

Научная статья

УДК 546.73:633.358:635.656:669.73

doi: 10.28983/asj.y2023i4pp20-27

Динамика роста и аккумуляции тяжелых металлов *Pisum sativum* L., выращенного на загрязненной почве (вегетационный опыт)

Ян Викторovich Пухальский¹, Святослав Игоревич Лоскутов², Николай Иванович Воробьев¹,
Мария Алексеевна Чукаева³, Дмитрий Олегович Нагорнов³, Андрей Петрович Кожемяков¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург, Россия, e-mail: puhalskyuan@gmail.com

²Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научно-го центра пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lislosk@mail.ru

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский горный университет, г. Санкт-Петербург, Россия, e-mail: Chukaeva_MA@pers.spmi.ru

Аннотация. Представлены результаты исследований влияния загрязнения дерново-подзолистой почвы солями тяжелых металлов (15 мг/кг CdCl₂ и/или 50 мг/кг CoCl₂) на адаптационный потенциал и фиторемедиационную активность двух контрастных по устойчивости генотипов гороха: кадмийеустойчивого мутанта SGECDt и его дикой линии SGE. Эксперимент проводился в лабораторных условиях при поддержании стабильного внутреннего микроклимата и оптимальной степени инсоляции в помещении. Длительность эксперимента составила 85 суток. Исследование динамики морфометрических показателей на примере биомассы побегов и корней показало, что мутант SGECDt имеет лучшую устойчивость к воздействию токсикантов. В среднем снижение биомассы побегов по сравнению с контролем составило 28,2 % и по корням 5,5 %. На дикой линии показатели составили 31,8 % на побегах и 21,8 % на корнях. Лучше всего толерантность мутанта проявилась на вариант с внесением ионов кадмия. Благодаря масс-спектрометрическому анализу установлено, что содержание кадмия в сухой биомассе побегов увеличивалось с нарастанием биомассы у обоих генотипов. У мутанта оно существенно превосходило концентрацию накопления токсиканта в диком типе и практически не менялось с 30-х сут. при отдельном или совместном внесении металлов и до конца вегетации – 20–25 мкг сухой биомассы на 1 г побега. Содержание кобальта, напротив, снижалось по фазам онтогенеза при небольшом превосходстве в фиксации металла мутантом, начиная с 45-х сут. после посева. При одновременном поступлении обоих металлов в почвенный раствор синергизм действия не наблюдался. Содержание кобальта еще более снижалось в растениях, кадмия же, напротив, возрастало. Ионообменные реакции между данными токсикантами отличались взаимодействиями в системе «почва – растение» по типу антагонизма. Оптимальным сроком уборки загрязненной продукции на ее дальнейшую переработку (фитомайнинг) можно считать фазу бутонизации – начала цветения (45 сут.). В этот период растения мутанта одновременно хорошо производят детоксикацию (фитосанацию) и активное накопление в почве атмосферного азота.

Ключевые слова: *Pisum sativum* L.; SGECDt; тяжелые металлы; показатели роста.

Для цитирования: Пухальский Я. В., Лоскутов С. И., Воробьев Н. И., Чукаева М. А., Нагорнов Д. О., Кожемяков А. П. Динамика роста и аккумуляции тяжелых металлов *Pisum sativum* L., выращенного на загрязненной почве (вегетационный опыт) // Аграрный научный журнал. 2023. № 4. С. 20–27. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2023i4pp20-27>.

AGRONOMY

Original article

Dynamics of growth and accumulation of heavy metals of *Pisum Sativum* L. grown on polluted soil (vegetative experience)

Jan V. Puhalsky¹, Svyatoslav I. Loskutov², Nikolay I. Vorobyov¹,
Maria A. Chukaeva³, Dmitry O. Nagornov³, Andrey P. Kozhemyakov¹

¹Federal State Budgetary Scientific Institution All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, Saint Petersburg, Russia, e-mail: puhalskyuan@gmail.com



