка, М	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %
<i>Agrostis gigantea</i>	0	22 ± 2.0	78 ± 0.2
	10 ⁻⁵	41 ± 0.5*	89 ± 0.6*
	10 ⁻⁴	50 ± 5.0*	87 ± 2.9*
	10 ⁻³	44 ± 2.0*	68 ± 1.2*
	10 ⁻²	0	36 ± 2.3*
<i>Bromopsis inermis</i>	0	36 ± 2.0	83 ± 0.6
	10 ⁻⁵	59 ± 4.5*	96 ± 1.2*
	10 ⁻⁴	47 ± 2.5*	91 ± 0.6*
	10 ⁻³	24 ± 0.2*	79 ± 4.0
	10 ⁻²	0	13 ± 4.0*
<i>Elytrigia repens</i>	0	21 ± 1.5	54 ± 0.2
	10 ⁻⁵	37 ± 1.5*	69 ± 0.6*
	10 ⁻⁴	36 ± 0	77 ± 0.6*
	10 ⁻³	22 ± 0	73 ± 0.6*
	10 ⁻²	0	70 ± 2.3*
<i>Phleum pratense</i>	0	42 ± 2.0	96 ± 2.3
	10 ⁻⁵	60 ± 2.0*	91 ± 2.5
	10 ⁻⁴	73 ± 0.5*	98 ± 1.0
	10 ⁻³	49 ± 1.5*	98 ± 0
	10 ⁻²	4 ± 1.0*	65 ± 0.5*
<i>Setaria viridis</i>	0	17 ± 1.5	95 ± 0.6
	10 ⁻⁵	16 ± 1.0	85 ± 5.2
	10 ⁻⁴	13 ± 0.5*	80 ± 3.5
	10 ⁻³	12 ± 0.5*	84 ± 1.2
	10 ⁻²	3 ± 1.5*	78 ± 1.2*

В процессе дальнейших наблюдений (на 7-8 сут) было обнаружено, что металлы в относительно низких концентрациях (10^{-5} и 10^{-4} М) или не оказывают влияние на всхожесть семян изученных злаков, или даже стимулируют ее. Повышение концентрации кадмия и свинца до 10^{-3} М снижало процент всхожих семян, а до 10^{-2} М – полностью блокировало прорастание. В отличие от этого в присутствии цинка даже в самой большой из изученных концентраций семена всех видов злаков прорастали, несколько уменьшалось лишь количество проросших семян.

В результате проведенных опытов были обнаружены также некоторые видовые различия в способности семян злаков прорасти в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в среде. Так, свинец в концентрации 10^{-3} М стимулировал прорастание семян *Bromopsis inermis* и *Elytrigia repens*, но замедлял этот процесс у *Agrostis gigantea*, а в присутствии металла в концентрации 10^{-2} М прорастали только семена *E. repens*. При действии цинка в концентрации 10^{-3} М увеличивалось число проросших семян у *A. gigantea*, тогда как у остальных видов различий с контролем не было обнаружено. Увеличение же концентрации металла до 10^{-2} М стимулировало прорастание семян у *E. repens*, тогда как у других видов, наоборот отмечалось ингибирование процесса.

Как показывает анализ литературы, а также результаты нашей работы, семена многих видов растений способны прорасти в присутствии довольно высоких концентраций тяжелых металлов (Lane, Martin, 1977; Ваулина и др., 1978; Titov et al., 1996; Obroucheva et al., 1998; Wierzbicka and Obidzińska, 1998; Лянгузова, 1999; Холодова, 2005). Высокая металлоустойчивость семян объясняется низкой проницаемостью их семенных покровов для ионов металлов. Например, исследования, проведенные с использованием гистохимических методов на семенах редиса (Lane, Martin, 1977) и кукурузы (Obroucheva et al., 1998), показали, что в период их набухания ионы свинца не проникают в ткани зародыша. Токсическое действие они начинают проявлять только после нарушения целостности покровов семени. В экспериментах Ли с соавт. (Li et al., 2005b) было обнаружено сильное ингибирующее действие кадмия и ртути на деление клеток зародыша семени у растений *Arabidopsis thaliana* при удалении семенных покровов, тогда как при их сохранении подобного эффекта не наблю-

далось. В то же время, в экспериментах, проведенных польскими исследователями, было установлено, что проникновение ионов тяжелых металлов через покровы семени становится возможным уже на заключительной стадии набухания за счет увеличения их проницаемости (Wierzbicka, Obidzińska, 1998).

В любом случае попадая в зародыш семени ионы тяжелых металлов вызывают задержку или полное подавление прорастания, что, очевидно, связано с нарушениями процессов деления и растяжения клеток. Так, показано, что под влиянием высоких концентраций ионов кадмия и свинца у кукурузы снижаются митотическая активность клеток меристемы и размер меристематической зоны корня (Obroucheva et al., 1998; Серегин, Иванов, 2001). Наряду с этим, происходит уменьшение размеров клеток в зоне растяжения корня, что, по-видимому, связано со снижением пластичности клеточных стенок. На растениях *Crepis capillaris* обнаружено, что в присутствии ионов тяжелых металлов возникают отклонения в прохождении митоза (Ваулина и др., 1978) и образуются хромосомные aberrации (Рупошев, 1976; Liu et al., 2003/4). В основе негативного действия тяжелых металлов на ростовые процессы лежит их способность взаимодействовать с функциональными группами белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов (Иванов и др., 2003), а также с компонентами клеточных мембран (Демидчик и др., 2001), что приводит к множественным структурным и функциональным нарушениям.

Проведенные нами опыты, выявили, что устойчивость семян разных видов дикорастущих злаков к одному и тому же металлу существенно варьирует. Подобные различия могут быть обусловлены, как указывалось выше, особенностями анатомо-морфологического строения семян и, прежде всего, семенных покровов. Хотя, как известно, механизмы устойчивости растений к действию тяжелых металлов не ограничены только барьерной функцией отдельных органов или тканей, а включают в себя целый комплекс защитно-приспособительных реакций, обеспечивающих, в частности, детоксикацию ионов тяжелых металлов в клетке и изменение ее метаболизма (Clemens, 2001; Чиркова, 2002; Hall, 2002). Косвенным подтверждением активизации адаптивных механизмов являются данные о стимулирующем влиянии низких концентраций тяжелых металлов на прорастание семян, полученные в наших экспериментах,

а также другими авторами (Мельничук, 1990; Shah and Dubey, 1998; Демидчик и др., 2001; Зуев, 2001). Возможными причинами ускорения прорастания семян под влиянием тяжелых металлов называют увеличение синтеза РНК и белков в клетках зародыша (Мельничук, 1990), активацию защитных механизмов, например, ферментов антиоксидантной системы (Зуев, 2001). Однако необходимо подчеркнуть, что до настоящего времени характер физиологических и биохимических изменений, происходящих в прорастающих семенах под влиянием тяжелых металлов до конца не выяснен.

В целом, семена дикорастущих злаков прорастают в довольно широком диапазоне концентраций тяжелых металлов. На основании полученных данных нами составлены ряды сравнительной устойчивости изученных видов злаков к кадмию, свинцу и цинку на основании прорастания их семян в этих условиях (табл. 29). Они показывают, что *Elytrigia repens* значительно превосходит остальные виды по устойчивости ко всем изученным металлам. Наиболее же чувствительными к тяжелым металлам оказались *Agrostis gigantea* и *Bromopsis inermis*.

Таблица 29

Сравнительная устойчивость дикорастущих
злаков к тяжелым металлам на основании прорастания семян

Металл	Виды злаков
Cd ²⁺	<i>Elytrigia repens</i> > <i>Setaria viridis</i> > <i>Phleum pratense</i> > <i>Bromopsis inermis</i> > <i>Agrostis gigantea</i>
Pb ²⁺	<i>Elytrigia repens</i> > <i>Setaria viridis</i> > <i>Phleum pratense</i> > <i>Bromopsis inermis</i> > <i>Agrostis gigantea</i>
Zn ²⁺	<i>Elytrigia repens</i> > <i>Setaria viridis</i> > <i>Phleum pratense</i> > <i>Agrostis gigantea</i> > <i>Bromopsis inermis</i>

5.2. Влияние тяжелых металлов на основные физиологические процессы у дикорастущих однолетних злаков (на примере *Setaria viridis*)

Важными условиями использования того или иного вида растений в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв являются его способность успешно произрастать на таких почвах и накапливать в своих органах относительно высокие концентрации металлов, а также относительно большая биомасса, в отличие от гипераккумуляторов (Прасад, 2003; Шоу и др., 2009). С этой точки зрения особый интерес представляют растения, характеризующиеся C_4 -типом фотосинтеза (C_4 -растения), поскольку они благодаря своим анатомо-физиологическим особенностям отличаются не только высокой устойчивостью к целому ряду стресс-факторов (по сравнению с C_3 -растениями), но и быстрыми темпами роста и относительно большой продуктивностью (Sage, 2004). Среди однолетних злаков, которые могли бы быть перспективными объектами для фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами, в литературе упоминаются растения с C_4 -типом фотосинтеза. В частности, *Digitaria sanguinalis* (росичка кровавая) (Yang et al., 2014), *Echinochloa crusgalli* (ежовник обыкновенный) (Kim et al., 2010), *Sorghum halepense* (сорго алепское) (Ziarati et al., 2015) и некоторые другие. Однако большинство этих видов произрастают в условиях теплого климата и не могут быть использованы в качестве объектов для технологий фиторемедиации северных территорий. На территории Карелии произрастает один из видов однолетних злаков, относящихся к C_4 -растениям – *Setaria viridis* (щетинник зеленый) (Кравченко, 2007; Морозова, 2013). Повышенное внимание к этому виду в последние годы связано с перспективой его использования в качестве модельного объекта для изучения молекулярно-генетических аспектов C_4 -фотосинтеза, а также механизмов устойчивости C_4 -растений к различным абиотическим стрессорам, что связано с малым размером его генома (Brutnell et al., 2010; Li, Brutnell, 2011). Предполагают, что этот вид может стать основным объектом генетических исследований из группы C_4 -растений.

Об устойчивости щетинника зеленого к тяжелым металлам ранее упоминалось в единичных работах (Атабаева, 2007; Shu et al., 2005; Zhao, Duo, 2015). Однако меха-

низмы устойчивости этого вида в указанных исследованиях не обсуждаются. Нами впервые проведено изучение влияния кадмия и цинка на основные физиологические процессы у растений *Setaria viridis* и выявлены некоторые физиолого-биохимические механизмы, лежащие в основе металлоустойчивости этого вида.

5.2.1. Рост и развитие

При изучении влияния тяжелых металлов на рост и развитие *Setaria viridis* в фазу 3-х листьев было обнаружено, что даже относительно невысокие концентрации металлов (кадмия – 20 мг/кг и цинка – 40 мг/кг субстрата) вызывали торможение роста корня у растений. В частности, заметно уменьшались длина наиболее развитого корня и подземная биомасса (табл. 30). При этом высота побега и его биомасса снижались в меньшей степени и лишь при использовании металлов в более высоких концентрациях (40 и 160 мг/кг субстрата, соответственно). Достоверные изменения площади листовой пластинки, как и у культурных злаков, наблюдались лишь в присутствии наибольших из изученных концентраций металлов.

Более сильное воздействие тяжелых металлов на рост корня по сравнению с побегом характерно и для других дикорастущих видов растений, не относящихся к гипераккумуляторам, однако у менее устойчивых из них концентрации металлов, ингибирующие рост, могут быть гораздо ниже. Например, у растений *Silene vulgaris* кадмий уже в концентрации 10 мкМ (1.1 мг/кг) приводил к замедлению роста корня (Schat et al., 2002). У растений *Cajanus cajan* концентрация металла 50 мг/кг субстрата приводила к уменьшению накопления надземной биомассы в 2.5 раза (Garg, Kaur, 2013). У *Festuca rubra* заметное уменьшение биомассы корня и побега отмечалось уже при действии цинка в концентрации 15 и 30 мг/кг субстрата, соответственно (Sumeonidis, 1990), а у *Artemisia annua* L. и *Holcus lanatus* L. (неустойчивый экотип) увеличение концентрации металла до 50 мг/кг субстрата вызывало достоверное снижение надземной биомассы (Rengel, 2000; Khudsar et al., 2004).

Таблица 30

Влияние тяжелых металлов на показатели роста растений
Setaria viridis в фазу 3-х листьев

Концентрация металлов, мг/кг субстрата	Показатели роста				
	длина корня, см	биомасса подземных органов, г	высота побега, см	биомасса надземных органов, г	площадь листа, см ²
Кадмий					
0	15.4±1.0	0.14±0.02	8.7±0.5	0.12±0.01	1.61±0.20
10	16.0±0.9	0.18±0.03	8.8±0.3	0.14±0.02	1.67±0.12
20	12.5±0.6*	0.09±0.01*	7.6±0.2	0.11±0.01	1.54±0.21
40	9.7±1.0*	0.05±0.01*	5.9±0.4*	0.08±0.01*	1.46±0.24
80	6.1±0.5*	0.03±0.004*	4.5±0.3*	0.06±0.02*	0.58±0.07*
Цинк					
0	15.3±0.9	0.12±0.01	5.2±0.4	0.10±0.008	0.80±0.09
40	10.6±0.7*	0.10±0.04	4.5±0.1	0.08±0.003	0.80±0.08
80	9.8±0.4*	0.08±0.01*	4.4±0.3	0.07±0.005*	0.78±0.06
160	7.7±0.58*	0.07±0.01	3.8±0.2*	0.05±0.004*	0.61±0.09
320	2.7±0.2*	0.02±0.001*	2.6±0.1*	0.02±0.009*	0.40±0.05*

Примечание. *– различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Что касается влияния тяжелых металлов на площадь листа, то и у дикорастущих видов в большинстве исследований высокие их концентрации приводили к заметному снижению размеров листьев. Так, при действии кадмия (100 мкМ) почти на 50% (по сравнению с контролем) уменьшалась площадь листа у *Arachis hypogaea* (Shi, Cai, 2009) и на 20% – у подсолнечника (Hatata, Abdel-Aal, 2008). В присутствии цинка (500 мкМ) на 30% уменьшались размеры листьев у *Pelargonium graveolens* (Misra et al.,

2005) и т.д. Вместе с тем у представителей семейства *Poaceae* ингибирующее действие тяжелых металлов (в сходных концентрациях) было выражено в меньшей степени (Uraguchi et al., 2006; Hertstein, Jäger, 1986), что является важным для поддержания высокого уровня фотосинтетической активности растений этого семейства в условиях повышенных концентраций тяжелых металлов в окружающей среде.

Развитие. Для изучения влияния тяжелых металлов на развитие *Setaria viridis* у растений контрольного и опытных вариантов определяли фенологическую фазу, а также этап органогенеза по состоянию апикальной меристемы стебля. Обнаружено, что на 20-е сут после посева визуально у растений всех вариантов наблюдалась фаза 3-х листьев. Тем не менее, этапы органогенеза оказались разные. В частности, у растений контрольного варианта отмечался II этап органогенеза, тогда как у растений опытных вариантов (с использованием Cd^{2+} в концентрациях 20 мг/кг субстрата и выше и Zn^{2+} – 80 мг/кг субстрата и выше) – только I этап (рис. 32).

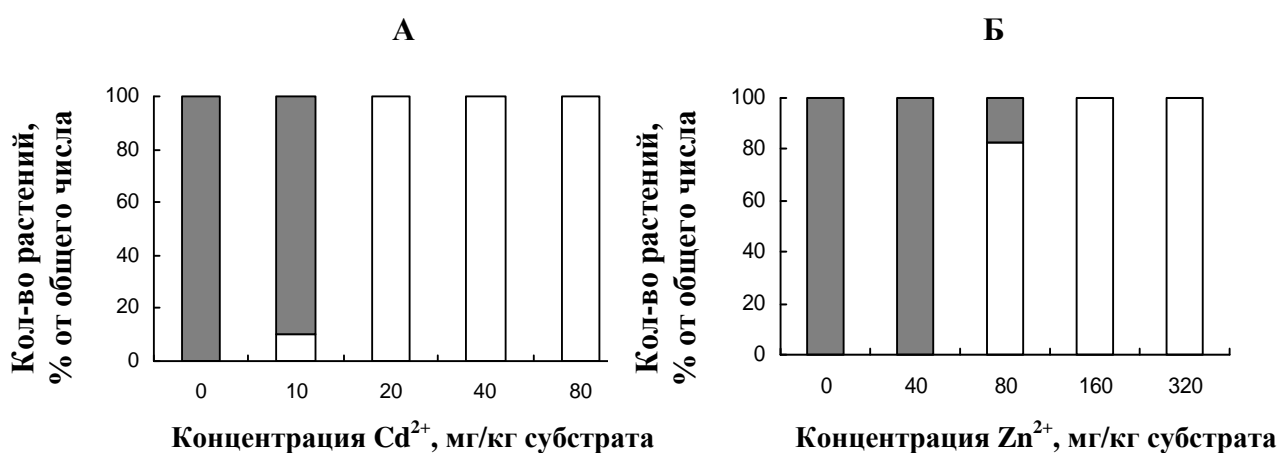


Рис. 32. Влияние кадмия (А) и цинка (Б) на темпы органогенеза *Setaria viridis* (фаза 3-х листьев).

□ – I этап органогенеза; ■ – II этап органогенеза.

Проводимые нами исследования также выявили, что отставание в развитии в присутствии высоких концентраций тяжелых металлов на более поздних фазах онтогенеза несколько сглаживалось, что наблюдалось и у культурных видов растений.

Так, спустя 60 сут после посева растения контрольных вариантов и вариантов с использованием наименьших концентраций металлов находились в фазе цветения, растения же в опытах с кадмием в концентрациях 40 и 80 мг/кг субстрата и цинком в концентрации 320 мг/кг субстрата в фазе колошения (рис. 33). И даже при действии наибольших концентраций тяжелых металлов растения перешли к генеративному развитию и сформировали соцветие.

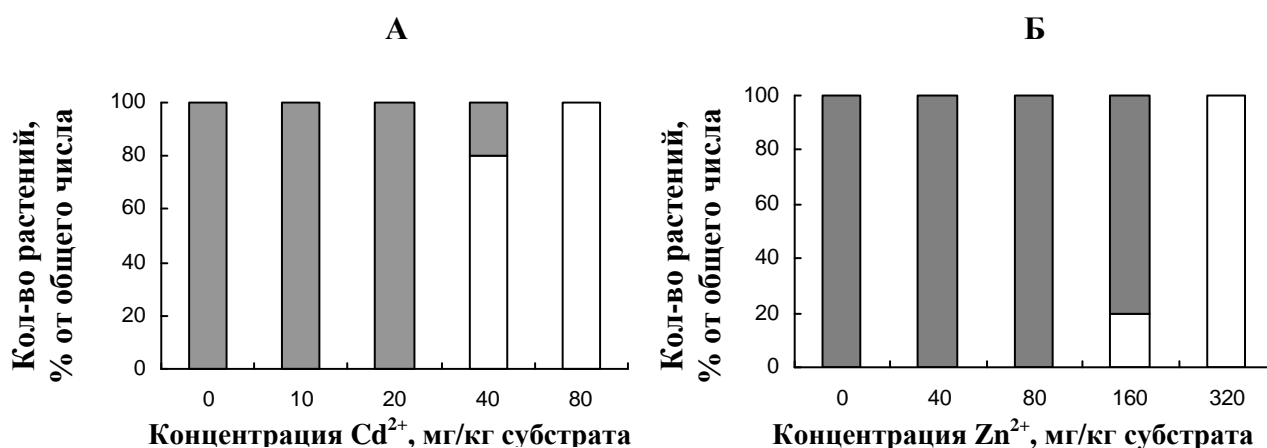


Рис. 33. Влияние кадмия (А) и цинка (Б) на темпы онтогенеза *Setaria viridis* (на 60-е сут после посева).

□ – фаза колошения; ■ – фаза цветения.

Продуктивность. Влияние тяжелых металлов на продуктивность растений изучали на 60-е сут после посева. Опыты показали способность *Setaria viridis* успешно произрастать в течение длительного времени на субстратах с высоким содержанием кадмия и цинка. При этом, несмотря на некоторое уменьшение высоты главного побега в присутствии Cd²⁺ в концентрациях 20 мг/кг субстрата и выше и Zn²⁺ в концентрациях 80 мг/кг субстрата и выше, биомасса побега, а также площадь флагового листа снижались лишь при использовании наиболее высоких их концентраций (табл. 31).

Таблица 31

Влияние тяжелых металлов на некоторые показатели роста и развития
Setaria viridis в фазу цветения

Концентрация металлов, мг/кг субстрата	Показатели роста и развития			
	высота главного побега, см	биомасса главного побега, г	площадь флагового листа, см ²	число побегов кущения, шт.
Кадмий				
0	115.65±2.37	10.30±0.44	8.55±0.49	2.82±0.24
10	102.0±2.25	10.40±0.74	8.90±0.73	2.95±0.20
20	87.25±2.57*	9.13±0.58	8.62±0.83	3.05±0.15*
40	64.0±2.02*	5.78±0.36*	7.84±0.40	3.28±0.13*
80	45.94±3.19*	5.04±0.52*	7.72±0.65*	4.00±0.24*
Цинк				
0	106.8±3.2	14.52±1.27	8.29±1.48	2.72±0.21
40	100.6±4.2	13.18±0.95	7.89±1.54	3.20±0.17
80	93.45±2.78*	12.70±0.60	7.83±0.49	3.55±0.14*
160	85.65±2.03*	12.55±0.72	7.73±0.42	4.30±0.22*
320	30.05±2.46*	5.41±0.90*	6.21±0.54*	4.32±0.20*

Примечание. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Поскольку у злаков флаговый лист является основным поставщиком ассимилятов в соцветие, сохранение его размеров важно для обеспечения семенной продуктивности растений. Накоплению довольно большой надземной биомассы растений способствовало усиление побегообразования. Так, в присутствии кадмия в концентрациях 20 мг/кг субстрата и выше и цинка в концентрациях 80 мг/кг субстрата и выше у растений сформировалось большее число боковых побегов. Считается, что усиление побегообразования в неблагоприятных условиях среды является одним из важных механизмов адаптации растений, направленным на сохранение их общей семенной продуктивности.

Хорошо известно, что устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды подразумевает не только их успешный рост в этих условиях, но и способность переходить в генеративное состояние и давать потомство. Однако данных, касающихся влияния тяжелых металлов на семенную продуктивность дикорастущих видов, крайне мало. Например, даже при высоких уровнях промышленного загрязнения территорий тяжелыми металлами семенная продуктивность *Vaccinium myrtillus* и *V. vitis-idaea* L. остается довольно высокой, что связано со значительной гетерогенностью семян и высокой жизнеспособностью (Лянгузова Мазная, 1996; Лянгузова, Комалетдинова, 2005). Не было обнаружено также заметного уменьшения семенной продуктивности и доли выполненных семян у растений *Taraxacum officinale*, произраставших в импактной зоне металлургического предприятия с высоким уровнем загрязнения почвы тяжелыми металлами (Позолотина и др., 2006).

В наших исследованиях анализ влияния тяжелых металлов на элементы семенной продуктивности *Setaria viridis* показал, что только наибольшие из изученных концентраций кадмия и цинка приводили к уменьшению длины соцветия главного побега у растений (табл. 32). При этом, однако, его биомасса заметно снижалась в присутствии более низких концентраций (Cd^{2+} – 20 мг/кг субстрата и выше и Zn^{2+} – 80 мг/кг субстрата и выше), что, возможно, связано с уменьшением числа семян в соцветии. Известно, что сохранение нормальных размеров соцветия у злаков позволяет растению обеспечить высокий потенциал семенного возобновления, хотя неблагоприятные условия среды уменьшают возможность его реализации и приводят к недоразвитию части семян (Ma, Smith, 1992). Вместе с тем наблюдаемое нами увеличение числа боковых побегов может рассматриваться в качестве компенсаторной реакции, направленной на сохранение репродуктивного потенциала растений в неблагоприятных почвенных условиях.

Таблица 32

Влияние тяжелых металлов на элементы семенной продуктивности
у растений *Setaria viridis*

Концентрация металлов, мг/кг субстра- та	Элементы семенной продуктивности		
	длина соцветия глав- ного побега, см	биомасса соцветия глав- ного побега, г	число генератив- ных побегов, шт./растение
Кадмий			
0	8.76±0.21	0.94±0.03	1.25±0.16
10	8.93±0.25	0.94±0.05	1.35±0.13
20	8.47±0.26	0.68±0.04*	1.55±0.13*
40	8.31±0.17	0.53±0.02*	1.82±0.24*
80	6.53±0.38*	0.35±0.04*	2.60±0.27*
Цинк			
0	8.74±0.40	1.08±0.03	1.75±0.18
40	8.58±0.22	1.02±0.02	2.25±0.25
80	7.68±0.18	0.95±0.04*	2.30±0.25*
160	7.58±0.22	0.80±0.03*	2.85±0.35*
320	4.10±0.25*	0.78±0.04*	2.72±0.40*

Примечание. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Как уже указывалось нами ранее, для успешного использования того или иного вида растений в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв необходимо также учитывать их способность к накоплению ионов металлов в органах. Анализ содержания кадмия и цинка в подземных и надземных органах *Setaria viridis* показал, что даже в присутствии относительно невысоких концентраций металлов в корнеобитаемой среде растения накапливают довольно большие их количества не только в корнях, но и в побегах, и даже в соцветиях. Так, с увеличением концентрации кадмия в субстрате его содержание в корне увеличилось в 100–280 раз (по сравнению с кон-

трольными растениями), в побеге – в 20–60 раз (табл. 33). Повышение концентрации цинка приводило к увеличению его содержания в корнях в 8–21 раз, в побеге – в 8–9 раз (табл. 34).

Таблица 33

Содержание (мкг/г сухого веса) кадмия в корнях и побегах растений *Setaria viridis* после 60 дней выращивания на субстратах с металлом

Концентрация кадмия, мг/кг субстрата	Содержание кадмия в органах, мкг/г сухого веса	
	корень	побег
0	1.6 ± 0.5	1.2 ± 0.5
10	162 ± 79	25.8 ± 7
20	240 ± 78	40 ± 12
40	403 ± 93	44 ± 14
80	448 ± 53	69 ± 26

Примечание. * – здесь и в табл. 34 различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 34

Содержание (мкг/г сухого веса) цинка в органах растений *Setaria viridis* после 60 дней выращивания на субстратах с металлом

Концентрация цинка, мг/кг субстрата	Содержание цинка в растении, мкг/г сухого веса	
	корень	побег
0	61 ± 9.8	53 ± 8.5
40	494 ± 79	417 ± 67
80	494 ± 78	454 ± 72
160	583 ± 93	464 ± 74
320	1270 ± 203	473 ± 76

Как уже упоминалось выше, более высокое содержание тяжелых металлов в корнях, по сравнению с надземными органами, характерно для растений-исключателей. Однако среди этой группы известны виды, которые накапливают довольно высокие их концентрации и в надземных органах. Так, содержание кадмия в надземных органах конопли составляло 73 мкг/г сухого веса при его концентрации в почвенном субстрате 100 мг/кг (Citterio et al., 2003). У сои (сорт Suzuyutaka) при длительном выращивании на субстрате с кадмием (10 мг/кг субстрата) содержание металла в стебле было равным 20 мкг/г сухого веса, в стручках – 13 мкг/г сухого веса (Arao et al., 2003). Растения *Salvia stepposa* Shost. (Алексеева-Попова, Моченят, 1991), *Silene cucubalus* Wibel (Ernst, Weinert, 1972), *Stereochlaena cameroni* (Stapf) Clayton (Reilly, Reilly, 1973) накапливают большое количество цинка в листьях при повышении его концентрации в корнеобитаемой среде. При выращивании *Lolium perenne* в присутствии цинка в концентрации 50 мг/кг субстрата концентрация металла в листьях составляла 180 мкг/г сухого веса (Bonnet et al., 2000). Результаты наших исследований показывают, что растения *Setaria viridis* способны накапливать в побегах более высокие концентрации этих металлов.

В целом исследования позволяют говорить о высокой устойчивости растений *S. viridis* к тяжелым металлам. Они способны произрастать в течение длительного времени на субстратах с высоким уровнем содержания кадмия и цинка, сохраняя при этом способность к репродуктивному развитию. При этом растения накапливают тяжелые металлы в относительно высоких концентрациях не только в корнях, но и в побегах.

О влиянии тяжелых металлов на некоторые показатели водного обмена и фотосинтетической активности у растений *Setaria viridis* судили на примере кадмия, как наиболее токсичного для растений металла. Исследования проводились в вегетационных условиях с использованием концентрации металла (40 мг/кг субстрата), при которой обнаружены изменения в росте и развитии растений.

5.2.2. Водный обмен

Для нормального роста растений в неблагоприятных условиях среды необходимо поддержание в клетках и тканях определенного уровня водного баланса (Barceló, Poschenrieder, 1990), в котором важную роль играет устьичный аппарат (Кудоярова и др., 2007). Нами обнаружено, что при действии кадмия у растений *Setaria viridis* формировалось то же число устьиц, что и у растений контрольного варианта, однако уменьшались длина замыкающих клеток и площадь устьичной щели. В итоге заметно снижались устьичная проводимость и интенсивность транспирации (табл. 35).

Таблица 35

Влияние кадмия (40 мг/кг субстрата) на показатели водного обмена растений *Setaria viridis*

Показатель	Контроль	Cd ²⁺	% от контроля
Интенсивность транспирации, ммоль/(м ² ·с)	0.64 ± 0.04	0.38 ± 0.04	59*
Число устьиц, шт./мм ²	123.0 ± 4.1	126.6 ± 2.9	103
Длина замыкающих клеток устьиц, мкм	51.4 ± 1.2	40.0 ± 0.7	78*
Площадь устьичной щели, мкм ²	248.5 ± 4.4	185.8 ± 7.4	75*
Устьичная проводимость, ммоль/(м ² ·с)	30.2 ± 1.59	18.7 ± 1.26	62*
Оводненность тканей корня, %	92.9 ± 0.8	93.0±0.4	100
Оводненность тканей побега, %	95.3 ± 0.1	95.5±0.3	100

Примечание. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Замедление интенсивности транспирации и уменьшение устьичной проводимости при действии тяжелых металлов ранее было обнаружено у целого ряда C₃-растений, причем при меньших концентрациях кадмия: у *Brassica juncea* (L.) Czern.

при 20 мкМ (Zhu et al., 2005), у сахарной свеклы при 10 мкМ (Greger, Johansson, 2006), у *Urtica pilulifera* L. при 80 мкМ (Özyigit, Akinci, 2009). Вместе с тем у кукурузы подобные изменения обнаруживались в присутствии кадмия в концентрации 1 мМ (Souza et al., 2005). Конкретный механизм влияния кадмия на формирование устьичного аппарата к настоящему времени практически не изучен. Высказано лишь предположение о его воздействии на деление протодермальных клеток-предшественниц на две замыкающие клетки (Bergmann, 2004). Уменьшение в присутствии кадмия размеров устьичной щели, наблюдаемое в наших опытах, может быть связано с утечкой K^+ и Ca^{2+} из замыкающих клеток вследствие увеличения проницаемости мембран (Poschenrieder et al., 1989; Neill et al., 2008), с возрастанием содержания абсцизовой кислоты в листьях (Poschenrieder et al., 1989) или с изменением в регуляции K^+ -каналов в замыкающих клетках (Perfus-Barbeoch et al., 2002). Вместе с тем необходимо отметить, что снижение уровня транспирации при уменьшении размеров корневой системы является адаптивной реакцией растений в стрессовых условиях, направленной на сохранение высокого уровня оводненности тканей (Wójcik, Tukiendorf, 1999).

Обнаруженные нами изменения в устьичном аппарате растений были, очевидно, основной причиной значительного снижения устьичной проводимости и интенсивности транспирации под влиянием кадмия. Однако скорее всего их можно назвать адаптационными, поскольку они способствовали поддержанию оводненности тканей корня и побега на уровне контрольных растений. Нельзя также не отметить, что способность к сохранению оводненности тканей в неблагоприятных условиях среды в целом характерна для C_4 -растений. Пониженный расход влаги у этих видов связан с тем, что при частичном закрытии устьиц многократно возрастает сопротивление устьичной щели для паров воды (Эдвардс, Уокер, 1986; Чиркова, 1999).

5.2.3. Фотосинтез

Обычно уменьшение размеров устьиц и устьичной щели в неблагоприятных условиях среды приводит к нарушению газообмена растений и негативно отражается на фотосинтезе (James et al., 2008). Однако в наших опытах у растений *Setaria viridis* изменений интенсивности этого процесса в присутствии кадмия не наблюдалось. На наш взгляд, поддержание высокого уровня фотосинтеза при частичном закрытии устьичной щели, отчасти, связано с особой анатомической структурой листа, характерной для всех C_4 -растений (кранц-структура), которая позволяет осуществлять концентрирование CO_2 в C_4 -цикле углерода и благодаря этому сохранять высокую скорость фотосинтеза даже при закрытых устьицах и сильном снижении транспирации и устьичной проводимости (Эдвардс, Уокер, 1986).

Отметим и тот факт, что у многих видов из группы C_4 -растений апопластическому обмену веществ препятствует субериновый слой в клеточной стенке, который отделяет клетки мезофилла от клеток обкладки проводящего пучка, где у этих видов осуществляется цикл Кальвина (Зитте и др., 2008). Известно, что усиление суберинизации клеточных стенок у некоторых видов растений, например у кукурузы, может также снижать поступление тяжелых металлов в клетки (Lux et al., 2011). Исходя из этого логично предположить, что наличие суберинового слоя способно служить защитой от поступления кадмия в клетки обкладки и, следовательно, от его негативного влияния на активность ферментов цикла Кальвина и на скорость фотосинтеза.

Помимо этого устойчивость процесса фотосинтеза к действию тяжелых металлов могла быть связана с определенными изменениями в мезоструктуре листа. В наших исследованиях было обнаружено, что у растений *Setaria viridis* в присутствии кадмия снижается (на 12% по отношению к контролю) площадь клеток мезофилла, главным образом за счет уменьшения их длины, уменьшаются (на 12%) размеры хлоропластов. Вместе с тем заметно (на 20%) возрастает число хлоропластов на единицу площади клетки (табл. 36).

Таблица 36

Влияние кадмия (40 мг/кг субстрата) на мезоструктуру листа растений *Setaria viridis*

Показатели мезоструктуры листа	Контроль	Cd ²⁺	% от контроля
Длина клетки мезофилла, мкм	26.3 ± 0.5	24.1 ± 0.4	92*
Ширина клетки мезофилла, мкм	13.8 ± 0.2	13.1 ± 0.4	95
Площадь клетки мезофилла, мкм ²	363.3 ± 8.7	321.3 ± 10.5	88*
Число хлоропластов на ед-цу площади клетки, шт.	20.0 ± 0.5	24.0 ± 0.7	120*
Объем клетки, приходящийся на один хлоропласт (КОХ), мкм ³	377.4 ± 11.2	334.8 ± 15.8	88*

Примечание. * – здесь и в табл. 44 различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Анализ содержания фотосинтетических пигментов выявил такую же ответную реакцию растений щетинника на действие кадмия, как и у культурных видов злаков: общее содержание зеленых пигментов, а также содержание пигментов в ССК фотосистем уменьшалось (табл. 37). Концентрация каротиноидов не изменялась.

Не было выявлено также изменений изученных нами показателей эффективности ФС II (F_v/F_m и $Yield$), свидетельствуя об отсутствии нарушений. Необходимо подчеркнуть, что поддержание эффективности работы ФС II чрезвычайно важно для C₄-растений, относящихся к первой (НАДФ–малатдегидрогеназной) группе (сюда относится и *S. viridis*), поскольку у них ФС II присутствует только в клетках мезофилла и на ее долю приходится >90% замедленной флуоресценции хлорофилла. В хлоропластах же клеток обкладки отсутствуют граны и, соответственно, функционирует только ФС I (Мокроносков и др., 2006).

Таблица 37

Влияние кадмия (40 мг/кг субстрата) на показатели состояния ФСА
растений *Setaria viridis*

Показатель	Контроль	Cd ²⁺	% от контроля
Суммарное содержание хлоро- филлов (<i>a + b</i>), мг/г сырой массы	1.099 ± 0.083	0.908 ± 0.038	83*
Содержание хлорофиллов в ССК, %	44.54 ± 1.21	40.67 ± 1.06	91*
Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы	0.40 ± 0.031	0.39 ± 0.009	98
F_v/F_m	0.712 ± 0.005	0.728 ± 0.003	102
<i>Yield</i>	0.207 ± 0.009	0.220 ± 0.019	106
Интенсивность фотосинтеза, мкмоль/(м ² · с)	33.70 ± 0.62	32.69 ± 0.93	97

5.3. Содержание восстановленного глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях растений *Setaria viridis* в присутствии кадмия

Как уже указывалось, среди клеточных механизмов детоксикации тяжелых металлов наиболее важным является связывание токсичных ионов в цитоплазме клетки непротеиновыми тиолами. Однако данных об активности действия этого механизма у дикорастущих злаков в известной нам литературе нет. В контексте данной работы нами был проведен анализ содержания GSH и ФХ в корнях и листьях *S. viridis*. Его результаты показали, что и в корнях, и в листьях растений изменений в содержании GSH не происходит, однако значительно возрастает уровень ФХ (рис. 34).

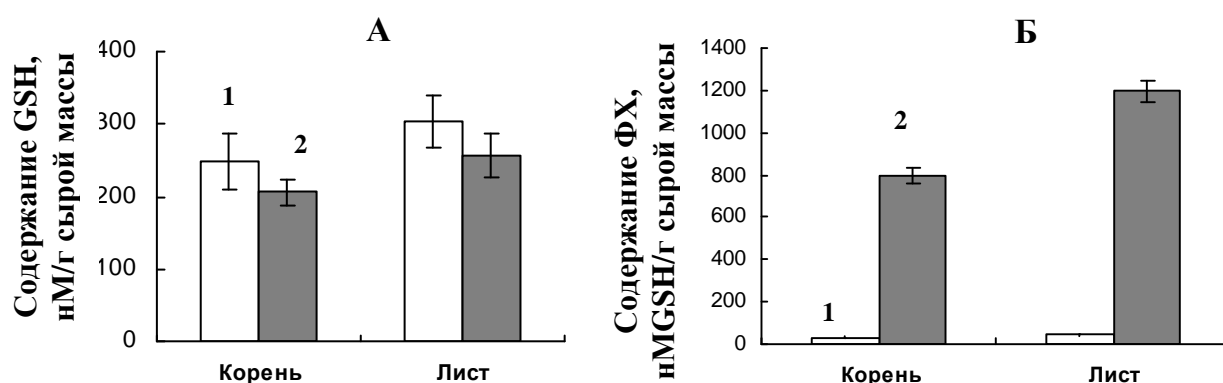


Рис. 34. Влияние кадмия (40 мг/кг субстрата) на содержание GSH (А) и ФХ (Б) в клетках корня и листа *Setaria viridis*. 1 – контроль; 2 – опыт.

Поскольку ФХ синтезируются из GSH, отсутствие изменений в его содержании при увеличении уровня ФХ, очевидно, может свидетельствовать об усилении синтеза GSH в этих условиях.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что устойчивость щетинника зеленого к кадмию в значительной степени связана с действием внутриклеточных механизмов детоксикации ионов металла, в том числе с синтезом GSH и ФХ.