Abstract. The paper presents the results of studies of the effect of heavy metal salts (15 mg/kg CdCl₂ and/or 50 mg/kg CoCl₂) contamination of soddy-podzolic soil on the adaptive potential and phytoremediation activity of two pea genotypes contrasting in resistance: the cadmium-resistant mutant SGECDt and its wild line SGE. The experiment was carried out under laboratory conditions while maintaining a stable internal microclimate and an optimal degree of insolation in the room. The duration of the experiment was 85 days. A study of the dynamics of morphometric parameters, using the example of shoot and root biomass, showed that the SGECDt mutant demonstrated better resistance to toxicants: on average, the decrease in shoot biomass compared to control was 28.2%, and 5.5% for roots. Whereas on wild lines, the rates were 31.8% on shoots and 21.8% on roots, respectively. As expected, the tolerance of the mutant was best manifested in the variant with the introduction of cadmium ions. Thanks to mass spectrometric analysis, it was found that the content of cadmium in dry biomass of shoots increased with an increase in biomass in both genotypes. Moreover, in the mutant, it significantly exceeded the concentration of pollutant accumulation in the wild type, and practically did not change, starting from 30 days with separate or combined introduction of metals, and until the end of the growing season – 20–25 µg of dry biomass per gram of shoot. The content of cobalt, on the contrary, decreased in ontogenesis phases, with a slight superiority in metal fixation by the mutant, starting from 45 days after inoculation. With the simultaneous entry of both metals into the soil solution, synergism of action was not observed. The content of cobalt decreased even more in plants, while cadmium, on the contrary, increased. It can be concluded that the ion-exchange reactions between these pollutants differed in interactions in the “soil-plant” system by the type of antagonism. Among the optimal period for harvesting contaminated products for its further processing (phytomining), one can single out the budding phase - the beginning of flowering (45 days). During this period, the mutant plants simultaneously perform well detoxification (phytosanation) and active accumulation of atmospheric nitrogen in the soil.

Keywords: *Pisum sativum* L., SGECDt; heavy metals; growth rates.

For citation: Puhalsky J. V., Loskutov S. I., Vorobyov N. I., Chukaeva M. A., Nagornov D. O., Kozhemyakov A. P. Dynamics of growth and accumulation of heavy metals of *Pisum Sativum* L. grown on polluted soil (vegetative experience). *Agrarnyy nauchnyy zhurnal* = The Agrarian Scientific Journal. 2023;(4):20–27. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2023i4pp20-27>.

Введение. Интенсификация сельского хозяйства и избыточное применение минеральных удобрений приводят к постепенному накоплению в почвах токсичных примесей в виде солей тяжелых металлов (ТМ). Минеральные удобрения оказывают косвенное влияние на содержание ТМ, через подкисление почвы в результате их внесения [1]. Хотя сведения и противоречивы, но предполагается, что наиболее потенциально опасными как по набору, так и по концентрации ТМ в своем составе являются фосфорсодержащие удобрения [4, 9, 17].

Среди потенциальных кандидатов для фитосанации загрязненных почв рассматриваются зернобобовые культуры. Известно, что семейство *Fabaceae* менее толерантно к воздействию токсиантов, чем злаки (*Poaceae*). Однако при этом оно более экологически пластично для образования множественного симбиоза с представителями полезной почвенной микрофлоры, повышающего адаптационный потенциал растения к воздействию различных абиотических стрессов. Кроме того, формирование бобово-ризобиальных симбиосистем благотворно сказывается на здоровье почвенной экосистемы в целом и позволяет экономить на использовании синтетических удобрений при последующем высеве озимых зерновых в севообороте. Ведущее положение в динамике онтогенеза при образовании данных ассоциативных симбиозов принадлежит генотипу растения. Поэтому представляется перспективным проводить скрининг среди представителей данного семейства для выявления потенциальных растений-металлофитов, способных одновременно хорошо переносить высокие уровни загрязнения среды ТМ, при этом обогащая почвы биогенными элементами. Также, помимо выявления природных устойчивых видов, с помощью технологии геномного редактирования можно получать трансгенные растения-мутанты, способные извлекать ТМ из загрязненной среды и концентрировать их в своей биомассе, в концентрациях, в десятки-сотни и более раз превышающие таковые в почве – гипераккумуляторы. Отношения концентрации ТМ в побеге к концентрации ТМ в корне (как естественной буферной зоне) в таких растениях превышают значения равные единицы. Их можно использовать в комплексной методике детоксикации (фитосанации) техногенно-нарушенных земель.





В настоящее время, на примере гороха посевного (*Pisum sativum* L.), с которым исторически связано возникновение и развитие генетики как самостоятельной научной дисциплины, ведутся разработки по созданию мутантных линий-космополитов, способных максимально позитивно использовать эффект взаимодействия генотип-среда. С помощью использования методов индуцированного мутагенеза идет целенаправленное воздействие на гены транскрипционных факторов, вовлеченных в контроль азотфиксирующего симбиоза, а также задействованных в ответной реакции растений на неблагоприятные почвенные условия (засуха, засоление, уплотнение, кислотность и наличие ТМ). Однако жесткое конструирование генома вносит определенный дисбаланс в процессы клеточного морфогенеза и гомеостаза исходных линий.