Необходимо отметить, что в литературе имеются данные, согласно которым в присутствии кадмия содержание ФХ в клетках растений с C₄-типом фотосинтеза вы-

ше, чем у C_3 -растений. Например, в листьях кукурузы (C_4 -растение) общее содержание ФХ после недельной обработки кадмием (50 мкМ) оказалось почти в 7 раз выше, чем у пшеницы и в 8 раз выше, чем у ржи, которые относятся к группе C_3 -растений (Wójcik, Tukiendorf, 1999). В опытах голландских коллег количество ФХ в листьях кукурузы спустя 16 дней роста на растворах, содержащих 10 мкМ, оказалось более, чем в 2 выше, чем у пшеницы (Keltjens, van Beusichem, 1998). Однако с чем могут быть связаны такие различия и всегда ли они проявляются, пока не определено в связи с малым количеством экспериментальных данных.

В целом проведенное исследование показало, что растения *Setaria viridis* способны произрастать на субстратах с высоким уровнем загрязнения кадмием и цинком. Этому способствует целый ряд адаптационных физиолого-биохимических механизмов, а также анатомо-физиологические особенности, связанные с его принадлежностью к группе C_4 -растений. К адаптационным механизмам можно отнести: поддержание активного роста побега на фоне некоторого замедления роста корня и увеличение числа боковых побегов; снижение интенсивности транспирации при уменьшении размеров корня, приводящее к сохранению оводненности тканей; неизменность содержания каротиноидов; поддержание эффективной работы ФС II; синтез непротеиновых тиолов в клетке. Перечисленные механизмы адаптации, а также способность *S. viridis* как C_4 -растения сохранять скорость фотосинтеза на уровне контрольных растений даже при частично закрытых устьицах, позволяют ему не только нормально расти в условиях повышенных концентраций тяжелых металлов в корнеобитаемой среде, но и накапливать значительную биомассу надземных органов и переходить в этих условиях к генеративному развитию. Учитывая при этом способность растений этого вида к значительному накоплению токсичных ионов в органах, в том числе в побегах, можно говорить о возможном использовании данного вида растений для фиторемедиации (а точнее, для фитоэкстракции) почв, загрязненных тяжелыми металлами.

5.4. Влияние тяжелых металлов на основные физиологические процессы у дикорастущих многолетних злаков

5.4.1. Рост, развитие и продуктивность

Известно, что дикорастущие многолетние злаки обладают высокой устойчивостью к различным неблагоприятным факторам внешней среды. В отношении тяжелых металлов данных относительно немного, и механизмы металлоустойчивости этих видов практически не обсуждаются.

Проведенные нами исследования показали, что в относительно низких концентрациях кадмий, свинец и цинк не оказывают сколько-нибудь заметного влияния на рост изученных видов злаков: растения опытных вариантов по ростовым показателям практически не отличались от контрольного варианта. И лишь в присутствии металлов в высоких концентрациях у растений заметно уменьшались (по отношению к контролю) большинство из изученных параметров. В дальнейшем обсуждаются данные по влиянию тяжелых металлов на растения в фазе кущения (через 60 сут после посева). При этом были использованы по одной из изученных концентраций каждого металла, которые на более ранней фазе развития (на 20 сут роста) вызывали примерно равное снижение (на 50% по отношению к контролю) высоты побега у всех видов злаков.

Опыты выявили, что тяжелые металлы в изученных концентрациях, в основном, оказывают негативное воздействие на накопление биомассы растениями, которая является интегральным показателем, отражающим функционирование всех физиологических процессов (рис. 35). При этом были выявлены некоторые видовые различия. Например, в присутствии кадмия надземная биомасса, а при действии цинка – подземная биомасса у растений *Elytrigia repens* сохранялась на уровне контроля, тогда как у других видов заметно снижалась. В присутствии свинца у *Agrostis gigantea* и *E. repens* в большей степени уменьшалась биомасса корня, у *Bromopsis inermis* – биомасса побега, тогда как у *Phleum pratense* значимых изменений (по сравнению с контролем) изученных

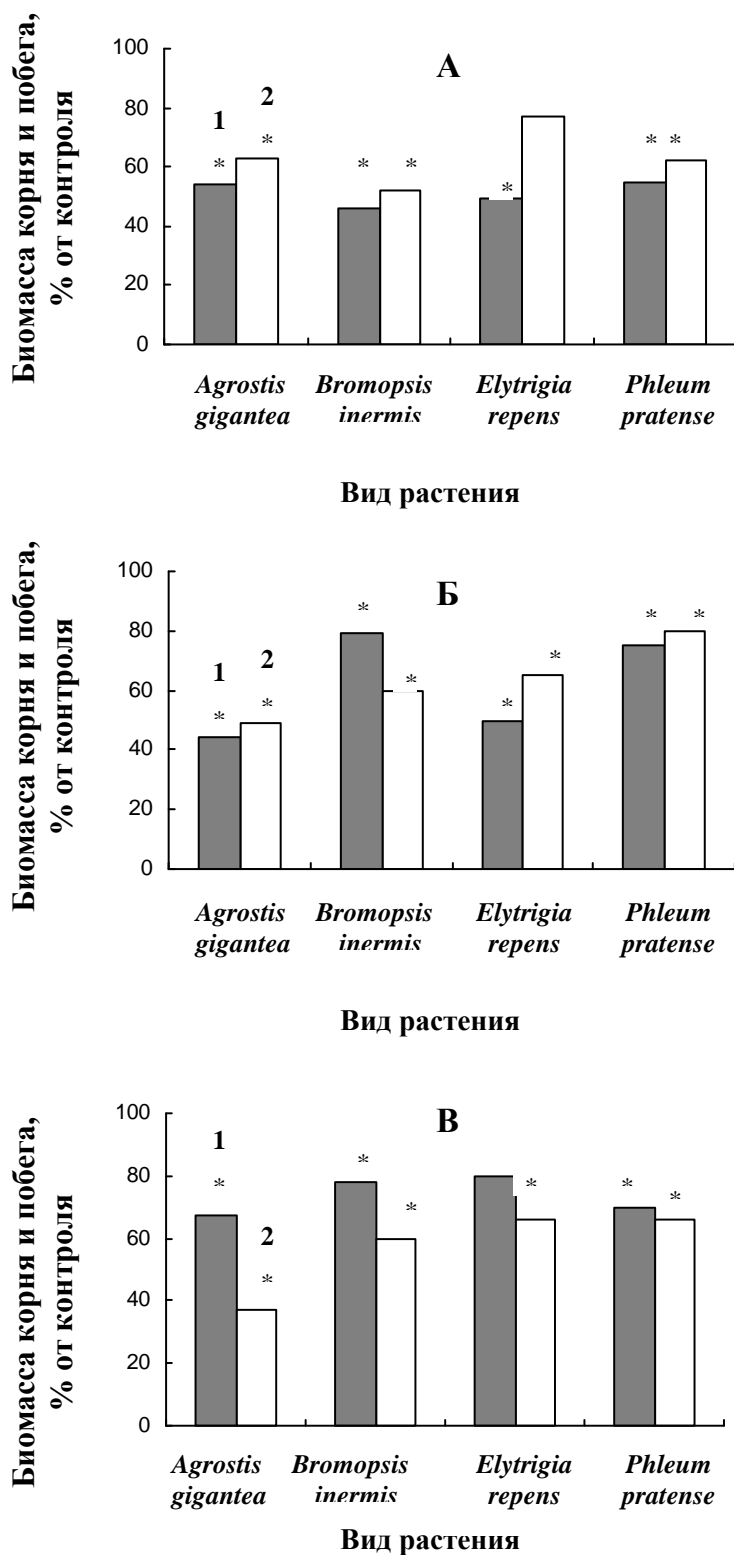


Рис. 35. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на накопление сухой биомассы растениями дикорастущих многолетних злаков (на 60-е сут после посева).

1 – биомасса подземных органов; 2 – биомасса надземных органов. Здесь и на рис. 34 и 35 концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

показателей не было обнаружено. *Agrostis gigantea* и *Phleum pratense* оба показателя уменьшались (по отношению к контролям) примерно в равной мере.

По сравнению с накоплением биомассы влияние изученных тяжелых металлов на площадь листовой пластинки 5-го листа (самого молодого из полностью сформированных) оказалось сходным у всех видов злаков (рис. 36). При этом наиболее сильное воздействие на размеры листа оказал кадмий, в меньшей степени – свинец. Цинк в изученной концентрации не оказывал негативного действия на площадь листа злаков. Необходимо также отметить, что изменение площади листовой пластинки под действием тяжелых металлов было выражено в гораздо меньшей степени, чем изменение биомассы корня и побега.

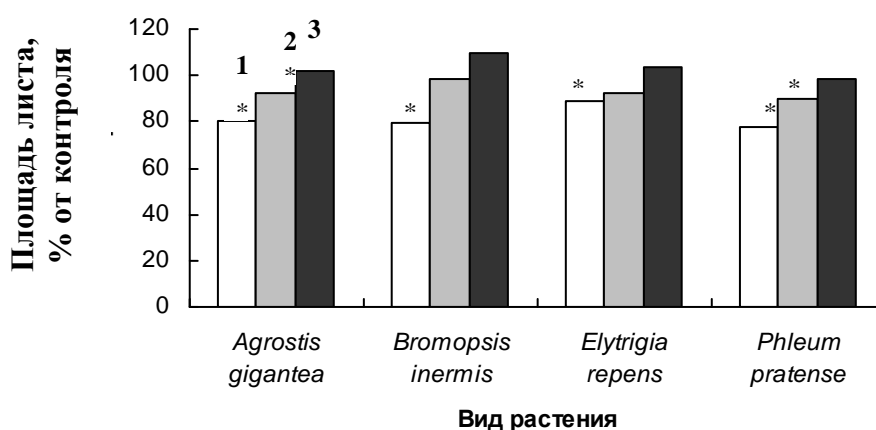


Рис. 36. Влияние кадмия (1), свинца (2) и цинка (3) на площадь 5-го листа у дикорастущих многолетних злаков (на 60-е сут после посева).

В отличие от роста, тяжелые металлы в изученных концентрациях не оказывают видимого эффекта на фенологическое развитие злаков: у 100% растений всех видов отмечалась фаза кушения. Однако обнаружилось негативное действие некоторых из них на количество листьев на главном побеге и количество боковых побегов (рис. 37). В частности, в присутствии кадмия у всех видов злаков, за исключением *Elytrigia repens*, уменьшалось число листьев на главном побеге и количество сформированных

боковых побегов. Свинец не оказывал негативного действия на эти показатели, и только у *Agrostis gigantea* было сформировано меньшее количество боковых побегов.

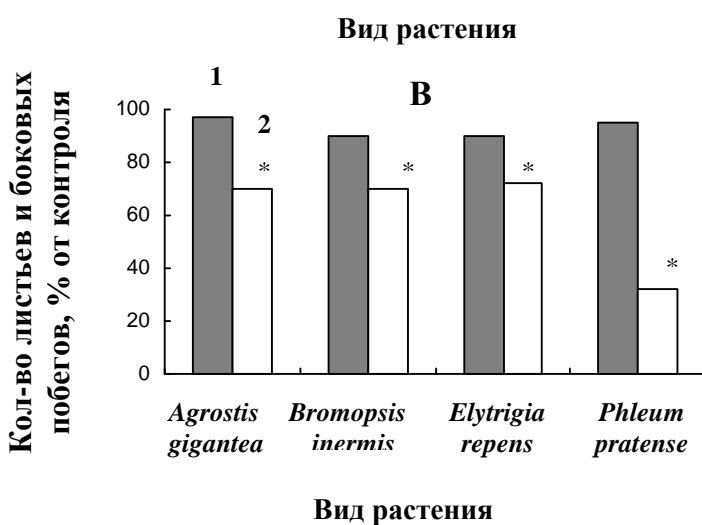
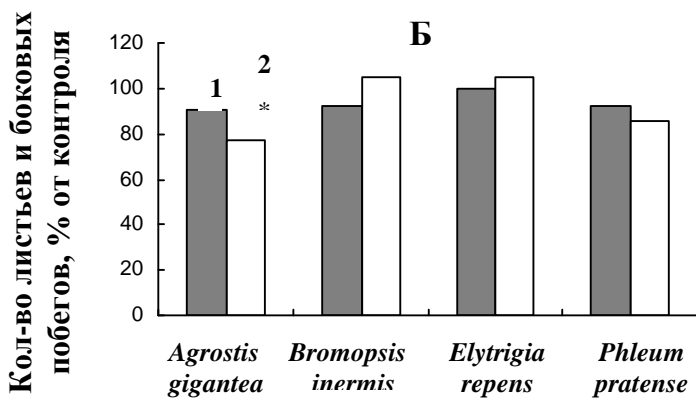
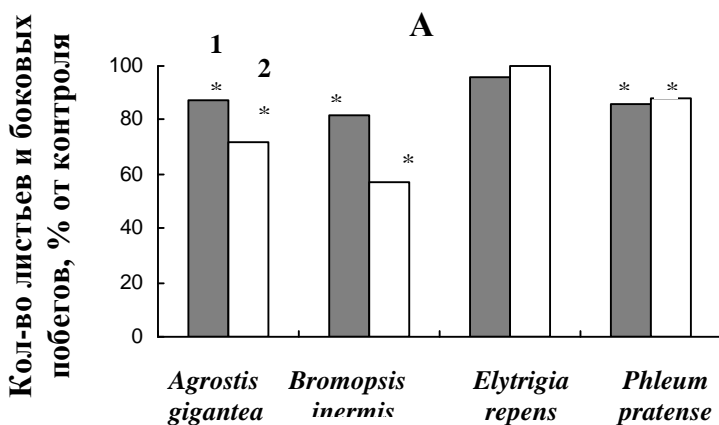


Рис. 37. Влияние кадмия (А), свинца (Б) и цинка (В) на количество листьев на главном побеге (1) и количество боковых побегов (2) у дикорастущих многолетних злаков (на 60-е сут после посева).

При действии же цинка у всех видов уменьшалось число боковых побегов, тогда как количество листьев оставалось на уровне растений контрольного варианта.

Уменьшение числа боковых побегов в неблагоприятных условиях среды, которое было отмечено нами и у культурных видов в присутствии кадмия и цинка, считается одним из адаптационных механизмов, дающих возможность формирования одного полноценного соцветия на главном побеге, исключая при этом конкуренцию за ассимиляты с боковыми побегами. Интересно, что свинец не оказывает негативного влияния на побегообразование как культурных, так и дикорастущих видов злаков.

В целом, изученные виды дикорастущих злаков способны расти и развиваться в течение длительного времени в присутствии тяжелых металлов в корнеобитаемой среде. При действии относительно высоких концентраций кадмия, свинца и цинка наблюдается некоторое ингибирование ростовых процессов, которое прослеживается по накоплению биомассы подземных и надземных органов и размеров листа. Однако замедления развития при этом не происходит. Уменьшение же числа боковых побегов, обнаруженное нами в присутствии кадмия и цинка, обеспечивает высокую семенную продуктивность главного побега.

На основании проведенных исследований нами составлены ряды устойчивости дикорастущих многолетних злаков к тяжелым металлам (табл. 38), которые показывают, что наиболее устойчивым к кадмию и цинку является *Elytrigia repens*, а к свинцу – *Phleum pratense*. В этой связи дальнейшие исследования по изучению влияния тяжелых металлов на фотосинтез и водный режим растений проведено на этих двух видах.

Таблица 38

Сравнительная устойчивость дикорастущих многолетних злаков
к тяжелым металлам по показателям роста

Металл	Виды злаков
Cd ²⁺	<i>Elytrigia repens</i> > <i>Agrostis gigantea</i> ≥ <i>Phleum pratense</i> > <i>Bromopsis inermis</i>
Pb ²⁺	<i>Phleum pratense</i> > <i>Bromopsis inermis</i> > <i>Elytrigia repens</i> > <i>Agrostis gigantea</i>
Zn ²⁺	<i>Elytrigia repens</i> > <i>Bromopsis inermis</i> > <i>Phleum pratense</i> > <i>Agrostis gigantea</i>

5.4.2. Фотосинтез

Как уже указывалось ранее, ФСА растений очень чувствителен к повышению концентрации тяжелых металлов в окружающей среде, вследствие этого по изменению (по сравнению с контролем) показателей функциональной активности ФСА можно судить об устойчивости растений к этим элементам, а также сравнивать металлоустойчивость разных видов.

При изучении влияния кадмия, свинца и цинка на некоторые показатели активности ФСА дикорастущих злаков нами были обнаружены такие же эффекты, как и у других изученных нами видов злаков – уменьшение общего содержания зеленых пигментов и их количества в ССК (табл. 39), однако сохранение при этом высокой концентрации каротиноидов (рис. 38).

Таблица 39

Влияние тяжелых металлов на содержание хлорофиллов
в листьях дикорастущих многолетних злаков

Варианты опыта	Содержание хлорофиллов (Хл)			
	Хл <i>a</i> , мг/г сы- рой массы	Хл <i>b</i> , мг/г сы- рой массы	в ССК, мг/г сырой массы	в ССК, %
<i>Elytrigia repens</i>				
Контроль	1.491±0.040	0.638±0.007	1.404±0.08	66
Cd ²⁺	1.310±0.011*	0.508±0.007*	1.118±0.06*	61
Pb ²⁺	1.917±0.019*	0.635±0.007	1.397±0.05*	55
Zn ²⁺	1.830±0.015*	0.637±0.003	1.401±0.06	57
<i>Phleum pratense</i>				
Контроль	1.228±0.061	0.683±0.029	1.404±0.11	79
Cd ²⁺	1.022±0.014 *	0.326±0.007*	0.717±0.05*	57
Pb ²⁺	1.096±0.003*	0.386±0.003*	0.849±0.03*	57
Zn ²⁺	1.077±0.004 *	0.363±0.007*	0.799±0.07*	55

Примечание. Концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата.

* – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

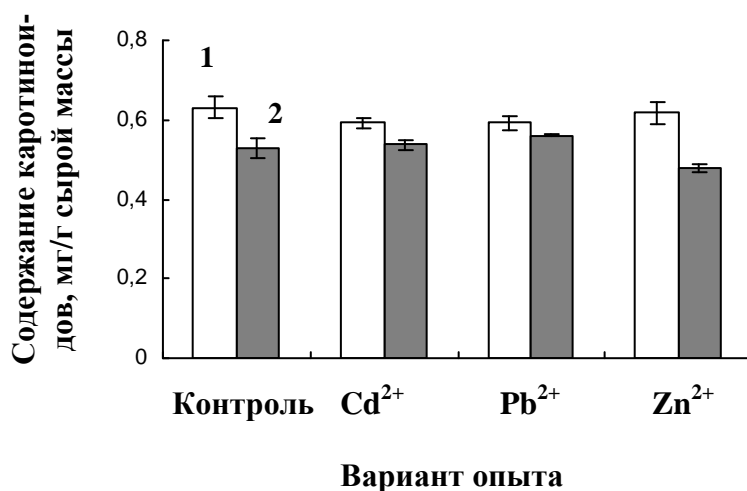


Рис. 38. Влияние тяжелых металлов на содержание каротиноидов в листьях растений *Elytrigia repens* (1) и *Phleum pratense* (2). Концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата.

Как уже упоминалось выше, одним из важных показателей функциональных нарушений в ФСА растений в присутствии тяжелых металлов является изменение параметров флуоресценции хлорофилла, в том числе F_v/F_m и $Yield$, характеризующий реальную квантовую эффективность ФС II. Тяжелые металлы в высоких концентрациях могут вызывать повреждение реакционных центров ФС II, нарушать электронный транспорт или препятствовать фотохимии, что приводит к снижению указанных величин. В частности, подобные изменения были обнаружены у *Elsholtzia argyi* Willd. (сем. *Lamiaceae*) при действии кадмия в концентрации 100 мкМ (Li et al., 2015), у *Avicennia germinans* L. (сем. *Acanthaceae*) в присутствии металла в концентрации 0.054 М (Gonzalez-Mendoza et al., 2007), а у подсолнечника (сем. *Asteraceae*) – 50 мкМ (Azevedo et al., 2005) и др.

В наших исследованиях у изученных видов злаков изменений параметров активности ФС II не было обнаружено (табл. 40).

Таблица 40

Влияние тяжелых металлов на показатели флуоресценции хлорофилла
у дикорастущих многолетних злаков

Показатели флуоресценции хлорофилла	Контроль	Тяжелые металлы		
		Cd ²⁺	Pb ²⁺	Zn ²⁺
<i>Elytrigia repens</i>				
<i>F_v/F_m</i>	0.748±0.011	0.742±0.008	0.768±0.008	0.764±0.009
<i>Yield</i>	0.525±0.017	0.530±0.018	0.572±0.036	0.551±0.014
<i>Phleum pratense</i>				
<i>F_v/F_m</i>	0.775±0.003	0.780±0.002	0.782±0.001	0.785±0.005
<i>Yield</i>	0.754±0.003	0.750±0.002	0.756±0.002	0.735±0.017

Примечание. Концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата.

В отношении дикорастущих злаков данных в литературе крайне мало. Однако во всех известных нам публикациях указывается на довольно высокую устойчивость ФС II многолетних злаков к тяжелым металлам. Так, показано, что на сильно загрязненных тяжелыми металлами почвах у растений *Elytrigia elongata* Nevski и *Bromus inermis* Leyss не было обнаружено изменений целого ряда параметров флуоресценции хлорофилла по сравнению с растениями из незагрязненных участков (Žurek et al., 2014). Повышение концентрации кадмия в почве не приводило к изменениям этих параметров у растений *Festuca pratensis* (Soleimani et al., 2010). В опытах, проведенных в лабораторных условиях, в присутствии кадмия в концентрации 100 мкМ не изменялась величина F_v/F_m у *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex Steudel (Pietrini et al., 2003), при действии цинка в концентрации 20 мкМ/л – у растений *Lolium perenne* L. (Monnet et al., 2001).

Устойчивость ФС II многолетних злаков к тяжелым металлам, а также сохранение содержания каротиноидов явилось, очевидно, одними из причин отсутствия зна-

чимых изменений в интенсивности фотосинтеза почти во всех вариантах опыта (рис. 39).

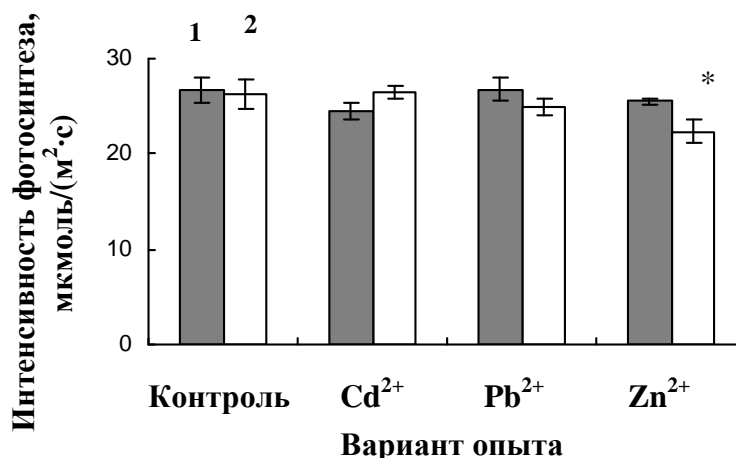


Рис. 39. Влияние тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза у растений *Elytrigia repens* (1) и *Phleum pratense* (2).

Концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Сравнивая действие тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза многолетних злаков с растениями из других семейств можно сделать вывод об относительно высокой металлоустойчивости их ФСА. Так, скорость процесса у растений салата (сем. *Acteraceae*) снижалась в 5 раз (по сравнению с растениями контрольного варианта) при действии кадмия уже в концентрации 10 мкМ (Dias et al., 2013), а у бобов посевных (сем. *Fabaceae*) в присутствии такой же концентрации металла – почти в 6 раз (Gouia et al., 2008). У растений гороха посевного (сем. *Fabaceae*) уменьшение интенсивности фотосинтеза (почти в 4 раза) было обнаружено при действии свинца в концентрации 20 мМ (Łukaszek, Poskuta, 1998), а у растений *Artemisia annua* L. (сем. *Acteraceae*) цинк в концентрации 100 мг/кг субстрата заметно снижал величину этого показателя (Khudsar et al., 2004).

Известно, что способность растений поддерживать функциональную активность ФСА и сохранять относительно высокую интенсивность фотосинтеза в неблагоприятных условиях внешней среды имеет важное приспособительное значение, поскольку позволяет удовлетворить потребности в энергетических и пластических ресурсах, необходимых не только для роста и развития, но и для процесса адаптации. При этом, чем сильнее выражена эта способность у растений, тем выше их устойчивость к данному стресс-фактору (Климов, 2003). Результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о высокой устойчивости ФСА *Elytrigia repens* и *Phleum pratense* к кадмию, свинцу и цинку.

5.4.3. Водный обмен

Хорошо известно о негативном действии тяжелых металлов на транспирацию, устьичную проводимость, содержание воды в клетках растений (Wahid et al., 2007; Kholodova et al., 2011; Dias et al., 2013 и др.). Вместе с тем сведения о водном режиме многолетних злаков в этих условиях крайне малочисленны и касаются, в основном, растений, произрастающих в условиях естественных фитоценозов. Тем не менее, в отдельных работах указывается на относительно высокую устойчивость ряда параметров водного режима многолетних злаков к загрязнению почв тяжелыми металлами. В частности, это отмечалось у *Dactylis glomerata* и *Festuca pratensis* L. (Половникова, 2007), у *Cenchrus ciliaris* L. и *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (Mukhtar et al., 2013).

В проведенных нами исследованиях кадмий, свинец и цинк в изученных концентрациях также не оказывали ингибирующего действия на интенсивность транспирации и устьичную проводимость многолетних злаков. Более того, у *Elytrigia repens* в присутствии всех тяжелых металлов, а у *Phleum pratense* при действии кадмия интенсивность транспирации и устьичная проводимость достоверно увеличивались (табл. 41). Свинец и цинк не оказывали влияния на изученные показатели у *P. pratense*. При этом стимулирующее действие тяжелых металлов в отношении изученных показателей у *E. repens* было, по крайней мере отчасти, связано с увеличением размеров устьичной щели, тогда как у *Phleum pratense* – с возрастанием числа устьиц на нижнем эпидермисе листа, что, возможно, было еще одной причиной сохранения интенсивности фотосинтеза многолетних злаков на уровне контроля.

Повышение скорости транспирации при замедлении роста корня в неблагоприятных условиях среды могло быть связано с увеличением гидравлической проводимости корней, что, как полагают, является адаптивной реакцией растений, направленной на сохранение оводненности тканей (Кудоярова и др., 2001).

Таблица 41

Влияние тяжелых металлов на показатели водного обмена
у дикорастущих многолетних злаков

Варианты опыта	Кол-во устьиц, шт./мм ²	Длина устьица, мкм	Площадь устьичной щели, мкм ²	Устьичная проводимость, ммоль/(м ² ·с)	Интенсивность транспирации, ммоль/(м ² ·с)
<i>Elytrigia repens</i>					
Контроль	176.1±4.4	36.3±0.7	82.8±3.6	77.6±7.4	1.55±0.13
Cd ²⁺	81.0±4.1*	42.8±0.8*	125.5±5.8*	114.7±5.5*	2.46±0.15*
Pb ²⁺	173.5±5.1	36.8±0.6	93.2±3.1*	163.1±4.9*	2.90±0.12*
Zn ²⁺	163.9±2.8*	39.0±0.6	94.8±4.7*	130.2±11.9*	2.25±0.30*
<i>Phleum pratense</i>					
Контроль	121.8±5.1	44.4±0.9	185.8±7.6	53.4±5.2	1.60±0.15
Cd ²⁺	228.6±9.2*	44.5±0.7	183.6±5.8	142.0±0.2*	3.57±0.23*
Pb ²⁺	130.1±4.2	42.9±0.7	179.3±5.8	72.3±9.1	2.00±0.24
Zn ²⁺	122.0±3.3	39.3±0.7*	167.7±4.9	64.2±4.4	1.93±0.21

Примечание. Концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

В ходе наших исследований также не было обнаружено отрицательного воздействия тяжелых металлов на оводненность тканей корня и побега многолетних злаков (табл. 42). Поскольку степень оводненности тканей влияет на многие стороны жизнедеятельности растений: поглощение элементов минерального питания, интенсивность транспирации, фотосинтез, способность к адаптации к неблагоприятным факторам

среды (Физиология., 1982), отсутствие изменений этого показателя у *Elytrigia repens* и *Phleum pratense* свидетельствует о сбалансированности физиологических процессов у злаков в условиях повышенных концентраций тяжелых металлов в субстрате.

Таблица 42

Влияние тяжелых металлов на оводненность тканей корня и побега
(% содержания воды) у дикорастущих многолетних злаков

Варианты опыта	<i>Elytrigia repens</i>		<i>Phleum pratense</i>	
	корень	побег	корень	побег
Контроль	85.2±1.4	77.6±0.5	89.3±0.2	82.5±1.2
Cd ²⁺	85.3±1.3	76.6±0.8	92.2±1.5	84.7±0.9
Pb ²⁺	84.2±1.0	79.0±1.1	91.4±1.3	82.4±1.5
Zn ²⁺	85.3±0.6	81.0±0.7	90.7±0.8	85.6±1.1

Примечание. Концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата.

Для объективной оценки устойчивости растений к тяжелым металлам, а также для выявления видов для фиторемедиации загрязненных ими почв, чрезвычайно важно знать количество этих элементов в подземных и надземных органах. В этой связи нами был проведен химический анализ содержания кадмия, свинца и цинка в корнях и листьях многолетних злаков. Результаты анализа выявили, что оба вида накапливают значительные количества тяжелых металлов в корнях, тогда как в побегах их концентрация гораздо меньше (табл. 43), что характерно для исключателей. При этом отчетливо выраженных межвидовых различий в содержании кадмия и цинка не было обнаружено: концентрация этих металлов в корнях и побегах обоих видов злаков была примерно равной. В отличие от этого в количестве свинца такие различия обнаружились. Так, более высокое содержание металла в корнях было обнаружено у *Elytrigia repens*, тогда в побегах – у *Phleum pratense*. Полученные данные свидетельст-

вуют о более сильной удерживающей способности свинца в корнях пырея, по сравнению с тимopheевкой.

Таблица 43

Содержание (мкг/г сухого веса) тяжелых металлов в корнях и листьях дикорастущих многолетних злаков после 40 дней выращивания на субстратах, содержащих тяжелые металлы

Вариант опыта	<i>Elytrigia repens</i>		<i>Phleum pratense</i>	
	корень	побег	корень	побег
Cd ²⁺	116.2 ± 5.0	4.5 ± 0.6	128.3 ± 14.8	3.6 ± 0.2
Pb ²⁺	173.9 ± 4.5*	3.6 ± 0.4*	95.4 ± 15.5*	6.5 ± 0.7*
Zn ²⁺	184.7 ± 24.0	75.8 ± 8.9	264.0 ± 42.1	104.0 ± 5.1

Примечание. Концентрация кадмия в субстрате 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата. Содержание Cd²⁺ в корнях растений контрольных вариантов составляло 0.2-0.4 мкг/г сухого веса; Pb²⁺ – 0.5-0.6 мкг/г сухого веса, Zn²⁺ – 8.0-8.5 мкг/г сухого веса; в побегах – 0.03-0.05, 0.02-0.04, 6.2-8.0 мкг/г сухого веса, соответственно. * – различия между видами достоверны при P ≤ 0.05.

О том, что разные виды растений различаются по способности накапливать тяжелые металлы при одной и той же их концентрации в почве, известно (Kuboi et al., 1986; Yang et al., 1995; Grant et al., 1998). Как полагают, различия между видами растений связаны с активностью поглощения ионов металлов корнями, способностью удерживать ионы металлов в клетках корня и их эффективностью перемещения из корней в побеги (Florjin, Van Beusichem, 1993; Guo et al., 1995; Hart et al., 1998).

Таким образом, проведенные исследования показали, что изученные виды дикорастущих многолетних злаков (*Elytrigia repens* и *Phleum pratense*) обладают высокой устойчивостью к повышенным концентрациям кадмия, свинца и цинка в субстрате,

накапливая при этом относительно большое их количество в корнях. Успешному росту и развитию растений в течение длительного времени этих условиях способствует целый ряд физиолого-биохимических механизмов, обеспечивающих относительно высокий уровень фотосинтеза и водного режима. Среди них адаптационные изменения в устьичном аппарате, поддержание необходимой концентрации каротиноидов, сохранение эффективности ФС II.

5.5. Содержание восстановленного глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях дикорастущих многолетних злаков в присутствии кадмия

Как показали наши исследования, устойчивость к кадмию, как наиболее токсичному металлу, многолетних злаков, также как и однолетних (ячмень и щетинник зеленый), обеспечивается внутриклеточными механизмами детоксикации металлов, в частности, связыванием токсичных ионов непротеиновыми тиолами. Проведенный анализ содержания GSH и ФХ в корнях и листьях многолетних злаков выявил, что в контрольных вариантах содержание GSH и в корнях, и в листьях растений *Elytrigia repens* выше, чем у *Phleum pratense*. В присутствии же кадмия у *E. repens* значимых изменений содержания GSH не наблюдалось, тогда как у *P. pratense* оно заметно увеличивалось (по сравнению с контролем) (рис. 41).

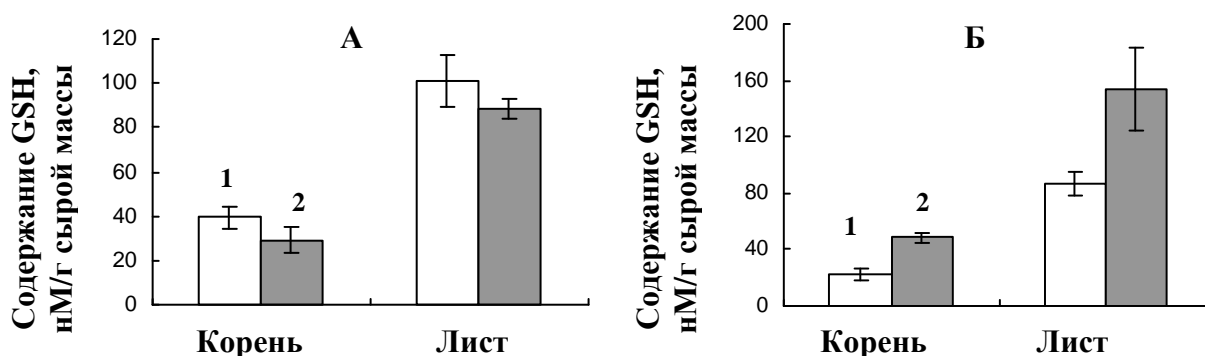


Рис. 41. Влияние кадмия (40 мг/кг субстрата) на содержание GSH в клетках корня и листа *Elytrigia repens* (А) и *Phleum pratense* (Б). 1 – контроль; 2 – опыт.

При этом содержание ФХ в органах обоих видов злаков значительно возрастало (рис. 42). Однако наиболее сильное увеличение их количества обнаружилось у растений *E. repens*. Так, в корнях этого вида оно возрастало в 9 раз (по сравнению с растениями контрольного варианта), в листьях – в 18 раз, тогда как у *P. pratense* – в 6 и 12 раз, соответственно.

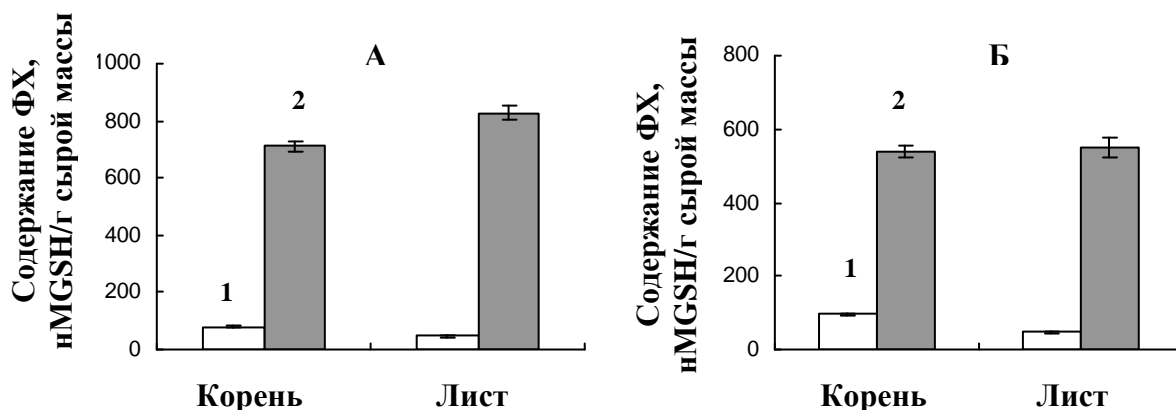


Рис. 42. Влияние кадмия (40 мг/кг субстрата) на содержание ФХ в клетках корня и листа растений *Elytrigia repens* (А) и *Phleum pratense* (Б). 1 – контроль; 2 – опыт.

Хорошо известно, что GSH выполняет в клетках растений целый ряд важных функций, среди которых связывание ионов тяжелых металлов, участие в регуляции внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала, клеточном сигналинге, защите клеток от окислительного стресса, а также в синтезе ФХ (Zhu et al., 1999; Cobbett, Goldsbrough, 2002; Pietrini et al., 2003; Noctor et al., 2011). В этой связи предполагается, что отсутствие изменений этого показателя у растений в условиях повышенных концентраций тяжелых металлов, как обнаружено нами у *Elytrigia repens*, а также увеличение содержания GSH, как и у *Phleum pratense*, может считаться показателем их металлоустойчивости.

Полученные нами данные показывают также, что у более устойчивого (по показателям роста) к кадмию вида *Elytrigia repens* содержание ФХ и в корнях, и в листьях оказалось выше, чем у *Phleum pratense*, несмотря на практически равное содержание металла в органах растений. Это, также как и в случае с проростками ячменя разного возраста, подтверждает мнение о том, что у более металлоустойчивых растений содержание ФХ выше, чем у менее устойчивых.

В целом, результаты исследований показали, что в устойчивости дикорастущих многолетних злаков к кадмию важную роль играют непротеиновые тиолы – GSH и ФХ, обеспечивающие связывание и, таким образом, детоксикацию ионов металла в

цитоплазме клетки. При этом необходимо подчеркнуть, что высокий уровень ФХ поддерживается в течение длительного (60 дней) времени произрастания злаков в условиях повышенных концентраций кадмия в субстрате.

5.4. Интенсивность перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов в корнях и листьях дикорастущих многолетних злаков при действии тяжелых металлов

Негативное влияние тяжелых металлов на физиологические процессы у растений в значительной степени связано с их действием на состояние клеточных мембран. При этом известно, что у растений, устойчивых к воздействию неблагоприятных факторов среды, мембраны обладают лучшей способностью сохранять целостность в этих условиях, чем у неустойчивых (Чиркова, 1997; Romero-Puertas et al., 2002; Varconi et al., 2011).

К настоящему времени накоплено довольно большое количество сведений, касающихся влияния тяжелых металлов на интенсивность ПОЛ и содержание в клетках антиоксидантных молекул, а также участия отдельных компонентов антиоксидантной системы в механизмах устойчивости растений к тяжелым металлам. Однако в отношении дикорастущих видов злаков такие данные единичны. Хотя подобные исследования, на наш взгляд, имеют не только важное научное значение, связанное с углублением знаний о клеточных механизмах металлоустойчивости дикорастущих видов растений, но и большую практическую ценность при выявлении наиболее устойчивых из них с целью использования в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв. В частности, в экспериментах М.Г. Половниковой (Половникова, 2007) у растений *Dactylis glomerata* и *Festuca pratensis*, произраставших на техногенно загрязненных металлами территориях, увеличивалась проницаемость клеточных мембран, при этом изменялись активности ПО и КАТ. В опытах С.Д. Атабаевой (Атабаева, 2007) у растений *Agropyron repens* (L.) Beauv. в присутствии Cd^{2+} (40 мг/л) и Cu^{2+} (20 мг/л) повышалась интенсивность ПОЛ. Увеличение содержания МДА наблюдалось у растений *Lolium perenne* при выращивании их на почвах с высоким уровнем

загрязнения кадмием, свинцом и цинком (Bidar et al., 2007). Тем не менее во всех этих работах ярко выраженных нарушений метаболизма растений не происходило, что, очевидно, могло быть связано с усилением активности компонентов антиоксидантной системы защиты клетки, в том числе антиоксидантных ферментов.

Нами проведено изучение влияния кадмия, свинца и цинка на содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов – СОД, КАТ и ПО – у растений *Elytrigia repens*, как наиболее устойчивого к загрязнению почв тяжелыми металлами вида многолетних злаков.

В результате исследований при действии тяжелых металлов не было обнаружено усиления интенсивности ПОЛ в клетках корня и листа (табл. 44). Наоборот, отмечалось некоторое уменьшение содержания МДА у опытных растений по сравнению с контрольными. При этом в корне заметно увеличивалась активность антиоксидантных ферментов, более ярко выраженная в присутствии свинца. В листе повышалась активность только ПО.

В целом, отсутствие негативных изменений в интенсивность ПОЛ у многолетних злаков в значительной степени связано с возрастанием активности антиоксидантных ферментов. При этом уровень их активности в большей степени зависит от органа растений и в меньшей – от токсичности металла и вида растений.

Таблица 44

Содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов
в клетках корня и листа *Elytrigia repens*

Варианты опыта	Содержание МДА, мкмоль/г сырой массы	Активность антиоксидантных ферментов		
		СОД, у.е. активности/мг белка·мин	КАТ, мкмоль/мг белка·мин	ГВПО, мкмоль/мг белка·мин
Корень				
Контроль	8.1±0.5	4.2±2.1	18.1±0.9	12.7±0.4
Cd ²⁺	5.9±0.4*	12.3±1.1*	47.4±1.3*	25.5±2.5*
Pb ²⁺	3.2±0.1*	27.8±3.6*	97.0±9.5*	34.0±1.1*
Zn ²⁺	3.9±0.3*	8.3±7.8*	71.8±3.5*	13.7±0.4*
Лист				
Контроль	13.3±0.5	2.0±1.2	21.1±2.4	1.19±0.03
Cd ²⁺	10.4±0.2*	1.7±0.3	24.0±1.7	4.33±0.48*
Pb ²⁺	10.1±0.5*	1.1±0.5	19.5±0.6	4.18±0.08*
Zn ²⁺	9.8±0.2*	2.9±0.5	18.0±1.9	2.37±0.10*

Примечание. Концентрация кадмия – 40 мг/кг субстрата, свинца – 400 мг/кг субстрата, цинка – 160 мг/кг субстрата. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Таким образом, совокупность проведенных исследований дает основание сделать вывод о высокой устойчивости дикорастущих видов злаков к тяжелым металлам, которая обеспечивается целым рядом физиолого-биохимических механизмов, позволяющих растениям в условиях их повышенных концентраций в корнеобитаемой среде поддерживать в течение длительного времени нормальный рост и развитие, сохранять высокий уровень фотосинтеза и стабильность водного режима. При этом некоторые адаптационные механизмы у изученных видов злаков сходны, а некоторые – различаются. К сходным механизмам устойчивости можно отнести: высокую всхожесть семян, поддержание активного роста листьев при замедлении роста корня, сохранение необходимой концентрации каротиноидов и активности ФС II, а также синтез ФХ и GSH. Среди механизмов, различающихся у разных видов растений: усиление или замедление побегообразования, увеличение или уменьшение количества устьиц и размеров устьичной щели, поддержание высокого уровня оводненности тканей за счет уменьшения интенсивности транспирации или увеличения гидравлической проводимости корня.

Помимо этого, многолетние злаки оказались способными накапливать значительные количества тяжелых металлов в корнях, а *Setaria viridis* – еще и в надземных органах. Полученные данные позволяют с большой долей уверенности говорить о возможности использования дикорастущих злаков в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв. При этом *Elytrigia repens* и *Phleum pratense* предпочтительно использовать в фитостабилизации, а *Setaria viridis* – в фитоэкстракции.

ГЛАВА 6. УСТОЙЧИВОСТЬ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ К ТЕХНОГЕННОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ ПОЧВ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ В УСЛОВИЯХ ТАЕЖНОЙ ЗОНЫ

Для того, чтобы выяснить как обнаруженные нами в лабораторных и вегетационных условиях механизмы устойчивости злаков к тяжелым металлам реализуют себя на уровне сообществ, нами были проведены полевые исследования, задачей которых явилось изучение роли и состояния многолетних злаков в травянистых сообществах, сформированных на техногенно загрязненных тяжелыми металлами почвах в условиях таежной зоны.

В течение многих десятилетий в результате активной техногенной деятельности во всем мире происходит глобальная эмиссия тяжелых металлов в атмосферу, воду и почвы, что негативно сказывается на состоянии природных экосистем. Большая часть тяжелых металлов, поступивших в окружающую среду из техногенных источников, оседает на почве, откуда они поступают в растительные и животные организмы. В результате сообщества претерпевают серьезные изменения, среди которых: снижение почвенного плодородия, уменьшение видового разнообразия, общей биомассы и численности организмов, и, как следствие, продуктивности экосистем, а в некоторых случаях даже полная их деградация (Миркин и др., 2000; Дабахов и др., 2005).

Природные экосистемы Севера, существующие в экстремальных климатических условиях, обладают пониженной устойчивостью к антропогенным воздействиям и имеют очень низкий восстановительный потенциал. Поэтому последствия сильного техногенного загрязнения на Севере могут оказаться необратимыми. Это касается и Республики Карелия (РК), в которой площадь нарушенных почв в структуре земель промышленности на 2014 год составляет 5.9 тыс. га и в структуре земель сельскохозяйственного назначения – 1.3 тыс. га (Государственный доклад..., 2015). Для предотвращения этого чрезвычайно важно изучение состояния как экосистемы в целом, так и ее отдельных компонентов с целью своевременного проведения мероприятий по восстановлению нарушенных территорий. Хорошими индикаторами состояния биоценозов, подверженных промышленному загрязнению, являются растительные сообщ-

щества, поскольку растения присутствуют почти повсеместно, чутко реагируют на повышение уровня тяжелых металлов в окружающей среде и сравнительно легко поддаются анализу (Жукова и др., 1985; Злобин, 1985).

К настоящему времени имеется целый ряд публикаций, в которых рассматривается влияние промышленного загрязнения окружающей среды на древесную растительность, в том числе в РК (Тужилкина и др., 1998; Черненькова, 2002; Ярмишко, 2005; Жиров и др. 2007; Костюк и др., 2009; Сазонова и др., 2011; Марковская и др., 2015). В этих работах показано, что высокие концентрации тяжелых металлов в окружающей среде вызывают целый ряд негативных изменений в жизнедеятельности растений. В частности, замедляются ростовые процессы, нарушаются водный режим и минеральное питание (Сазонова, Придача, 2009; Придача и др., 2011), уменьшается содержание фотосинтетических пигментов и замедляется процесс фотосинтеза (Токарева, 1992; Терехова и др., 2008; Тужилкина, 2009). У хвойных отмечено уменьшение продолжительности жизни хвои (Ярмишко, 1997) и снижение ее биометрических показателей (Придача и др., 2011). Что касается травянистой растительности, то исследований такого рода относительно немного, а в РК они вообще единичны. Вместе с тем известно, что травяно-кустарничковый ярус является наиболее устойчивым к техногенному загрязнению компонентом экосистем (Черненькова, 2002; Павлов, 2005). Среди травянистых растений можно выделить целый ряд видов, в том числе из семейства *Poaceae*, которые способны произрастать на территориях с довольно сильным техногенным загрязнением (Жиров и др., 2007; Воскресенская, 2009; Башмаков, Лукаткин, 2009 и др.). Именно эти виды представляют ценный материал для изучения механизмов устойчивости, позволяющих им произрастать в неблагоприятных почвенных условиях.

Территория РК является довольно «чистой» в отношении содержания тяжелых металлов в окружающей среде. Значительному загрязнению подвергаются лишь участки, расположенные вокруг промышленных предприятий (Государственный доклад..., 2013). Наиболее крупными предприятиями в РК являются Кондопожский целлюлозно-бумажный комбинат ОАО «Кондопога» (Кондопожский ЦБК), специализирующийся на производстве газетной бумаги, и Костомукшский горно-обогатительный комбинат ОАО «Карельский окатыш» (Костомукшский ГОК) – производитель железо-

рудного сырья. Согласно литературным данным вблизи Кондопожского ЦБК в почвах обнаружено высокое (по сравнению с фоновым для РК уровнем) содержание кобальта, меди, никеля и цинка. Основным загрязняющим почву компонентом выбросов Костомукшского ГОКа является полиметаллическая пыль с повышенным содержанием в ней железа, кобальта, меди, никеля, хрома и цинка (Лазарева и др., 1992; Федорец и др., 2008; Пантелеева, 2009; Федорец, Солодовников, 2013).

В контексте данной работы представлялось важным изучение устойчивости к техногенному загрязнению почвы тяжелыми металлами дикорастущих представителей семейства *Roaceae*, произрастающих на территориях вблизи указанных предприятий.

Проведенный нами химический анализ почвы обследованных участков показал, что содержание тяжелых металлов в образцах превышает средний уровень, определенный для типов почв, характерных для изученных районов Карелии (Федорец и др., 2008). При этом оно возрастает по мере приближения к предприятию, достигая наибольших значений на участках, расположенных в 0.5 км от источника загрязнения (табл. 45 и 46). Исключение составляет цинк, его содержание вблизи Кондопожского ЦБК находится в пределах нормы.

Таблица 45

Валовое содержание (мг/кг сухого веса) тяжелых металлов в почвах участков, расположенных на разном расстоянии от Кондопожского ЦБК

Тяжелый металл	Региональный фон, мг/кг сухого веса почвы*	Содержание тяжелых металлов в почве, мг/кг сухого веса		
		0.5 км	4 км	8 км
Ni ²⁺	5.2	24.1 ± 5.7	15.0 ± 1.0	9.2 ± 0.5
Cu ²⁺	12.0	43.9 ± 4.4	18.7±1.9	15.5±1.6
Pb ²⁺	5.1	19.8 ± 2.0	7.4 ± 0.8	7.5±0.8
Zn ²⁺	35.2	44.0 ± 7.1	36.0±5.8	37.9±6.1

Примечание. * – региональный фон для подзолистых песчаных почв (горизонт А2(В)), характерных для района исследований (по: Федорец и др., 2008).

Таблица 46

Валовое содержание (мг/кг сухого веса) тяжелых металлов в почвах участков, расположенных на разном расстоянии от Костомукшского ГОКа

Тяжелый металл	Региональный фон, мг/кг сухого веса почвы*	Содержание тяжелых металлов в почве, мг/кг сухого веса		
		0.5 км	4 км	8 км
Ni ²⁺	3.6	17.8± 4.7	12.8±3.2	9.0±2.3
Cu ²⁺	9.1	25.2±3.8	15.2±1.6	9.1±0.9
Pb ²⁺	5.9	15.8 ± 1.6	9.6±1.0	7.4±0.8
Zn ²⁺	19.2	43.7 ± 7.0	42.1±6.8	22.7±3.7

Примечание. * – региональный фон для иллювиально-гумусово-железистых подзолистых песчаных почв (горизонт А2 (Е)), характерных для района исследований (по: Федорец и др., 2008).

6.1. Ценотическая роль злаков в травянистых сообществах, сформировавшихся на техногенно-загрязненных тяжелыми металлами территориях

Известно, что негативное влияние техногенной нагрузки на растительные сообщества проявляется, прежде всего, в изменении их структуры и видового состава (Опекунова, 2013). При этом при усилении техногенного загрязнения изменяется ценотическая роль видов в фитоценозах: она возрастает у более устойчивых к загрязнению и уменьшается – у менее устойчивых видов (Дабахов и др., 2005).

В наших исследованиях мы определяли ценотическую роль злаков на участках, расположенных на разном расстоянии от предприятий. Для этого проводили анализ видового состава и проективного покрытия видов растений, произрастающих на этих территориях.

Анализ видового состава выявил, что в районе Кондопожского ЦБК общее количество видов в сообществах на разных по удаленности от предприятия участках практически не отличалось. Так, в 8 км от комбината было обнаружено 29–33 вида, в 4 км – 23–29 и 0.5 км 31–32 вида травянистых растений. При этом проективное покрытие злаков (в частности, *Dactylis glomerata*, *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv. и *Phleum pratense*) на всех участках было высоким (табл. 47). В сообществах, расположенных в 0.5 км от ЦБК, помимо указанных видов заметно увеличивалось проективное покрытие *Elytrigia repens* и *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth., тогда как проективное покрытие *Poa pratensis* L. и *Festuca pratensis*, несколько уменьшалось. Доминирующее положение во всех изученных фитоценозах занимала *Dactylis glomerata*. Наравне со злаками на наиболее загрязненных участках увеличивалось проективное покрытие *Arcium tomentosum* Mill. и *Cirsium setosum* (Willd.) Bess. из семейства *Asteraceae*, однако их встречаемость была ниже, чем у представителей семейства *Poaceae*. На участках, удаленных от предприятия на 8 км, в качестве содоминантов выступали также виды из семейства *Apiaceae* – *Angelica sylvestris* L. и *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm, тогда как при приближении к ЦБК их доля в сообществе заметно снижалась.

Таблица 47

Проективное покрытие видов растений с высокой (> 50%) встречаемостью в травянистых сообществах, расположенных в районе Кондопожского ЦБК

Вид растения	Встречаемость, %	Проективное покрытие (баллы по шкале Браун-Бланке)		
		расстояние от ЦБК, км		
		0.5	4.0	8.0
<i>Poaceae</i>				
<i>Agrostis tenuis</i> Sibth	83	1	1	1
<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth.	83	2	1	1
<i>Dactylis glomerata</i> L.	100	3	3	3
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) Beauv.	66	2	2	2
<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski.	50	2	1	1
<i>Festuca pratensis</i> Huds.	83	1	2	2
<i>Phleum pratense</i> L.	83	2	2	2
<i>Poa pratensis</i> L.	100	1	1	1
<i>Fabaceae</i>				
<i>Amoria repens</i> (L.) C. Presl.	83	1	1	1
<i>Trifolium pratense</i> L.	83	1	1	2
<i>Vicia cracca</i> L.	83	1	1	2
<i>Asteraceae</i>				
<i>Arctium tomentosum</i> Mill.	50	–	1	1
<i>Cirsium setosum</i> (Willd.) Bess.	67	1	1	1
<i>Taraxacum officinale</i> Wigg. s. l.	100	1	1	1
<i>Apiaceae</i>				
<i>Angelica sylvestris</i> L.	67	1	1	2
<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm	83	–	1	2
<i>Onagraceae</i>				
<i>Chamaenerion angustifolium</i> (L.) Scop.	50	1	–	1

Примечание. “+” – участие вида составляет менее 1%, “–” – отсутствие вида.

В отличие от территории ЦБК, в районе Костомукшского ГОКа число видов на участках зависело от их местоположения: в непосредственной близости от предприятия количество видов в сообществах оказалось заметно меньшим (14–16 видов), чем на участках, удаленных от него на 4 км (20–28 видов) и 8 км (21–26 видов). Вместе с тем при приближении к предприятию проективное покрытие злаков также увеличивалось (в большей степени, *Phleum pratense*), тогда как представителей других семейств, наоборот, уменьшалось (табл. 48). Например, на участках, удаленных от ГОКа на расстоянии 4 и 8 км, в роли содоминантов выступали *Phleum pratense*, *Deschampsia cespitosa* и *Lathyrus pratensis* L., тогда как вблизи предприятия *L. pratensis* не была обнаружена вообще, а доминирующие позиции занимала *Phleum pratense*.

Уменьшение числа видов сосудистых растений в травянистых сообществах с приближением к источнику загрязнения было обнаружено и другими авторами (Уманова, 2000; Мордвина и др., 2005; Жуйкова, 2008, 2009). При этом, среди видов с высокой встречаемостью также отмечены дикорастущие злаки (в том числе, *Agrostis capillaris* L., *Calamagrostis epigeios*, *Deschampsia cespitosa*, *Poa pratensis*), которые характеризуются широкой экологической амплитудой, высокой интенсивностью вегетативного и семенного возобновления, устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды (Парибок, 1983; Aтабаева, Sarsenbaev, 2004; Жуйкова и др., 2008). О возрастании ценотической роли злаков в районах повышенного загрязнения почв тяжелыми металлами уже упоминалось ранее. В частности, в непосредственной близости от Красноярского и Братского алюминиевых заводов обнаружены сообщества, доминирующим видом в которых является *Bromopsis inermis* (Павлов, 1989). Вблизи комбината «Северсталь», расположенного в г. Череповец, в качестве доминанта является *D. cespitosa*, тогда как на территориях более удаленных от предприятия характерно наличие значительного количества бобовых (*Trifolium pratense* L., *Trifolium hybridum* L., *L. pratensis*, *Vicia cracca* L.) (Груздев, 2010). Доминирующие позиции занимали также *Elytrigia repens* и *Festuca pratensis* на техногенно загрязненных участках в г. Сыктывкаре (Мартыненко, 1996).

Таблица 48

Проективное покрытие видов растений с высокой (> 50%) встречаемостью в травянистых сообществах, расположенных в районе Костомукшского ГОКа

Вид растения	Встречае- мость, %	Проективное покрытие (баллы по шкале Браун-Бланке)		
		расстояние от ЦБК, км		
		0.5	4.0	8.0
<i>Poaceae</i>				
<i>Agrostis tenuis</i> Sibth	100	1	1	1
<i>Calamagrostis epigeos</i> (L.) Roth.	67	2	1	1
<i>Dactylis glomerata</i> L.	50	1	1	1
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) Beauv.	100	2	2	2
<i>Phleum pratense</i> L.	100	3	2	2
<i>Poa pratensis</i> L.	67	2	1	1
<i>Fabaceae</i>				
<i>Lathyrus pratensis</i> L.	83	–	2	2
<i>Trifolium pratense</i> L.	83	1	1	1
<i>Trifolium repens</i> (L.) C. Presl.	100	1	1	2
<i>Vicia cracca</i> L.	100	1	1	1
<i>Asteraceae</i>				
<i>Achillea millefolium</i> L.	100	1	1	2
<i>Taraxacum officinale</i> Wigg. s. l.	100	1	1	1
<i>Tussilago farfara</i> L.	67	1	1	1
<i>Caryophyllaceae</i>				
<i>Stellaria graminea</i> L.	100	1	1	1
<i>Onagraceae</i>				
<i>Chamaenerion angustifolium</i> (L.) Scop.	83	1	1	2

Примечание. “–” – отсутствие вида.

По общему мнению, в условиях техногенного загрязнения почв тяжелыми металлами изменение видового состава сформированных сообществ связано с «выпадением» менее устойчивых видов и, соответственно, возрастанием доли видов, более устойчивых к данному стрессовому воздействию, каковыми и являются некоторые виды дикорастущих злаков.

В целом наши исследования выявили важную ценотическую роль многолетних злаков в сообществах, сформированных на техногенно загрязненных тяжелыми металлами территориях вблизи крупных предприятий РК. С повышением степени загрязнения участков проективное покрытие злаков увеличивается, что свидетельствует об устойчивости представителей этого семейства к загрязнению почв тяжелыми металлами. Доминирующими видами в фитоценозах, расположенных в непосредственной близости от Кондопожского ЦБК и Костомукшского ГОКа, являются *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*, соответственно.

6.2. Влияние техногенного загрязнения почв тяжелыми металлами на морфо-физиологические показатели дикорастущих злаков

Известно, что о степени техногенной нагрузки на территории, расположенные вблизи промышленных предприятий, можно судить по состоянию произрастающей там растительности и/или отдельных видов растений. К основным видимым изменениям у растений, произрастающих на таких участках, можно отнести: количественные изменения их морфофизиологических признаков, появление различных деформаций органов, общее снижение продуктивности, изменение окраски листьев в результате хлороза, некроза и других причин, раннее пожелтение и опадение листьев, замедление или ускорение развития. При этом наиболее заметно эти изменения проявляются у чувствительных к загрязнению видов растений, тогда как у устойчивых видов видимых признаков может и не наблюдаться. На основе изменений морфологических признаков растений основан биоиндикационный метод изучения степени антропогенного влияния на природную среду (Биоиндикация загрязнения..., 1988).

Согласно данным литературы, в районах, характеризующихся сильным промышленным загрязнением почвы тяжелыми металлами, у травянистых растений замедляется рост подземных и надземных органов, уменьшаются размеры листьев, тормозится развитие. Это было обнаружено, например, у *Typha latifolia* L. (Ye et al., 1997), *Phragmites australis* (Pietrini et al., 2003), *Plantago major* L. (Kosobrukhov et al., 2004), *Artemisia annua* (Khudsar et al., 2004), *Taraxacum officinale* (Жуйкова, 2009), *Matricaria chamomilla* L. (Прокопьев и др., 2014) и др.

В наших исследованиях имеющаяся вблизи промышленных предприятий (Кондопожского ЦБК и Костомукшского ГОКа) техногенная нагрузка не оказывала ярко выраженного негативного влияния на рост доминирующих на обследованных территориях видов злаков – *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*. Тем не менее, на наиболее загрязненных участках у обоих видов злаков уменьшалась высота побега, тогда как площадь листовой пластинки подфлагового листа не изменялась (табл. 49). Поскольку подфлаговый и флаговый листья играют существенную роль в формировании продуктивности соцветия у злаков (Табаленкова, 2007), сохранение их размеров, очевид-

но, способствует сохранению семенной продуктивности растений. Также как и обнаруженное нами увеличение на наиболее загрязненных участках длины соцветия.

Таблица 49

Влияние загрязнения почвы тяжелыми металлами на морфологические признаки генеративного побега растений *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*

Источник загрязнения	Расстояние от источника загрязнения, км	Морфологические признаки		
		высота побега, см	площадь листа, см ²	длина соцветия, см
Кондопожский ЦБК		<i>Dactylis glomerata</i>		
	0.5	118.0±2.0*	12.3±0.6	14.8±0.6*
	4.0	131.7±3.8	11.1±1.2	11.9±0.4
	8.0	135.2±4.9	12.0±0.5	11.1±0.7
Костомукшский ГОК		<i>Phleum pratense</i>		
	0.5	77.3±3.2*	7.7±0.6	6.16±0.31*
	4.0	87.6±1.9*	8.2±0.6	4.73±0.32
	8.0	111.4±3.1	7.9±0.7	4.62±0.30

Примечание. * – различия по отношению к участкам, расположенным в 8 км от источника загрязнения, достоверны при $P \leq 0.05$.

Сведения о влиянии промышленного загрязнения почвы тяжелыми металлами на репродуктивную сферу у растений в литературе весьма немногочисленны и неоднозначны. В частности, у *Taraxacum officinale* диаметр цветоносов и диаметр соцветия не зависели от степени техногенного загрязнения мест произрастания вида (Северюхина, Жуйкова, 2002). Тогда как у *Betula pendula* и *Salix alba* L. с возрастанием техногенной нагрузки уменьшалась длина соцветий (Бухенко, 2007), а у *Matricaria chamomilla* в условиях загрязнения снижалось количество соцветий на растении (Прокопьев

и др., 2014). Что касается многолетних злаков, то данных в известной нам литературе не оказалось, хотя и показано, что у этих видов размеры соцветия являются наиболее стабильными морфологическими признаками (Олимпиенко и др., 1982; Калинина, Лайдинен, 1997).

Считается, что устойчивость ценопопуляций растений к действию тех или иных неблагоприятных факторов среды можно оценить по характеру и величине изменений коэффициента вариации отдельных признаков (Давыдова, Моченят, 1991). В наших исследованиях обнаружено, что с приближением к источнику загрязнения у *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* увеличивается уровень внутривидовой изменчивости изученных морфологических признаков (табл. 50).

Аналогичные результаты представлены и в ряде других исследований. В частности, обнаружено повышение уровня внутривидовой изменчивости морфологических признаков на загрязненных тяжелыми металлами почвах у *Agrostis tenuis* L. (Karataglis, 1980), *Deschampsia cespitosa* (Cox, Hutchinson, 1981), *Aster alpinus* L. (Косицин и др., 1983) и *Plantago media* L. (Вайцеховская, 1995б). По мнению авторов, увеличение гетерогенности признаков у растений в ответ на возрастание содержания ионов тяжелых металлов в почве создает основу для формирования металлоустойчивых популяций за счет естественного отбора наиболее устойчивых генотипов.

Таблица 50

Вариабельность морфологических признаков (V, %) генеративного побега растений *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*

Вид растения	Источник загрязнения	Расстояние от ИЗ, км	Морфологические признаки		
			высота побега	площадь листа	длина соцветия
<i>Dactylis glomerata</i>	Кондопожский	0.5	12.4	31.8	20.8
	ЦБК	4	4.9	28	12.0
		8	4.9	13.6	13.4
<i>Phleum pratense</i>	Костомукшский	0.5	18.4	26.9	24.9
	ГОК	4	16	21.5	23.4
		8	10.6	20.5	20.8

Крайне мало данных и касающихся влияния техногенного загрязнения почвы на развитие растений. Обнаружено лишь, что в зонах сильного промышленного загрязнения отмечается задержка темпов онтогенеза за счет увеличения времени прегенеративного развития (Павлов, 2005). В наших исследованиях мы не обнаружили замедления наступления очередной фенофазы – у растений на всех участках, независимо от их расположения, отмечалась фаза цветения.

Среди физиологических процессов, определяющих рост растений и формирование их продуктивности, наиболее важным является фотосинтез. Поддержание фотосинтетической активности на высоком уровне способствует росту и развитию растений в неблагоприятных условиях среды и может служить показателем их устойчивости (Крупа, Waszynski, 1995). Поэтому в качестве дополнительных критериев при оценке состояния растений *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* в условиях почвенного загрязнения мы использовали количество зеленых и желтых пигментов в листьях, учитывая, что эти показатели являются весьма чувствительными и информативными в неблагоприятных условиях среды.

Результаты исследования показали, что у изученных видов злаков наиболее высокое содержание всех форм пигментов оказалось на участках, расположенных в непосредственной близости от источника загрязнения. Так, у *Dactylis glomerata* вблизи Кондопожского ЦБК (табл. 51) и у *Phleum pratense* вблизи Костомукшского ГОКа (табл. 52) содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в среднем оказалось выше (в 1.2–1.4 раза), чем на более удаленных участках (в 8 км).

Таблица 51

Влияние загрязнения почвы тяжелыми металлами на содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений *Dactylis glomerata*

Показатель	Расстояние до Кондопожского ЦБК, км		
	0.5	4	8
Содержание хл <i>a</i> , мг/г сырой массы	0.917±0.002*	0.900±0.010*	0.766±0.002
Содержание хл <i>b</i> , мг/г сырой массы	0.256±0.007*	0.220±0.006	0.211±0.003
Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы	0.457±0.006*	0.394±0.002	0.376±0.004

Примечание. * – здесь и в табл. 52 различия по сравнению с участками, расположенными в 8 км от предприятия, достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 52

Влияние загрязнения почвы тяжелыми металлами на содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений *Phleum pratense*

Показатель	Расстояние до Костомукшского ГОКа, км		
	0.5	4	8
Содержание хл <i>a</i> , мг/г сырой массы	1.229±0.007*	0.996±0.005	1.024±0.002
Содержание хл <i>b</i> , мг/г сырой массы	0.339±0.030*	0.323±0.021	0.242±0.001
Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы	0.565±0.003*	0.474±0.009	0.499±0.002

Исследования содержания фотосинтетических пигментов в растениях, произрастающих вблизи промышленных предприятий, касаются, в основном, древесных видов. Например, обнаружено, что при приближении к источнику загрязнения (металлургический комплекс ОАО «Камаз» в г. Набережные Челны) увеличивалось содержание пигментов в листьях *Tilia cordata* Mill. (Bukharina et al., 2013). В условиях полиметаллического загрязнения в хвое растений *Larix sukaczewii* Dyl. более высокие концентрации хлорофиллов обнаружались вблизи Стерлитамакского промышленного центра (Уральский регион) (Кулагин, Юсупов, 2008). Средние значения содержания фотосинтетических пигментов в листьях *Acer platanoides* L. на техногенно загрязненных участках в г. Кировске оказались достоверно выше аналогичных показателей у растений из фоновых условий. Отмеченное нами и авторами указанных работ увеличение количества пигментов в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в почве, очевидно, направлено на поддержание необходимого уровня фотосинтеза у растений при уменьшении площади листа.

Тем не менее, есть данные и о снижении содержания пигментов у растений на антропогенно загрязненных территориях. Так, у растений *Tanacetum vulgare* L., вблизи промышленного предприятия содержание зеленых пигментов оказалось в 2 раза ниже, чем в зоне с отсутствием загрязнения (Stevović et al., 2010). Суммарное содержание хлорофиллов в хвое *Pinus sylvestris* L., в листьях *Solidago lapponica* With. и *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. уменьшалось при приближении к комбинату «Североникель» (Костюк и др., 2009). Полагают, что уменьшение количества фотосинтетических пигментов и замедление скорости фотосинтеза, приводящие к снижению продуктивности растений в условиях техногенного загрязнения, характерно для менее устойчивых видов растений, а также для сильно загрязненных тяжелыми металлами территорий.

В целом, у изученных нами злаков, являющихся доминирующими видами на техногенно загрязненных территориях, не обнаружено признаков сильного угнетения. При этом разные виды злаков в различных природно-климатических условиях (северная и южная Карелия) имели практически одинаковую ответную реакцию на техногенное загрязнение почвы тяжелыми металлами: несмотря на некоторое уменьшение

на загрязненных участках высоты побега, у растений сохраняются размеры листовой пластинки подфлагового листа, повышается содержание фотосинтетических пигментов, обеспечивая активную работу фотосинтетического аппарата, увеличивается длина соцветия, способствуя поддержанию в этих условиях высокой семенной продуктивности. Помимо этого возрастает уровень внутривидовой изменчивости морфологических признаков генеративного побега. Указанные изменения направлены на обеспечение успешного роста и развития злаков в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами и могут рассматриваться в качестве адаптивных.

6.3. Содержание тяжелых металлов в подземных и надземных органах дикорастущих злаков, произрастающих на территориях вблизи промышленных предприятий

В зонах выявленных геохимических аномалий и сильного промышленного загрязнения подвижность тяжелых металлов в системе «почва – растение» значительно увеличивается, что приводит к их избыточному накоплению в растениях (Кабата-Пндияс, Пендияс, 1989; Кашулина, Салтан, 2008; Поздняк, 2011; Ильин, 2012). Для оценки степени их негативного воздействия на растения, а также для изучения устойчивости к ним разных видов, важным является определение содержания ионов металлов в органах растений.

Проведенный нами химический анализ растительных образцов показал, что у обоих видов злаков при возрастании степени загрязнения территории тяжелыми металлами увеличивается их содержание в подземных органах. Так, в корнях растений *Dactylis glomerata*, произрастающих в непосредственной близости от Кондопожского ЦБК, содержание меди и никеля оказалось почти в 4 раза, а свинца – почти в 40 раз выше, чем на участке, расположенном в 8 км от комбината (табл. 53). В корнях *Phleum pratense* высокие концентрации металлов обнаружались у растений, произрастающих на расстоянии 0.5 и 4 км от комбината (табл. 54). При этом количество меди и свинца в корнях растений этого вида было почти в 2 раза, а никеля – в 1.5 раза выше, чем на наиболее удаленном от предприятия участке.

Необходимо также отметить, что при приближении к источнику загрязнения возрастало содержание тяжелых металлов в корнях, тогда как в побегах изменения были менее выражены, что свидетельствует об усилении барьерной роли корней злаков. Отмеченный эффект является одним из важных механизмов устойчивости к тяжелым металлам растений, не являющихся аккумуляторами.

Таблица 53

Содержание тяжелых металлов в корнях и побегах растений *Dactylis glomerata* (мкг/г сухого веса), произрастающих на участках, расположенных на разном расстоянии от Кондопожского ЦБК

Расстояние от ЦБК, км	Орган	Тяжелые металлы			
		медь	никель	свинец	цинк
0.5	корень	44.8±4.4*	10.2±0.8*	8.9±0.4*	30.7±4.9
	побег	5.7±0.6*	0.9±0.1	1.2±0.01*	26.1±2.6
4.0	корень	35.6±3.4*	4.1±0.3*	2.6±0.3	37.7±6.0
	побег	2.3±0.3	1.3±0.1	0.6±0.01	32.8±2.2
8.0	корень	11.9±1.2	2.8±0.2	2.1±0.02	20.7±3.3
	побег	3.12±0.4	1.0±0.2	0.5±0.01	24.8±4.0

Примечание. * – здесь и в табл. 54 различия по сравнению с участками, расположенными в 8 км от предприятия, достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 54

Содержание тяжелых металлов в корнях и побегах растений *Phleum pratense* (мкг/г сухого веса), произрастающих на участках, расположенных на разном расстоянии от Костомукшского ГОКа

Расстояние от ГОКа, км	Орган	Тяжелые металлы			
		медь	никель	свинец	цинк
0.5	корень	20.4±5.1*	24.1±6.0*	9.1±0.5*	33.5±5.4
	побег	2.5±0.6	2.9±0.7*	2.0±0.2*	25.5±4.1
4.0	корень	25.2±6.3*	19.2±4.8	5.1±0.5*	33.2±5.3
	побег	2.7±0.7	2.2±0.6	3.3±0.3*	17.4±2.8
8.0	корень	11.9±3.0	15.6±3.9	2.9±0.3	33.5±5.4
	побег	2.1±0.5	0.9±0.2	0.6±0.1	16.2±2.6

Исключение составил цинк, который у обоих видов распределялся между подземными и надземными органами примерно поровну (52% и 48% от общего содержания в растении, соответственно) и его содержание в растениях практически не зависело от удаленности участка от источника загрязнения. Возможно, это связано, с одной стороны, с тем, что цинк является микроэлементом и его присутствие в надземных органах растений необходимо, а с другой стороны – с относительно низкими концентрациями цинка в почвах изученных участков.

О способности дикорастущих злаков к значительному (по сравнению с видами из других семейств) накоплению тяжелых металлов ранее уже упоминалось в литературе. Так, вблизи крупной автомагистрали содержание свинца в корнях *Trifolium repens* L., *Vicia cracca* (сем. *Fabaceae*), *Plantago maior* (сем. *Plantaginaceae*), *Matricaria inodora* L. (сем. *Asteraceae*) оказалось в 2-3 раза меньше, чем в корнях *Dactylis glomerata*, произрастающей на тех же участках (Хаданович и др., 2010). В промышленной зоне г. Саранска растения *Calamagrostis epigeios* накапливали в корнях гораздо более высокие концентрации меди, а в побегах – свинца, по сравнению с растениями *Taraxacum officinale* (сем. *Asteraceae*) (Башмаков, Лукаткин, 2009). В растениях *Phleum pratense* и *Dactylis glomerata*, произраставших на почвах с высоким уровнем загрязнения тяжелыми металлами, концентрация свинца в корнях оказалась в 4-7 раз больше, чем у растений *Thlaspi arvense* L. (сем. *Brassicaceae*) (Атабаева, 2007). Вблизи металлургического комбината в Садбери (Канада) содержание меди и никеля в *Deschampsia flexuosa* (L.) Nees. (сем. *Poaceae*) было почти в 10 раз выше, чем в листьях растений *Vaccinium angustifolium* Ait. (сем. *Ericaceae*) (Hutchinson, Whitby, 1974). Вблизи ТЭЦ г. Тюмени содержание свинца в листьях растений *Elytrigia repens* во много раз превышало его количество у *Artemisia vulgaris* L. (сем. *Asteraceae*) (Баранова, Дмитренко, 2013). Выполненный нами сравнительный анализ содержания тяжелых металлов в подземных органах растений из разных семейств (на примере участков, расположенных в 0.5 км от Кондопожского ЦБК), также показал более высокую концентрацию меди, никеля, свинца и цинка в корнях злаков, по сравнению с видами из семейств *Fabaceae* и *Asteraceae* (табл. 55)

Таблица 55

Содержание тяжелых металлов (мг/кг сухой массы) в корнях растений разных видов, произраставших в 0.5 км от Кондопожского ЦБК

Вид растения	Тяжелый металл			
	медь	никель	свинец	цинк
<i>Dactylis glomerata</i>	44.8 ± 4.4	10.2 ± 0.8	3.9 ± 0.4	30.7 ± 4.9
<i>Vicia cracca</i>	11.6 ± 2.3	3.2 ± 1.5	2.4 ± 1.2	20.6 ± 2.5
<i>Taraxacum officinale</i>	11.2 ± 2.4	5.6 ± 1.3	0.05 ± 0.004	22.6 ± 3.2
<i>Tussilago farfara</i>	31.4 ± 2.8	5.2 ± 2.2	0.05 ± 0.002	23.6 ± 3.4

В целом, проведенные исследования показали, что многолетние злаки являются доминирующими видами в растительных сообществах, произрастающих вблизи промышленных предприятий. При этом они способны накапливать тяжелые металлы в относительно больших количествах в корнях, без заметных нарушений роста и развития. Полученные результаты позволяют предполагать возможность использования этих видов в фиторемедиации, а точнее – в фитостабилизации загрязненных тяжелыми металлами почв в условиях таежной зоны.

Как известно, фитостабилизация – важная часть фиторемедиационной технологии, при которой растения используются для снижения подвижности химических элементов в почве за счет выделения корнями хелатирующих веществ и/или удерживания ионов металлов в корневой системе (Salt et al., 1998; Palmer et al., 2001; Прасад, 2003; Sharma, Dubey, 2005; Prasad, Freitas, 2006). Для более эффективного использования этой технологии в настоящее время все больше внимания уделяется видам аборигенной флоры, которые устойчивы к высоким концентрациям тяжелых металлов в окружающей среде и способны накапливать их в относительно высоких концентрациях в подземных органах (Greger, Landberg, 1999; Carrier et al., 2003). Проведенные нами исследования показывают, что *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* обладают всеми перечисленными свойствами.

Таким образом, проведенные нами полевые исследования в районах техногенного загрязнения почв тяжелыми металлами подтверждают высокую устойчивость к ним растений семейства *Poaceae*, что позволяет злакам играть важную ценотическую роль в сообществах, сформированных на техногенно загрязненных территориях. При этом разные виды злаков, произрастающие в различных природно-климатических условиях (северная и южная Карелии) имели практически одинаковую ответную реакцию на загрязнение почвы тяжелыми металлами, что позволяет говорить о действии сходных механизмов адаптации. Среди них: возрастание уровня внутривидовой изменчивости морфологических признаков генеративного побега, что может рассматриваться в качестве адаптивной реакции, направленной на повышение выживаемости ценопопуляций; сохранение роста подфлагового листа даже на наиболее загрязненных участках, увеличение размеров соцветия при приближении к источнику загрязнения, способствующее поддержанию в этих условиях высокого уровня семенной продуктивности; повышение концентрации фотосинтетических пигментов, обеспечивающее активную работу ФСА. Указанные изменения являются, на наш взгляд, адаптивными, направленными на повышение выживаемости злаков в условиях техногенного загрязнения почвы тяжелыми металлами.