Благодаря быстрому развитию методов высокопроизводительного секвенирования и молекулярному картированию известных генотипов гороха создана онлайн-база данных. Она объединяет большое количество маркеров и позволяет проводить поиск потенциальных генов-кандидатов, ответственных как за нормальное развитие хозяйственно ценных признаков (в том числе азотфиксирующей способности), так и за устойчивость к стрессовым факторам среды [15]. Таким образом, был создан уникальный Cd-устойчивый мутант – SGECDt [19], сопоставимый по толерантности и накоплению ионов кадмия с индийской горчицей (*Brassica juncea* L. Czern.) VIR263 [13]. Механизм его устойчивости к кадмию не был связан с биосинтезом глутатиона и фитохелатинов. Биохимический анализ, проведенный на гидропонике, показал, что в присутствии токсичных ионов Cd^{2+} (4 мкМ) мутант проявлял дефицит содержания небелковых тиолов и свободного пролина, а также низкую активность каталазы и пероксидазы по сравнению с растениями дикой линии. Мутант также показывал тенденцию к повышенному накоплению токсических концентраций кобальта в сухой биомассе [11]. Ключевая роль в толерантности здесь принадлежала корням, поставляющим питательные вещества в надземные органы для поддержания гомеостаза и адаптационной лабильности растений к токсическому воздействию ионов ТМ [12].

Исследований, связанных с изучением динамики развития вегетативных органов растения в условиях искусственного биметаллического загрязнения субстрата, а также с изучением транслокации и иммобилизации токсикантов в его зеленой биомассе, до этого не проводилось. В опубликованных ранее работах акцент был сделан на изучении физиологических и биохимических аспектов токсичного воздействия ТМ на симбиотический потенциал мутанта и его исходной дикой линии SGE, либо на начальном этапе онтогенеза, либо под конец периода вегетации, при получении семян [10–14].

Целью настоящей работы было изучение влияния кадмия и/или кобальта, внесенных в залежную дерново-подзолистую почву, на рост и развитие обоих генотипов гороха в онтогенезе, а также аккумуляция данных токсикантов в сухой биомассе побегов растений. Выбор в пользу изучения накопления токсиканта в надземной биомассе побегов был сопряжен с оценкой использования данного мутанта гороха с позиции гипераккумулятора.

Методика исследований. Закладку эксперимента проводили в лабораторных условиях (рис. 1) при поддержании внутреннего микроклимата и режима инсоляции в помещении [7].



Рис. 1. Культивирование растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.) на загрязненной ТМ дерново-подзолистой почве при полной светокультуре: 1 – контроль; 2 – кадмий; 3 – кобальт; 4 – кадмий + кобальт



Диапазон градации температуры воздуха и влажности составлял 18–20 °С и 60–70 %. Растения выращивали при полной светокультуре [2]. В качестве единственного источника освещения были выбраны четыре современных светодиодных LED-светильника G-Ray V2 UV полного белого света (SpecLED, Украина) по 100 Вт. Высота подвеса до апикальной точки роста побегов составляла 1,5 м. С такого расстояния показатели прихода фотосинтетически активной радиации (ФАР) были следующими: $R_a = 88,3$; PPF (PAR) = 387,0/мкмоль·м⁻²·с⁻¹ (25 800 Lx); E_e (ФАР) = 109,1 Вт/м². Энерго-спектральные показатели инсоляции измеряли с помощью люксметра (Voltcraft LX-1108, Германия) и спектрофотометра (OceanOptics STS-VIS, США). Перевод люксов в микромоли осуществляли по формуле для белого света [18]. Срок фотопериодизма: 16 ч день / 8 ч ночь.

Растения выращивали в пластиковых горшках с системой прикорневого автополива, заполненных 2,0 кг залежной слабокультуренной дерново-подзолистой почвой. Рабочая площадь для проведения опыта составляла 1,6 м² (1,6×1,0 м).

Агрохимическую характеристику почвы проводили стандартными методами: $pH_{KCl} - 4,63 \pm 0,12$, гумус – 1,27±0,01 %, гидролитическая кислотность – 1,89±0,02 мг-экв/100 г, емкость катионного обмена – 6,3±0,4 мг-экв/100; K₂O – 87,7±7,3 мг/кг; P₂O₅ – 81,9±4,9 мг/кг. Кислотность с помощью известкования была доведена до нейтральной. Исходное содержание валового кадмия в почве составляло 0,48±0,05 мг, кобальта 5,00±0,90 мг/кг. Нативное содержание подвижных форм: Cd – 0,09±0,01 и Co – 1,40±0,08 мг/кг.