Высокая устойчивость злаков к техногенному загрязнению почв тяжелыми металлами, а также их способность к накоплению этих элементов в корнях в относительно больших количествах позволяет говорить о возможном использовании *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* для использования в фитостабилизации почв на территориях, расположенных в непосредственной близости от промышленных предприятий, в условиях таежной зоны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение механизмов устойчивости растительных организмов к повышенному содержанию тяжелых металлов в окружающей среде в настоящее время является чрезвычайно актуальной задачей экологической физиологии растений, о чем, в частности, свидетельствует значительное число публикаций, появившихся в последние годы в отечественных и зарубежных журналах. Исследование в этом плане растений семейства *Poaceae* имеет не только определенный научный интерес, но и большое практическое значение, что связано с хозяйственной ценностью целого ряда видов этого семейства, а также с их важной ценотической ролью в формировании травянистых фитоценозов практически во всех природно-климатических зонах.

Проведенные нами эксперименты показали, что кадмий, свинец и цинк, которые являются приоритетными загрязнителями окружающей среды среди группы «тяжелых металлов», в высоких концентрациях ингибируют рост и развитие злаков, оказывают отрицательное влияние на фотосинтез и водный режим, уменьшают подземную и надземную биомассу, семенную продуктивность. При этом степень ингибирования тяжелыми металлами физиологических процессов у злаков зависит в большей степени от токсичности металла и его концентрации, а также от фазы развития и возраста растений, и в гораздо меньшей степени – от вида растений в пределах изученного семейства. Вместе с тем в присутствии изученных нами концентраций кадмия, свинца и цинка указанные изменения не приводят к нарушению согласованности основных метаболических процессов, обеспечивая не только возможность роста растений в этих условиях в течение длительного времени, но и формирование семенного потомства.

Анализ полученных результатов позволил выявить целый ряд физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов, действующих на разных уровнях организации, которые способствуют повышению устойчивости растений семейства *Poaceae* к тяжелым металлам (рис. 43). Большинство из этих механизмов функционируют у всех изученных нами злаков, причем независимо от вида металла. Некоторые же механизмы различаются как в зависимости от видовой принадлежности растения, так и от металла и его концентрации.



Рис. 43. Механизмы устойчивости растений семейства *Poaceae* к тяжелым металлам

Важная роль в адаптации культурных и дикорастущих представителей семейства *Poaceae* к тяжелым металлам в корнеобитаемой среде принадлежит физиолого-биохимическим механизмам, действующим на клеточном, тканевом и организменном уровнях. Нами обнаружено, что для всех изученных видов злаков высокая всхожесть семян в присутствии довольно высоких концентраций тяжелых металлов в субстрате, поддержание активного роста листьев при замедлении роста корня, что способствует сохранению высокой активности ФСА и накоплению биомассы растениями, усиление или, наоборот, торможение побегообразования.

Поскольку все структурные элементы растения формируются апикальными меристемами, и именно от их функционирования в значительной степени зависит габитус растения и его продуктивность, особое внимание в нашей работе было уделено изучению влияния тяжелых металлов на апикальную меристему стебля у культурных злаков. Учитывая данные отечественных и зарубежных авторов, касающихся ингибирующего действия тяжелых металлов на меристему корня, нами было высказано предположение об их возможном негативном действии и на рост стеблевых апикальных меристем. Результаты наших экспериментов показали, что в присутствии кадмия, свинца и цинка у культурных видов злаков уменьшаются размеры конуса нарастания, что обнаруживается уже на самых ранних этапах их развития. Кроме того, снижается количество закладываемых на конусе нарастания будущих элементов соцветия. Тем не менее, отмеченные нарушения морфогенеза не приводят к остановке роста и развития злаков, и апикальная меристема стебля быстро восстанавливает свою активность. В результате растения переходят к генеративному развитию и в дальнейшем формируют семена даже в присутствии наиболее высоких концентраций металлов. Наблюдения за ростом и дифференциацией стеблевых меристем позволили также обнаружить негативное воздействие тяжелых металлов на развитие злаков, причем уже на самых ранних этапах, когда внешне видимых различий между контрольными и опытными растениями установить нельзя.

Сохранению высокой активности ФСА и водного режима злаков в присутствии тяжелых металлов способствуют адаптационные изменения мезоструктуры листа и устьичного аппарата, которые различаются в зависимости от вида растений и вида ме-

талла, а также поддержание необходимой концентрации каротиноидов и активности ФС II.

Еще одним важным аспектом нашей работы явилось изучение молекулярно-генетических механизмов адаптации злаков к тяжелым металлам, в частности к кадмию, как наиболее токсичному элементу из этой группы. При этом нами учитывались различия в устойчивости к металлу, связанные с возрастом растений. Результаты исследования показали, что высокая устойчивость 7-дневных проростков ячменя к кадмию связана с активной работой механизмов детоксикации и изоляции ионов в метаболически малоактивных компартментах клетки. В частности, с увеличением количества транскриптов генов *HvGS*, *HvPCS*, *HvMT1* и *HvMT2*, участвующих в синтезе хелаторов ионов металла, и с возрастанием содержания GSH и ФХ в клетках корня и листа. Опыты также выявили наличие прямой зависимости между содержанием хелаторов в клетке и устойчивостью проростков разного возраста к кадмию.

Перемещение ионов кадмия в вакуоль обеспечивает транспортная система тонопласта. Предполагалось, что в этом процессе участвуют белки-переносчики катионов тяжелых металлов (в том числе HMA3 и CAH2), а также вакуолярная H⁺-АТФаза, которая обеспечивает работу антипортеров (в том числе CAH-белков). На основании проведенных исследований можно с большой долей уверенности говорить об участии генов *HMA3* и *CAH2*, а также генов субъединиц E и c вакуолярной H⁺-АТФазы в механизмах устойчивости растений к металлу.

В адаптации растений к тяжелым металлам значительная роль отводится антиоксидантной системе, компоненты которой защищают клетки растений от окислительного стресса. Сохранение у изученных видов злаков интенсивности ПОЛ в присутствии кадмия на уровне контрольных растений свидетельствует об отсутствии сколь угодно значимых нарушений клеточных мембран при данном типе стрессового воздействия. По-видимому, антиоксидантные ферменты, в частности СОД, КАТ и ПО, активность которых при действии металла увеличивается, достаточно хорошо защищают клетки от развития окислительного стресса. При этом, уровень активности антиоксидантных ферментов в большей степени зависит от органа растений и в меньшей – от токсичности металла или возраста проростков.

Результаты исследования некоторых молекулярно-генетических механизмов устойчивости растений ячменя разного возраста подтвердили высказанное нами предположение, согласно которому различная устойчивость к кадмию 3-х и 7-дневных проростков во многом определяется различиями (как количественного, так и качественного характера) в активности действующих клеточных механизмов металлоустойчивости.

Среди изученных нами дикорастущих злаков большой интерес, как с научной точки зрения, так и в плане практического использования, представляет однолетний вид – *Setaria viridis*, характеризующийся C₄-типом фотосинтеза. Исследования показали возможность роста и развития растений этого вида в присутствии довольно высоких концентраций кадмия и цинка в корнеобитаемой среде. В основе устойчивости *S. viridis* к тяжелым металлам лежат механизмы адаптации, характерные для всех видов злаков, а также некоторые особенности, свойственные только C₄-растениям. Среди них наиболее важной является возможность *S. viridis* поддерживать высокий уровень фотосинтеза и водного режима даже при частично закрытых устьицах, что, в первую очередь, связано с особой анатомической структурой листа (кранц-структурой). Кроме того, оказалось, что растения этого вида способны к накоплению значительного количества ионов металлов не только в корнях, но и в побегах, и даже в соцветиях.

Высокая устойчивость дикорастущих злаков к тяжелым металлам обеспечивает им возможность нормального роста и развития на техногенно загрязненных тяжелыми металлами почвах, а также позволяет им в этих условиях занимать доминирующее положение в фитоценозах. Проведенное нами обследование территорий, расположенных вблизи наиболее крупных промышленных предприятий Республики Карелия – Кондопожского ЦБК и Костомукшского ГОКа – показало, что с повышением степени загрязнения участков проективное покрытие злаков увеличивается, при этом доминирующими видами в изученных фитоценозах являются *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*, соответственно. Отсутствие явных признаков угнетения растений, произрастающих на наиболее загрязненных участках, связано с целым рядом адаптационных изменений, среди которых: возрастание содержания фотосинтетических пигментов, позволяющее в этих условиях поддерживать активность ФСА, увеличение размеров

соцветия при некотором замедлении роста побега, обеспечивающее высокую семенную продуктивность. Необходимо также отметить повышение уровня внутривидовой изменчивости морфологических признаков генеративного побега, способствующее формированию популяций, устойчивых к неблагоприятным почвенным условиям. Способность дикорастущих злаков успешно произрастать в течение длительного времени на территориях с высоким уровнем тяжелых металлов и накапливать довольно большое их количество в органах, позволяет нам говорить о возможности использования *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* в фитостабилизации, а *Setaria viridis* – в фитоэкстракции загрязненных тяжелыми металлами почв в условиях таежной зоны.

Таким образом, можно заключить, что культурные и дикорастущие злаки обладают высокой устойчивостью к тяжелым металлам, в основе которой лежат многочисленные механизмы, действующие на разных уровнях организации, среди которых важное место занимают физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы. В зависимости от видовой принадлежности растений, от вида металла и его концентрации в корнеобитаемой среде основную роль в устойчивости злаков к этим химическим элементам могут брать на себя различные механизмы, действующие на разных уровнях организации растительного организма, что, очевидно, и обеспечивает им широкие адаптивные возможности, позволяющие произрастать на загрязненных теми или иными тяжелыми металлами территориях. В целом же общая система «защиты» злаков от воздействия тяжелых металлов является многокомпонентной, что и делает ее весьма эффективной.

ВЫВОДЫ

1. Изученные виды культурных и дикорастущих злаков обладают высокой устойчивостью к кадмию, свинцу и цинку, что позволяет им не только произрастать длительное время в присутствии их повышенных концентраций в корнеобитаемой среде, но и переходить к генеративному развитию и формировать семена. Характер ответной реакции растений на действие тяжелых металлов в большей степени зависит от вида металла и его концентрации, а также от фазы развития и в меньшей степени – от видовой принадлежности растений.

2. Устойчивость культурных и дикорастущих злаков к тяжелым металлам обеспечивается функционированием разнообразных физиолого-биохимических механизмов, действующих на разных уровнях организации. На организменном уровне – это способность семян к прорастанию в присутствии их высоких концентраций; поддержание активного роста листьев при замедлении роста корневой системы; усиление (*Setaria viridis*) или торможение (культурные и дикорастущие многолетние злаки) побегообразования. На тканевом уровне – быстрое восстановление активности апикальной меристемы стебля; адаптационные изменения мезоструктуры листа и устьичного аппарата. На клеточном уровне – поддержание необходимой концентрации каротиноидов и активности ФС II.

3. На ранних этапах онтогенеза в устойчивости культурных злаков к кадмию наблюдаются отчетливо выраженные возрастные различия, связанные как с их физиолого-биохимическими особенностями, характерными для определенной фазы развития, так и с количественными и/или качественными различиями в активности действующих у них клеточных механизмов металлоустойчивости.

4. Устойчивость проростков ячменя к кадмию связана с действием ряда молекулярно-генетических механизмов, в том числе активацией экспрессии генов (*HvGS*, *HvPCS*, *HvMT1* и *HvMT2*) белков, участвующих в синтезе хелаторов, а также генов (*HvHMA3* и *HvCAH2*) транспортных белков и субъединиц вакуолярной H^+ -АТФазы (*HvVHA-E* и *HvVHA-c*), которые участвуют в связывании ионов металла в цитоплазме клеток и их транспорте в вакуоль.

5. Высокая устойчивость культурных и дикорастущих злаков к кадмию связана с возрастанием в присутствии металла в корнях и листьях растений содержания ФХ, с активацией синтеза GSH, а также с усилением активности антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ПО).

6. В сообществах, сформированных на техногенно загрязненных территориях, злаки играют важную ценотическую роль, которая усиливается с возрастанием степени загрязнения. Способность доминирующих на этих участках видов злаков, таких как *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*, успешно произрастать в условиях техногенного загрязнения почвы тяжелыми металлами обусловлена рядом адаптационных механизмов, среди которых: повышение содержания хлорофиллов и каротиноидов, размеров соцветия, а также увеличение уровня внутривидовой изменчивости морфологических признаков, способствующее формированию металлоустойчивых популяций.

7. Высокая устойчивость дикорастущих злаков к тяжелым металлам и их способность накапливать значительные количества токсичных ионов свидетельствует о возможности использования *Elytrigia repens*, *Phleum pratense* и *Dactylis glomerata* для фитостабилизации, а *Setaria viridis* – для фитоэкстракции загрязненных тяжелыми металлами почв в условиях таежной зоны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисова Л.В. Гистохимическое изучение конуса нарастания пшеницы в связи с задержкой роста и развития растений // Экспериментальная биология сельскохозяйственных растений. М.: Наука, 1971. С. 132–143.
2. Адамян А.З., Григорян С.В., Морозов В.И. Природные геохимические аномалии свинца // Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 116–130.
3. Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л.: Агропромиздат, 1987. 142 с.
4. Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в агроландшафте. СПб.: ПИЯФ РАН, 2008. 216 с.
5. Алексеева-Попова Н.В., Игошина Т.И., Косицин А.В., Ильинская М.Л. Устойчивость к тяжелым металлам (Pb, Zn, Cu) отдельных видов и популяций естественных фитоценозов из района медноколчеданных рудопроявлений // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Л.: Наука, 1983. С. 22–42.
6. Алексеева-Попова Н.В. Токсичность меди и механизмы устойчивости к ней у высших растений // Регулирование адаптивных реакций и продуктивности растений элементами минерального питания. Кишинев: Штинница, 1987. С. 139–156.
7. Алексеева-Попова Н.В. Клеточно-молекулярные механизмы металлоустойчивости растений (обзор) // Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов. Л.: Наука, 1991. С. 5–15.
8. Алексеева-Попова Н.В., Моченят К.И. Внутрипопуляционные различия реакции *Salvia stepposa* на избыток цинка в среде // Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов. Л.: Наука, 1991. С. 47–57.
9. Алехина Н.Д., Харитонашвили Е.В. Минеральное питание // Физиология растений: Учебник для студ. вузов / Под ред. И.П. Ермакова. М.: Издательский центр “Академия”, 2005. 640 с.
10. Аникиев В.В., Кутузов Ф.Ф. Новый способ определения площади листовой поверхности у злаков // Физиология растений. 1961. Т. 8, № 3. С. 375–377.
11. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1970. 487 с.

12. Атабаева С.Д. Физиолого-биохимические основы действия тяжелых металлов на растения: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Республика Казахстан. Алматы, 2007. 38 с.
13. Атлас Карельской АССР. М.: ГУГК СССР, 1989. 40 с.
14. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. биологии. 1991. Т. 111, вып. 6. С. 923–931.
15. Баранова Л.А., Дмитренко И.В.. Тяжелые металлы в почвах и растениях вокруг ТЭЦ г. Тюмени // Вестник ГАУ Северного Зауралья. 2013. №3 (22). С. 19–21.
16. Барсукова В.С. Физиолого-генетические аспекты устойчивости растений к тяжелым металлам. Аналитический обзор / СО РАН; ГПНТБ; Институт почвоведения и агрохимии. Новосибирск. 1997. 63 с.
17. Батыгин Н.Ф. Онтогенез высших растений. М.: Агропромиздат, 1986. 100 с.
18. Батыгин Н.Ф., Семашко А.Л. Соотношение темпов роста и продолжительности этапов развития в онтогенезе злаков // Научно-технический бюллетень по агрономической физике. 1988. № 71. С. 43–46.
19. Башкин В.Н., Касимов Н.С. Биогеохимия М.: Научный мир, 2004. 648 с.
20. Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2009. 236 с.
21. Безель В.С., Жуйкова Т.В. Химическое загрязнение среды: вынос химических элементов надземной фитомассой травянистой растительности // Экология. 2007. № 4. С. 259–267.
22. Бессонова В.П. Клеточный анализ роста корней *Lathyrus odoratus* L. при действии тяжелых металлов // Цитология и генетика. 1991. Т. 25, № 5. С. 18–22.
23. Бессонова В.П., Лыженко И.И. Влияние загрязнения среды на прорастание и физиологическое состояние пыльцы неоторых древесных растений // Бот. журн. 1991. Т. 76, № 3. С. 422–426.
24. Биоиндикация загрязнения наземных экосистем. М., 1988. 348 с.
25. Битюцкий Н.П. Необходимые микроэлементы растений. Учебник. СПб.: Изд-во ДЕАН. 2005. 256 с.

26. Богдановский Г.А. Химическая экология. М.: МГУ, 1994. 237 с.
27. Борзенкова Р.А., Храмцова Е.В. Определение мезоструктурных характеристик фотосинтетического аппарата растений. Руководство к лабораторным занятиям большого спецпрактикума по физиологии и биохимии растений. Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та. 2006. 27 с.
28. Бурень В.М. Развитие злаковых растений и их продуктивность. Л.: Наука, 1984. 30 с.
29. Бурень В.М. Образование зачатков органов у пшеницы // Морфо-физиологические основы устойчивости растений. Л.: Наука, 1985. С. 5–12.
30. Бурень В.М. Физиология развития и формирование продуктивности злаков: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1987. 27 с.
31. Бухов Н.Г. Динамическая световая регуляция фотосинтеза // Физиология растений. 2004. Т. 51, № 6. С. 825–837.
32. Бухов Н.Г., Бондарь В.В., Дроздова И.С. Действие низкоинтенсивного синего и красного света на содержание хлорофиллов *a* и *b* и световые кривые фотосинтеза у листьев ячменя // Физиология растений. 1988. Т. 45, № 4. С. 507–512.
33. Бухенко Ю.А. Комплексная характеристика растений и растительных группировок в целях фитоиндикации экологической среды в малом городе (на примере г. Балашиха): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Самара, 2007. 20 с.
34. Вайцеховская Е.Р. Воздействие промышленных эмиссий на травянистые сообщества лесных экосистем // Биологическое разнообразие лесных экосистем. М.: Россельхозакадемия, 1995а. С. 240–241.
35. Вайцеховская Е.Р. Морфологические и биохимические признаки *Plantago media* L. в связи с антропогенным воздействием (Южное Прибайкалье) // Раст. ресурсы. 1995б. Т. 31, вып. 1. С. 75–78.
36. Василев А., Керин В., Йорданов И. Фотосинтетическая характеристика растений ячменя (*H. vulgare* L., *H. distichon* L.), выращенных в среде с кадмием // Известия ТСХА. 1995. Вып. 1. С. 207–213.

37. Ваулина Э.Н., Аникиева И.Д., Коган И.Г. Влияние ионов кадмия на деление клеток корневой меристемы *Crepis capillaries* (L.) Wallr. // Цитология и генетика. 1978. Т. 12, № 6. С. 497–502.
38. Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Кудоярова Г.Р. Сравнительное изучение реакции растений ячменя (*Hordeum vulgare*) и пшеницы (*Triticum durum*) на кратковременное и длительное действие натрий хлоридного засоления // Агрохимия. 2007. № 7. С. 41–48.
39. Виноградов А.П. Основные закономерности в распределении микроэлементов между растениями и окружающей средой // Микроэлементы в жизни растений и животных. М.: Наука, 1985. С. 7–20.
40. Воскресенская О.Л. Экологические аспекты функциональной поливариантности онтогенеза растений: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Казань, 2009. 49 с.
41. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. Учебное пособие. М.: Высшая школа. 1975. 392 с.
42. Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н., Иванищев В.В. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений // Современные проблемы науки и образования. 2011. № 2. [URL:www.science-education.ru/96-4600](http://www.science-education.ru/96-4600).
43. Гармаш Н.Ю. Влияние возрастающих доз тяжелых металлов на накопление их пшеницей и бобами в онтогенезе // Физиология и биохимия культ. растений. 1989. Т. 21, № 2. С. 141–146.
44. Головки Т.К., Родина Н.А., Куренкова С.В., Табаленкова Г.Н. Ячмень на Севере (селекционно-генетические и физиолого-биохимические основы продуктивности). Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 154 с.
45. Гончарук Е.А., Калашникова Е.А., Шевелуха В.С. Воздействие кадмия на морфофизиологические реакции различных генотипов льна-долгунца в условиях *in vitro* и *in vivo* // Изв. Тимирязевской с.-х. академии. Сер. биол. 2000. Вып. 2. С. 288–294.
46. ГОСТ 17.4.3.01-83. Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб. 1983.
47. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. 1984.

48. Государственный доклад о состоянии окружающей среды Республики Карелия в 2012 г. Министерство по природопользованию и экологии РК. Петрозаводск: ООО “Два товарища”, 2013. 328 с.
49. Государственный доклад о состоянии окружающей среды Республики Карелия в 2014 г. / Министерство по природопользованию и экологии РК. Петрозаводск: “Verso”, 2015. 272 с.
- 50.
51. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Функционирование глутатионзависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжелых металлов и фтора. Киев: Наук. думка, 2012. 238 с.
52. Гродзинский Д.М. Радиобиология растений. Киев: Наук. думка, 1989. 380 с.
53. Груздев В.С. Комплексная оценка техногенного воздействия предприятий черной металлургии на окружающую природную среду центра Европейской России (теория, методология, практика): Автореф. дис. ... докт. геогр. наук. Москва, 2010. 42 с.
54. Гумилевская Н.А., Чумикина Л.В., Арабова Л.И., Зимин М.В., Шашилов В.Р. Характеристика ответа семян гороха *Pisum sativum* L. на продолжительный тепловый стресс в период прорастания // Прикладная биохимия и микробиология. 1995. Т. 31, № 1. С. 92–102.
55. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культ. растений. 1994. Т. 26, № 2. С. 107–117.
56. Дабахов М.В., Дабахова Е.В., Титова В.И. Экотоксикология и проблемы нормирования. Н. Новгород: Изд-во ВВАГАС, 2005. 165 с.
57. Давыдова В.Н., Моченят К.И. Внутрипопуляционные особенности минерального состава *Phlomis tuberosa* при градиенте свинца в среде // Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов. Л., 1991. С. 118–128.
58. Данилин И.А. Металлотионеины как биомаркеры при действии на организмы тяжелых металлов и ионизирующего излучения. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва, 2010. 45 с.
59. Демидчик В.В., Соколик А.И., Юрин В.М. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений // Успехи соврем. биологии. 2001. Т. 121, № 5. С. 511–525.

60. Демченко Н.П., Калимова И.Б., Демченко К.Н. Влияние никеля на рост, пролиферацию и дифференциацию клеток корневой меристемы проростков *Triticum aestivum* // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 2. С. 250–258.
61. Динеева С.Б., Абрамов В.И., Шевченко В.А. Генетические последствия действия нитрата свинца на семена хронически облучаемых популяций *Arabidopsis thaliana* // Генетика. 1993. Т. 29, № 11. С. 1914–1919.
62. Добровольский В.В. География микроэлементов. Глобальное рассеивание. М.: Мысль, 1983. 272 с.
63. Добровольский В.В. Глобальная биохимия свинца // Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 7–19.
64. Добровольский В.В. Основные черты геохимии цинка и кадмия // Цинк и кадмий в окружающей среде. М.: Наука, 1992. С. 7–18.
65. Добровольский В.В. Глобальная система массопотоков тяжелых металлов в биосфере // Рассеянные элементы в бореальных лесах. М.: Наука, 2004. С. 23–30.
66. Довгалюк А.И., Калиняк Т.Б., Блюм Я.Б. Цитогенетические эффекты солей токсичных металлов в клетках апикальной меристемы корней проростков *Allium cepa* L. // Цитология и генетика. 2001. Т. 35, № 2. С. 3–10.
67. Дымова О.В., Головкин Т.К. Состояние пигментного аппарата растений живучки ползучей в связи с адаптацией к световым условиям произрастания // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 1. С. 47–53.
68. Дымова О.В., Гриб И., Головкин Т.К., Стржалка К. Состояние пигментного аппарата зимне- и летнезеленых листьев теневыносливого растения *Ajuga reptans* // Физиология растений. 2010. Т. 57, № 6. С. 809–818.
69. Егорова В.Н. Костер безостый // Биологическая флора Московской области. М.: МГУ, 1980. Вып. 5. С. 58–73.
70. Егорова Н.В. Развитие и формирование продуктивности растений ячменя в зависимости от условий азотного питания // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1998. 22 с.
71. Елистратова Д.Б. Злаковые растения придорожных полос Нижнего Новгорода // Вестн. Нижегородского ун-та. Сер. Биология. 2008. № 4. С. 82–85.

72. Елькина Г.Я. Кадмий в агроландшафтах республики Коми и его фитотоксичность // Экологические проблемы отраслей народного хозяйства. Пенза, 2006. С. 13–16.
73. Еремченко О.З., Кусакина М.Г., Лузина Е.В. Содержание пигментов в растениях *Lepidium sativum* в условиях хлоридно-натриевого засоления и ощелачивания // Вестник Пермского ун-та. Биология. Вып. 1. 2014. С. 30–34.
74. Ершова А.Н., Попова Н.В., Бердникова О.С. Продукция активных форм кислорода и антиоксидантные ферменты растений гороха и сои при гипоксии и высоком содержании CO₂ в среде // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 6. С. 834–843.
75. Жиров В.К., Голубева Е.И., Говорова А.Ф., Хаитбаев А.Х. Структурно-функциональные изменения растительности в условиях техногенного загрязнения на Крайнем Севере. М.: Наука, 2007. 166 с.
76. Жолкевич В.Н., Пильщикова Н.В. Методы изучения транспирации и состояния устьиц // Водный обмен растений. М.: Наука, 1989. С. 152–167.
77. Жуйкова Т.В. Реакция ценопопуляций и травянистых сообществ на химическое загрязнение среды: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Екатеринбург, 2009. 40 с.
78. Жуйкова Т. В., Мелинг Э. В., Безель В. С. Реакция луговых сообществ на токсическое действие среды // Урбоэко системы. Проблемы и перспективы развития. Ишим. 2008. С. 51–55.
79. Жукова Л.А., Ермакова И.М., Сугоркина Н.С., Григорьева Н.М., Матвеев А.Р. Динамика ценопопуляций некоторых луговых растений на фоне сукцессионных изменений фитоценозов под влиянием резкой смены антропогенных воздействий // Динамика ценопопуляций растений. М., 1985. С. 82–95.
80. Жученко А.А. Адаптивный потенциал культурных растений (эколого-генетические основы). Кишинев: Штиинца, 1988. 768 с.
81. Жученко А.А. Стратегия адаптивной интенсификации растениеводства в XXI веке // Системы ведения агропромышленного производства (вопросы теории и практики). М.: АгриПресс, 1999. С. 134–147.
82. Зауралов О.А., Лукаткин А.С. Последствие пониженных температур на дыхание теплолюбивых растений // Физиология растений. 1997. Т. 44, № 5. С. 736–741.

83. Зитте П., Вайлер Э.В., Кадерайт Й.В., Брезински А., Кернер К. Ботаника. Учебник для вузов: в 4 т. Т. 2. Физиология растений. М.: Издательский центр “Академия”, 2008. 496 с.
84. Злобин Ю.А. О некоторых параметрах для оценки реакции ценопопуляций на влияние антропогенных факторов // Антропогенные процессы в растительности. Уфа, 1985. С. 89–101.
85. Зуев Е.А. Активность каталазы и механизмы антиоксидантной защиты прорастающих семян пшеницы и ячменя // Вестник Ставропольского гос. ун-та. 2001. С.20–23.
86. Иванов В.Б. Клеточные основы роста растений. М.: Наука, 1974. 223 с.
87. Иванов В.Б., Быстрова Е.И., Серегин И.В. Сравнение влияния тяжелых металлов на рост корня в связи с проблемой специфичности и избирательности их действия // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 3. С. 445–454.
88. Иванова Е.М. Токсическое действие меди и механизмы ее детоксикации. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2011. 26 с.
89. Иванова Е.М., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Биологические эффекты высоких концентраций меди и цинка и характер их взаимодействия в растениях рапса // Физиология растений. 2010. Т. 57, № 6. С. 864–873.
90. Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение. Новосибирск: Наука, 1991. 150 с.
91. Ильин В.Б. Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва-растение. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 220 с.
92. Ильин В.Б., Гармаш Г.А., Гармаш Н.Ю. Влияние тяжелых металлов на рост, развитие и урожайность сельскохозяйственных культур // Агрехимия. 1985. № 6. С. 90–100.
93. Ильин В.Б., Степанова М.Д. О фоновом содержании тяжелых металлов в растениях // Известия СО АН СССР. Сер. Биол. наук. 1981. Вып. 1, № 5. С. 26–32.
94. Ищенко Г.С., Бутник А.С. Фитотоксичность кобальта и кадмия и накопление их в основных сельскохозяйственных культурах Средней Азии // Агрехимия. 1991. № 6. С. 65–69.

95. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 440 с.
96. Калимова И.Б. Токсическое действие тяжелых металлов и устойчивость к гим проростков злаков: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2009. 17 с.
97. Калинина С.И., Лайдинен Г.Ф. Морфологические изменения природных популяций *Alopecurus pratensis* (РОАСЕАЕ) при интродукции // Ботан. журн. 1997. Т. 82, № 10. С. 38–48.
98. Караваев В.А., Баулин А.М., Гордиенко Т.В., Довыдьков С.А., Тихонов А.Н. Изменение фотосинтетического аппарата в листьях бобов в зависимости от содержания тяжелых металлов в среде выращивания // Физиология растений. 2001. Т. 48, №1. С. 47–54.
99. Карташов А.В., Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В., Пашковский П.П., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Роль систем антиоксидантной защиты при адаптации к солевому стрессу // Физиология растений. 2008. Т. 55, №4. С. 47–54.
100. Касатиков В.А., Попов В.П., Руник В.Е. Влияние термофильноброженного осадка городских сточных вод на почву // Химизация сел. хоз-ва. 1990. № 2. С. 51–52.
101. Кашулина Г.М., Салтан Н.В. Химический состав растений в экстремальных условиях локальной зоны комбината “Североникель”. Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН, 2008. 239 с.
102. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи соврем. биологии. 1993. Т. 113, № 4. С. 456–470.
103. Климов С.В. Холодовое закаливание растений – результат поддержания повышенного отношения фотосинтез/дыхание при низких температурах // Известия РАН. Сер. Биол. 2003. № 1. С. 57–62.
104. Ковда В.А., Золотарева Б.И., Скрипниченко И.И. О биологической реакции растений на тяжелые металлы в среде. Докл. АН СССР. 1979. Вып. 247, № 3. С. 766–768.
105. Кожанова О.Н., Дмитриева А.Г. Физиологическая роль металлов в жизнедеятельности растительных организмов // Физиология растительных организмов и роль металлов. М.: МГУ, 1989. С. 7–55.

106. Колупаев Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестн. Харьковского нац. аграрн. ун-та. Сер. Биология. 2007. Вып. 3. С. 6–26.
107. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. К.: Альтерпрес, 2002. 188 с.
108. Косицин А.В., Алексеева-Попова Н.В. Действие тяжелых металлов на растения и механизмы металлоустойчивости // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Л.: Наука, 1983. С. 5–22.
109. Косицин А.В., Алексеева-Попова Н.В., Игошина Т.И. Внутрипопуляционная изменчивость устойчивости к свинцу // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Л.: Наука, 1983. С. 64–74.
110. Косицына А.А., Макурина О.Н., Нестеров В.Н., Розенцвет О.А. Влияние ионов меди и кадмия на пигментный комплекс водных растений семейства *Hydrocharitaceae* // Известия Самарского НЦ РАН. 2010. Т.12, № 1. С. 156–162.
111. Костюк В.И., Мельник Н.А., Шмакова Н.Ю. Состояние ассимилирующих органов растений в условиях техногенного загрязнения. Апатиты: Изд-во Кольского НЦ РАН, 2009. 82 с.
112. Кравченко А.В. Конспект флоры Карелии. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. 403 с.
113. Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 2. С. 163–178.
114. Крылова Е.Г., Васильева Н.В. Прорастание семян и развитие проростков представителей рода *Bidens* (*Asteraceae*) в растворах сульфата // Вестник Томского гос. ун-та. 2011. № 352. С. 207–210.
115. Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Усманов И.Ю. Гормональная регуляция соотношения биомассы побег/корень при стрессе // Журн. общ. биологии. 1999. Т. 60, № 6. С. 633–641.

116. Кудоярова Г.Р., Дедов А.В., Фархутдинов Р. Г., Веселова С. В. Передача сигналов и быстрая стрессовая реакция растений // Вестник Нижегородского ун-та. Сер. Биология. 2001. С. 85–87.
117. Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Фаизов Р.Г., Веселова С.В., Иванов Е.А., Фархутдинов Р.Г. Реакция устьиц на изменение температуры и влажности воздуха у растений разных сортов пшеницы, районированных в контрастных климатических условиях // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 1. С. 54–58.
118. Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учебник. М.: Высшая школа, 2006. 742 с.
119. Кузнецова Т.Ю. Влияние тяжелых металлов на некоторые физиолого-биохимические показатели растений рода *Betula* L.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2009. 23 с.
120. Кузнецова Т.Ю., Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Ильинова М.К. Влияние кадмия на состав жирных кислот липидов в побегах карельской березы *in vitro* // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 5. С. 731–737.
121. Кулагин А.А., Юсупов А.А. О содержании фотосинтетических пигментов в хвое лиственницы Сукачева (*Larix sukaczewii* Dyl.) при развитии в условиях аэротехногенного полиметаллического загрязнения окружающей среды // Изв. Самарского НЦ РАН. 2008. Т. 10, № 2. С. 617–620.
122. Культурная флора. Т. 2, Ч. 3. Овес. / Под ред. В.Д. Кобылянского, В.Н. Солдато-ва. М.: Колос, 1994. 367 с.
123. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. М.: Высшая школа, 1968. 223 с.
124. Куперман Ф.М. Частная биология развития культурных растений. Ячмень // Биология развития культурных растений. М: Высшая школа, 1982. С.143–152.
125. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. М.: Наука, 1984. 239 с.
126. Лазарева И.П. К вопросу о химическом загрязнении почв // Почвенные ресурсы Карелии, их рациональное использование и охрана (экологические проблемы). Петро-заводск. 1992. С. 102–131.

127. Лапиров А.Г., Микрякова Т.Ф. Влияние меди на формирование проростков частухи подорожниковой (*Alisma plantago-aquatica* L.) // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 3. С. 340–346.
128. Лапшина Е.Д., Блойтен В. Типы нарушений и естественное восстановление растительности олиготрофных болот на нефтяных месторождениях Томской области // Krylovia. Сибирский ботан. журн. 1999. Т. 1, № 1. Р. 129–140.
129. Лепедуш Х., Вильевач М., Цезар В., Любешич Н. Оценка функционального состояния фотосинтетического аппарата у хвои ели с признаками хлороза на слабом и сильном свете по изменениям флуоресценции хлорофилла *in vitro* // Физиология растений. 2005. Т. 52. № 2. С. 191–197.
130. Лепнева О.М., Обухов А.И. Состояние свинца в системе почва-растение в зонах влияния автомагистралей // Свинец в окружающей среде. 1987. М.: Наука, С. 149–165.
131. Лукина Ю.М. Влияние техногенного загрязнения комбината “Североникель” на рост и развитие древесных растений (на примере *Betula cherepanovii* Orlova): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск. 2011. 20с.
132. Лысенко В.С., Вардуни Т.В., Соьер В.Г., Краснов В.П. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода // Fundamental Research. Vol. Sci. 2013. N. 4. P. 112–120.
133. Лянгузова И.В. Влияние никеля и меди на прорастание семян и формирование проростков черники // Физиология растений. 1999. Т. 46, № 3. С. 500–502.
134. Лянгузова И.В., Мазная Е.А. Влияние атмосферного загрязнения на репродуктивную способность дикорастущих ягодных кустарничков сосновых лесов Кольского полуострова // Раст. ресурсы. 1996. Т. 32, Вып. 4. С. 14–22.
135. Лянгузова И.В., Комалетдинова Э.М. Анатомио-морфологическая характеристика и жизнеспособность семян трех видов р. *Vaccinium* в условиях промышленного загрязнения // Проблемы экологии растительных сообществ. СПб.: ООО “ВВМ”, 2005. С. 203–215.
136. Мазей Н.Г., Медная Е.Г. Влияние тяжелых металлов и пониженных температур на морфо-физиологические процессы проростков гречихи и пшеницы // Известия Пензенского гос. пед. ун-та. Сер. Естественные науки. 2011. № 25. С. 624–631.

137. Мазная Е.А., Лянгузова И.В. Параметры ценопопуляций и накопление тяжелых металлов *Vaccinium myrtillus* и *V. vitis-idaea* (Ericaceae) при разном уровне техногенной нагрузки // Раст. ресурсы. 2006. Вып. 1. С. 16–27.
138. Марковская Е.Ф., Федорец Н.Г., Теребова Е.Н., Бахмет О.Н., Андросова В.И., Ткаченко Ю.Н., Галибина Н.А., Кайбияйнен Э.Л. Использование *Salix schwerinii* E. Wolf для фиторемедиации техногенно-загрязненных территорий ОАО “Карельский окатыш” // Межд. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 2. С. 101–107.
139. Мартыненко В.А. Растительный покров техногенных экотопов г. Сыктывкар и его окрестностей // Биологическое разнообразие антропогенно трансформированных ландшафтов Европейского Северо-Востока России. Сыктывкар, 1996. С. 7–13.
140. Медведев С.С. Физиология растений. СПб: Изд-во СПб ун-та, 2004. 336 с.
141. Медведев П.Ф., Сметанникова А.И. Кормовые растения Европейской части СССР: Справочник. Л: Колос. Ленингр. отд-ние, 1981. 336 с.
142. Мейчик Н.Р., Ермаков И.П., Прокопцева О.С. Диффузия органического катиона в клеточных стенках корня // Биохимия. 2003. Т. 68, № 1. С. 926–940.
143. Мельничук Ю.П. Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. Киев: Наукова думка, 1990. 148 с.
144. Мельничук Ю.П., Лишко А.К. Влияние ионов кадмия на деление клеток меристемы корней кукурузы // Физиология и биохимия культ. растений. 1991. Т. 23, № 3. С. 291–293.
145. Мельничук Ю.П., Лишко А.К., Калинин Ф.Л. Действие кадмия на синтез РНК белка и ДНК в меристеме зародыша корня гороха при прорастании // Физиология растений. 1982. Т. 29, № 4. С. 655–659.
146. Мельничук Ю.П., Лишко А.К., Калинин Ф.Л. Влияние кадмия на синтез нуклеиновых кислот и белка в S- и M-фазах первого клеточного цикла меристемы корня гороха // Физиология и биохимия культ. растений. 1984. Т. 16, № 4. С. 387–390.
147. Методика диагностики устойчивости растений (засухо-, жаро-, соле- и морозоустойчивости) / Г.В. Удовенко, Т.В. Олейникова, Н.Н. Кожушко, Э.А. Барашкова и др. Л.: ВИР, 1970. 74 с.

148. Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами. М.: Гидрометеоздат, 1981. 109 с.
149. Методические указания по изучению многолетних кормовых трав. Л.: Изд-во ВИРа, 1979. 43 с.
150. Минеев В.Т., Макарова А.И., Гришина Т.А. Тяжелые металлы и окружающая среда в условиях современной интенсивной химизации. Сообщение 1. Кадмий // Агрохимия. 1981. № 5. С. 146–155.
151. Миркин Б.М., Наумова Л.Г., Соломец А.И. Современная наука о растительности. М., 2000. 264 с.
152. Мокроносов А.Т. Интеграция функций роста и фотосинтеза // Физиология растений. 1983. Т.30, № 4. С. 868–880.
153. Мокроносов А.Т., Борзенкова Р.А. Методика количественной оценки структуры и функциональной активности фотосинтезирующих тканей и органов // Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. 1978. Т. 61, Вып. 3. С. 119–132.
154. Мокроносов А.Т., Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Академия, 2006. 446 с.
155. Мордвина Е. С., Жуйкова Т.В., Арефьев Ю.В. Травянистые сообщества в условиях промышленного города // Экология: от генов до экосистем. Екатеринбург, 2005. С. 174–175.
156. Морозова А.Г. Некоторые морфофизиологические особенности формирования конусов нарастания ячменя в условиях почвенного засоления // Биол. науки. 1972. № 4. С. 66–69.
157. Морозова К.В. Злаки Карелии. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2013. 247 с.
158. Нестерова А.Н. Действие тяжелых металлов на корни растений. 1. Поступление свинца, кадмия и цинка в корни, локализация металлов и механизмы устойчивости растений // Биол. науки. 1989. № 9. С. 72–86.
159. Нестерова А.И. Изменение организации меристемы главных корней проростков кукурузы при действии некоторых тяжелых металлов // Современные проблемы эко-

- гии и анатомии растений: Материалы 2 Всесоюзного совещ., Владивосток, 10-16 сент. 1990 г. Владивосток, 1991. С. 109–116.
160. Никифорова Е.М. Биогеохимическая оценка загрязнения тяжелыми металлами агроландшафтов Восточного Подмосквья // Геохимическая экология и биогеохимическое изучение таксонов биосферы. М.: Наука, 2003. С. 108–109.
161. Николаева М.Г., Лянгузова И.В., Поздова Л.М. Биология семян. СПб.: СПбГУ, 1999. 233 с.
162. Олимпиаенко Г.С., Титов А.Ф., Николаевская Т.С. Генетические эффекты отбора у многолетних трав. Л.: Наука, 1982. 112 с.
163. Обручева Н.В., Антипова О.В. Физиология инициации прорастания семян // Физиология растений. 1997. Т. 44, № 2. С. 287–302.
164. Обручева Н.В., Антипова О.В. Общность физиологических механизмов подготовки к прорастанию у семян с различным типом покоя // Физиология растений. 1999. Т. 46, № 2. С. 426–431.
165. Обухов А.И., Лобанова Е.А. Свинец в почвообразующих породах и почвах // Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 38–48.
166. Обухов А.И., Плеханова И.О., Ли С.К. Цинк и кадмий в почвообразующих породах и почвах // Цинк и кадмий в окружающей среде. М.: Наука, 1992. С. 19–39.
167. Опекунова М.Г. Диагностика техногенной трансформации ландшафтов на основе биоиндикации: Автореф. дис. ... докт. геогр. наук. СПб, 2013. 36 с.
168. Павлов И.Н. Создание культур в санитарно-защитной зоне алюминиевых заводов Средней Сибири: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. - Ленинград: ЛТА, 1989. 20 с.
169. Павлов И.Н. Древесные растения в условиях техногенного загрязнения. Улан-Удэ: БНЦ СО РАН, 2005. 360 с.
170. Пантелеева Я.Г. Геохимические изменения окружающей среды в зоне влияния горнопромышленного комплекса ОАО “Карельский окатыш” (г. Костомукша, Республика Карелия): Автореф. дис. ... канд. геол.-минер. наук. СПб, 2009. 20 с.
171. Парибок Т.А. Загрязнение растений металлами и его эколого-физиологические последствия // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Л.: Наука, 1983. С. 82–99.

172. Парибок Т.А., Леина Г.Д., Сазыкина Н.А., Топорский В.Н., Николаева Т.И., Дьякова Т.Б. Накопление свинца в городских растениях // Ботан. журн. 1981. Т. 66, № 11. С. 1646–1654.
173. Первунина Р.И., Зырин Н.Г. Влияние кадмия на рост и развитие ячменя // Загрязнение атмосферы, почвы и растительного покрова. М.: Гидрометеиздат, 1980. С. 79–85.
174. Перельман А.И., Касимов Н.С. Геохимия ландшафта. М.: Астрей, 2000, 1999. 763 с.
175. Позняк С.С. Содержание тяжелых металлов Pb, Ni, Zn, Cu, Mn, Zr, Cr, Co и Sn в почвах Центральной зоны Республики Беларусь // Научный журнал СПбГУНиПТ. Серия “Экономика и экологический менеджмент”. 2011. Вып. 1(8). С. 23.
176. Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Безель В.С., Жуйкова Т.В., Северюхина О.А. Пути адаптации ценопопуляций одуванчика лекарственного к длительному химическому и радиационному воздействию // Экология. 2006. № 6. С. 440–445.
177. Покровская С.Ф. Регулирование поведения свинца и кадмия в системе почва-растение. М.: Наука, 1995. 51 с.
178. Полевой В.В. Физиология целостности растительного организма // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 4. С. 631–643.
179. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. Л.: Изд-во ЛГУ, 1991. 239 с.
180. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода: учебное пособие. М.: КДУ, 2007. 140 с.
181. Полищук А.В., Топчий Н.Н., Сытник К.М. Влияние ионов тяжелых металлов на перенос электронов на акцепторной стороне фотосистемы II // Rep. NAS Ukraine. 2009. N 6. P. 203–210.
182. Половникова М.Г. Эколого-физиологические особенности газонных растений на разных этапах онтогенеза в условиях городской среды: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2007. 24 с.

183. Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Саляев Р.К. Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей корнеплодов столовой свеклы // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 1. С. 40–48.
184. Прасад М.Н. Практическое использование растений для восстановления экосистем, загрязненных металлами // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 5. С. 768–780.
185. Прасад М.Н.В. Использование злаков (Poaceae) для стабилизации, ремедиации и комплексного воспроизводства загрязненными металлами экосистем // Микроэлементы в окружающей среде: биогеохимия, биотехнология и биоремедиация М.: ФИЗМАТЛИТ. 2009. С. 464–486.
186. Придача В.Б., Сазонова Т.А., Таланова Т.Ю., Ольчев А.В. Морфофизиологическая реакция *Pinus sylvestris* L. и *Picea obovata* Ledeb. при техногенном воздействии в условиях Северо-Запада России // Экология. 2011. № 1. С. 25–33.
187. Прокопьев И.А., Филиппова Г.В., Шеин А.А., Габышев Д.В. Влияние городского техногенного загрязнения на морфологические, биохимические характеристики и семенную продуктивность ромашки аптечной // Экология. 2014. № 1. С. 22–29.
188. Радионов Н.В., Волков К.С., Холодова В.П. Сравнительный анализ устойчивости растений рапса к повышенным концентрациям меди и цинка // Вестник РУДН. 2007. №4. С. 21–30.
189. Раменская М.Л. Определитель высших растений Карелии. Петрозаводск: Гос. изд-во КАССР, 1960. 485 с.
190. Репкина Н.С., Таланова В.В., Титов А.Ф. Влияние тяжелых металлов на экспрессию генов у растений // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2013. № 3. С. 31–35.
191. Репкина Н.С., Таланова В.В., Титов А.Ф., Букарева И.В. Реакция растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2014. № 5. С. 133–139.
192. Ровинский Ф.Я., Афанасьев М.И., Бурцева Л.В., Егоров В.И. Фоновое загрязнение природных сред на Евразийском континенте // Комплексный глобальный мониторинг загрязнения окружающей среды. Л.: Гидрометеиздат, 1982. С. 106–115.

193. Розенцвет О.А. Липидный состав растений как показатель их адаптивных возможностей к различным экологическим условиям: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Тольятти, 2006. 35 с.
194. Розенцвет О.А., Богданова Е.С., Мурзаева С.В. Состав липидов и жирных кислот в листьях папоротника *Matteuccia struthiopteris*, формирующихся под влиянием кадмия // Тр. КарНЦ РАН. 2011а. № 3. С. 97–104.
195. Розенцвет О.А., Нестеров В.Н., Синютина Н.Ф. Эколого-физиологические и биохимические аспекты влияния ионов тяжелых металлов на водное растение *Hydrilla verticillata* // Поволжский экол. журн. 2011б. № 2. С. 185–192.
196. Рубин А.Б. Биофизика фотосинтеза и методы экологического мониторинга // Технология живых систем. 2005. Т. 2. С. 47–68.
197. Рубин А.Б., Кренделева Т.Е. Регуляция первичных процессов фотосинтеза // Успехи биол. химии. 2003. Т. 43. С. 225–266.
198. Рудакова Э.В., Каракис К.Д., Сидоршина Т.Н. Роль клеточных оболочек растений в поглощении и накоплении ионов металлов // Физиология и биохимия культ. растений. 1988. Т. 20, № 1. С. 3–11.
199. Рупошев А.Р. Цитогенетический эффект ионов тяжелых металлов на семена *Crepis capillaris* L. // Генетика. 1976. Т. 12, № 3. С. 37–43.
200. Сааков В.С. Сопряженность высокотемпературного стресса с изменением гармоник сигнала импульсной модулированной флуоресценции (F_0 , F_m , F_v). Локализация термального повреждения в реакционных центрах фотосистемы 2 // Докл. АН. 2002. Т. 382, № 1. С. 118–123.
201. Саэт Ю.Е. Геохимическая оценка техногенной нагрузки на окружающую среду // Геохимия ландшафтов и география почв. М.: МГУ, 1982. С. 37–48.
202. Саэт Ю.Е. Нитропогенные геохимические аномалии свинца // Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 130–149.
203. Савицкене Н., Вайчюнене Я.А., Пясецкене А.А., Риспелис С.П., Абрахманов Х., Савицкас А.Б. Содержание тяжелых металлов в лекарственных растениях из разных придорожных зон в Литве // Раст. ресурсы. 1993. Т. 29, вып. 4. С. 23–30.

204. Сазанова К.А., Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. Генерация супероксидного анион-радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов // Труды Карельского НЦ РАН. Сер. Экспериментальная биол. 2012. № 2. С. 119–124.
205. Сазанова Т.А., Болондинский В.К., Придача В.Б. Эколого-физиологическая характеристика сосны обыкновенной. Петрозаводск: Verso, 2011. 207 с.
206. Сазанова Т.А., Придача В.Б. Влияние промышленного загрязнения на минеральный и водный режим сосны и ели // Труды Карельского НЦ РАН. Сер. Биологические науки. 2009. № 3. С. 75–85.
207. СанПиН 2.3.2.1078-01. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы.
208. Северюхина О.А., Жуйкова Т.В. Реакция генеративной сферы *Taraxacum officinale* s.l. на действие факторов окружающей среды // Биота горных территорий: история и современное состояние. Екатеринбург: Академкнига, 2002. С. 189–193.
209. Семихатова О.А. Оценка адаптационной способности растения на основании исследования темнового дыхания // Физиология растений. 1998. Т. 45, № 1. С. 142–148.
210. Серебряков И.Г. Морфология вегетативных органов высших растений. М.: Сов. наука, 1952. 392 с.
211. Серегин И.В. Фитохелатины и их роль в детоксикации кадмия у высших растений // Успехи. биол. наук. 2001. Т. 41. 283–300.
212. Серегин И.В. Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва, 2009. 53 с.
213. Серегин И.В., Иванов В.Б. Гистохимические методы изучения распределения кадмия и свинца в растениях // Физиология растений. 1997а. Т. 44, № 6. С. 915–921.
214. Серегин И.В., Иванов В.Б. Является ли барьерная функция эндодермы единственной причиной устойчивости ветвления корней к солям тяжелых металлов? // Физиология растений. 1997б. Т. 44, № 6. С. 922–925.
215. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 4. С. 606–630.

216. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения // Физиология растений. 2006. Т. 53, № 2. С. 285–308.
217. Серегин И.В., Кожевникова А.Д., Грачева В.В., Быстрова Е.И., Иванов В.Б. Распределение цинка по тканям корня проростков кукурузы и его действие на рост // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 1. С. 85–94.
218. Скрипниченко И.И., Золотарева Б.Н. Оценка токсического действия тяжелых металлов (свинца) на растения овса // Агрехимия. 1981. № 1. С. 103–109.
219. Сливинская Р.Б. Возможные причины анатомических нарушений у растений под действием тяжелых металлов // Современные проблемы экологической анатомии растений. Владивосток. 1991. С. 147–148.
220. Сливинская Р.Б. Нарушение водного баланса растений под действием тяжелых металлов // II съезд ВОФР. М., 1992. С. 195.
221. Снакин В.В. Свинец в биосфере // Вестник РАН. 1998. Т. 68, № 3. С. 214–224.
222. Степанюк В.В. Влияние соединений кадмия на урожай и элементный состав сельскохозяйственных растений // Агрехимия. 1998. № 6. С. 74–79. С. 214–224.
223. Сытник К.М., Мусатенко Л.И., Богданова Т.Л. Физиология листа. Киев: Наук. думка, 1978. 392 с.
224. Сыщиков Д.В. Изменение концентрации восстановленной формы глутатиона у проростков гороха при действии на них ионов Cd и Ni // Укр. биохим. журн. 2002. Т. 74, № 45. С. 140–141.
225. Табаленкова Г.Н. Продуктивность сельскохозяйственных культур в подзоне средней тайги Европейского Северо-востока России: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва, 2007. 38 с.
226. Таланова В.В., Титов А.Ф., Боева Н.П. Влияние ионов кадмия и свинца на рост и содержание пролина и АБК в проростках огурца // Физиология растений. 1999. Т. 46, № 1. С. 164–167.
227. Таланова В.В., Титов А.Ф., Боева Н.П. Влияние свинца и кадмия на проростки ячменя // Физиология и биохимия культ. растений. 2001а. Т. 33, № 1. С. 33–37.

228. Таланова В.В., Титов А.Ф., Боева Н.П. Влияние возрастающих концентраций тяжелых металлов на рост проростков ячменя и пшеницы // Физиология растений. 20016. Т. 48, № 1. С. 119–123.
229. Таланова В.В., Таланов А.В., Титов А.Ф. Влияние свинца на фотосинтез и транспирацию растений огурца // Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия. 2005. Вологда. С. 166.
230. Тарабрин В.П. Физиология устойчивости древесных растений в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами // Микроэлементы в окружающей среде. Киев: Наук. думка, 1980. С. 17–19.
231. Терехова Е.Н., Сазонова Т.А., Галибина Н.А. Состояние хвои *Pinus sylvestris* (Pinaceae) в условиях промышленного загрязнения (Костомукшский горно-обогатительный комбинат, Республика Карелия) // Раст. ресурсы. 2008. Т. 44, № 2. С. 56–68.
232. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2014. 194 с.
233. Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М. Влияние высоких концентраций кадмия на рост и развитие ячменя и овса на ранних этапах онтогенеза // Агрехимия. 2002. № 9. С. 61–65.
234. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2007. 170 с.
235. Титов А.Ф., Таланова В.В., Боева Н.П., Минаева С.В., Солдатов С.Е. Влияние ионов свинца на рост проростков пшеницы, ячменя и огурца // Физиология растений. 1995. Т. 42, № 3. С. 457–462.
236. Тихонов А.Н. Защитные механизмы фотосинтеза // Соросовский образ. журн. 1999. № 11. С. 16–21.
237. Токарева Т.Г. Экологическая оценка техногенного воздействия на еловые леса Кольского полуострова. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1992. 20 с.
238. Тужилкина В.В., Ладанова Н.В., Плюснина С.Н. Влияние техногенного загрязнения на фотосинтетический аппарат сосны // Экология. 1998. № 2. С. 89–93.

239. Тужилкина В.В. Реакция пигментной системы хвойных на длительное аэротехногенное загрязнение // Экология. 2009. № 4. С. 243–248.
240. Удовенко Т.В., Гончарова Э.А. Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая сельскохозяйственных растений. Л.: Гидрометеиздат, 1982. 144 с.
241. Уманова Н.Е. Роль изучения структурно-функциональной организации растительных сообществ в условиях аэротехногенного загрязнения // Экологические проблемы промышленных регионов. Екатеринбург, 2000. С. 130–132.
242. Уоринг Ф., Филлипс И. Рост растений и дифференцировка. М.: Мир, 1984. 503 с.
243. Фазлиева Э.Р., Киселева И.С. Структурно-функциональные особенности листьев травянистых видов растений из обитаний с разным уровнем техногенного загрязнения // Изв. Самарского НЦ РАН. 2013. Т. 15, № 3 (5). С. 1475–1479
244. Федорец Н.Г., Бахмет О.Н., Солодовников А.Н., Морозов А.К. Почвы Карелии: геохимический атлас. М.: Наука, 2008. 47с.
245. Федорец Н.Г., Солодовников А.Н. Воздействие эмиссий Костомукшского горно-обогатительного комбината на лесные подстилки сосняков в северотаежной подзоне Карелии // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экологические исследования. 2013. № 6. С. 143–152.
246. Феник С.И., Трофимьяк Т.Б., Блюм Я.Б. Механизмы формирования устойчивости растений к тяжелым металлам // Успехи соврем. биологии. 1995. Т. 115, вып. 3. С. 261–275.
247. Физиология и биохимия многолетних трав на Севере. Л.: Наука, 1982. 142 с.
248. Хаданович А.В., Свириденко В.Г., Дроздова Н.И. Распределение ионов свинца и кадмия в системе почва–растение в условиях Гомельского района // Вестник Могилевского ГУ. Серия В. 2010. № 2 (36). С. 76–84.
249. Холодова В.П., Волков К.С., Кузнецов Вл. В. Адаптация к высоким концентрациям солей меди и цинка растений хрустальной травки и возможность их использования в целях фиторемедиации // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 6. С. 848–858.
250. Хорхе Р., Бойценюк Л.И., Куранов И.Б., Ключев Н.А., Фицина О.Н. Влияние тяжелых металлов на качество пыльцы // Тез. докл. IV Междунар. конф. “Регуляторы роста и развития растений” М., 1997. С. 274.

251. Ху Ц.Ц., Ши Г.С., Су Ц.С., Ван С., Юан Ц.Х., Ду К.Х. Воздействие Pb^{+2} на активность антиоксидантных ферментов и ультраструктуру клеток листьев *Potamogeton crispus* // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 3. С. 469–474.
252. Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Л.: Наука, 1976. 788 с.
253. Цибульский В.В., Яценко-Хмелевская М.А. Атмосферные выпадения // Рассеянные элементы в бореальных лесах. М.: Наука, 2004. С. 30–66.
254. Чельцова Л.П. Рост конусов нарастания побегов в онтогенезе растений. Новосибирск, 1980. 143 с.
255. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. С-Пб.: Мир и семья, 1995. 990 с.
256. Черненькова Т.В. Реакция лесной растительности на промышленное загрязнение. М.: Наука, 2002. 191 с.
257. Чиркова Т.В. Клеточные мембраны и устойчивость растений к стрессовым воздействиям // Соросовский Образ. Журнал. 1997. № 9. С. 12–14.
258. Чиркова Т.В. Амарант – культура XXI века // Соросовский Образ. Журнал. 1999. № 10. С. 23–27.
259. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб: Изд-во СПб ун-та, 2002. 244 с.
260. Чупринина Э.В. Некоторые особенности формирования конуса нарастания в условиях почвенного засоления // Биол. науки. 1972. № 4. С. 66–69.
261. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. М.: Колос, 1992. 593 с.
262. Шевякова Н.И., Нетронина И.А., Аронова Е.Е., Кузнецов Вл. В. Распределение Cd и Fe в растениях *Mesembryanthemum crystallinum* при адаптации к Cd-стрессу // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 5. С. 756–763.
263. Шенников А.П. Введение в геоботанику. Л.: Изд-во ЛГУ, 1964. 447 с.
264. Шерстнева О.А., Маслова Т.Г., Мамушина Н.С., Тютерева Е.В., Зубкова Е.К. Фотосинтетический аппарат и светозависимые превращения ксантофиллов в листьях эфемероидов на разных этапах онтогенеза растений // Ботан. журн. 2007. Т. 92. С. 72–80.

265. Шлык А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биологические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–170.
266. Шматько И.Г., Григорюк И.А. Реакция растений на водный и высокотемпературный стрессы // Физиол. и биох. культ. растений. 1992. Т. 24. С. 3–14.
267. Шматько И.Г., Жук О.И., Молошага Н.В. Восстановительная способность стеблевых меристем озимой пшеницы после действия водного стресса // Физиология и биохимия культ. растений. 1994. Т. 26, № 2. С. 185–188.
268. Шоу Б.П., Прасад М.Н.В., Джа В.К., Саху Б.Б. Механизмы детоксикации и защиты растений, подвергнутых действию металлов // Микроэлементы в окружающей среде: биогеохимия, биотехнология и биоремедиация / Под ред. М.Н.В. Прасада, К.С. Саджвана, Р. Найду. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2009. С.340–380.
269. Эдвардс Д., Уокер Д. Фотосинтез C_3 - и C_4 - растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986. 590 с.
270. Яблоков А.В. Россия: здоровье природы и людей. М.: Галерея-принт, 2007. 224 с.
271. Ягодин Б.А., Виноградова С.Б., Говорина В.В. Кадмий в системе почва-удобрения-растения-животные организмы и человек // Агрехимия. 1989. № 5. С. 118–130.
272. Ярмишко В.Т. Сосна обыкновенная и атмосферное загрязнение на Европейском Севере. СПб.: Изд-во СПбГУ, 1997. 210 с.
273. Ярмишко В.Т. Крона дерева как индикатор его состояния в условиях техногенного загрязнения окружающей среды // Проблемы экологии растительных сообществ. СПб.: ООО «ВВМ», 2005. С. 28–57.
274. Aebi H.E. Catalase *in vitro* // Methods in Enzymology. / Ed. L. Packer. Academic Press: Orlando, FL, USA, 1984. V. 105. P. 121–126.
275. Ahsan N., Renaut J., Komatsu S. Recent developments in the application of proteomics to the analysis of plant responses to heavy metals // Proteomics. 2009. V. 9. P. 2602–2621.
276. Alkhatib R., Maruthavanan J., Ghoshroy S., Steiner R., Sterling T., Creamer R. Physiological and ultrastructural effects of lead on tobacco // Biol. Plant. 2011. V. 56, N 4. P. 711–716.

277. Ali G., Srivastava P.S., Iqbal M. Influence of cadmium and zinc on growth and photosynthesis of *Bacopa monniera* L. cultivated in vitro // Biol. Plant. 2000. V. 43. P. 599–601.
278. Amrhein C., Mosher P.A., Strong J.E., Pacheco P.G. Trace metal solubility in soil and water receiving deicing salts // J. Environ. Qual. 1994. V. 23, N 2. P. 219–227.
279. Amirjani M.R. Effects of cadmium on wheat growth and some physiological factors // Int. J. Forest Soil Erosion. 2012. V. 2, N 1. P. 50–58.
280. Amundsen K.L. Origin and evolution of cultivated *Agrostis* spp.: A dissertation submitted in partial fulfillment of requirements for the degree of Doctor of Philosophy at George Mason University. 2009. 135 p.
281. Anjum N.A., Ahmad I., Mohmood I., Pacheco M., Duate A.C., Pereira E., Umar S., Ahmad A., Khan N.A., Iqbal M., Prasad M.N.V. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants responses to toxic metal and metalloids – A review // Environ. Exp. Bot. 2012. V. 75. P. 307–324.
282. Antosiewicz D.M. Adaptation of plants to an environment polluted with heavy metals // Acta Soc. Bot. Pol. 1992. V. 61. P. 281–299.
283. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. 2004. V. 55. P. 373–399.
284. Arao T., Ae N., Sugiyama M., Takahashi M. Genotypic differences in cadmium uptake and distribution in soybeans // Plant Soil. 2003. V. 251. P. 247–253.
285. Argüello J.M., Eren E., González-Guerrero M. The structure and function of heavy metal transport P_{1B}-ATPase // Biometals. 2007. V. 20. P. 233–248.
286. Arrivault S., Senger T., Krämer U. The Arabidopsis metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply // Plant J. 2006. V. 46, N 5. P. 861–879.
287. Asada K. Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues // Causes of photo-oxidative stress and amelioration of defense system in plants / Eds. C.H. Foyer, P. Mullineaux. Boca Raton: CRC Press. 1994. P. 77–104
288. Assunção A.G.L., Herrero E., Lin Y.F., Huettel B., Talukdar S., Smaczniak C., Imink R.G.H., van Eldik M., Fiers M., Schat H., Aarts M.G.M. Arabidopsis thaliana tran-

- scription factors bZIP19 and bZIP23 regulate the adaptation to zinc deficiency // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 10296–10301.
289. Atabaeva S.D., Sarsenbayev B.A. Contamination of soils and plants by heavy metals around metallurgic enterprises in east Kazakhstan // Проблемы физиологии растений Севера. Петрозаводск, 2004. С. 218.
290. Atal N., Saradhi P.P., Mohanty P. Inhibition of the chloroplast photochemical reactions by treatment of wheat seedlings with low concentrations of cadmium. Analysis of electron transport activities and changes in fluorescence yield // Plant Cell Physiol. 1991. V. 32. P. 943–951.
291. Axelsen K.B., Palmgren M.G. Inventory of the superfamily of P-type ion pumps in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2001. V. 126. P. 696–706.
292. Azevedo H., Pinto C.G.G., Fernandes J., Loureiro S., Santos C. Cadmium effects on sunflower growth and photosynthesis // J. Plant. Nutr. 2005. V. 28. P. 2211–2220.
293. Baker A.J.M. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals // J. Plant Nutr. 1981. V. 3, N 1/4. P. 643–654.
294. Baker A.J.M., Brooks R.R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry // Biorecovery. 1989. V. 1. P. 81–126.
295. Baker A.J.M., Walker P.M. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants // Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects. Boca Raton: CRC Press, Fl. 1990. P. 155–177.
296. Barceló J., Poschenrieder C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review // J. Plant Nutr. 1990. V. 13. P. 1–37.
297. Barceló J., Poschenrieder Ch., Andren I, Gunse B. Cadmium induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender) I. Effect of Cd on waterpotential, relative water content and cell wall elasticity // J. Plant Physiol. 1986. V. 125. P. 17–25.
298. Barceló J., Vázquez M.D., Poschenrieder C. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) // New Phytol. 1988a. V. 108. P. 37–49.

299. Barceló J., Vázquez M.D., Poschenrieder C. Cadmium-induced structural and ultrastructural changes in the vascular system of bush bean stems // *Bot. Acta*. 1988b. V. 101. P. 254–261
300. Barconi D., Bernardini G., Santucci A. Linking protein oxidation to environmental pollutants: redox proteome approaches // *J. Proteomics*. 2011. V. 74, N. 11. P. 2324–2337.
301. Baryla A., Carrier P., Franck F., Coulomb C., Sahut C., Havaux M. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth // *Planta*. 2001. V. 212. P. 696–709.
302. Basu U., Good A.G., Taylor G.J. Transgenic *Brassica napus* plants overexpressing aluminium-induced mitochondrial manganese superoxide dismutase cDNA are resistant to aluminium // *Plant Cell Environ.* 2001. V. 24. P. 1269–1278.
303. Baszynski T., Tukendorf A., Ruszkowska M., Skorzynska E., Maksymiec W. Characteristics of the photosynthetic apparatus of copper non-tolerant spinach exposed to excess copper // *J. Plant Physiol.* 1988. V. 132. P. 708–713.
304. Bauer P., Hell R. Translocation of iron in plant tissues // *Iron nutrients in plants and rhizospheric microorganisms* / Eds. L.L. Barton, J. Abadia. Netherlands: Springer. 2006. P. 279–288.
305. Bazzaz F.A., Carlson R.W., Rolf G.S. The effect of heavy metals on plants // *Environ. pollut.* 1974a. V. 7. P. 241–250.
306. Bazzaz F.A., Rolfe G.L., Windle P. Effect of Cd^{+2} on photosynthesis and transpiration of excised leaves of corn and sunflower // *J. Environ. Qual.* 1974b. V. 3. P. 156–157.
307. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // *Anal. Biochem.* 1971. V. 44. p. 276–287.
308. Becerril J.M., Munoz-Rueda A., Aparicio-Tejo P., Gonzalez-Murua C. The effects of cadmium and lead on photosynthetic electron transport in clover and lucerne // *Plant Physiol. Biochem.* 1988. V. 26. P. 357–363.
309. Belogurov G.A., Lahti R. A lysine substitute for K^{+} // *J. Boil. Chem.* 2002. V. 277. 49651–49654.
310. Benavides M.P., Gallego S.M., Tomaro M. Cadmium toxicity in plants // *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. V. 17. P. 21–34.

311. Berezin I., Mizrachy-Dagry T., Brook E., Mizrahi K., Elazar M., Zhuo S., Saul-Tcherkas V., Shaul O. Overexpression of AtMHX in tobacco causes increased sensitivity to Mg^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} ions, induction of V-ATPase expression, and a reduction in plant size // *Plant Cell Rep.* 2008. V. 27. P. 939–949.
312. Bergmann D.C. Integrating signals in stomatal development // *Plant Biol.* 2004. V. 6. P. 26–32.
313. Bidar G., Garçon G., Dewaele D., Cazier F., Douay F., Shirali P. Behavior of *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal contaminated field: plant metal concentration and phytotoxicity // *Environ. Pollut.* 2007. V. 147. P. 546–553.
314. Bingham F.T., Page A.L., Mahler R.J., Ganje T.J. Growth and cadmium accumulation of plants grown on a soil treated with cadmium enriched sewage sludge // *J. Environ. Qual.* 1975. V. 4, № 2. P. 207–211.
315. Bishnoi N.R., Sheoran I.S., Singh R. Influence of cadmium and nickel on photosynthesis and water relations in wheat leaves of different insertion level // *Photosynthetica.* 1993. V. 28, N 3. P. 473–479.
316. Blindauer C.A., Schmid R. Cytosolic metal handling in plants: determinants for zinc specificity in metal transporters and metallothioneins // *Metallomics.* 2010. V. 2. P. 510–529.
317. Blindauer C.A., Leszczyszyn O.I. Metallothioneins: unparalleled diversity in structures and functions for metal ion homeostasis and more // *Nat. Prod. Rep.* 2010. V. 27. P. 720–741.
318. Bonnet M., Camares O., Veisseire P. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv Apollo) // *J. Exp. Bot.* 2000. V. 51. № 346. P. 945–953.
319. Bovey L., Rossi L., Lugon-Moulin N. Cadmium partitioning and gene expression studies in *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana rustica* // *Physiol. Plant.* 2006. V. 128. P. 466–475.
320. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. P. 248–254.

321. Breskle S.W. Growth under stress: heavy metals // Plant root the hidden half. Marsel Deccer., 1991. P. 351–373.
322. Broadley M.R., White P.J., Hammond J.P., Zelko I., Lux A. Zinc in plants // New Phytol. 2007. V. 173. P. 677–702.
323. Brune A., Urbach W., Dietz K.-J. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance // Plant Cell Environ. 1994. V. 17. P. 153–162.
324. Brune A., Urbach W., Dietz K.-J. Differential toxicity of heavy metals is partly related to a loss of preferential extraplasmatic compartmentation: A comparison of Cd-, Mo-, Ni-, and Zn-stress // New Phytol. 1995. V.129. P. 403–409.
325. Brutnell T.R., Wang L., Swartwood K., Goldschmidt A., Jackson D., Zhu X-G., Kellogg E., Van Eck J. *Setaria viridis*: a model for C₄ photosynthesis // Plant Cell. 2010. V. 22. P. 2537–2544.
326. Buart M.P., Arnold M. The heavy-metal chemistry of atmospheric particulate matter emitted by Mount Etna volcano // Geophys. Res. Lett. 1978. N 5. P. 245–248.
327. Bukharina I.L, Kuzmin P.A., Sharifullina A.M. Analysis of physiological and biochemical characteristics of *Tilia cordata* Mill. in conditions of technogenic pollution (on example of the city Naberezhnye Chelny) // Modern scientific research and their practical application. 2013. V. 21301. ISSN 2227-6920, URL: <http://www.sworld.com.ua/e-journal/J21301.pdf>
328. Buchanan-Wollaston V. Isolation of cDNA clones for genes that are expressed during leaf senescence in *Brassica napus*. Identification of a gene encoding a senescence-specific metallothionein-like protein // Plant Physiol. 1994. V. 105. P. 839–846.
329. Bughio N., Yamaguchi H., Nishizawa N.K., Nakanishi H., Mori S. Cloning an iron-regulated transporter from rice // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. P. 1677–1682.
330. Burzyński M. Influence of lead on the chlorophyll content and on initial steps of its synthesis in greening cucumber seedlings // Acta Soc. Bot. Pol. 1985. V. 54, N. 1. P.95-105.
331. Burzyński M. The influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings // Acta Physiol. Plant. 1987. V. 187, N 9. P. 229–238.

332. Burzyński M., Jakobi M. Influence of lead on auxine-induced cell elongation // *Acta Soc. Bot. Pol.* 1983. V. 52, N 2. P. 231-239.
333. Burzyński M., Kłobus G. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd and Pb stress // *Photosynthetica*. 2004. V. 42, N 4. P. 505–510.
334. Burzyński M., Migocka M., Kłobus G. Cu and Cd transport in cucumber (*Cucumis sativus* L.) root plasma membranes // *Plant Sci.* 2005. V. 168. P. 1609–1614.
335. Cailliatte R., Lapeyre B., Brait J.F., Mari S., Curie C. The NRAMP6 metal transporter contributes to cadmium toxicity // *Biochem. J.* 2009. V. 422(2). P. 217–228.
336. Cakmak I., Welch R.M., Hart J., Norvell W.A., Oztürk L., Kochian L.V. Uptake and retranslocation of leaf-applied cadmium (^{109}Cd) in diploid, tetraploid and hexaploid wheats // *J. Exp. Bot.* 2000. V. 51, N 343. P. 221–226.
337. Callahan D.L., Baker A.J.M., Kolev S.D., Wedd A.G. Metal ion ligands in hyperaccumulating plants // *J. Biol. Inorg. Chem.* 2006. V. 11. P. 2–12.
338. Carrier P., Baryla A., Havaux M. Cadmium distribution and microlocalization in oil-seed rape plants (*Brassica napus*) after long-term grown on cadmium-contaminated soil // *Planta*. 2003. V. 216. P. 939–950.
339. Caspi V., Droppa M., Horvath G., Malkin S., Marder J.B., Raskin V.I. The effect of copper on chlorophyll organization during greening of barley leaves // *Photosynth. Res.* 1999. V. 62. P. 165–174.
340. Cataldo C.A., Garland T.R., Wildung R.E. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants // *Plant Physiol.* 1983. V. 73. P. 844–848.
341. Cazale A.-S., Clemens S. *Arabidopsis thaliana* expresses a second functional phytochelatin synthase // *FEBS Lett.* 2001. V. 507. P. 215–219.
342. Chaney R.L., Malik M., Li Y.M., Brown S.L., Brewer E.P., Angle J.S., Baker A.J.M. Phytoremediation of soil metals // *Curr. Opin. Biotechnol.* 1997. V. 8, N 3. P. 279–284.
343. Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M.H., Ferjani E. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzymes activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // *Plant Sci.* 1997. V. 127. P. 139–147.

344. Chardonnens A.N., Bookum W.M. ten B., Kuijper L.D.J., Verkleij J.A.C., Ernst W.H.O. Distribution of cadmium in leaves of cadmium tolerant and sensitive ecotypes of *Silene vulgaris* // *Physiol. Plant.* 1998. V. 104. P. 75–80.
345. Chardonnens A.N., Koevoets P.L.M., vanZanten A., Schat H., Verkleij J.A.C. Properties of enhanced tonoplast zinc transport in naturally selected zinc tolerant *Silene vulgaris* // *Plant Physiol.* 1999. V. 120. P. 779–785.
346. Chekmeneva C., Gusmão R., Díaz-Cruz J.M., Ariño C., Esteban M. From cysteine to longer chain thiols: a thermodynamic analysis of cadmium binding by the phytochelatins and their fragments // *Metallomics.* 2011. V. 3. P. 838–846.
347. Chen F., Wu F., Dong J., Vincze E., Zhang G., Wang F., Huang Y., Wei K. Cadmium translocation and accumulation in developing barley grains // *Planta.* 2007. V. 227. P. 223–232.
348. Chen F., Wang F., Wu F., Mao W., Zhang G., Zhou M. Modulation of exogenous glutathione in antioxidant defense system against Cd stress in two barley genotypes differing in Cd tolerance // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48. P. 6636–6672.
349. Chen M., Shen X., Li D., Ma L., Dong J., Wang T. Identification and characterization of MtMTP1, a Zn transporter of CDF family, in the *Medicago truncatula* // *Plant Physiol. Biochem.* 2009. V. 47. P. 1089–1094.
350. Cheng W., Zhang G., Yao H., Zhang H. Genotypic difference of germination and early seedling growth in response to Cd stress and its relation to Cd accumulation // *J. Plant Nutr.* 2008. V. 31. P. 702–715.
351. Cherian M.G., Howell S.B., Imura N., Klaassen C.D., Koropatnick J., Lazo J.S., Waalkes M.P. Role metallothionein in carcinogenesis // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994. V. 126. P. 1–5.
352. Choi Y.-E., Hadara E., Wada M., Tsudow H., Morita Y., Kusano T., Sano H. Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes // *Planta.* 2001. V. 213. P. 45–50.
353. Choudhary M., Bailey L.D., Grant C.A. Effect of zinc on cadmium concentration in the tissue of durum wheat // *Can. J. Plan Sci.* 1994. V. 74. P. 549–552.

354. Chyan C.L., Lee T.T., Liu C.P., Yang Y.C., Tzen J.T., Chou W.M. Cloning and expression of a seed-specific metallothionein-like protein from sesame // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005. V. 69. P. 2319–2325.
355. Ci D., Jiang D., Wollenweber B., Dai T., Jing Q., Cao W. Cadmium stress in wheat seedlings: growth, cadmium accumulation and photosynthesis // *Acta Physiol. Plant.* 2010. V. 32. P. 365–373.
356. Citterio S., Santagostino A., Fumagalli P., Prato N., Ranalli P., Sgorbati S. Heavy metal tolerance and accumulation of Cd, Cr and Ni by *Cannabis sativa* L. // *Plant Soil.* 2003. V. 256. P. 243–252.
357. Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis // *Planta.* 2001. V. 212. P. 475–486.
358. Clemens S. Evolution and function phytochelatin synthases // *J. Plant Physiol.* 2006a. V. 163, N 3. P. 319–332.
359. Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants // *Biochimie.* 2006b. V. 88. P. 1707–1719.
360. Clemens S., Simm C. *Schizosaccharomyces pombe* as a model for metal homeostasis in plant cell: phytochelatin-dependent pathway is the main cadmium detoxification mechanism // *New Phytol.* 2003. V. 159. P. 323–330.
361. Clemens S., Kim E., Neumann D., Schroeder J. Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast // *EMBO J.* 1999. V. 18. P. 3325–3333.
362. Clemens S., Palmgren M.G., Krämer U. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation // *Trends Plant Sci.* 2002. V. 7, N 7. P. 309–315.
363. Clemens S., Simm C., Maier T. Heavy metal binding proteins and peptides // *Biopolymers*, V. 8: polyamides and complex proteinaceous materials II / Eds. A. Steinbüchel, S.R. Fahnestock. Weilheim: Wiley-VCH; 2003. P. 255–288.
364. Clendennen S.K., May G.D. Differential gene expression in ripening banana fruit // *Plant Physiol.* 1997. V. 115. P. 463–469.
365. Clijsters H., Van Assche F. Inhibition of photosynthesis by heavy metals // *Photosynth. Res.* 1985. V. 70. P. 31–40.