Перед посевом в воздушно-сухую почву, просеянную через сито с диаметром ячеек 2 мм, вносили удобрения в виде водных растворов солей из расчета конечного содержания биофильных элементов в субстрате, мг/кг: NH₄NO₃ – 15; K₂HPO₄ – 450; MgSO₄ – 35; CaCl₂ – 25; KCl – 395; H₃BO₃ – 4; MnSO₄ – 4; ZnSO₄ – 4; Na₂MoO₄ – 4. Ионы кадмия и кобальта добавляли в питательный раствор в форме хлоридов – 15 мг Cd/кг – 4,5 г/м² – 0,3 мг-экв/кг и 50 мг Co/кг – 15 г/м² – 1,7 мг-экв/кг. Анион солей ТМ был выбран не случайно, поскольку на примере кадмия показано, что соленость хлоридов усиливает поглощение его растениями из почвенного раствора, даже при очень низком содержании [16].

Семена перед посевом были ранжированы по массе, поверхностно обработаны 0,5%-м гипохлоридом натрия в течение 10 мин, промыты дистиллированной водой и оставлены на проращивание в чашках Петри на увлажненной водой фильтровальной бумаге, в темновом термостате при 20 °С (ГОСТ 12038-84) [3]. На третьи сутки проклюнувшиеся семена высаживали в горшки, в количестве 5 шт., что примерно соответствует норме высева 100 семян на 1 м². Лабораторная всхожесть семян (энергия прорастания) показала следующие значения: 66 % для SGE и 84 % для SGECDt. Повторность опыта – четырехкратная. На каждый вариант, таким образом, приходилось по 20 растений. Длительность эксперимента составила 85 суток, до фазы полной спелости – позднее генеративное состояние, XII этап органогенеза.

Влажность субстрата в опыте поддерживали весовым методом, путем ежедневного полива растений под корень, для поддержания влажности субстрата на уровне 70 % от полной полевой влагоемкости (ППВ) [10].

На 10, 30, 45, 65 и 85-е сутки после посева из каждого сосуда отбирали по одному культивару и проводили оценку изменения их морфометрических показателей (биомасса корней и побегов). На этих же точках роста, в высушенной до абсолютно сухих значений биомассе побегов, проводили учет динамики аккумуляции в них ТМ. Для этого отбирали навеску измельченного до состояния порошка биоматериала в количестве 100 мг и помещали ее в герметично закрытый фторопластовый сосуд, покрытый снаружи толстостенной металлической оболочкой. Затем в сосуды добавляли 5,0 мл концентрированной азотной кислоты и проводили мокрое озоление в сушильном шкафу (Binder FD Classic Line, Германия) при температуре 190 °С в течение 1 ч. Полученную при терморазложении жидкую фазу образца переливали в мерную колбу на 50 мл и доводили до риски 2%-м раствором HNO₃. Элементный анализ в подготовленных таким образом пробах проводили на квадрупольном масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7500 (USA), согласно МУК 4.1.1483–03 [8]. В качестве реакционного газа, уменьшающего помехи полиатомных ионов, использовали гелий. Определение концентрации осуществляли методом калибровки многоэлементными стандартными растворами. Расчет концентрации осуществляли программным обеспечением (ChemStation G1834) прибора по вводимым данным о навеске образца в объеме растворения.

Математическую обработку полученных данных проводили с помощью прикладной системы Excel 2016 (Microsoft, США). Визуальную обработку делали с помощью графического редактора Photoshop CC 2014 (Adobe, США).

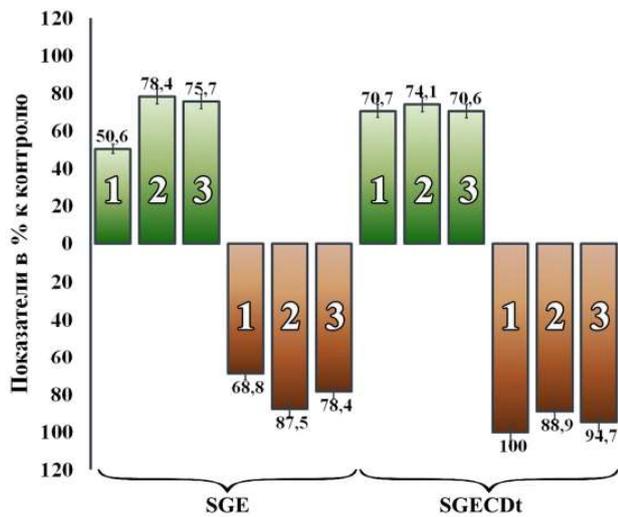


Рис. 2. Показатели биомассы растений гороха на 85-е сутки, выращенных на дерново-подзолистой почве, загрязненной ТМ. ■ – побеги, ■ – корни. 1 – кадмий; 2 – кобальт; 3 – кадмий + кобальт. Горизонтальные планки погрешностей на столбцах обозначают ошибки средних

Результаты исследований. Биомасса растений служит наиболее информативным показателем чувствительности растений к воздействию ТМ. Результаты исследования показали, что на 85-е сутки биомасса побегов у дикой линии SGE была меньше контроля на 49,4 % в варианте с кадмием, на 21,6 % с кобальтом и на 24,3 % с совместным внесением ТМ. Снижение биомассы корней было следующим: на 31,2 % в варианте с кадмием, на 12,5 % в варианте с кобальтом и на 21,6 % в варианте с совместным воздействием. Как и ожидалось, мутант SGECDt продемонстрировал лучшие показатели устойчивости к воздействию токсикантов: в среднем снижение биомассы побегов составило 28,2 % и по корням 5,5 % (рис. 2).