366. Cobbett C.S. A family of phytochelatin synthase genes in plant, fungal and animal species // Trends Plant Sci. 1999. V. 4. P. 335–337.
367. Cobbett C.S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification // Plant Physiol. 2000. V. 123. P. 825–832.
368. Cobbett C., Goldsbrough P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis // Annu. Rev. Plant Biol. 2002. V. 53. P. 159–182.
369. Cohen C.K., Garvin D.F., Kochian L.V. Kinetic properties of a micronutrient transporter from *Pisum sativum* indicate a primary function in Fe uptake from the soil // Planta. 2004. V. 218, N 5. P. 784–792.
370. Conte S.S., Walker E.L. Transporters contributing to iron trafficking in plants // Mol. Plant. 2011. V. 4, N 3. P. 464–476.
371. Cook C.M., Kostidou A., Vardaka E., Lanaras T. Effect of copper on the growth, photosynthesis and nutrient concentrations of *Phaseolus* plants // Photosynthetica. 1997. V. 34. № 2. P. 179–193.
372. Costa G., Morel J.L. Cadmium uptake by *Lupinus albus* (L.): cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance // J. Plant Nutr. 1993. V. 16. P. 1921–1929.
373. Cox R. M., Hutchinson T. C. Multiple and co-tolerance to metals in the grass *Deschampsia caespitosa*: adaptation, preadaptation and «cost» // J. Plant Nutr. 1981. V. 3, N 1. P. 731–741.
374. Culter J.M., Rains D.W. Characterization of cadmium uptake by plant tissue // Plant Physiol. 1974. V. 54, № 1. P. 67–71.
375. Cunningham S.D., Ow D.W. Promises and prospects of phytoremediation // Plant Physiol. 1996. V.110. P. 715–719.
376. Curie C., Cassin G., Couch D., Divol F., Higuchi K., Le M., Misson J., Schikora A., Czernic P., Mari S. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow sprite 1-like transporters // Ann. Bot. 2009. V. 103. P. 1–11.
377. Curie C., Alonso J.M., Le Jean M., Ecker J.R., Brait J.F. Involvement of NRAMP1 from *Arabidopsis thaliana* in iron transport // Biochem. J. 2000. V. 347 (Pt 3). P. 749–755.

378. Cuypers A., Vangronsveld J., Clijsters H. The redox status of plant cell (AsA and GSH) in sensitive to zinc imposed oxidative stress in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* // Plant Physiol. Biochem. 2001. V. 39. P. 657–664.
379. DalCorso G., Farinati S., Maistri S., Furini A. How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression // J Integr. Plant Biol. 2008. V. 50, N 10. P. 1268–1280.
380. Dallinger R., Lagg B., Egg M., Schipflinger R., Chabicovsky M. Cd accumulation and Cd-metallothionein as a biomarker in *Cepaea hortensis* (*Helicidae*, *Pulmonata*) from laboratory exposure and metal-polluted habitats // Ecotoxicology. 2004. V. 13. P. 757–772.
381. Das P., Samantaray S., Rout G.R. Studies of cadmium toxicity in plants: a review // Environ. Pollut. 1997. V. 98, № 1. P. 29–36.
382. Davies M.S., Francis D., Thomas J.D. Rapidly of cellular changes induced by zinc in a zinc tolerant and non-tolerant cultivar of *Festuca rubra* L. // New Phytol. 1991. V. 117. P. 103–108.
383. Davis B.E., White H.M. Trace elements in vegetables grown on soil contaminated by base metal mining // J. Plant. Nutr. 1981. V. 3, № 3-4. P. 387–396.
384. De Knecht J.A., van Dillen M., Koevoets P.L.M., Schat H., Verkleij J.A.C., Ernst W.H.O. Phytochelatins in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*. Chain length distribution and sulfide incorporation // Plant Physiol. 1994. V. 104. P. 255–261.
385. Delhaize E., Jackson P.J., Lujan L.D., Robinson N.J. Poly(γ -glutamylcysteinyl)glycine synthesis in *Datura innoxia* and binding with cadmium // Plant Physiol. 1989. V. 89. P. 700–706.
386. Delisle G., Champoux M., Houde M. Characterization of oxidase and cell death in Al-sensitive and tolerant wheat roots // Plant Cell Physiol. 2001. V. 42. P. 324–333.
387. Demirevska-Kepova K., Simova-Stoilova L., Petrova-Stoyanova Z., Feller U. Cadmium stress in barley: growth, leaf pigment and protein composition and detoxification of reactive oxygen species // J. Plant Nutr. 2006. V. 29. P. 451–468.
388. Denny H.J., Wilkins D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp. I. Effect of external concentration of zinc on growth and uptake // New Phytol. 1987. V. 106. P. 517–524.

389. De Prado R., Dominguez C., Rodriguez I., Tena M. Photosynthetic activity and chloroplast structural characteristics in triazine-resistant biotypes of three weed species // *Physiol. Plant.* 1992. Vol. 84. P. 477–185.
390. Di Cango R., Guidi L., De Gara L., Soldatini G.F. Combined cadmium and ozone treatment affects photosynthesis and ascorbate-dependent defences in sunflower // *New Phytol.* 2001. V. 151. P. 627–636.
391. DiDonato R.J., Roberts L.A., Sanderson T., Eisley R.B., Walker E.L. *Arabidopsis Yellow Stripe-Like2 (YSL2)*: a metal-regulated gene encoding a plasma membrane transporter of nicotianamine-metal complexes // *Plant J.* 2004. V. 39. P. 404–414.
392. Dietz K.J., Baier M., Krämer U. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants // *Heavy metal stress in plants from molecules to ecosystems* / Eds. M.N.V. Prasad, J. Hagemeyer. Berlin, Germany: Springer-Verlag. 1999. P. 73–97.
393. Dietz K.J., Tavakoli N., Klude C., Mimura T., Sharma S.S., Harris G.C., Chardonnens A.N., Golldack D. Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52, N 363. P. 1969–1980.
394. Dixit V., Pandey V., Shyam R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52, N 358. P. 1101–1109.
395. Dixon D.P., Davis B.G., Edwards R. Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants. Identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 30859–30869.
396. Djebali W., Gallusci P., Polge C., Boulila L., Galtier N., Raymond P., Chaibi W., Brouquisse R. Modifications in endopeptidase and 20S proteasome expression and activities in cadmium treated tomato (*Solanum lycopersium* L.) plants // *Planta.* 2008. V. 227. P. 625–639.
397. Dofing S.M. Introgenetic evaluation of grain yield and time to mature in barley // *Agron. J.* 1997. V. 89. P.685–690.

398. Domenech J., Orihuela R., Mir G., Molinas M., Atrain S., Capdevila M. The Cd (II)-binding abilities of recombinant *Quercus suber* metallothionein: bridging the gap between phytochelatin and metallothioneins // J. Biol. Inorg. Chem. 2007. V. 12. P. 867–882.
399. Drażkiewicz M., Skórzyńska-Polit E., Krupa Z. Response of the ascorbate-glutathione cycle to excess copper in *Arabidopsis thaliana* (L.) // Plant Sci. 2003. V. 164. P. 195–202.
400. Dubey R.S. Photosynthesis in plants under stressful conditions // Handbook of photosynthesis / Ed. M. Pessarakli. New York: Marcel Dekker, 1997. P. 859–875.
401. Duffus J.H. “Heavy metals” – a meaningless term? (IUPAC Technical Report) // Pure Appl. Chem. 2002. V. 74, N 5. P. 793–807.
402. Dunbar K.R., McLaughlin M.J., Reid R.J. The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.) // J. Exp. Bot. 2003. V. 54, N 381. P. 349–354.
403. Eapen S., D’Souza S.F. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals // Biotechnol. Adv. 2005. V. 23. P. 97–114.
404. Ebbs S., Lau I., Ahner B., Kochian L. Phytochelatin synthesis is not responsible for Cd tolerance in Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* (J. and C. Presl). // Planta. 2002. V. 214. P. 635–640.
405. Eide D.J. Zinc transporters and cellular trafficking of Zn // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res. 2006. V. 1763. P. 711–722.
406. Eren E., Argüello J.M. Arabidopsis HMA2, a divalent heavy metal-transporting P1B-type ATPase, is involved in cytoplasmic Zn²⁺ homeostasis // Plant Physiol. 2004. V. 136. P. 3712–3723.
407. Ernst W.H.O. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance // Effects of air pollutants on plants / Ed. T.A. Mansfield. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. P. 115–133.
408. Ernst W., Weinert H. Lokalisation von Zink in den Blättern von *Silene cucubalus* Wib. // Z. Pflanzenphysiol. 1972. Bd. 6, Hf. 3. S. 258–264.
409. Ernst W.H.O., Verkleij J.A.C., Shat H. Metal tolerance in plants // Acta Bot. Neerl. 1992. V. 41. P. 229–248.

410. Evans K.M., Gatehouse J.A., Lindsay W.P., Shi J., Tommey A.M., Robinson N.J. Expression of the pea metallothionein-like gene PsMTA in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana* and analysis of trace-metal ion accumulation—implications for PsMTA function // *Plant Mol. Biol.* 1992. V. 20. P. 1019–1028.
411. Fagioni M., Damici G.M., Timperio A., Zolla L. Proteomic analysis of multiprotein complexes in the thylakoid membrane upon cadmium treatment // *J. Proteome Res.* 2009. V. 8. P. 310–326.
412. Fellenberg G. Developmental physiology // *Progr. Bot.* 1982. V. 44. P. 205–221.
413. Ferro M., Salvis D., Brugièrè S., Miras S., Kowalski S., Louwagie M., Garin J., Joyard J., Rolland N. Proteomics of the chloroplast envelope membranes from *Arabidopsis thaliana* // *Mol. Cell. Proteom.* 2003. V. 2. P. 325–345.
414. Finkel T., Holbrook N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing // *Nature.* 2000. V. 408, N 9. P. 239–247.
415. Finkemeier I., Kluge C., Metwally A., Georgi M., Grotjohann N., Dietz K.-J. Alterations in Cd-induced gene expression under nitrogen deficiency in *Hordeum vulgare* // *Plant Cell Environ.* 2003. V. 26. P. 821–833.
416. Florjin P.J., Van Beusichem M.L. Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines // *Plant Soil.* 1993. V. 150. P. 25–32.
417. Fodor F., Szabonagy A., Erdei L. The effect of cadmium on fluidity and H⁺-ATFase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots // *J. Plant. Physiol.* 1995. V. 147. P. 87–92.
418. Fornazier R.F., Ferreira R.R., Vitoria A.P., Molina S.M.G., Lea P.J., Azevedo R.F. Effects of cadmium on antioxidant enzyme activities in sugar cane // *Biol. Plant.* 2002. V. 45. P. 91–97.
419. Foy C.D., Chaney R.L., White M.C. The physiology of metal toxicity in plants // *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 1978. № 29. P. 511–566.
420. Foyer C.H., Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism // *Planta.* 1976. V. 133, N 1. P. 21–25.

421. Foyer C.H., Noctor G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context // *Plant Cell Environ.* 2005. V. 28. P. 1056–1071.
422. Foyer C.H., Lopez-Delgado H., Dat J.F., Scott I.M. Hydrogen peroxide- and glutathione- associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling // *Physiol. Plant.* 1997. V. 100. P. 241–254.
423. Fujimaki S., Suzui N., Ishioka N.S. Kawachi N., Ito S., Chino M., Nakamura S. Tracing cadmium from culture to spikelet: noninvasive imaging and quantitative characterization of absorption, transport and accumulation of cadmium in an intact rice plant // *Plant Physiol.* 2010. V. 152. P. 1796–1806.
424. Gabrielli R., Pandolfini T., Vergnao O., Palandizi M. Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies // *Plant and Soil.* 1990. V. 122, № 2. C. 271–277.
425. Gallego S.M., Benavides M.P., Tomaro M.L. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress // *Plant Sci.* 1996. V. 121. P. 151–159.
426. Gallego S.M., Pena L.B., Barica R.A., Azpilicueta C.E., Iannone M.F., Rosales E.P., Zawoznik M.S., Groppa M/D., Benavides M.P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insling into regulatory mechanisms // *Environ. Exp. Bot.* 2012. V.83. P. 33–46.
427. Gamalero E., Lingua G., Berta G., Glick B.R. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress // *Can. J. Microbiol.* 2009. V. 55, N 5. P. 501–514.
428. García-Hernández M., Murphy A., Taiz L. Metallothioneins 1 and 2 have distinct but overlapping expression patterns in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 1998. V. 118. P. 387–397.
429. Garg N., Kaur H. Response of antioxidant enzymes, phytochelatins and glutathione production towards Cd and Zn stresses in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. genotypes colonized by arbuscular mycorrhizal fungi // *J. Agron. Crop Sci.* 2013. V. 199. P. 118–133.
430. Gaxiola R.A., Palmgren M.G., Schumacher K. Plant proton pump // *FEBS Lett.* 2007. V. 581. P. 2204–2014.

431. Gayomba S.R., Jung H.I., Yan J., Danku J., Rutzke M.A., Bernal M., Krämer U., Kochian L.V., Salt D.E., Vatamaniuk O.K. The CRT/COPT-dependent copper uptake and SPL7-dependent copper deficiency responses are required for basal cadmium tolerance in *A. thaliana* // *Metallomics*. 2013. V. 5, N 9. P. 1262–1275.
432. Geras'kin S.A., Kim J.K., Dikarev V.G., Oudalova A.A., Dikareva N.S., Spirin Y.V. Cytogenetic effect of radioactive or chemical contamination on spring barley intercalary meristem cells // G. Arapis et al. (eds.), *Ecotoxicology. Ecol. Risk Assess. Multiple Stressors*. Springer, 2006. P. 243–254.
433. Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48. P. 909–930
434. Gill S.S., Khan N.A., Tuteja N. Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.) // *Plant Sci.* 2011. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.04.018
435. Glavac V., Koenies H., Ebben U. Seasonal variation and axial distribution of cadmium concentrations in trunk xylem sap of beech trees (*Fagus sylvatica* L.) // *Angew. Bot.* 1990. V. 64. P. 357–364.
436. Godbold D.L. Cadmium uptake in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings // *Tree Physiol.* 1991. N 9. P. 349–357.
437. Goldsbrough P.B. Metal tolerance in plants: role of phytochelatins and metallothioneins // *Phytoremediation of contaminated soil and water* / Eds. N. Terri, G. Bañuelos. Boca Raton: CRC Press, 1998. P. 221–233.
438. Golldack D, Dietz K.-J. Salt-induced expression of the vacuolar H⁺-ATPase in the common rice plant is developmentally controlled and tissue specific // *Plant Physiol.* 2001. V. 125. P. 1643–1654.
439. Gomes M.P., de S.M. Marques T.C.L.L., de O.G. Nogueira M, de Castro E.M., Soares A.M. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens* // *Sci. Agric.* 2011. V. 68, N. 5. P. 566–573.

440. Gomes-Junior R.A., Moldes C.A., Delite F.S., Pompeu G.B., Gratão P.L., Mazzafera P., Lea P.J., Azevedo R.A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium // *Chemosphere*. 2006. V. 65. P. 1330–1337.
441. Gómez G., Pallás V. A long distance translocatable phloem protein from cucumber forms a ribonucleoprotein complex in vivo with Hop stunt viroid RNA // *J. Virol.* 2004. V. 78. P. 10104–10110.
442. Gonzalez-Mendoza D., Espadas y Gil F., Santamaría J.M., Zapata-Perez O. Multiple effects of cadmium on the photosynthetic apparatus of *Avicennia germinans* L. as probed by OJIP chlorophyll fluorescence measurements // *Z. Naturforsch.* 2007. P. 265–272. DOI: 0939–5075/2007/0300–0265
443. Gouia H., Chaffei C., Debouba M., Ghorbel M.H. Differential toxicological response to cadmium stress of bean seedlings grown with NO_3^- or NH_4^+ as nitrogen source // *Int. J. Bot.* 2008. V. 4, N 1. P. 14–23.
444. Grant C.A., Buckley W.T., Bailey L.D., Selles F. Cadmium accumulation in crops // *Can. J. Plant Sci.* 1998. V. 78. P. 1–17.
445. Gratão P.L., Pompeu G.B., Capaldi E.R., Vitorello V.A., Lea P.J., Azevedo R.A. Antioxidant response of *Nicotiana tabacum* cv. Bright Yellow 2 cell to cadmium and nickel stress // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2008. V. 94, N 1. P. 73–83.
446. Greger M., Johansson M. Cadmium effects on leaf transpiration of sugar beet (*Beta vulgaris*) // *Physiol. Plant.* 2006. V. 86. P. 465–473.
447. Greger M., Landberg T. Use of willow in phytoextraction // *Int. J. Phytorem.* 1999. V 1, N 2. P. 115–123.
448. Greger M., Lindberg S. Effects of Cd^{2+} and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*). I. Cd^{2+} uptake and sugar accumulation // *Physiol. Plant.* 1987. V. 66. P. 69–74.
449. Greger M., Löfstedt M. Comparison of uptake and distribution of cadmium in different cultivars of bread and durum wheat // *Crop. Sci.* 2004. V. 44. P. 501–507.
450. Greger M., Ögren E. Direct and indirect effects of Cd^{2+} on photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) // *Physiol. Plant.* 1991. V. 83. P. 129–135.
451. Greszta J., Braniewski S., Chrzanowska E. Poziom metali ciezkich w glebach i roslinach wokol huty cynku // *Mat. III Kraj. Konf. Pulawy*. 1985. Cr. 2. P. 15–17.

452. Grill E., Wiannacker E.L., Zenk M.H. Phytochelatins: the principal the heavy-metals complexing peptides of higher plants // *Science*. 1985. V. 230. P. 674–676.
453. Grill E., Wiannacker E.L., Zenk M.H. Phytochelatins, a class of heavy metals binding peptides from plants, are functionally analogous to metallothioneins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987. V. 84. P. 439–443.
454. Grill E., Löffler S., Wiannacker E.L., Zenk M.H. Phytochelatins, the heavy metals binding peptides of plants, are synthesized from glutathione by a specific γ -glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. V. 86. P. 6838–6842.
455. Grotz N., Fox T., Connolly E., Park W., Guerinot M.L., Eide D. Identification of family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. P. 7220–7224.
456. Gruenberg J., van der Goot F.G. Mechanisms of pathogen entry through the endosomal compartments // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006. V. 7. P. 495–504.
457. Gunnarsson O. Heavy metals in fertilizers do they cause environmental and health problems? // *Fertil. Agric.* 1983. N 85. P. 27–42.
458. Guo B., Liang Y.C., Zhu Y.G., Zhao F.J. Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress // *Environ. Pollut.* 2007. V. 147. P. 743–749.
459. Guo T., Zhang G., Zhou M., Wu F., Chen J. Effects of aluminium and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barely genotypes with different Al resistance // *Plant Soil*. 2004. V. 258. P. 241–248.
460. Guo W.J., Bundithya W., Goldsbrough P.B. Characterization of the *Arabidopsis* metallothionein gene family: tissue-specific expression and induction during senescence and in response to copper // *New Phytol.* 2003. V. 159. P. 369–381.
461. Guo W.J., Meenam M., Goldsbrough P.B. Examining the specific contributions of individual *Arabidopsis* metallothioneins to copper distribution and metal tolerance // *Plant Physiol.* 2008. V. 146. P. 1697–1706.
462. Guo Y.L., Schulz R., Marschner H. Genotypic differences in uptake and distribution of cadmium and nickel in plants // *Angew. Bot.* 1995. V. 69. P. 42–48.

463. Gupta K.D., Corpas F.J., Palma J.M. (Eds.) Heavy metal stress in plants. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2013. 242 p. DOI:10.1007/978-3-642-38469-1.
464. Gussarsson M., Adalsteinsson S., Jensen P., Asp H. Cadmium and copper interactions on the accumulation and distribution of Cd and Cu in birch (*Betula pendula* Roth) seedlings // *Plant Soil*. 1995. V. 171. P. 185–187.
465. Ha S.-B., Smith A.P., Howden R., Dietrich W.M., Bugg S., O'Connell M.J., Goldsbrough P.B., Cobbett C.S. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and yeast, *Schizosaccharomyces pombe* // *Plant Cell*. 1999. V. 11. P. 1153–1163.
466. Haag-Kerwer A., Schäfer H.J., Heiss S., Walter C., Rausch Th. Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis // *J. Exp. Bot.* 1999. V. 50, N 341. P. 1827–1835.
467. Habashi F. Gmelin and his Handbuch // *Bull. Hist. Chem.* 2009. V. 34, N 1. P. 30–31.
468. Hajdúch M., Rakwal R., Agrawal G.K., Yonekura M., Pretova A. High-resolution two-dimensional electrophoresis separation of proteins from metal-stressed rice (*Oryza sativa* L.) leaves: drastic reductions/fragmentation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and induction of stress-related proteins // *Electrophoresis*. 2001. V. 22. P. 2824–2831.
469. Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53, N 366. P. 1–11.
470. Hall J.L., Williams L.E. Transition metal transporters in plants // *J. Exp. Bot.* 2003. V. 54. P. 2601–2613.
471. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life // *Plant Physiol.* 2006. V. 143. P. 312–322.
472. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: University Press, 1999. 936 p.
473. Halušková L., Valentovičová K., Hittová J., Mistrík I., Tamás L. Effects of abiotic stresses on glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activity in barley roots tips // *Plant Physiol. Biochem.* 2009. V. 47. P. 1069–1074.
474. Hänsch R., Mendel R.R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2009. V. 12. P. 259–266.

475. Harada E., Sugase K., Namba K., Iwashita T., Murata Y. Structural elements responsible for the Fe(III)-phytosiderophore specific transport by HvYS1 transporter in barley // *FEBS Lett.* 2007. V. 581. P. 4298–4302.
476. Hardiman R.T., Jacoby B. Absorption and translocation of cadmium in bush beans *Phaseolus vulgaris* // *Physiol. Plant.* 1984. V. 61. P. 670–674.
477. Harris N.S., Taylor G.J. Remobilization of cadmium in maturing shoots of near isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium accumulation // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52, N 360. P. 1473–1481.
478. Harris N.S., Taylor G.J. Cadmium uptake and translocation in seedlings of near isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium accumulation // *BMC Plant Biol* 2004. 4:4.doi: 10.1186/1471-2229-4-4
479. Hart J.J., Welch R.M., Norvell W.A., Sullivan L.A., Kochian L.V. Characterization of cadmium binding, uptake and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars // *Plant Physiol.* 1998. V. 116. P. 1413–1420.
480. Hasan S.A., Fariduddin Q., Ali B., Hayat S., Ahmad A. Cadmium: toxicity and tolerance in plants // *J. Environ. Biol.* 2009. V. 30, N 2. P. 165–174.
481. Haslett B.S., Reid R.J., Rengel Z. Zinc mobility in wheat: uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots // *Ann. Bot.* 2001. V. 87. P. 379–386.
482. Hassan M.J., Zhang G., Zhu Z. Influence of cadmium toxicity of plant growth and nitrogen uptake in rice as affected by nitrogen form // *J. Plant Nutr.* 2008. V. 31. P. 251–262.
483. Hassan Z., Aarts M.G.M. Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants // *Environ. Exp. Biol.* 2011. V. 72. P. 53–63.
484. Hatata M.M., Abdel-Aal E.A. Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in response to cadmium treatments // *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 2008. V. 4, N 6. P. 655–669.
485. Haydon M.J., Cobbett C.S. Transporters of ligands for essential metal ions in plants // *New Phytol.* 2007. V. 174. P. 499–506.

486. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. 1968. V. 125. P. 189–198.
487. Hegedus A., Erdei S., Horvath G. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress // Plant Sci. 2001. V. 160. P. 1085–1093.
488. Heiss S., Wachter A., Bogs J., Cobbett C., Rausch T. Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure // J. Exp. Bot. 2003. V. 54. P. 1833–1839.
489. Herren T., Feller U. Effect of locally increased zinc content of zinc transport from the flag leaf lamina to maturing grains of wheat // J. Plant Nutr. 1996. V. 19. P. 379–387.
490. Hertstein U., Jägen H.-J. Tolerances of different populations of three grass species to cadmium and other metals // Environ. Exp. Bot. 1986. V. 26, N. 4. P. 309–319.
491. Horváth G., Droppa M., Oravecz A., Raskin V.I., Marder J.B. Formation of the photosynthetic apparatus during greening of cadmium-poisoned barley leaves // Planta. 1996. V. 199. P. 238–243.
492. Hossian M.A., Fujita M. Evidence for a role exogenous glycinebetaine and proline in antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system in mung bean seedlings under salt stress // Physiol. Mol. Biol. Plant. 2010. V. 16, N 1. P. 19–29.
493. Hossian M.A., Piyatida P., da Silva J.A.T., Fujita M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: Central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation // J. Bot. 2012. Article ID 872875, 37 p. DOI:10.11555/2012/872875
494. Hovmand M.F., Tjell J.C., Mosbaek H. Plant uptake of airborne cadmium // Environ. Pollut. Ser. A. 1983. V. 30. P. 27–32.
495. Howden R., Goldsbrough P.B., Andersen C.S., Cobbett C.S. Cadmium-sensitive, cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient // Plant Physiol. 1995. V. 107. P. 1059–1066.
496. Hsieh H.M., Liu W.K., Huang P.C. A novel stress-inducible metallothionein-like gene from rice // Plant Mol. Biol. 1995. V. 28. P. 381–389.

497. Hu Y., Ge Y., Zhang C., Ju T., Cheng W. Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxidase pretreatment // *J. Plant Growth Regul.* 2009. V. 59. P. 51–61.
498. Huang C.Y., Bazzaz F.A. Vanderhoff L.N. The inhibition of soybean metabolism by cadmium and lead // *Plant Physiol.* 1974. № 54. P. 122–124.
499. Huang G-Y., Wang Y-S. Expression and characterization analysis of type 2 metallothionein from grey mangrove species (*Avicennia marina*) in response to metal stress // *Aquat. Toxicol.* 2010. V. 99. P. 86–92.
500. Hudspeth R.L., Hobbs S.L., Anderson D.M., Rajasekaran K., Grula J.W. Characterization and expression of metallothionein-like genes in cotton // *Plant Mol. Biol.* 1996. V. 31. P. 701–705. Hussain D., Haydon M.J., Wang Y., Wong E., Sherson S.M., Young J., Camakaris J., Harper J.F., Cobbett C.S. P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2004. V. 16. P. 1327–1339.
501. Husted S., Persson D.P., Laursen K.H., Hansen T.H., Pedaş P., Schiller M., Hegelund J.N., Schjoerring J.K. Review: The role of atomic spectrometry in plant science // *J. Anal. At. Spectrom.* 2011. V. 26. P. 52–79.
502. Hutchinson T.C., Whitby L.M. Heavy-metal pollution in the Sudbury mining and smelting region of Canada. I. Soil and vegetation contamination by nickel, copper and other metals // *Environ. Conserv.* 1974. V. 1, N 2. P. 123–132.
503. Iannelli M.A., Pietrini F., Fiore L., Petrilli L., Massacci A. Antioxidant response to cadmium in *Pragmites australis* plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2002. V. 40, N. 11. P. 977–982.
504. Iannone M.F., Rosales E.P., Groppa M.D., Benavides M.P. Reactive oxygen species formation and cell death in catalase-deficient tobacco leaf disks exposed to cadmium // *Protoplasma.* 2010. V. 245. P. 15–27.
505. Ingle R.A., Fricker M.D., Smith J.A.C. Evidence for nickel/proton antiport activity at the tonoplast of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum* // *Plant Biol.* 2008. V. 10. P. 746–753.
506. Ishikawa S., Ishimaru Y., Igura M., Kuramata M., Abe T., Senoura T., Hase Y., Arao T., Nishizawa N.K., Nakanishi H. Ion-beam irradiation, gene identification, and marker-

- assisted breeding in the development of low-cadmium rice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012. V. 109. P. 19166–19171.
507. Ishimaru Y., Suzuki M., Tsukamoto T., Suzuki K., Nakazono M., Kobayashi T., Wada Y., Watanabe S., Matsushashi S., Takahashi M., Nakanishi H., Mori S., Nishizawa N.K. Rice plants take up iron as an Fe^{3+} -phytosiderophore and as Fe^{2+} // Plant J. 2006. V. 45. P. 335–346.
508. Ishimaru Y., Takahashi R., Bashir K., Shimo H., Senoura T., Sugimoto K., Ono K., Yano M., Ishikawa S., Aaro T., Nakanishi H., Nishizawa N.K. Characterizing the role of rice NRAMP5 in manganese, iron and cadmium transport // Sci. Rep. 2012. 2, 286; DOI: 10.1038/srep00286
509. Ivanova L.A., Ronzhina D.A., Ivanov L.A., Stroukova A.D., Peuke A.D., Rennenberg H. Over-expression of *gsh1* in the cytosol affects the photosynthetic apparatus and improves the performance of transgenic poplars of in heavy-metal contaminated soil // Curr. Opin. Plant Biol. 2011. V. 13. P. 1–11.
510. Jahrman T., Bastida M., Pineda M., Gasol E., Ludevid M.D., Palacin M., Puigdomenech P. Studies on the function of TM20, a transmembrane protein present in cereal embryos // Planta. 2005. V. 222(1). P. 80–90.
511. Jalil A., Selles E., Clarke J.M. Effect of cadmium on growth and uptake of cadmium and other elements by durum wheat // J. Plant Nutr. 1994. V. 17. P. 1839–1858.
512. James R.A., Von Caemmerer S., Condon A.G., Zwart A.B., Munns R. Genetic variation in tolerance to the osmotic stress component of salinity stress in durum wheat // Funct. Plant Biol. 2008. V. 35, N 2. P. 111–123.
513. Jiang W., Liu D. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. // BMC Plant Biol. 2010, 10:40. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/40>.
514. Jin X., Yang X., Islam E., Liu D., Mahmood Q. Effects of cadmium on ultrastructure and antioxidative defense system in hyperaccumulator and nonaccumulator ecotypes of *Sedum alfredii* Hance // J. Hazard. Mat. 2008. V. 156. P. 387–397.
515. Jócsák I., Végvári G., Droppa M. Heavy metal detoxification by organic acids in barley seedlings // Acta Biol. Szeged. 2005. V. 49, N. 1-2. P. 99–101.

516. Joshi M., Mohanty P. Chlorophyll a fluorescence as a probe of heavy metal ion toxicity in plants // Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis / Ed. G.C. Papageorgiou Govindjee: Springer. The Netherlands, Dordrecht. 2004. P. 447–461.
517. Joshi M., Mohanty P. Probing photosynthetic performance by chlorophyll a fluorescence: Analysis and interpretation of fluorescence parameters // J. Sci. Ind. Res. 1995. V. 54. P. 155–174.
518. Jordan M.J. Effect of zinc smelter emissions and fire on a chestnut – oak woodland // Ecology. 1975. V. 56, № 1. P. 78–91.
519. Juknys R., Vitkauskaitė G., Račaitė M., Vencloviėnė J. The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley // Cent. Eur. J. Bot. 2012. V. 7, N 2. P. 299–306.
520. Jung H.I., Gayomba S.R., Rutzke M.A., Craft E., Kochian L.V., Vatamaniuk O.K. COPT6 is a plasma membrane transporter that functions in copper homeostasis in Arabidopsis and is a novel target of SQUAMOSA promoter binding protein-like 7 // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. P. 33252–33267.
521. Kabała K., Janicka-Russak M. Differential regulation of vacuolar H⁺-ATPase and H⁺-PPase in *Cucumis sativus* roots by zinc and nickel // Plant Sci. 2011. V. 180. P. 531–539.
522. Kabała K., Janicka-Russak M., Kłobus G. Different responses of tonoplast proton pumps in Cucumber roots to cadmium and copper // J. Plant Physiol. 2010. V. 167. P. 1328–1335.
523. Kang J., Hwang J., Lee M., Kim Y., Assmann S., Martinoia E., Lee Y. PDR-type ABC transporter mediates cellular uptake of the phytohormone abscisic acid // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 2355–2360.
524. Kannan S., Keppler H. Absorption and transport of Pb²⁺ in young pea seedlings. // Z. Naturforsch. 1976. V. 31, N 7-8. P. 393–396.
525. Karataglis S. S. Differential tolerance of *Agrostis tenuis* populations growing at two mine soils to Cu, Zn, Pb // Phytol. 1980. Vol. 20, N 1–2. P. 15–22.
526. Keltjens W.G., van Beusichem M.L. Phytochelatins as biomarkers for heavy metal stress in maize (*Zea mays* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.): combined effects of copper and cadmium // Plant Soil. 1998. V. 203. P. 119–126.

527. Kenderešová L., Staňova A., Pavlovkin J., Ďurišová E., Nadubinská M., Čiamporová M., Ovečka M. Early Zn²⁺-induced effects on membrane potential account for primary heavy metal susceptibility in tolerant and sensitive *Arabidopsis* species // *Ann. Bot.* 2012. V. 110. P. 445–459.
528. Khan D.I., Duckett J.G., Frankland B., Kirkham J.B. An X-ray microanalytical study of distribution of cadmium in roots of *Zea mays* L. // *Plant Physiol.* 1984. V. 115. P. 19–28.
529. Khan M.A., Samiullah S., Singh S., Nazar R. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress // *J. Agron. Crop. Sci.* 2007. V. 193. P. 435–444.
530. Khan M.A., Castro-Guerrero N., Mendoza-Cozatl D.G. Moving toward a precise nutrition: preferential loading of seeds with essential nutrients over non-essential toxic elements // *Plant Sci.* 2014. V. 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00051
531. Kholodova V., Volkov K., Abdeyeva A., Kuznetsov V. Water status in *Mesembryanthemum crystallinum* under heavy metal stress // *Environ. Exp. Bot.* 2011. V. 71. P. 382–389.
532. Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M. Cadmium-induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus cajan* // *Biol. Plant.* 2001. V. 44, N 1. P. 59–64.
533. Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M., Sairam R.K. Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* // *Biol. Plant.* 2004. V. 48, N 2. P. 255–260.
534. Khurana N., Singh M.V., Chatterjee C. Copper stress alters physiology and deteriorates seed quality of rapeseed // *J. Plant. Nutr.* 2006. V.29, N 1. P. 93–101
535. Kim D.Y., Bovet L., Maeshima M., Martinoia E., Lee Y. The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance // *Plant J.* 2007. V. 50. P. 207–218.
536. Kim S., Lim H., Lee I. Enhanced heavy metal phytoextraction by *Echinochloa crus-galli* using root exudates // *J. Biosci. Bioeng.* 2010. V. 109, N 1. P. 47–50.

537. Kim Y., Kim D., Shim D., Song W-Y., Lee J., Schroeder J.I., Kim S., Moran N., Lee Y. Expression of the novel wheat gene TM20 confers enhanced cadmium tolerance to baker's yeast // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 15893–15902. .
538. Kim Y-Y., Yang Y-Y., Lee Y. Pb and Cd uptake in rice roots // *Physiol. Plant.* 2002. V. 116. P. 368–372.
539. Kitagishi K., Yamane I. Heavy metal pollution in soils of Japan. Japan Science. Tokyo: Society Press, 1981. 302 p.
540. Klapheck S., Flienger W., Zimmer I. Hydroximethyl-phytochelatins $[(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Ser}]$ are metal-induced peptides of the Poaceae // *Plant Physiol.* 1994. V. 104. P. 1325–1332.
541. Klatter M., Schuler M., Wirtz M., Fink-Straube C., Hell R., Bauer P. The analysis of *Arabidopsis* nicotianamine synthase mutants reveals functions for nicotianamine in seed iron loading and iron deficiency responses // *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 257–271.
542. Klein M., Martinoia E., Weissenböck G. Directly energized uptake of β -estradiol 17- $(\beta\text{-D-glucuronide})$ in plant vacuoles is strongly stimulated by glutathione conjugates // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 262–270.
543. Kluge C., Lahr C., Hanitzsch M., Bolte S., Golldack G., Dietz K.-J. New insight into the structure and regulation of the plant vacuolar H^+ -ATPase // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2003. V. 35. P. 377–388.
544. Kobae Y., Uemura T., Sato M.H., Ohnishi M., Mimura T., Nakagawa T., Maeshima M. Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis // *Plant Cell Physiol.* 2004 V. 45, N 12. P. 1749–1758.
545. Kochian L.V. Molecular physiology of mineral nutrient acquisition, transport, and utilization // *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* / Eds. B.B. Buchanan, W. Gruissem, R.L. Jones. Rockville (Maryland): Am. Soc. Plant Physiol., 2000. P. 1204–1249.
546. Korenkov V., Hirschi K., Crutchfield I.D., Wagne G.J. Enhancing tonoplast Cd/H antiport activity increases Cd, Zn and Mn tolerance, and impacts root/shoot Cd partitioning in *Nicotiana tabacum* L. // *Planta.* 2007. V. 226. P. 1378–1387.
547. Korshunova Y.O., Eide D., Clark W.G., Guerinot M.L., Pakrasi H.B. The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range // *Plant Mol. Boil.* 1999. V. 40. P. 37–44.

548. Kosobrukhov A., Knyazeva I., Mudrik V. *Plantago major* plants responses to increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis // J. Plant Growth Regul. 2004. V. 42. P. 145–151.
549. Kostopoulou P., Karatassiou M., Abraham E.M., Parissi Z.M., Kyriazopoulos P., Kapsali E. Ecophysiological responses of two ecotypes of *Dactylis glomerata* L. under water-deficit conditions // The contributions of grasslands to the conservation of Mediterranean biodiversity / Eds. C. Porqueddu, S. Rios. Zaragoza: CIHEAM / CIBIO/ FAO /SEEP, 2010. P. 11–164.
550. Kovačević G., Kastori R., Merkulov L.J. Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead and nickel // Biol. Plant. 1999. V. 4, N 1. P. 119–123.
551. Krantev A., Yordanova R, Janda T., Szalai G., Popova L. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants // J. Plant Physiol. 2008. V. 165, N 9. P. 920–931.
552. Krämer U. MTP1 mops up excess zinc in Arabidopsis cells // Trends Plant Sci. 2005. V. 10. P. 313–315.
553. Krämer U., Cotter-Howells J.D., Charnock J.M., Baker A.J.M., Smith J.A.C. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel // Nature (Gr. Brit.). 1996. V. 379. P. 635–638.
554. Krämer U., Talke I.N., Hanikenne M. Transition metal transport // FEBS Lett. 2007. V. 581. P. 2263–2272.
555. Krupa Z. Cadmium-induced changes in the composition and structure of the light-harvesting chlorophyll a/b protein complex II in radish cotyledons // Physiol. Plant. 1988. V. 73. P.518–524.
556. Krupa Z., Baszyński T. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reactions // Acta Physiol. Plant. 1995. V. 17. P. 177–190.
557. Krupa Z., Moniak M. The stage of leaf maturity implicates the response of the photosynthetic apparatus to cadmium toxicity // Plant Sci. 1998. V. 138. P. 149–156.
558. Krupa Z., Öquist G., Huner N.P.A. The effect of cadmium on photosynthesis of *Phaseolus vulgaris* – a fluorescence analysis // Physiol. Plant. 1993. V. 88. P. 626–630.