Анализ морфометрических данных в динамике показал, что кадмий и кобальт оказывали ингибирующее влияние на рост растений уже на 10-е сутки. Отчетливее всего это проявилось на корнях. Подобный эффект сохранялся весь период вегетации (рис. 3).

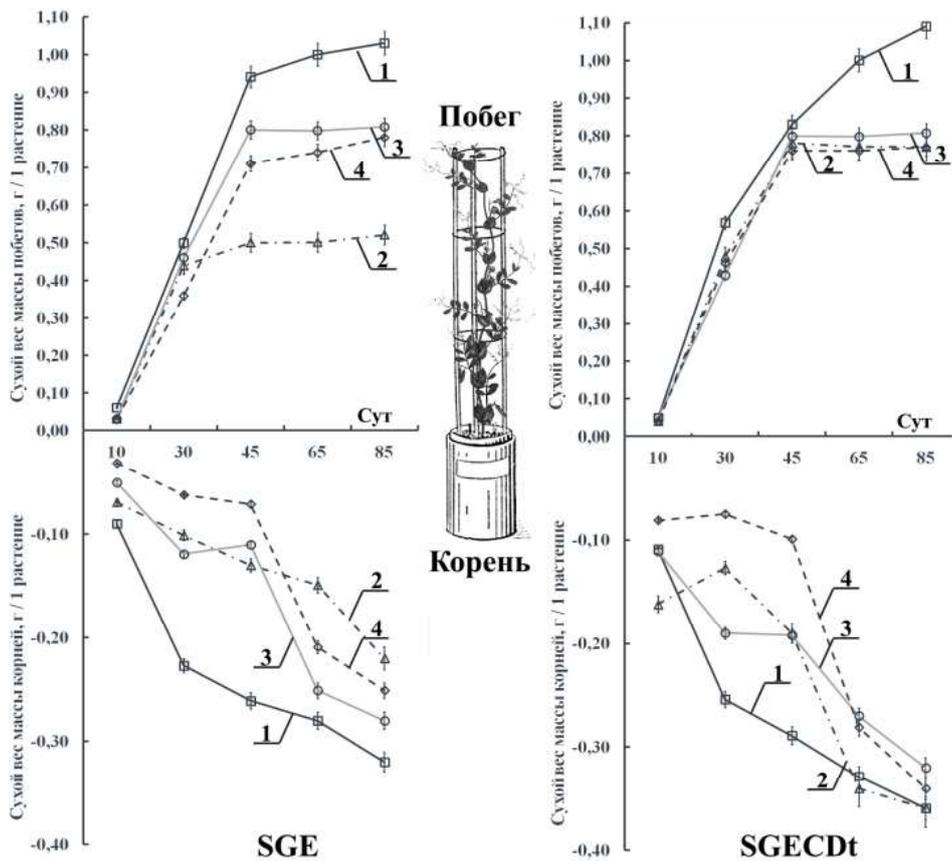


Рис. 3. Динамика роста растений гороха на дерново-подзолистой почве, загрязненной ТМ: 1 – контроль; 2 – кадмий; 3 – кобальт; 4 – кадмий + кобальт. Горизонтальные планки погрешностей на линиях обозначают ошибки средних

Установлено, что содержание кадмия в побегах увеличивалось с нарастанием биомассы у обоих генотипов (рис. 4). Причем у мутанта концентрация практически не менялась начиная с 30-х суток при отдельном или совместном внесении ТМ и до конца вегетации – 20–25 мкг сухой биомассы на 1 г побега. По-видимому, это связано с наличием определенного барьера, ограничивающего аккумуляцию токсиканта в надземной части для данного генотипа в определенных пределах. Тем не менее, накопление металла существенно отличалось от дикой линии. Следует отметить, что у мутанта имеется запас по устойчивости



к внесению кадмия. В ранней работе было показано, что растения способны выдерживать концентрацию металла в среде до 30 мг/кг [14]. По Российским мерам предельно допустимой концентрации (ПДК) металла в почве, это соответствует сильной степени загрязнения и превышает валовые значения в 6 раз. По мерам западных норм ПДК – в 10 раз [5]. При таком уровне загрязнения показатели накопления биомассы сухой массы побегов не сильно различались, однако аккумуляция в них токсиканта возрастала пропорционально в 2 раза, до 40 мкг/г.