559. Kuboi N., Noguchi A., Yazaki J. Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants // *Plant Soil*. 1986. V. 92. P. 405–415.
560. Kudo H., Kudo K., Ambo H., Uemura M., Kawai S. Cadmium sorption to plasma membrane isolated from barley roots is impeded by copper association onto membranes // *Plant Sci*. 2011. V. 180. P. 300–3005.
561. Küpper H., Lombi E., Zhao F.J., McGrath S.H. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* // *Planta*. 2000. V. 212. P. 75–84.
562. Lan H.X., Wang Z.F., Wang Q.H, Wang M.M., Bao Y.M, Huang J., Zhang H.S. Characterization of a vacuolar zinc transporter OZT1 in rice (*Oryza sativa* L.) // *Mol. Biol. Rep*. 2012. V. 40. P. 1201–1210.
563. Lane B., Kajioka R., Kennedy T. The wheat-germ-Ec protein is a zinc-containing metallothionein // *Biochem. Cell Biol*. 1987. V. 65. P. 1001–1005.
564. Lane S.D., Martin E.S. A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus* // *New Phitol*. 1977. V. 79. P. 281–286.
565. Lane S.D., Martin E.S. An ultrastructural examination of lead localization in germinating seeds of *Raphanus sativus* // *Z. Pflanzenphysiol*. 1982. V. 107. S. 33–40.
566. Lascano H.R., Casano M., Melchiorre M.N., Ttrippi V.S. Biochemical and molecular characterisation of wheat chloroplastic glutathione reductase // *Biol. Plant*. 2001. V. 44, N. 4. P. 509–516.
567. Leblova S., Mucha A., Spirhanzlova E. Compartmentation of cadmium, copper, lead, and zinc in seedlings of maize (*Zea mays* L.) and induction of metallothionein // *Biologia (Bratislava)*. 1986. V. 41. P. 777–785.
568. Lee J., Bae H., Jeong J., Lee J-Y., Yang Y-Y., Hwang I., Martinoia E., Lee Y. Functional expression of a bacterial heavy metal transporter in *Arabidopsis* enhances resistance and decreases uptake of heavy metals // *Plant Physiol*. 2003a. V. 133. P. 588–596.
569. Lee J., Shim D., Song W.Y., Hwang I., Lee Y. *Arabidopsis* metallothioneins 2a and 3 enhance resistance to cadmium when expressed in *Vicia faba* guard cells // *Plant Mol. Boil*. 2004. V. 54. P. 805–815.

570. Lee K., Bae D.W., Kim S.H., Han H.J., Liu X., Park N.C., Lim C.O., Lee C.Y., Chung W.S. Comparative proteomic analyses of the short-term responses of rice roots and leaves to cadmium // *J. Plant Physiol.* 2010a. V. 167, N 3. P. 161–168.
571. Lee S., An G. Over-expression of *OsIRT1* leads to increased iron and zinc accumulation in rice // *Plant Cell Environ.* 2009. V. 32. P. 408–416.
572. Lee S., Moon J.S., Ko T., Petros D., Goldsbrough P.B., Korban S.S. Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase paradoxically leads to hypersensitivity to cadmium stress // *Plant Physiol.* 2003b. V. 131, N 2. P. 656–663.
573. Lee S., Chiecko J.C., Kim S.A., Walker E.L., Lee Y., Guerinot M.L., An G. Disruption of *OsYSL1* leads to iron inefficiency in rice plants // *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 786–790.
574. Lee S., Jeong H.J., Kim S.A., Lee J., Guerinot M.L., An G. *OsZIP 5* is a plasma membrane zinc transporter in rice // *Plant Mol. Biol.* 2010b V. 73. P. 507–517.
575. Lee S., Kim S.A., Lee J., Guerinot M.L., An G. Zinc deficiency-inducible *OsZIP8* encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice // *Mol. Cell.* 2010c. V. 29. P. 551–558.
576. Lee S.H., Ashan N., Lee K.W., Kim D.H., Lee D.G., Kwak S.S., Kwon S.Y., Kim T.H., Lee B.H. Simultaneous overexpression of both CuZn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stress // *J. Plant Physiol.* 2007. V. 164. P. 1628–1638.
577. Le Jean M., Schikora A., Mari S., Briat J.F., Curie C. A loss-of-function mutation in *AtYSL1* reveals its role in iron and nicotianamine seed loading // *Plant J.* 2005. V. 44. P. 769–782.
578. Leopold I., Gunther D., Schmidt J., Neumann D. Phytochelatin and heavy metal tolerance // *Phytochemistry.* 1999. V. 50. P. 1323–1328.
579. Li E.H., Miles C.D. Effects of cadmium on photoreaction II of chloroplasts // *Plant Sci. Lett.* 1975. N 5. P. 33–40.
580. Li J., Yang H., Peer W.A. et al. *Arabidopsis* H⁺-PPase AVP1 regulates auxin-mediated organ development // *Science.* 2005a. V. 310. P. 121–125.

581. Li P., Brutnell T.R. *Setaria viridis* and *Setaria italica*, model genetic systems for the Panicoid grasses // J. Exp. Bot. 2011. V. 62. № 9. P. 3031–3037.
582. Li S., Yang W., Yang T., Chen Y., Ni W. Effects of cadmium stress on leaf chlorophyll fluorescence and photosynthesis of *Elsholtzia argyi* – a cadmium accumulating plant // Int. J. Phytoremediation. 2015. V. 17 (1-6). P. 85–92. DOI: 10.1080/15226514.2013.828020.
583. Li W., Khan M.A., Yamaguchi S., Kamiya Y. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana* // Plant Growth Regul. 2005b. V. 46. P. 45–50.
584. Li Y., Dankher O.P., Carreira L., Smoth A.P., Meagher R.B. The shoot-specific expression of γ -glutamylcysteine synthetase directs the long-distance transport of thiol-peptides to roots conferring tolerance to mercury and arsenic // Plant Physiol. 2006. V. 141. P. 288–298.
585. Liao M.T., Hedley M.J., Wooley D.J., Brooks R.R., Nichols M.A. Copper uptake and translocation in chicory (*Cichorium intybus* L. cv. Grasslands Puna) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Rony) plants grown in NFT system. II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport // Plant Soil. 2000. V. 223. P. 243–252.
586. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology. 1987. V. 148. P. 350–382.
587. Lin A., Zhang X., Zhu Y.G., Zhao F.J. Arsenate-induced toxicity: effects on antioxidative enzymes and DNA damage in *Vicia faba* // Environ. Toxicol. Chem. 2008. V. 27. P. 413–419.
588. Lin R., Wang X., Luo Y., Du W., Guo H., Yin D. Effects of soil cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant system in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) // Chemosphere. 2007. V. 69. P. 89–98.
589. Lin Y.-F., Aarts G.M. The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants // Cell Mol. Life Sci. 2012. V. 69. P. 3167–3206.
590. Lin Y.F., Liang H.M., Yang S.Y., Boch A., Clemens S., Chen C.C., Wu J.F., Wu J.F., Huang J.L., Yen K.C. Arabidopsis IRT3 is a zinc-regulated and plasma membrane localized zinc/iron transporter // New Phytol. 2009. V. 182. P. 392–404.

591. Lidon F.C., Henriques F.S. Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts // *Photosynthetica*. 1993. V. 29. P. 249–279.
592. Liso R., Calabrese G., Bintoni M.B., Arrigoni O. Responship between ascorbic acid and cell division // *Exp. Cell Res.* 1984. V. 150. P. 314–320.
593. Little P.E., Martin M.N. A survey of zink, lead and cadmium in soil and natural vegetation around a smetting complex // *Environ. Pollut.* 1972. V. 3, N 3. P. 241–254.
594. Liu D., Jiang W., Gao X. Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic // *Biol. Plant.* 2003/4. V. 47, N 1. P. 79–83.
595. Liu D.H., Wang M., Zou J.H., Jiang W.S. Uptake and accumulation of cadmium and some nutrient ions by roots of maize (*Zea mays* L.) // *Pak. J. Bot.* 2006. V. 38, N 3. P. 701–709.
596. Liu J., Li K., Xu J., Zhang Z., Ma T., Lu X., Yang J., Zhu Q. Lead toxicity, uptake and translocation in different rice cultivars // *Plant Sci.* 2003. V. 165. P. 793–802.
597. Llamas A., Ullrich C.I., Sanz A. Cd²⁺ effect on transmembrane electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice (*Oryza sativa* L.) roots // *Plant Soil.* 2000. V. 219. P. 21–28.
598. Llugany M., Lombini A., Poschenrieder C., Dinelli E., Barceló J. Different mechanisms account for enhance cooper resistance in *Silene armeria* ecotypes from mine spoil and serpentine sites // *Plant Soil.* 2003. V. 251. P. 55–63.
599. Long X.X., Yang X.E., Ni W.Z. Advance and perspectives in technologies for remediation of heavy metal polluted soils // *Chinese J. Appl. Ecol.* 2002. V. 13. P. 757–762.
600. Lopez-Millan A.F., Ellis D.R., Grusak M.A. Identification and characterization of several new members of the ZIP family of metal transporters in *Medicago truncatula* // *Plant Mol. Biol.* 2004. V. 54. P. 583–596.
601. Löw R., Rockel B., Kirsch M., Ratajczak R., Hörtensteiner S., Martinoia E., Lüttge U., Rausch T. Early salt stress effects on the differential expression of vacuolar H⁺-ATPase genes in roots and leaves of *Mesembryanthemum crystallinum* // *Plant Physiol.* 1996. V. 110. P. 259–265.

602. Lozano-Rodríguez E., Hernández L.E., Bonay P., Carpena-Ruiz R.O. Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances // *J. Exp. Bot.* 1997. V. 48. P. 123–128.
603. Lu Y.P., Li Z.S., Rea P.A. AtMRP1 gene of *Arabidopsis* encodes a glutathione-S-conjugate pump: isolation and functional definition of a plant ABC-transporter gene // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. V. 94. P. 8243–8248.
604. Lu Y.P., Li Z.S., Drozdowicz Y.M., Hortensteiner S., Martinoia E., Rea P.A. AtMRP2 an *Arabidopsis* ATP binding cassette transporter able to transport glutathione S-conjugates and chlorophyll catabolites: functional comparisons with AtMRP1 // *Plant Cell.* 1998. V. 10. P. 267–282.
605. Łukaszek M., Poskuta J.W. Development of photosynthetic apparatus and respiration in pea seedlings during greening as influenced by toxic concentration of lead // *Acta Physiol. Plant.* 1998. V. 20, N 1. P. 35–40.
606. Luna C.M., Gonzalez C.A., Trippi V.S. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves // *Plant Cell Physiol.* 1994. V. 35. P. 11–15.
607. Luo H., Li H., Zhang X., Fu J. Antioxidant responses and gene expression in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) under cadmium stress // *Ecotoxicology.* 2011. V. 20, N 4. P. 770–778.
608. Lux A., Luxová M., Morita S., Abe J., Inanaga S. Endodermal silification in developing seminal roots of lowland and upland cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) // *Can. J. Bot.* 1999. V. 77. P. 955–960.
609. Lux A., Šottníková A., Opatrná J., Greger M. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity // *Physiol. Plant.* 2004. V. 120. P. 537–545.
610. Lux A., Martinka M., Vaculík M., White P.J. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review // *J. Exp. Bot.* 2011. V. 62, N 1. P. 21–37.
611. Ma B.L., Smith D.L. Apical development of spring barley under field conditions in northeastern North America // *Crop Sci.* 1992. V. 32. № 1. P. 144–149.
612. Ma J.F., Nomoto K. Inhibition of mugineic acid-ferrous complex uptake in barley by copper, zinc and cobalt // *Physiol. Plant.* 1993. V. 89. P. 331–334.

613. Ma M., Lau P-S., Jia Y-T., Tsang W-K., Lam S.K.S., Tarn N.F.Y., Wong Y-S. The isolation and characterization of type 1 metallothionein (MT) cDNA from a heavy-metal-tolerant plant, *Festuca rubra* cv Merlin // *Plant Sci.* 2003. V. 164. P. 51–60.
614. Mac Farlane G.R., Burchett M.D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove *Avicennia marina* // *Mar. Pollut. Bull.* 2001. V. 42. P. 223–240.
615. Macnair M.R. Life history variation in *Thlaspi caerulescens* // *New Physiol.* 2007. V. 173. P. 6–8.
616. Macnair M.R., Bert V., Huitson S.B., Samitou-Laprade P., Petit D. Zinc tolerance and hyperaccumulation are genetically independent characters // *Proc. Royal Soc. Lond. Ser. B.* 1999. V. 266. P. 2175–2179.
617. Maeshima M. Vacuolar H⁺-pyrophosphatase // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1465. P. 37–51.
618. Maeshima M. Tonoplast transporters: organization and function // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2001. V. 52. P. 469–497.
619. Maehly A.C., Chance B. The assay of catalase and peroxidase // *Meth. Biochem. Anal.* 1954. V. 1. P. 357–424.
620. Maestri E., Marmiroli M., Visioli G., Marmiroli N. Metal tolerance and hyperaccumulation: Costs and trade-offs between traits and environment // *Environ. Exp. Bot.* 2010. V. 68. P. 1–13.
621. Mahmood T., Islam K.R., Muhammad S. Toxic effects of heavy metals on the early growth and tolerance of cereal crops // *Pak. J. Bot.* 2007. V. 39, N 2. P. 451–462.
622. Maier T., Yu C., Küllertz G., Clements S. Localization and functional characterization of metal-binding sites in phytochelatin synthases // *Planta.* 2003. V. 218. P. 300–318.
623. Maitani T., Kubota H., Sato K., Yamada T. The composition of metal bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum* // *Plant Physiol.* 1996. V. 110. P. 1145–1150.
624. Maksymiec W. Effect of copper on cellular processes in higher plants // *Photosynthetica.* 1997. V. 34, N 3. P. 321–342.

625. Maksymiec W. Signaling responses in plants to heavy metal stress // *Acta Physiol. Plant.* 2007. V. 29. P. 177–187.
626. Maksymiec W., Bednara J., Baszynski T. Responses of runner bean plants to excess copper as a function of plant growth stages: effects on morphology and structure of primary leaves and their chloroplast ultrastructure // *Photosynthetica.* 1995. V. 31, N 3. P. 427–435.
627. Maksymiec W., Russa R., Urbanik-Sypniewska T., Baszyński T. Changes in acyl lipid and fatty acid composition in thylakoids of copper non-tolerant spinach exposed to excess copper // *J. Plant Physiol.* 1992. V. 140. P. 52–55.
628. Maksymiec W., Russa R., Urbanik-Sypniewska T., Baszyński T. Effect of excess Cu on the photosynthetic apparatus of runner bean leaves treated at two different growth stages // *Physiol. Plant.* 1994. V. 91. P. 715–721.
629. Malecka A., Piechalak A., Tomaszewska B. Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: the whole roots level // *Acta Physiol. Plant.* 2009. V. 31. P. 1053–1063.
630. Manara A. Plant responses to heavy metal toxicity // *Plant and heavy metals* / Ed. A. Furini. Springer Briefs in Molecular Science. New York: Springer, 2012. P. 27–52.
631. Margoshes M., Vallee B.L. A cadmium protein from equine imaging hyperintensity in Alzheimer's disease: correlation with kidney cortex // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. V. 79. P. 4813–4819.
632. Mari S., Gendre D., Pianelli K., Ouerdane L., Lobinski R., Briat J.-F., Lebrun M., Czernic P. Root-to-shoot long-distance circulation of nicotianamine and nicotianamine-nickel chelates in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57, N 15. P. 4111–4122.
633. Martinoia E., Massonneau A., Frangne N. Transport processes of solutes across the vacuolar membrane of higher plants // *Plant Cell Physiol.* 2000. V. 41. P. 1175–1180.
634. Maslova T.G., Popova I.A. Adaptive properties of plant pigment systems // *Photosynthetica.* 1993. Vol. 29. P. 195–203.
635. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide // *J. Exp. Bot.* 2000. V. 51, N 345. P. 659–668.

636. Meharg A.A. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloid ions and potential biotechnological applications // *Plant Soil*. 2005. V. 274. P. 163–174.
637. Mendoza-Cózatl D.G., Moreno-Sánchez R. Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress. Pathway modeling for plants // *J. Theor. Biol.* 2006. V. 238, N. 4. P. 919–936.
638. Mendoza-Cózatl D.G., Devars S., Loza-Tavera H., Moreno-Sánchez R. Cadmium accumulation in the chloroplast of *Euglena gracilis* // *Physiol. Plant.* 2002. V. 115. P. 276–283.
639. Mendoza-Cózatl D.G., Butko E., Springer F., Torpey J.W., Komives E.A., Kehr J., Schroeder J.I. Identification of high levels of phytochelatin, glutathione and cadmium in the phloem sap of *Brassica napus*. A role for thiol-peptides in the long-distance transport of cadmium and effects of cadmium on ion translocation // *Plant J.* 2008. V. 54. P. 249–259.
640. Mendoza-Cózatl D.G., Zhiyang Z., Jobe T.O., Akmakjian G.Z., Song W-Y., Limbo O., Russell M.R., Kozlovskyy V.I., Martinoia E., Vatamaniuk O.K. Tonoplast-localized Abc2 transporter mediates phytochelatin accumulation in vacuoles and confers cadmium tolerance // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 40416–40426.
641. Mendoza-Cózatl D.G., Jobe T.O., Hauser F., Schroeder J.I. Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2011. V. 14. P. 554–562.
642. Merrifield M.E., Ngu T., Stillman M.J. Arsenic binding to *Fucus vesiculosus* metallothionein // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. P. 324. P. 127–132.
643. Merrington G., Alloway B.J. The flux of Cd, Cu, Pb and Zn in mining polluted soils // *Water Air Soil Pollut.* 1994. V. 73. P. 333–344.
644. Metwally A., Finkemeier I., Georgi M., Dietz K.J. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings // *Plant Physiol.* 2003. V. 132. P. 272–281.
645. Metwally A., Safronova V.I., Belimov A.A., Dietz K.J. Genotypic variation of response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. // *J. Exp. Bot.* 2005. V. 56, N 409. P. 167–178.
646. Meuwly P., Rauser W. E. Alternation of thiol pools in roots and shoots of maize seedlings exposed to Cd // *Plant Physiol.* 1992. V.99. P. 8–15.

647. Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Van Breusegem F., Noctor G. Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as a stress-mimic models // *J. Exp. Bot.* 2010. V. 61, N. 15. P. 4197–4220.
648. Migocka M., Kłobus G. The properties of the Mn, Ni and Pb transport operating at plasma membranes of cucumber roots // *Physiol. Plant Sci.* 2007. V. 129. P. 578–587.
649. Migocka M., Papierniak A., Kosatka E., Kłobus G. Comparative study of the active cadmium efflux systems operating at the plasma membrane and tonoplast of cucumber root cells // *J. Exp. Bot.* 2011. V. 62, N 14. P. 4903–4916.
650. Mills R.F., Francini A., Ferreira da Rocha P.S., Baccarini P.J., Aylett M., Krijger G.C., Williams L.E. The plant P_{1B}-type ATPase AtHMA4 transports Zn and Cd and plays a role in detoxification of transition metals supplied at elevated levels // *FEBS Lett.* 2005. V. 579. P. 783–791.
651. Mills R.F., Peaston K.A., Runions J., Williams L.E. HvHMA2, a P_{1B}-ATPase from barley, is highly conserved among cereals and functions in Zn and Cd transport // *PLoS ONE.* 2012. V. 7: e42640. doi 10.1371/journal.pone.0042640
652. Mishra S., Srivastava S., Tripathi R.D., Govindarajan R., Kuriakose S.V., Ptasad M.N.V. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. // *Plant Physiol. Biochem.* 2006. V. 44. P. 25–37.
653. Misra A., Srivastava A.K., Srivastava N.K., Khan A. Zn-acquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments, and biochemical changes in essential monoterpene oil(s) of *Pelargonium graveolens* // *Photosynthetica.* 2005. V. 43, N 1. P. 153–155.
654. Miyadate H., Adachi S., Hiraizumi A., Tezuka K., Nakazawa N., Kawamoto T., Katou K., Kodama I., Sakurai K., Takahashi H., Satoh-Nagasawa N., Watanabe A., Fujimura T., Akagi H. OsHMA3, a P_{1B}-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles // *New Phytol.* 2011. V. 189. P. 190–199.
655. Mohanty N., Vass I., Demeter S. Copper toxicity affects photosystem II electron transport at the secondary quione acceptor Q_B // *Plant Physiol.* 1989. V. 90. P. 175–179.

656. Molas J. Changes in morphological and anatomical structure of cabbage (*Brassica oleracea* L.) outer leaves and in ultrastructure of their chloroplasts caused by an *in vitro* excess of nickel // *Photosynthetica*. 1997. V. 34, N 4. P. 513–522.
657. Molas J. Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni (II) complex // *Environ. Exp. Bot.* 2002. V. 47. P. 115–126.
658. Monnet F., Vaillant N., Vernay P., Coudret A., Sallanon H., Himi A. Relationship between PSII activity, CO₂ fixation, and Zn, Mn and Mg contents of *Lolium perenne* under zinc stress // *J. Plant Physiol.* 2001. V. 158. P. 1137–1144.
659. Moral R., Palacios G., Gomez I., Navarro-Pedreno J., Mataix J. Distribution and accumulation heavy metals (Cd, Ni and Cr) in tomato plant // *Eresenius Environ. Bull.* 1994. V. 3. P. 395–399.
660. Moreau S., Thomson R.M., Kaiser B.N., Trevaskis B., Gueronot M.L., Udvardi M.K., Puppo A., Day D.A. GmZIP1 encodes a symbiosis-specific zinc transporter in soybean // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 4738–4746.
661. Morel M., Crouzet J., Gravot A., Auroy P., Leonhardt N., Vavasseur A., Richaud P. AtHMA3, a P_{1B}-ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in Arabidopsis // *Plant Physiol.* 2009. V. 149, N 2. P. 894–904.
662. Morsy A.A., Salama K.H.A., Kamel H.A., Mansour M.M.F. Effect of heavy metals on plasma membrane lipids and antioxidant enzymes of *Zygophyllum* species // *Eurasia J. Biosci.* 2012. V. 6. P. 1–10.
663. Moussa H.R., El-Gamal S.M. Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat // *Biol. Plant.* 2010. V. 54. P. 315–320.
664. Mukhtar N., Hameed M., Ashraf M., Ahmed R. Modification in stomatal structure and function in *Cenchrus ciliaris* and *Cynodon dactylon* (L.) Pers. In response to cadmium stress // *Pak. J. Bot.* 2013. V. 45, N 2. P. 351–357.
665. Müller P., Li X.P., Niyogi K.K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy // *Plant Physiol.* 2001. V. 125. P. 1558–1566.

666. Munirah N., Khairi M., Nozulaidi M, Jahan M.S. The effects of zinc application on physiology and production of corn plants // *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2015. V. 9(2). P. 362–367.
667. Murasugi A., Wada C., Hayashi Y. Cadmium-binding peptide induced in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* // *J. Biochem.* 1981. V. 90. P. 1561–1564.
668. Murata Y., Ma J.F., Yamaji N., Ueno D., Nomoto K., Iwashita T. A specific transporter for iron (III)-phytosiderophore in barley roots // *Plant. J.* 2006. V. 46. P. 563–572.
669. Myśliwa-Kurczel B., Strzałka K. Influence of Cd(II), Cr(VI) and Fe(III) on early steps of deetiolation process in wheat: fluorescence spectral changes of protochlorophyllide and newly formed chlorophyllide // *Agr. Ecosys. Environ.* 2004. V. 106. P. 199–207.
670. Nagasaka S., Takahashi M., Nakanishi-Itai R., Bashir K., Nakanishi H., Mori S., Nishizawa N. Time course analysis of gene expression over 24 hours in Fe-deficient barley roots // *Plant Mol. Biol.* 2009. V. 69. P. 621–631.
671. Nakanishi H., Ogawa I., Ishimari Y., Mori S., Nishizawa N. Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the Fe²⁺ transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice // *Soil Sci. Plant Nutr.* 2006. V. 52. P. 464–469.
672. Nakazawa R., Kato H., Kameda Y., Takenada H. Optimum assay condition of the activity of phytochelatin synthase from tobacco cell // *Biol. Plant.* 2002. V. 45. P. 311–313.
673. Navari-Izzo F., Quartacci M.C. Phytoremediation of metals // *Minerva Siotech.* 2001. V. 13. P. 73–83.
674. Navarro A., Quiros L., Casado M., Faria M., Carrasco L., Benito J., Diez S., Raldua D., Barata C., Bayona J.M., Pina B. Physiological responses to mercury in feral carp populations inhabiting the low Ebro River (NE Spain), a historically contaminated site // *Aquat. Toxicol.* 2009. V. 93. P. 150–157.
675. Nazar R., Iqbal N., Masood A., Khan M. I. R., Syeed S., Khan N.A. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation // *Amer. J. Plant Sci.* 2012. V. 3. P. 1476–1489.
676. Neill S., Barros R., Bright J., Desikan R. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. P. 165–176.

677. Nichol B.E., Oliveira I.A., Glass A.D.M., Siddiqi M.Y. The effects of aluminium on the influx of calcium, potassium, ammonium, nitrate and phosphate in an aluminium-sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Plant Physiol.* 1993. V. 101. P. 1263–1266.
678. Nicholson F.A., Jones K.C., Johnston A.E. Effect of phosphate fertilizers and atmospheric deposition on long-term changes in the cadmium content of soils and crops // *Environ. Sci. Technol.* 1994. V. 28. P. 2170–2175.
679. Nies D.H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes // *FEMS Microbiol. Rev.* 2003. V. 27. P. 313–339.
680. Nocito F.F., Espen L., Crema B., Cocucci M., Sacchi G.A. Cadmium induces acidosis in maize root cells // *New Phytol.* 2008. V. 179. P. 700–711.
681. Noctor G., Foyer C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1998. V. 49. P. 249–289.
682. Noctor G., Gormez L., Vanacker H., Foyer C.H. Glutathione homeostasis and signaling: the influence of biosynthesis, compartmentation and transport // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53. P. 1283–1304.
683. Noctor G., Queval G., Mhamdi A., Chaouch S., Foyer C.H. Glutathione // *The Arabidopsis Book* 9. 2011. P. 1–42.
684. Nouairi I., Ammar W.B., Youssef N.B., Daoud D.B.M., Ghorbal N.H., Zarrouk M. Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* leaves // *Plant Sci.* 2006. V. 170, N 3. P. 511–519.
685. Nouairi I., Ben Ammar W., Ben Youssef N., Ben Miled D.D., Ghorbal N.H., Zarrouk M. Antioxidant defense system in leaves of Indian mustard (*Brassica juncea*) and rape (*Brassica napus*) under cadmium stress // *Acta Physiol. Plant.* 2009. V. 31, N 2. P. 237–247.
686. Nováková M., Matějová E., Sofrová D. Cd²⁺ effect on photosynthetic apparatus in *Synechococcus elongatus* and spinach (*Spinacia oleracea* L.) // *Photosynthetica.* 2004. V. 42, N 3. P. 425–430.
687. Nriagu J.O. The biogeochemistry of lead in the environment. Amsterdam: Elsevier, 1978. 154 p.

688. Obroucheva N.V., Bystrova E.I., Ivanov V.B., Antipova O.V., Seregin I.V. Root growth responses to lead in young maize seedlings // *Plant Soil*. 1998. V. 200. P. 55–61.
689. Ogawa S., Yoshidomi T., Yoshimura E. Cadmium (II) –stimulated enzyme activation of *Arabidopsis thaliana* phytochelatin synthase 1 // *J. Inorg. Biochem.* 2011. V. 105. P. 111–117.
690. Ortega-Villasante C., Rellán-Álvarez R., Del Campo F.F., Carpena-Ruiz R.O., Hernández L.E. Cellular damage induced by cadmium and mercury in *Medicago sativa* // *J. Exp. Bot.* 2005. V. 56, N 418. P. 2239–2251.
691. Ortega-Villasante C., Hernández L.E., Rellán-Álvarez R., Del Campo F.F., Carpena-Ruiz R.O. Rapid alteration of cellular redox homeostasis upon exposure to cadmium and mercury alfalfa seedlings // *New Phytol.* 2007. V. 176, N 1. P. 96–107.
692. Ouzounidou G. Changes in variable chlorophyll fluorescence as a result of Cu-treatment dose response relations in *Silene* and *Thlaspi* // *Photosynthetica*. 1993. V. 29. P. 455–462
693. Ouzounidou G. The use of photoacoustic spectroscopy in assessing leaf photosynthesis under copper stress: correlation of energy storage to photosystem II fluorescence parameters and redox change of P₇₀₀ // *Plant Sci.* 1996. V. 113. P. 229–237.
694. Ouzounidou G., Moustakas M., Eleftheriou E.P. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves // *Environ. Contamin. Toxicol.* 1997. V. 32, N 2. P. 154–160.
695. Ozolina N.V., Kolesnikova E.V., Nurminsky V.N., Nesterkina I.S., Dudareva L.V., Donskaya L.I., Salyaev R.K. Influence of exogenous NO donator and variations in the Ca²⁺ content on transport activity related to tonoplast proton pumps in ontogenesis and under hyperosmotic stress // *Membr. Cell Biol.* 2010. V. 4. P. 297 – 301.
696. Özyiğit I.I., Akinci Ş. Effects of come stress factor (aluminium, cadmium and drought) on stomata of roman nettle (*Urtica pilulifera* L.) // *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cl.* 2009. V. 37. P. 108–115.
697. Pacyna J.M. Atmospheric trace elements from natural and anthropogenic sources // *Adv. Environ. Sci. Technol.* 1986. V. 17. P. 33–52.

698. Padmaja K., Prasad D.P.K., Prasad A.R.K. Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. Seedlings by cadmium acetate // *Photosynthetica*. 1990. V. 24, N 3. P. 399–405.
699. Page V., Feller U. Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants // *Ann. Bot.* 2005. V. 96. P. 425–434.
700. Palma J.M, López-Huertas E., Corpas F.J., Sandalio L.M., Gómez M., del Río L.A. Peroxisomal manganese superoxide dismutase: purification and properties of the isozyme from pea leaves // *Physiol. Plant.* 1998. V. 104. P. 720–726.
701. Palmer E.F., Warwick F., Keller W. Brassicaceae (Cruciferae) family, plant biotechnology and phytoremediation // *Int. J. Phytorem.* 2001. V. 3. P. 245–287.
702. Palmgren M.G., Clemens S., Williams L.E., Krämer U., Borg S., Schjørring J.K., Sanders D. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions // *Trends Plant Sci.* 2008. V. 13, N 9. P.464–473.
703. Palmiter R.D., Findley S.D. Cloning and functional characterization of mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc // *EMBO J.* 1995. V. 14. P. 639–649.
704. Panda S.K., Chaudhury I., Khan M.H. Heavy metals induce lipid peroxidation and affect antioxidants in wheat leaves // *Biol. Plant.* 2003. V. 46. P. 289–294.
705. Paradiso A., Berardino R., de Pinto M.C., Sanità di Toppi L., Srotelli M.M., Tommasi F., de Gara L. Increase in the ascorbate-glutathione metabolism as local and precocious systemic responses induced by cadmium in durum wheat plants // *Plant Cell Physiol.* 2008. V. 49. P. 362–374.
706. Park J., Song W.Y., Ko D., Eom Y., Hansen T.H., Schiller M., Lee Y.S., Martinoia E. The phytochelatin transporters AtBBC1 and AtBBC2 mediate tolerance to cadmium and mercury // *Plant J.* 2012. V. 69. P. 278–288.
707. Pätsikkä E., Aro E.-M., Tyystjärvi E. Mechanism of copper-enhanced photoinhibition in thylakoid membranes // *Physiol. Plant.* 2001. V. 113. P. 142–150.
708. Pavlovkin J., Luxová M., Mistríková I., Mistrík I. Short- and long-term effects of cadmium on transmembrane electric potential (E_m) in maize roots // *Biol. Bratislava.* 2006. V. 61, N 1. P. 109–114.

709. Pearson C., Kirkham K. Water relation of wheat cultivars grown with cadmium // J. Plant. Nutr. 1981. V. 3. P. 309–318.
710. Pedas P., Ytting C.K., Fuglsand C.K., Jahn T.P., Schjoerring J.K., Husted S. Manganese efficiency in barley: identification and characterization of the metal ion transporter HvIRT1 // Plant Physiol. 2008. V. 148. P. 455–466.
711. Pedas P., Schjoerring J.K., Husted S. Identification and characterization of zinc-starvation-induced ZIP transporters from barley roots // Plant Physiol. Biochem. 2009. V. 47. P. 377–383.
712. Perfus-Barbeoch L., Leonhardt N., Vavasseur A., Forestier C. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status // Plant J. 2002. V. 32. P. 539–548.
713. Pietrini F., Iannelli M.A., Pasqualini S., Massacci A. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel // Plant Physiol. 2003. V. 133, N. 2. P. 829–937.
714. Podar D., Scherer J., Noordally Z., Herzyk P., Neis D., Sanders D. Metal selectivity determinants in a family of transition metal transporters // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. P. 3185–3196.
715. Polar E. Variations in zinc content of subcellular fractions from young and old roots, stems and leaves of broad bean (*Vicia faba*) // Physiol. Plant. 1976. V. 38. P. 159–165.
716. Pomponi M., Censi V., Di Girolamo V., De Paolis A., Sanita di Toppi L., Aromolo R., Costantino P., Cardarelli M. Overexpression of Arabidopsis phytochelatin synthase in tobacco plants enhances Cd⁺² tolerance and accumulation but not translocation to the shoot // Planta. 2006. V. 223. P. 180–190.
717. Poschenrieder C., Barceló J. Water relation in heavy metals stressed plants. // Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems / Eds. M.N.V. Prasad, J. Hagemeyer. Heidelberg: Springer-Verlag, 1999. P. 207–230.
718. Poschenrieder C., Gunse B., Barcelo J. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves // Plant Physiol. 1989. V. 90. P. 1365–1371.

719. Powell M.J., Davies M.S., Francis D. The influence of Zinc on the cell cycle in the root meristem of a zinc-tolerant and a non-tolerant cultivar of *Festuca rubra* L. // *New Phytol.* 1986. V. 102. P. 419–428.
720. Prasad M.N., Strzałka K. (Eds.) *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants.* Springer Netherlands. 2002. 432 p. DOI: 10.1007/978-94-017-2660-3.
721. Prasad M.N.V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants // *Environ. Exp. Bot.* 1995. V. 35. P. 525–545.
722. Prasad M.N.V., Freitas H. Feasible biotechnological and bioremediation strategies for serpentine soils and mine spoils // *Electron. J. Biotechnol.* 1999. V. 2, N 1. P. 35–50. <http://ejb.ucv.cl> or <http://www.ejb.org>.
723. Prasad M.N.V., Freitas H. Metal-tolerant plants: biodiversity prospecting for phytoremediation technology // *Trace elements in the environment: biogeochemistry, biotechnology and bioremediation* / Eds. M.N.V. Prasad, K.S. Sajwan, R. Naidu. Boca Raton London, New York: CRC Press, Taylor and Rrance Group. 2006. P. 483–506.
724. Prasad M.N.V., Malec P., Waloszek A., Bojko M., Strzałka K. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and cooper bioaccumulation // *Plant Sci.* 2001. V. 161. P. 881–889.
725. Puertas-Mejia M.A., Ruiz-Díez B., Fernández-Pascual M. Effect of cadmium ion excess over cell structure and functioning of *Zea mays* and *Hordeum vulgare* // *Biochem. Syst. Ecol.* 2010. V.38. P. 285–291.
726. Puig S. Function and regulation of the plant COPT family of high-affinity copper transport proteins // *Adv. Bot.* V. 2014, Article ID 476917. 9 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2014.476917>
727. Puig S., Penarrubia L. Placing metal micronutrients in context: transport and distribution in plants // *Plant Biol.* 2009. V. 12. P. 229–306.
728. Punz W.F., Sieghardt H. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals // *Environ. Exp. Bot.* 1993. V. 33. P. 85–98.
729. Qureshi M.I., Abdin M.Z., Qadir S., Iqbal M. Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl. // *Biol. Plant.* 2007. V. 51, N. 1. P. 121–128.

730. Ramesh S.A., Shin R., Eide D.J., Schachtman D.P. Differential metal selectivity and gene expression of two zinc transporters from rice // *Plant Physiol.* 2003. V. 133. P. 126–134.
731. Ramos I., Esteban E., Lucena J.J., Gárate A. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants *Latuca sp.* Cd–Mn interaction // *Plant Sci.* 2002. V. 162. P. 761–767.
732. Rauser W.E. Phytochelatins // *Annu. Rev. Biochem.* 1990. V. 59. P. 61–86.
733. Rauser W.E. Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis and function // *Plant Physiol.* 1995. V. 109. P. 1141–1149.
734. Rauser W.E. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins // *Cell Biochem. Biophys.* 1999. V. 31. P. 19–48.
735. Rauser W.E., Curvetto N.R. Metallothionein occurs in roots of *Agrostis* tolerant to copper // *Nature.* 1980. V. 287. P. 563–564.
736. Rauser W.E., Meuwly P. Retention of cadmium in roots of maize seedlings: role of complexation of phytochelatins and related thiol peptides // *Plant Physiol.* 1995. V. 109. P. 195–202.
737. Rea P.A., Britten C.J., Jennings I.R., Calvert C.M., Skiera L.A., Leigh R.A., Sander D. Regulation of vacuolar H⁺-pyrophosphatase by free calcium // *Plant Physiol.* 1992. V. 100. P. 1706–1715.
738. Reddy G.N., Prasad M.N.V. Characterization of cadmium binding protein from *Scenedesmus quadricauda* and Cd toxicity reversal by phytochelatin constituting amino acids and citrate // *J. Plant Physiol.* 1992. V. 140, N 2. P. 156–162.
739. Redjala T., Sterckeman T., Morel J.L. Cadmium uptake roots: contribution of apoplast and of high- and low-affinity membrane transport system // *Environ. Exp. Bot.* 2009. V. 67. P. 235–242.
740. Reese R.N., Wagner G.J. Properties of tobacco (*Nicotiana tabacum*) cadmium-binding peptide(s) // *Biochem. J.* 1987. V. 241. P. 641–647.
741. Reese R.N., White C.A., Winge D.R. Cadmium sulfide crystallites in Cd-(γ -EC)_nG peptide complexes from tomato // *Plant Physiol.* 1992. V. 98. P. 225–229.

742. Regvar M., Vogel-Mikuš K. Recent advances in understanding of plant responses to excess metals: exposure, accumulation and tolerance // Sulfur assimilation and abiotic stress in plants / Ed. N.A. Khan. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. P. 227–251.
743. Reilly A., Reilly C. Zinc, lead and copper tolerance in the grass *Stereochlaena cameronii* (Stapf) Clayton // New Phytol. 1973. V. 72, N 5. 1041–1046.
744. Rellán-Álvarez R., Ortega-Villasante C., Álvarez-Fernández A., del Campo F.F., Hernández L.E. Stress responses of *Zea mays* to cadmium and mercury // Plant Soil. 2006. V. 279. P. 41–50.
745. Rellán-Álvarez R., Abadía J., Álvarez-Fernández. Formation of metal-nicotianamine complexes as affected by pH, ligand exchange with citrate and metal exchange. A study by electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2008. V. 22, N 10. P. 1553–1562.
746. Rengel Z. Ecotypes of *Holcus lanatus* tolerant to zinc toxicity also tolerate zinc deficiency // Ann. Bot. 2000. V. 86. P. 1119–1126.
747. Reynolds T.L., Crawford R.L. Changes in abundance of an abscisic acid-responsive, early cysteine-labeled metallothionein transcript during pollen embryogenesis in bread wheat (*Triticum aestivum*) // Plant Mol. Biol. 1996. V. 32. P. 823–829.
748. Robinson B.H., Tommey A.M., Kuske C., Jackson P.J. Plant metallothioneins // Biochem. J. 1993. V. 295. P. 1–10.
749. Rogers E.E., Eide D.J., Guerinot M.L. Altered selectivity in an *Arabidopsis* metal transporter // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 12356–12360.
750. Romero-Puertas M.C., Palma J.M., Gómez M., Del Río L.A., Sandalio L.M. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants // Plant Cell Environ. 2002. V. 25. P. 677–686.
751. Romero-Puertas M.C., Rodríguez-Serrano M., Corpas F.J., Gómez M., Del Río L.A., Sandalio L.M. Cadmium-induced subcellular accumulation of O_2^- and H_2O_2 in pea leaves // Plant Cell Environ. 2004. V. 27, N 9. P. 1122–1134.
752. Römheld V., Awad F. Significance of root exudates in acquisition of heavy metal from a contaminated calcareous soil by graminaceous species // J. Plant Nutr. 2000. V. 23. P. 1857–1866.

753. Russo M., Sgherri C., Izzo R., Navari-Izzo F. *Brassica napus* subjected to copper excess: phospholipases C and D and glutathione system in signaling // *Environ. Exp. Bot.* 2008. V. 62, N 3. P. 238–246.
754. Sage R.F. The evolution of C₄ photosynthesis // *New Phytol.* 2004. V. 161. P. 341–370.
755. Salt D. Responses and adaptations of plants to metal stress // *Molecular analysis of plant adaptation to the environment* / Eds. M.J. Hawkesford, P. Buchner. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. P. 159–179.
756. Salt (2004) <http://scienceblog.com/community/older/2004/7/20046707.shtm>
757. Salt D.E., Rauser W.E. MgATP-dependent transport of phytochelatins across the tonoplast of oat roots // *Plant Physiol.* 1995. V. 107. P. 1293–1301.
758. Salt D.E., Wagner G.J. Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 12297–12302.
759. Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. Phytoremediation // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1998. V. 49. P. 643–668.
760. Salt D.E., Prince R.C., Pickering I.J., Raskin I. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard // *Plant Physiol.* 1995. V. 109. P. 1427–1433.
761. Salt D.E., Prince R.C., Baker A.J.M., Raskin I., Pickering I.J. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray spectroscopy // *Environ. Sci. Technol.* 1999. V. 33. P. 713–717.
762. Sandalio L.M., Dalurzo H.C., Gómez M., Romero-Puertas M.C., del Rio L.A. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52, N 364. P. 2115–2126.
763. Sandalio L.M., Rodríguez-Serrano M., del Rio L.A., Romero-Puertas M.C. Reactive oxygen species and signaling in cadmium toxicity // *Signaling and communication in plants* / Eds. L. A. del Rio, A. Puppo. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 175–189.
764. Sanità di Toppi L., Gabbrielli R. Response to cadmium in higher plants // *Environ. Exp. Bot.* 1999. V. 41. P. 105–130.

765. Sanità di Toppi L., Meharg A.A. Metal(loid) homeostasis, detoxification and tolerance in plants and lichens: advances in understanding mechanisms // *Environ. Exp. Bot.* 2011. V. 72, N 1. P. 1–2.
766. Sarry J.E., Kuhn L., Ducruix C., Lafaye A., Junot C., Hugouvieux V., Jourdain A., Bastien O., Fievet J.B., Vailhen D., Amekraz B., Moulin C., Ezan E., Garin J., Bourguignon J. The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses // *Proteomics.* 2006. V. 6. P. 2180–2198.
767. Sarwar N., Saifullah, Malhi S.S., Zia M.H., Naeem A., Bibi S., Farid G. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants // *J. Sci. Food. Agric.* 2010. V. 90. P. 925–937.
768. Sasaki A., Yamaji N., Yokosho K., Ma J.F. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice // *Plant Cell.* 2012. V. 24. P. 2155–2167.
769. Satoh-Nagasawa N., Mori M., Nakazawa N., Kawamoto T., Nagato Y., Sakurai K., Takahashi H., Watanabe A., Akagi H. Mutation in rice (*Oryza sativa*) heavy metal ATPase2 (*OsHMA2*) restrict the translocation of zinc and cadmium // *Plant Cell Physiol.* 2012. V. 53, N 1. P. 213–224.
770. Sauerheck D., Rictz E. Zur cadmiumbelastung von Mineraldüngen in Abhängigkeit von Rohstoff und Herstellungsverfahren // *Landwirt. Forsch.* 1981. V. 37. P. 685–696.
771. Sävenstrand H., Strid Å. Six genes strongly regulated by mercury in *Pisum sativum* roots // *Plant Physiol. Biochem.* 2004. V. 42. P. 135–142.
772. Schaaf G., Ludewig U., Erenoglu B.E., Mori S., Kitahara T., von Wirén N. ZmYS1 functions as a proton-coupled symporter for phytosiderophore- and nicotianamine-chelated metals // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279, N. 10. P. 9091–9096.
773. Schaaf G., Schikora A., Haberle J., Vert G., Ludewig U., Brait J.F., Curie C., von Wirén N. A putative function for Arabidopsis Fe-phytosiderophore transporter homolog AtYSL2 in Fe and Zn homeostasis // *Plant Cell Physiol.* 2005. V. 46. P. 762–774.
774. Schat H., Kalff M.M.F. Are phytochelatin involved in differential metal tolerance or do they merely reflect metal-imposed strain? // *Plant Physiol.* 1992. V. 99. P. 1475–1480.

775. Schat H., Llugany M., Vooijs R., Hartley-Whitaker J., Bleeker P.M. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53. P. 2381–2392.
776. Schat H., Ten Bookum W.M. Genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris* // *Heredity*. 1992. V. 68. P. 219–229.
777. Schneider T., Schellenberg M., Meyer S., Keller F., Gehrig P., Riedel K., Lee Y., Eberl L., Martinoia E. Quantitative detection of changes in the leaf-mesophyll tonoplast proteome in dependency of cadmium exposure of barley (*Hordeum vulgare* L.) plants // *Proteomics*. 2009. V. 9. P. 2668–2677.
778. Schoefs B., Franck F. Photochlorophyllide reduction: Mechanisms and evolution // *Photochem. Photobiol.* 2003. V. 78. P. 543–557.
779. Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis // *Ecophysiology of photosynthesis*. Berlin: Ecological Studies, 1994. V. 100. P. 49–70.
780. Schützendübel A., Polle A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53, N 372. P. 1351–1365.
781. Semane B., Cuypers A., Smeets K., Van Belleghem F., Horemans N., Schat H., Vangronsveld J. Cadmium responses in *Arabidopsis thaliana*: glutathione metabolism and anti-oxidative defence system // *Physiol. Plant.* 2007. V. 129. P. 519–528.
782. Šeršeň F., Králová K. New facts about CdCl₂ action on the photosynthetic apparatus of spinach chloroplasts and its comparison with HgCl₂ action // *Photosynthetica*. 2001. V. 39. P. 575–580.
783. Seth C.S., Remans T., Keunen E., Jozefczak M., Gielen H., Opdenakker K., Weyens N., Vangronsveld J., Cuypers A. Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione // *Plant Cell Environ.* 2012. V. 35. P. 334–346.
784. Setyaningsih L., Setaidi Y., Sopandie D., Budi S.W. Organic acid characteristics and tolerance of sengon (*Paraserianthes falcataria* L. Nielsen) to lead // *JMHT*. 2012. V. 18, N. 3. P. 177–183.

785. Shah K., Dubey R.S. Cadmium elevates level of protein, amino acids and alters activity of proteolytic enzymes in germinating rice seeds // *Acta Physiol. Plant.* 1998. V. 20, N. 2. P. 189–196.
786. Sharma P., Dubey R.S. Lead toxicity in plants // *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. V. 17, N. 1. P. 35–52.
787. Sharma R.K., Agrawal M. Biological effects of heavy metals: An overview // *J. Environ. Biol.* 2005. V. 26, N3/4. P. 1–13.
788. Sharma S.S., Dietz K.J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance // *Trends Plant Sci.* 2009. V. 14. P. 43–50.
789. Shaw B.R., Prasad M.N.V., Jha V.K., Sahu B.B. Detoxification/defense mechanisms in metal-exposed plants // *Trace elements in the environment: biogeochemistry, biotechnology and bioremediation* / Eds. M.N.V Prasad., K.S. Sajwan, R. Naidi. Boca Raton, London, New York: CRC Press, Taylor and Francis Group. 2006. Chapter 16. P. 291–324.
790. Shaw B.P., Rout N.P. Age-dependent responses of *Phaseolus aureus* Roxb. to inorganic salts of mercury and cadmium // *Acta Physiol. Plant.* 1998. V. 20. P. 85–90.
791. Shen G-M., Du Q-Z., Wang J-X. Involvement of plasma membrane $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter in Cd^{2+} tolerance // *Rice Sci.* 2012. V. 19, N. 2. P. 161–165.
792. Sheoran I.S., Singal H.R., Singh R. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) // *Photosynth. Res.* 1990. V. 23. P. 345–351.
793. Shi Q., Zhu Z., Xu M., Qian Q., Yu J. Effects of excess manganese on antioxidant system in *Cucumis sativus* L. under two light intensities // *Environ. Exp. Bot.* 2006. V. 58. P. 197–205.
794. Shi G., Cai Q. Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops // *Biotech. Adv.* 2009. V. 27. P. 555–561.
795. Shioli Y., Tamai H., Sasa T. Inhibition of photosystem II in the green alga *Ankistrodesmus falcatus* by copper // *Phytology.* 1978. V. 44. P. 434–438.
796. Shu W.S., Ye Z.H., Zhang Z.Q., Lan C.Y., Wong M.H. Natural colonization of plants on five lead/zinc mine tailings in southern China // *Restor. Ecol.* 2005. V. 13, N 1. P. 49–60.

797. Shu X., Yin L-Y., Zhang Q-F., Wang W-B. Effect of Pb toxicity on leaf growth, antioxidant enzyme activities and photosynthesis in cuttings and seedlings of *Jatropha curcas* L. // Environ. Sci. Pollut. Res. DOI: 10.1007/s11356-011-0625-y.
798. Siedlecka A. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients // Acta Soc. Bot. Pol. 1995. V. 64, N 3. P. 262–272.
799. Siedlecka A., Baszynski T. Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cd-induced iron deficiency // Physiol. Plant. 1993. V. 87. P. 199–202.
800. Siedlecka A., Krupa Z. Interaction between cadmium and iron and its effects on photosynthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris* // Plant Physiol. Biochem. 1996. V. 35. P. 951–957.
801. Siedlecka A., Krupa Z. Cd/Fe interaction in higher plants – its consequences for the photosynthetic apparatus // Photosynthetica. 1999. V. 36, N 3. P. 321–331.
802. Siedlecka A., Samuelsson G., Garderström P., Kleczkowski L.A., Krupa Z. The “activatore model” of plant response to moderate cadmium stress – relationship between carbonic anhydrase and Rubisco // Photosynthesis: Mechanisms and Effects. Dordrecht – Boston – London: Kluwer Academic Publ., 1998. V. IV. P. 2677–2680.
803. Silver S. Bacterial resistance to toxic metal ions – a review // Gene. 1996. V. 179. P. 9–19.
804. Skórzyńska E., Baszyński T. The changes in PSII complex polypeptides under cadmium treatment – are they of direct or indirect nature? // Acta Physiol. Plant. 1993. V. 15. P. 263–269.
805. Skórzyńska-Polit E., Baszyński T. Differences in sensitivity of the photosynthetic apparatus in Cd-stressed runner bean plants in relation to their age // Plant Sci. 1997. V. 128, N 1. P. 11–21.
806. Skórzyńska-Polit E., Drażkiewicz M., Krupa Z. The activity of the antioxidative system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana* // Boil. Plant. 2003/4. V. 47, N 1. P. 71–78.
807. Smeets K., Ruytinx J., Semane B., Van Belleghem F., Remans T., Van Sanden S., Vanginsveld J., Cuypers A. Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress // Environ. Exp. Bot. 2008. V. 63. P. 1–8.

808. Smýkalová I., Zámečnicková B. The relationship between salinity and cadmium stress in barley // *Biol. Plant.* 2003. V. 46, N 2. P. 269–273.
809. Sneller F.E.C., van Heerwaarden L.M., Koevoets P.L.M., Vooijs R., Schat H., Verkleij A.C. Derivatization of phytochelatins from *Silene vulgaris*, induced upon exposure to arsenate and cadmium: comparison of derivatization with Ellman's reagent and monobromobimane // *J. Agric. Food Chem.* 2000. V. 48. P. 4014–4019.
810. Soleimani M., Hajabbasi M.A., Afyuni M., Mirlohi A., Borggaard O.K. Effect of endophytic fungi on cadmium tolerance and bioaccumulation by *Festuca arundinaceae* and *Festuca pratensis* // *Int. J. Phytoremediation.* 2010. V. 12, N 6. P. 535–549.
811. Somashekaraiah B.V., Padmaja K., Prasad A.R.K. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation // *Physiol. Plant.* 1992. V. 85. P. 85–89.
812. Song W.Y., Choi K.S., Kim D.Y., Geisler M., Park J., Vincenzetti V., Schellenberg M., Kim S.H., Lim Y.P., Noh E.W., Martinoia E. Arabidopsis PCR2 is a zinc exporter involved in both zinc extrusion and long-distance zinc transport // *Plant Cell.* 2010. V. 22, N 7. P. 2237–2252.
813. Souza J.F., Rauser W.E. Maize and radish sequester excess cadmium and zinc in different ways // *Plant Sci.* 2003. V. 165. P. 1009–1022.
814. Souza J.F., Dolder H., Cortelazzo A.L. Effect of excess cadmium and zinc ions on roots and shoots of maize seedlings // *J. Plant Nutr.* 2005. V. 28, N 11. P. 1923–1931.
815. Steffens J.C. The heavy metal-binding peptides of plants // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 1990. V. 41. P. 553–575.
816. Steudle E., Jeschke W.D. Water transport in barley roots // *Planta.* 1983. V. 158. P. 237–248.
817. Stevens R.G., Creissen G.P., Mullineaux P.M. Cloning and characterization of a cytosolic glutathione reductase cDNA from pea (*Pisum sativum* L.) and its expression in response to stress // *Plant Mol. Biol.* 1997. V. 35. P. 641–654.
818. Stevović S., Surinski Mikovilović V, Čalić-Dragosavac D. Environmental impact on morphological and anatomical structure of Tansy // *Afr. J. Biotechnol.* 2010. V. 9(16). P. 2413–2421.

819. Stiborova M., Doubravova M., Brezinova A., Friedrich A. Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Photosynthetica*. 1986. V. 20, № 4. P. 418–425.
820. Stiborova M., Doubravova M., Brezninova A. Mechanism of action of Cu, Cd and Zn on ribulose 1,5-biphosphate carboxylase from barley (*H. vulgare* L.) // *Photosynthetica*. 1988. V. 22. P. 161–167.
821. Stobart A.K., Griffiths W.T., Ameen-Bukhari I., Sherwood R.P. The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley // *Physiol. Plant*. 1985. V. 63. P. 293–298.
822. Stolt J.P., Sneller F.E.C. Bryngelsson T., Lundborg T., Schat H. Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat // *Environ. Exp. Bot*. 2003. V. 49. P. 21–28.
823. Stoyanova D.P., Tchakolova E.S. Cadmium-induced ultrastructural changes in chloroplasts of the leaves and stems parenchyma in *Myriophyllum spicatum* // *Photosynthetica*. 1997. V. 34. P. 241–248.
824. Sumeonidis L. Tolerance of *Festuca rubra* L. to zinc in relation to mycorrhizal infection // *Biol. Metals*. 1990. V. 3. P. 204–207.
825. Suzuki M., Tsukamoto T., Inoue H., Watanabe S., Matsushashi S., Takahashi M., Nakanishi H., Mori S., Nishizawa N.K. Deoxymugineic acid increases Zn translocation in Zn-deficient rice plants // *Plant Mol. Biol*. 2008. V. 66. P. 609–617.
826. Sze H., Ward J.M., Lai S. Vacuolar H⁺-translocating ATPases from plants: structure, function, and isoforms // *J. Bioenerg Biomembr*. 1992. V. 24. P. 371–381.
827. Takahashi M., Terada Y., Nakai I., Nakanishi H., Yoshimura E., Mori S., Nishizawa N.K. Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development // *Plant Cell*. 2003. V. 15, N 6. P. 1263–1280.
828. Talanova V.V., Titov A.F., Boeva N.P. Effect of increasing concentration of lead and cadmium on cucumber seedlings // *Biol. Plant*. 2000. V. 43, N 3. P. 441–444.
829. Tamas L., Bočová B., Huttová J., Mistrík I., Ollé M. Cadmium-induced inhibition of apoplastic ascorbate oxidase in barley roots // *J. Plant Growth Regul*. 2006. V. 48. P. 41–49.

830. Tan J., Wang J., Chai T., Zhang Y., Feng S., Li Y., Zhao H., Liu H., Chai X. Functional analyses of TaHMA2, a P_{1B}-type ATPase in wheat // *Plant Biotechnol. J.* 2013. V. 11. P. 420–431.
831. Tanaka K., Fujimaki S., Fujiwara T., Yoneyama T., Hayashi H. Quantitative estimation of the contribution of the phloem in cadmium transport to grains in rice plants (*Oryza sativa* L.) // *Soil Sci. Plant Nutr.* 2007. V. 53. P. 72–77.
832. Tang W., Charles T.M., Newton R.J. Overexpression of the pepper transcription factor CAPF1 in transgenic Virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.) confers multiple stress tolerance and enhances organ growth // *Plant Mol. Biol.* 2005. V. 59. P. 603–617.
833. Taylor G.J. Current topics in plant biochemistry and physiology. Missouri, 1991. 57 p.
834. Telfer A., Allen J.F., Barber J., Bennet J. Thylakoid protein-phosphorylation during state-1-state-2 transition in osmotically shocked pea chloroplasts // *Biochim. Biophys. Acta.* 1983. V. 722. P. 176–181.
835. Tausz M., Sircelj H., Grill D. The glutathione system as a stress marker in plant eco-physiology: is a stress-response concept valid? // *J. Exp. Bot.* 2004. V. 55. P. 1955–1962.
836. Thomas R.M., Singh V.P. Reduction of cadmium-induced inhibition of chlorophyll and carotenoid accumulation in *Cucumis sativus* L. by uniconazole (S. 3307) // *Photosynthetic.* 1996. V. 32. P. 145–148.
837. Timling I. *Elytrigia repens* as an invasive species during salt marsh restoration at the Baltic Sea // *Restoration and Reclamation Review. Student on-line Journal.* 2000. V. 6, N 2. 9 p.
838. Titov A.F., Talanova V.V., Boeva N.P. Growth responses of barley and wheat seedlings to lead and cadmium // *Biol. Plant.* 1996. V. 38, N 3. P. 431–436.
839. Tommasini R., Vogt E., Fromenteau M., Hörtensteiner S., Matile P., Amrhein N., Martinoia E. An ABC-transporter of *Arabidopsis thaliana* has both glutathione-conjugate and chlorophyll catabolite transport activity // *Plant J.* 1998. V. 13. P. 773–780.
840. Trampczynska A., Küpper H., Meyer-Klaucke W., Schmidt H., Clemens S. Nicotianamine forms complexes with Zn (II) in vivo // *Metallomics.* 2010. V. 2, N 1. P. 57–66.
841. Tukendorf A., Baszynski T. The *in vivo* effect of cadmium on photo-chemical activities in chloroplasts of runner bean plants // *Acta Physiol. Plant.* 1991. N 13. P. 81–87.

842. Ueno D., Koyama E., Kono I., Yano M., Ma F. Identification of a novel major quantitative traits locus controlling distribution of Cd between roots and shoots in rice // *Plant Cell Physiol.* 2009. V. 50. P. 2223–2233.
843. Ueno D., Yamaji N., Kono I., Huang C.F., Ando T., Yano M., Ma J.F. Gene limiting cadmium accumulation in rice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107, N 38. P. 16500–16505.
844. Ueno D., Milner M.J., Yamaji N., Yokosho K., Koyama E., Zambrano M.C., Kaskie M., Ebbs S., Kochian L.V., Ma J.F. Elevated expression of *TcHMA3* plays a key role in the extreme Cd tolerance in a Cd-hyperaccumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens* // *Plant J.* 2011. V. 66. P. 852–862.
845. Uruguchi S., Fujiwara T. Cadmium transport and tolerance in rice: perspectives for reducing grain cadmium accumulation // *Rice.* 2012. V. 5. P. 1–8. DOI: 10.1186/1939-8433-5-5
846. Uruguchi S., Fujiwara T. Rice breaks ground for cadmium-free cereals // *Plant Biol.* 2013. V. 16. P. 328–334.
847. Uruguchi S., Watanabe I., Yoshitomi A., Kiyono M., Kuno K. Characteristics of cadmium accumulation and tolerance in novel Cd-accumulating crops, *Avena strigosa* and *Crotalaria juncea* // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57. P. 2955–2965.
848. Uruguchi S., Mori S., Kuramata M., Kawasaki A., Arao T., Ishikawa S. Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice // *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60, N. 9. P. 2677–2688.
849. Uruguchi S., Kamiya T., Sakamoto T., Kasai K., Sato Y., Nagamura Y., Yoshida A., Kyojuka J., Ishikawa S., Fujiwara T. Low-affinity cation transporter (*OsLCT1*) regulates cadmium transport into rice grains // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 20959–20964.
850. Vallee B.L., Ulmer D.D. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead // *Annu. Rev. Biochem.* 1972. N 41. P. 91–128.
851. Van Assche F., Clijsters H. Effects of metals on enzyme activity in plants // *Plant Cell Environ.* 1990. V. 13, N 1. P. 195–206.

852. Van Belleghem F., Cuypers A., Semane B., Smeets K., Vangronsveld J., d'Haen J., Valcke R. Subcellular localization of cadmium in roots and leaves of *Arabidopsis thaliana* // *New Phytol.* 2007. V. 173. P. 495–508.
853. Van Breusegem F., Vranová E., Dat J.F., Inze D. The role of active oxygen species in plant signal transduction // *Plant Sci.* 2001. V. 161. P. 405–414.
854. Van de Mortel J.E., Villanueva L.A., Schat H., Kwekkeboom J., Coughlan S., Moerland P.D., van Themaat E.V.L., Koornneef M., Aarts M.G.M. Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* // *Plant Physiol.* 2006. V. 142, N 3. P. 1127–1147.
855. Van der Zaal D.J., Neuteboom L.W., Pinas J.E., Chardonnes A.N., Schat H., Verkleij J.A., Hooykaas P.J. Overexpression of a novel *Arabidopsis* gene related to putative zinc-transporter genes from animals can lead to enhanced zinc resistance and accumulation // *Plant. Physiol.* 1999. V. 119. P. 1047–1056.
856. Van Kooten O., Snel J.F. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology // *Photosynth. Res.* 1990. V. 25. P. 147–150.
857. Vassilev A. Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview // *J. Central Eur. Agric.* 2002. V. 4, N 1. P. 65–74.
858. Vassilev A., Manolov P. Chlorophyll fluorescence of barley (*H. vulgare* L.) seedlings grown in excess of Cd // *Bulg. J. Plant. Physiol.* 1999. V. 25, N 3-4. P. 67–76.
859. Vassilev A., Kerin V., Atanassov P. Effect of cadmium pollution of soil upon productivity and seedling qualities of two winter barley (*H. vulgare* L.) cultivars // *Bulg. J. Agric. Sci.* 1996. V. 2. P. 333–340.
860. Vassilev A., Berova M., Zlatev Z. Influence of Cd²⁺ on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants // *Biol. Plant.* 1998a. V. 41, N 4. P. 601–606.
861. Vassilev A., Tsonev T., Yordanov I. Physiological response of barley plants (*Hordeum vulgare* L.) to cadmium contamination in soil during ontogenesis // *Environ. Pollut.* 1998b. V. 103. P. 289–297.
862. Vassilev A., Yordanov I., Tsonev T. Effect of Cd²⁺ on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants // *Photosynthetica.* 1997. V. 34. P. 293–302.

863. Vassilev A., Lidon F., Scotti P., Da Graca M., Yordanov I. Cadmium-induced changes in chloroplast lipids and photosystem activities in barley plants // *Biol. Plant.* 2004. V. 48, N 1. P. 153–156.
864. Vassilev A., Yordanov I., Chakakova E., Kerin V. Effect of cadmium stress on growth and photosynthesis of young barley (*H. vulgare* L.) plants. II. Structural and functional changes in the photosynthetic apparatus // *Bulg. J. Plant Physiol.* 1995. V. 21, N 4. P. 12–21.
865. Vatamaniuk O.K., Mari S., Lu Y.P., Rea P.A. AtPCS1, a phytochelatin synthase from *Arabidopsis*: isolation and *in vitro* reconstitution // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V. 96. P. 7110–7115.
866. Vatamaniuk O.K., Mari S., Lu Y.P., Rea P.A. Mechanism of heavy metal ion activation of phytochelatin (PC) synthase: blocked thiols are sufficient for PC synthase-catalyzed transpeptidation of glutathione and related thiol peptides // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 31451–31459.
867. Vatamaniuk O.K., Mari S., Lang A., Chalasani S., Demkiv L.O., Rea P.A. Phytochelatin synthase, a dipeptidyltransferase that undergoes multisite acylation with γ -glutamylcysteine during catalysis: stoichiometric and site-directed mutagenic analysis of *Arabidopsis thaliana* PCS1-catalyzed phytochelatin synthesis // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 22449–22460.
868. Verbruggen N., Hermans C., Schat H. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2009. V. 12. P. 364–372.
869. Verkleij J.A.C., Koevoets P.L.M., Blake-Kalff M.M.A., Chardonens A.N. Evidence for an important role in the tonoplast in the mechanism of naturally selected Zn tolerance in *Silene vulgaris* // *J. Plant. Physiol.* 1998. V. 153. P. 188–191.
870. Verma S., Dubey R.S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants // *Plant Sci.* 2003. V. 164, N 4. P. 645–655.
871. Verret F., Gravot A., Auroy P., Leonhardt N., David P., Nussaume L., Vavasseur A., Richaud P. Overexpression of AtHMA4 enhanced root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant tolerance // *FEBS Lett.* 2004. V. 576. P. 306–312.

872. Vert G., Briat J.F., Curie C. *Arabidopsis IRT2* gene encodes a root-periphery iron transporter // *Plant J.* 2001. V. 26. P. 181–189.
873. Vert G., Grotz N., Dedaldechamp F., Gaymard F., Guerinot M.L., Briat J.F., Curie C. IRT1, an *Arabidopsis* transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell.* 2002. V. 14. P. 1223–1233.
874. Veselov D., Kudoyarova G., Symonyan M., Veselov St. Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seedlings // *Bulg. J. Plant Physiol.* 2003. Special issue. P. 353–359.
875. Vitória A.P., Rodriguez A.P.M., Cunha M., Lea P.J., Azevedo R.A. Structural changes in radish seedlings exposed to cadmium // *Biol. Plant.* 2003/4. V. 47, N 4. P. 561–568.
876. Vogeli-Lange R., Wagner G.J. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves: implication of a transport function for cadmium-binding peptides // *Plant Physiol.* 1990. V. 92. P. 1086–1093.
877. von Wiren N., Marschner H., Romheld V. Roots of iron-efficient maize also absorb phytosiderophore-chelated zinc // *Plant. Physiol.* 1996. V. 111. P. 1119–1125.
878. Wahid A., Ghani A., Ali I., Ashraf M.Y. Effect of cadmium on carbon and nitrogen assimilation in shoots of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] seedlings // *J. Agron. Crop Sci.* 2007. V. 193. P. 357–365.
879. Wagner G.J. Accumulation of cadmium in crop plants and consequences to human health // *Adv. Agron.* 1993. V. 51. P. 173–212.
880. Waters B.M., Sankaran R.P. Moving micronutrients from the soil to the seeds: genes and physiological processes from a biofortification perspective // *Plant Sci.* 2011. V. 180. P. 562–574.
881. Waters B.M., Lucena C., Romera F.J., Jester G.G., Wynn A.N., Rojas C.L., Alcantara E., Perez-Vicente R. Ethylene involvement in the regulation of the H⁺-ATPase *CsHAI* gene and of the new isolated ferric reductase *CsFROI* and iron transporter *CsIRT1* genes in cucumber plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2007. V. 45. P. 293–301.
882. Wawrzyński A., Kopera E., Wawrzyńska A., Kamińska J., Bal W., Sirko A. Effect of simultaneous expression of heterologous genes involved in phytochelatin biosynthesis on

- thiol content and cadmium accumulation in tobacco plant // J. Exp. Bot. 2006. V. 57. P. 2173–2182.
883. Weigel H.J. The effect of Cd^{2+} on photosynthetic reactions of mesophyll protoplasts // Physiol. Plant. 1985. V. 63. P. 192–200.
884. Weigel H.J., Jäger H.J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants // Plant Physiol. 1980. V. 65. P. 480–482.
885. Wenzel W.W., Bunkowski M., Puschenreiter M., Horak O. Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil // Environ. Pollut. 2003. V. 123. P. 131–138.
886. White P.J. Studying calcium channels from the plasma membrane of plant root cells in planar lipid bilayers // Advances in planar lipid bilayers and liposomes. V. 1. / Eds. H.T. Tien, A. Ottova-Leitmannova. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. 2005. P. 101–120.
887. Whitson T.D. (Ed.), Burrill L.C., Dewey S.A., Cundey D.W., Nelson B.E., Lee R.D., Parker R. Green foxtail. Weeds of the West. Western Society of Weed Science, Newark, CA. 1996. C. 74–75.
888. Wierzbicka M. Lead accumulation and its translocation in roots of *Allium cepa* L. – autoradiographic and ultrastructural studies // Plant Cell Environ. 1987. V. 10. P. 17–26.
889. Wierzbicka M., Obidzińska J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species // Plant Sci. 1998. V. 137, N 2. P. 155–171.
890. Williams C., David D. Some effect of the distribution of cadmium and phosphate in root zone on cadmium content of plants // Austral. J. Soil Res. 1977. V. 15, N 1. P. 59–64.
891. Williams L., Salt D.E. The plant ionome coning into focus // Curr. Opin. Plant Biol. 2009. V. 12, N 3. P. 247–249.
892. Willner H., Vasak M., Kagi J.H. Cadmium-thiolate clusters in metallothionein: spectrophotometric and spectropolarimetric features // Biochemistry. 1987. V. 26. P. 6287–6292.
893. Wintz H., Fox T., Wu Y.Y., Feng V., Chen W.Q., Chang H.S., Zhu T., Vulpe C. Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 47644–47653.

894. Wiseman H., Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer // *Biochem. J.* 1996. V. 313. P. 17–29.
895. Wójcik M., Tukiendorf A. Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings // *Acta Physiol. Plant.* 1999. V. 21, N 2. P. 99–107.
896. Wójcik M., Tukiendorf A. Cadmium uptake, localization and detoxification in *Zea mays* // *Biol. Plant.* 2005. V. 49, N 2. P. 237–245.
897. Wong C.K.E., Cobbett C.S. HMA P-type ATPases are the major mechanism for root-to-shoot Cd translocation in *Arabidopsis thaliana* // *New Phytol.* 2008. V. 181. P. 71–78.
898. Wong H.L., Sakamoto T., Kawasaki T., Umemura K., Shimamoto K. Down-regulation of metallothionein, a reactive oxygen scavenger, by the small GTPase OsRac1 in rice // *Plant Physiol.* 2004. V. 135. P. 1447–1456.
899. Woźny A., Schneider J., Gwóźdź E.A. The effects of lead and kinetin on greening barley leaves // *Biol. Plant.* 1995. V. 37, N 4. P. 541–552.
900. Wright S.T.C. Seasonal changes in the levels of free and bound abscisic acid in blackcurrant (*Ribes nigrum*) buds and beech (*Fagus sylvatica*) buds // *J. Exp. Bot.* 1975. V. 26, № 91. P. 161–174.
901. Wu F., Zhang G., Dominy P. Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity // *Environ. Exp. Bot.* 2003. V. 50. P. 67–78.
902. Wu F.-B., Chen F., Wei K., Zhang G.-P. Effects of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) differing in cadmium tolerance // *Chemosphere.* 2004. V. 57. P. 447–454.
903. Xiang C., Oliver D.J. Glutathione metabolic genes coordinately respond to heavy metals and jasmonic acid in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 1998. V. 10. P. 1539–1550.
904. Xiang C., Werner B.L., Christensen E.M., Oliver D.J. The biological functions of glutathione revisited in *Arabidopsis* transgenic plants with altered glutathione levels // *Plant Physiol.* 2001. V. 126. P. 564–574.

905. Xiong J., He Z., Liu D., Mahmood Q., Yang X. Role of bacteria in the heavy metals removal and growth of *Sedum alfredii* Hance in an aqueous medium // *Chemosphere*. 2008. V. 70. P. 489–494.
906. Xu X.Y., McGrath S.P., Zhao F.J. Rapid reduction of arsenate in the medium mediated by plant roots // *New Phytol.* 2007. V. 176. P. 590–599.
907. Xue T.T., Li X.Z., Zhu W., Wu C.A., Yang G.D., Zheng C.C. Cotton metallothionein *GhMT3a*, a reactive oxygen species scavenger, increased tolerance against abiotic stress in transgenic tobacco and yeast // *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60. P. 339–349.
908. Yamaji N., Xia J., Mitani-Ueno N., Yokosho K., Feng Ma J. Preferential delivery of zinc to developing tissues in rice is mediated by P-type heavy metal ATPase OsHMA2 // *Plant Physiol.* 2013. V. 162. P. 927–939.
909. Yang S., Liang S., Yi L., Xu B., Cao J., Guo Y., Zhou Y. Heavy metal accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing on manganese mine tailings // *Frontiers Environ. Sci. Eng.* 2014. V.8, N 3. P. 394–404.
910. Yang Y.Y., Jung J.Y., Song W.-Y., Suh H.-S., Lee Y. Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of the mechanism of tolerance // *Plant Physiol.* 2000. V. 124. P. 1019–1026.
911. Yang X., Chu C. Towards understanding plant response to heavy metal stress // *Abiotic stress in plants – mechanisms and adaptations* / Eds. A.K. Shanker, B. Venkateswarlu. Intech: Janeza Trdine 9. 2011. P. 59–78.
912. Yang X.E., Baligar V.C., Foster J.C., Martens D.C. Accumulation and transport of nickel in relation to organic acid in ryegrass and maize grown with different nickel levels // *Plant. Soil.* 1997. V. 196. P. 271–276.
913. Yang X.E., Baligar V.C., Martens D.C., Clark R.B. Influx, transport and accumulation of cadmium in plant species grown at different Cd^{2+} activities // *J. Environ. Sci. Health.* 1995. V. 30. P. 569–583.
914. Yang X., Feng Y., He Z.L., Stoffella P.J. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2005. V. 18. P. 339–353.

915. Yang X., Huang J., Jiang Y., Zhang H.S. Cloning and functional identification of two members of the ZIP (Zrt, Irt-like protein) gene family in rice (*Oryza sativa* L.) // Mol. Biol. Rep. 2009. V. 36. P. 281–286.
916. Yannarelli G.G., Fernàndes-Alvarez A.J., Santa-Cruz D.M., Tomaro M.L. Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress // Phytochemistry. 2007. V. 68. P. 505–512.
917. Ye Z.H., Baker A.J.M., Wong M.H., Willis A.J. Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by *Typha latifolia* // New Phytol. 1997. V. 136. P. 469–480.
918. Yen M.-R., Tseng Y.-H., Saier M.H. Maize Yellow Stripe 1, and iron-phytosiderophore uptake transporter, is a member of the oligopeptide transporter (ORT) family // Microbiology. 2001. V. 147. P. 2881–2883.
919. Yoshimura K., Miyao K., Gaber A., Takeda T., Kanaboshi H., Miyasaka H., Shigeoka S. Enhancement of stress tolerance in transgenic tobacco plant overexpressing *Chlamydomonas* glutathione peroxidase in chloroplasts or cytosol // Plant J. 2004. V. 37. P. 21–33.
920. Yuan L., Yang S., Liu B., Zhang M., Wu K. Molecular characterization of a rice metal tolerance protein, OsMTP1 // Plant Cell Rep. 2012. V. 31. P. 67–76.
921. Yuan M., Li X., Xiao J., Wang S. Molecular and functional analyses of COPT/Crt-type copper transporter-like gene family in rice // BMC Plant Biol. 2011. 11: 69; DOI: 10.1186/1471-2229-11-69
922. Zaharieva I., Taneva S.G., Goltsev V. Effect of PSii antennae size on the induction kinetics of prompt and delayed chlorophyll fluorescence // Bulg. J. Plant Physiol. 1999. V. 25. P. 17–30.
923. Zenk M.H. Heavy metal detoxification in higher plants – a review // Gene. 1996. V. 179, N 1. P. 21–30.
924. Zeng X., Ma L.Q., Qiu R., Tang Y. Responses of non-protein thiols to Cd exposure in Cd hyperaccumulator *Arabidopsis paniculata* Franch. // Environ. Exp. Bot. 2009. V. 66. P. 242–248.
925. Zhang G.P., Fukami M., Sekimoto H. Influence of cadmium on mineral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage // Field Crops Res. 2002. V. 77. P. 93–98.

926. Zhang X., Zhang S., Xua X., Li T., Gong G., Jia G., Li Y., Denga L. Tolerance and accumulation characteristics of cadmium in *Amaranthus hybridus* L. // J. Hazard. Mater. 2010. V. 180. P. 303–308.
927. Zhao S., Duo L. Bioaccumulation of cadmium, copper, zinc and nickel by weed species from municipal solid waste compost // Pol. J. Environ. Stud. 2015. V. 24, N 1. P. 413–417.
928. Zhigang A., Cuijie L., Yuangang Z., Yejie D., Wachter A., Gromes R., Rausch T. Expression of BjMT2, a metallothionein 2 from *Brassica juncea*, increases copper and cadmium tolerance in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana*, but inhibits root elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings // J. Exp. Bot. 2006. V. 14. P. 3575–3582.
929. Zhou J.M., Goldsbrough P.B. Functional homologs of fungal metallothionein genes from *Arabidopsis* // Plant Cell. 1994. V. 6. P. 875–884.
930. Zhu J., Zhang Q., Wu R., Zhang Z. *HbMT2* an ethephon-induced metallothionein gene from *Hevea brasiliensis* responds to H₂O₂ stress // Plant Physiol. Biochem. 2010. V. 48. P. 710–715.
931. Zhu R., Macfie S. M., Ding Z. Cadmium induced plant stress investigated by scanning electrochemical microscopy // J. Exp. Bot. 2005. V. 56. P. 2831–2838.
932. Zhu Y.L., Pilon-Smits E.A.H., Jouanin L., Terry N. Overexpression of glutathione synthetase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance // Plant Physiol. 1999. V. 119, N 1. P. 73–79.
933. Ziarati P., Ziarati N.N., Nazeri S., Saber-Germi M. Phytoextraction of heavy metal by two sorghum species in treated soil using black tea residue for cleaning-up the contaminated soil // Orient. J. Chem. 2015. V. 31, N 1. P. 317–326.
934. Żurek G., Rybka K., Pogrzeba M., Krzyżak J., Prokopiuk K. Chlorophyll a fluorescence in evaluation of the effect heavy metal soil contamination on perennial grasses // PLoS ONE. 2014. V. 9(3): e91475. DOI: 10.1371/journal.pone.0091475