Содержание кобальта в биомассе, напротив, снижалось по фазам онтогенеза, при небольшом превосходстве в фиксации металла мутантом, начиная с 45-х суток после посева. Ионы кобальта в почве обладают более сильным сродством с минеральным веществом и органическими лигандами, чем кадмий. Поэтому в течение 21–28 суток после его интродукции в почву происходит восстановление квазиравновесного состояния, в результате чего его подвижность в жидкой фазе и последующая транслокация в культивары снижается. Этим и можно объяснить постепенное уменьшение концентрации токсиканта в биомассе побегов. Также это можно связать с эффектом разбавления, в результате постепенного нарастания биомассы растений. Фиксация (эффект «старения») техногенного кадмия почвенными агрегатами, наоборот, выражена слабо, либо отсутствует вовсе, что обеспечивает длительную мобильность данного токсиканта в почве. Причем в отличие от многих других ТМ концентрация кадмия возрастает в жидкой фазе в течение первых 21 суток после увлажнения воздушно-сухой почвы [6].

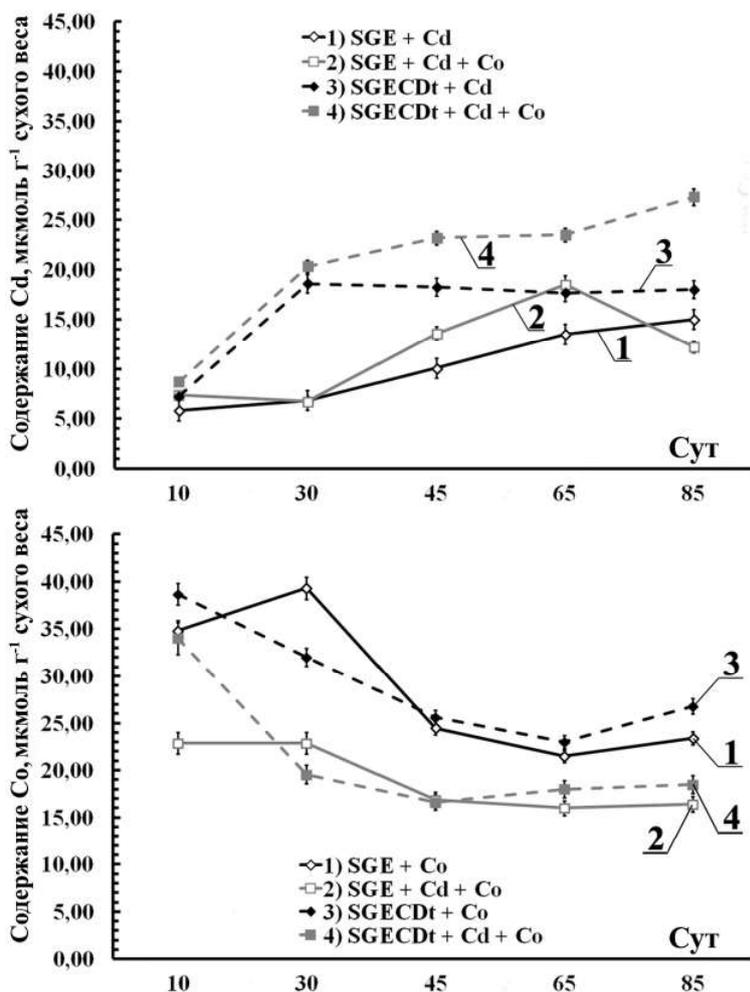


Рис. 4. Диаграмма накопления кадмия и кобальта в онтогенезе побегами гороха при выращивании на дерново-подзолистой почве, загрязненной ТМ.

Горизонтальные планки погрешностей на линиях обозначают ошибки средних

При одновременном поступлении ТМ в почвенный раствор синергизм действия не наблюдался. В результате стехиометрии кобальт еще сильнее закреплялся почвенными коллоидами, что сказывалось на его транслокации в растения. Таким образом, ионообменные



реакции между данными ТМ в системе «почва – растение» характеризуются по типу антагонизма.

Заключение. Исследования показали, что для рассмотренного уровня загрязнения почв ТМ мутант гороха SGECdt доказал свою эффективность при использовании его в качестве фиторемедианта на протяжении всего периода онтогенеза. В качестве оптимального срока уборки загрязненной продукции на ее дальнейшую переработку можно выделить фазу бутонизации – начала цветения (45-е сутки). В этот период растения мутанта одновременно хорошо производят детоксикацию и активное накопление в почве атмосферного азота.

Поскольку корреляционная связь между показателями урожайности, адаптационной стабильности и экологической пластичности очень тесная, мутант нуждается в дальнейшей апробации его продуктивного развития в различных агроэкологических условиях. Это необходимо чтобы внести коррективы в разрабатываемые параметры его последующего культивирования в разных регионах.

Финансирование. Статья выполнена при поддержке НЦМУ «Агротехнологии будущего» № 075-15-2022-320 от 20.04.2022.

Благодарности. Авторы признательны доктору биологических наук А.А. Белимову за предоставление семенного материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев Ю. В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л., 1987. 142 с.
2. ГОСТ Р 58461-2019. Освещение растений в сооружениях защищенного грунта. Термины и определения. М., 2019. 19 с.
3. Государственный стандарт Союза ССР. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. 12038-84. М.: Изд-во стандартов, 1985. 56 с.
4. Зубков Н. В. Влияние фосфорных удобрений на содержание тяжелых металлов в почве, поступление их в растения и продуктивность культур в условиях загрязнения почвы // Вестник Московского городского педагогического университета. Серия: «Естественные науки». 2011. № 2 (8). С. 71–84.
5. Колесников С. И., Казеев К. Ш., Вальков В. Ф., Пономарева С. В. Ранжирование химических элементов по их экологической опасности для почвы // Доклады Российской Академии сельскохозяйственных наук. 2010. Т. 1. С. 27–29.
6. Лаврентьева Г. В., Круглов С. В., Анисимов В. С. Динамика катионного состава почвенного раствора известкованной дерново-подзолистой почвы при загрязнении Со и Cd и изменении pH // Почвоведение. 2008. № 9. С. 1092–1100. DOI:10.1134/S106422930809007X.
7. Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлом. М.: Гидрометеиздат, 1981. 109 с.
8. Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии: метод. указания. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. 56 с.
9. Потатуева Ю. А. Эколого-агрохимическая оценка фосфорных и фосфорсодержащих удобрений в длительных полевых опытах // Агрохимия. 2013. № 6. С. 83–94.
10. Пухальский Я. В., Лоскутов С. И. Мониторинг и прогнозирование динамики полива симбиотической системы гороха посевного на загрязнённой тяжёлыми металлами почве в условиях тепличного опыта // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2017. № 6 (68). С. 240–245.
11. High Specificity in Response of Pea Mutant SGECdt to Toxic Metals: Growth and Element Composition / A. A. Belimov et al. // Environ. Exp. Bot. 2016. Vol. 128. P. 91–98. DOI: 10.1093/jxb/eru536.
12. The Crucial Role of Roots in Increased Cd-tolerance and Cd-accumulation in the Pea (*Pisum sativum* L.) Mutant SGECdt / A. A. Belimov et al. // Biol. Plant. 2018. Vol. 62. P. 543–550. DOI: 10.1007/s10535-018-0789-0
13. Microbial Consortium of PGPR, Rhizobia and Arbuscular Mycorrhizal Fungus Makes Pea Mutant SGECdt Comparable with Indian Mustard in Cadmium Tolerance and Accumulation / A. A. Belimov et al. // Plants. 2020. Vol. 9(8). P. 975. DOI: 10.3390/plants9080975.
14. Rhizobial ACC Deaminase Contributes to Efficient Symbiosis with Pea (*Pisum sativum* L.) under Single and Combined Cadmium and Water Deficit Stress / A. A. Belimov et al. // Environ. Exp. Bot. 2019. Vol. 167. P. 103–859.
15. Pea marker database (PMD) – a new online database combining known pea (*Pisum sativum* L.) gene-based markers / O. A. Kulaeva et al. // PLoS ONE. 2017. Vol. 12. No. 10. P. 186–713. DOI: 10.1371/journal.pone.0186713.
16. Implications of chloride-enhanced cadmium uptake in saline agriculture: modeling cadmium uptake by maize and tobacco / U. J. López-Chuken et al. // International Journal of Environmental Science and Technology. 2012. Vol. 9. P. 69–77. DOI: 10.1007/s13762-011-0018-2.

17. Cadmium pollution from phosphate fertilizers in arable soils and crops: an overview / A. G. Nino-Savala et al. // *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*. 2019. No. 6 (4). P. 419–430. DOI: [org/10.15302/J-FASE-2019273](https://doi.org/10.15302/J-FASE-2019273).
18. Sharakshane A. An easy estimate of the PFDD for a plant illuminated with white LEDs: 1000 lx = 15 $\mu\text{mol/s/m}^2$ // *BioRxiv*. 2018. <https://doi.org/10.1101/289280>.
19. A chemically induced new pea (*Pisum sativum* L.) mutant SGECdt with increased tolerance to and accumulation of cadmium / V. E. Tsyganov et al. // *Annals of Botany*. 2007. Vol. 99. P. 227–237. DOI: 10.1093/aob/mcl261.

REFERENCES

- Alekseev Yu. V. Heavy metals in soils and plants. L.; 1987. 142 p. (In Russ.).
- GOST R 58461-2019. Illumination of plants in protected ground structures. Terms and Definitions. Moscow; 2019. 19 p. (In Russ.).
- State standard of the USSR. Seeds of agricultural crops. Germination methods. 12038-84. Moscow: Publishing house of standards; 1985. 56 p. (In Russ.).
- Zubkov N. V. Influence of phosphorus fertilizers on the content of heavy metals in the soil, their entry into plants and crop productivity under soil pollution. *Bulletin of the Moscow City Pedagogical University. Series: "Natural Sciences"*. 2011;2(8):71–84. (In Russ.).
- Kolesnikov S. I., Kazeev K. Sh., Valkov V. F., Ponomareva S. V. Ranking of chemical elements according to their environmental hazard to the soil. *Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 2010;(1):27–29. (In Russ.).
- Lavrent'eva G. V., Kruglov S. V., Anisimov V. S. Dynamics of the cationic composition of the soil solution of limed soddy-podzolic soil under Co and Cd contamination and pH changes. *Eurasian Soil Sci*. 2008;(9):1092–1100. DOI:10.1134/S106422930809007X. (In Russ.).
- Methodological recommendations for field and laboratory studies of soils and plants in the control of environmental pollution by metal. Moscow: Gidrometeoizdat; 1981. 109 p. (In Russ.).
- Determination of chemical elements in biological media and preparations by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and mass spectrometry: Guidelines. M.: Federal Center of the State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Ministry of Health of Russia; 2003. 56 p. (In Russ.).
- Potatueva Yu. A. Ecological and agrochemical assessment of phosphorus and phosphorus-containing fertilizers in long-term field experiments. *Agrochemistry*. 2013;(6):83–94. (In Russ.).
- Puhalsky J. V., Loskutov S. I. Monitoring and forecasting the dynamics of irrigation of the symbiotic system of peas on soil contaminated with heavy metals in a greenhouse experiment. *Izvestiya of the Orenburg State Agrarian University*. 2017;6(68):240–245. (In Russ.).
- High Specificity in Response of Pea Mutant SGECdt to Toxic Metals: Growth and Element Composition / A. A. Belimov et al. // *Environ. Exp. Bot*. 2016. Vol. 128. P. 91–98. DOI: 10.1093/jxb/eru536.
- The Crucial Role of Roots in Increased Cd-tolerance and Cd-accumulation in the Pea (*Pisum sativum* L.) Mutant SGECdt / A. A. Belimov et al. *Biol. Plant*. 2018;62:543–550. DOI: 10.1007/s10535-018-0789.
- Microbial Consortium of PGPR, Rhizobia and Arbuscular Mycorrhizal Fungus Makes Pea Mutant SGECdt Comparable with Indian Mustard in Cadmium Tolerance and Accumulation / A. A. Belimov et al. *Plants*. 2020; 9(8):975. doi: 10.3390/plants9080975.
- Rhizobial ACC Deaminase Contributes to Efficient Symbiosis with Pea (*Pisum sativum* L.) under Single and Combined Cadmium and Water Deficit Stress / A. A. Belimov et al. *Environ. Exp. Bot*. 2019;167:103–859.
- Pea marker database (PMD) – a new online database combining known pea (*Pisum sativum* l.) gene-based markers / O. A. Kulaeva et al. *PLoS ONE*. 2017;12(10):186–713. DOI: 10.1371/journal.pone.0186713.
- Implications of chloride-enhanced cadmium uptake in saline agriculture: modeling cadmium uptake by maize and tobacco / U. J. López-Chuken et al. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2012;9:69–77. DOI: 10.1007/s13762-011-0018-2.
- Cadmium pollution from phosphate fertilizers in arable soils and crops: an overview / A. G. Nino-Savala et al. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*. 2019;6(4):419–430. <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2019273>.
- Sharakshane A. An easy estimate of the PFDD for a plant illuminated with white LEDs: 1000 lx = 15 $\mu\text{mol/s/m}^2$. *BioRxiv*. 2018. <https://doi.org/10.1101/289280>.
- A chemically induced new pea (*Pisum sativum* L.) mutant SGECdt with increased tolerance to and accumulation of cadmium / V. E. Tsyganov et al. *Annals of Botany*. 2007;99:227–237. DOI: 10.1093/aob/mcl261.

Статья поступила в редакцию 24.06.2022; одобрена после рецензирования 02.09.2022; принята к публикации 19.09.2022.
The article was 24.06.2022; approved after reviewing 02.09.2022; accepted for publication 19.09.2022.

