

ДЕГРАДАЦИЯ, ВОССТАНОВЛЕНИЕ
И ОХРАНА ПОЧВ

УДК 631.453:574.23

ДЕТЕРМИНАНТЫ ФИТОТОКСИЧНОСТИ МЕДИ
В ТЕХНОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ:
РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЛЕТНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

© 2022 г. А. Неаман^а, *, К. Яньез^б

^аФакультет сельскохозяйственных наук, Университет Тарапака, Арика, 1000000 Чили

^бИнститут биологии, Папский католический университет Вальпараисо, Вальпараисо, 2340000 Чили

*e-mail: alexander.neaman@gmail.com

Поступила в редакцию 25.04.2022 г.

После доработки 16.05.2022 г.

Принята к публикации 25.05.2022 г.

Обобщены результаты многолетних исследований по определению фитотоксичности меди в нативных почвах, загрязненных выбросами медной горнодобывающей промышленности в области Вальпараисо центрального района Чили. Установлено, что несмотря на полиэлементный характер загрязнения исследованных почв, медь является основным фактором, лимитирующим рост растений, тогда как влияние других элементов статистически незначимо. Показано, что концентрация меди в 0.1 М KNO₃ вытяжке – лучший индикатор фитотоксичности по сравнению с валовым содержанием меди в почве и активностью свободных ионов Cu²⁺ в 0.1 М KNO₃ вытяжке. Отмечено, что валовое содержание меди, pH и концентрация растворенного органического углерода – наиболее важные переменные для прогнозирования концентрации меди и активности ионов меди в 0.1 М KNO₃ вытяжке.

Ключевые слова: токсичность, Eutric Fluvisols, Dystric Arenosols, активность Cu²⁺, pH, лимитирование роста растений

DOI: 10.31857/S0032180X22110089

ВВЕДЕНИЕ

Валовое содержание металлов (металлоидов) в загрязненной почве зачастую недостаточно для прогнозирования ее потенциальной фитотоксичности [27]. В течение последних десятилетий были сделаны попытки прогнозирования “фитодоступной” фракции металлов путем анализа корреляций между откликами растений и различными пулами металлов в почве (например, обобщающая статья [34]). Однако большинство полученных данных оказались противоречивыми, что затрудняет их интерпретацию. Считается, что фракции металлов, извлеченные химически неагрессивными нейтральными солями, полезны для оценки фитотоксичности металлов в загрязненных почвах [22]. Другой метод оценки потенциального фитотоксического действия заключается в использовании показателя активности свободных ионов металла в почвенном растворе [14].

Важно подчеркнуть, что несмотря на многочисленные исследования фитотоксичности металлов в почве (например, обобщающая статья [25]), подавляющее большинство работ было выполнено при использовании искусственно загрязненных почв. Этот подход неоднократно и справедливо

подвергался критике [34]. Главный аргумент противников такого традиционного подхода заключается в том, что трудно осмысленно экстраполировать результаты экспериментов с искусственно загрязненными почвами на токсические эффекты, которые могут возникнуть в реальных условиях техногенно загрязненных территорий. Например, было обнаружено, что содержание металлов, оказывающееся токсичным для растений, было в 100 раз меньше в искусственно загрязненных почвах, чем в техногенно загрязненных [40]. Данное несоответствие чаще всего связывают с тем, что токсичность зависит от времени пребывания металла в почвах, то есть процесса, называемого “старением”, для которого необходим длительный промежуток времени [21]. Однако конкретные механизмы старения металлов в почвах остаются не до конца выясненными [47].

Несмотря на то, что важность исследований техногенно загрязненных почв очевидна, использование таких объектов создает сложности в оценке токсичности из-за одновременного присутствия различных металлов. Детальный анализ химического состава тканей растений в некоторой степени позволяет преодолеть эту сложность:

Таблица 1. Физико-химические характеристики исследованных почв (медиана и объем выборок (*n*), в скобках – минимальное и максимальное значения)

Характеристика	[45, 46] <i>n</i> = 27	[23] <i>n</i> = 21	[18] <i>n</i> = 6	[24] <i>n</i> = 86
ЭП, дСм/м	2.0 (0.2–11)	2.0 (0.2–4.7)	0.7 (0.3–1.1)	–
pH (KNO ₃)	7.2 (5.7–7.6)	7.3 (5.7–7.6)	5.6 (4.9–7.1)	(6.2–7.8)
pCu ²⁺ (KNO ₃)	8.6 (6.8–9.8)	8.6 (6.8–9.8)	7.5 (5.5–9.1)	(7.1–9.9)
ОВ, %	3.3 (0.7–5.8)	3.3 (0.7–5.8)	3.7 (0.9–8.0)	(1.2–6.2)
Доступный N, мг/кг	25 (4–134)	26 (4–76)	16 (10–24)	–
Доступный P, мг/кг	32 (8–123)	30 (8–123)	27 (12–45)	–
Доступный K, мг/кг	255 (78–1143)	190 (78–1143)	94 (30–166)	–
Валовая Cu, мг/кг	355 (82–1295)	426 (82–1295)	502 (256–1852)	(56–4441)
Валовый As, мг/кг	21 (7–41)	22 (7–41)	59 (6.1–157)	–
Валовый Zn, мг/кг	147 (86–345)	139 (86–345)	135 (73–230)	–
Валовый Pb, мг/кг	43 (25–97)	47 (25–88)	83 (28–199)	–
Cu (KNO ₃), мг/кг	0.06 (0.02–0.28)	0.06 (0.02–0.22)	0.7 (0.3–1.7)	(0.02–0.95)
As (KNO ₃), мг/кг	0.008 (0–0.07)	–	0.0 (0.0–0.02)	–
Zn (KNO ₃), мг/кг	–	–	8.2 (3.6–12)	–
Pb (KNO ₃), мг/кг	–	–	0.08 (0.0–0.2)	–
Песок, %	52 (21–95)	52 (21–95)	57 (45–81)	–
Пыль, %	17 (5–37)	17 (5–37)	31 (16–42)	–
Ил, %	30 (0–44)	31 (0–43)	10 (3.3–18)	–
POУ (KNO ₃), мг/л	–	–	–	(1.6–60)

Примечание. ЭП = удельная электропроводность вытяжки из водонасыщенной пасты; ОВ = органическое вещество почвы; POУ = растворенный органический углерод; (KNO₃) = солевая вытяжка с использованием раствора 0.1 М KNO₃ в соотношении почва/раствор 1/2.5 [41]. Прочерк означает отсутствие данных. Активность Cu²⁺ в 0.1 М KNO₃ вытяжке определяли с помощью ионоселективного электрода [30]. Результаты выражали в виде pCu²⁺, который является отрицательным логарифмом активности свободных ионов Cu²⁺ в вытяжке. Растворенный органический углерод в 0.1 М KNO₃ вытяжке определяли на анализаторе Shimadzu. Для определения валового содержания Cu, Cd, Pb, Zn и As, образцы выдерживали в кипящей азотной кислоте с последующим добавлением хлорной кислоты [19], используя тefлоновую пробку со стеклянной рефлюксной трубкой длиной 30 см для предотвращения улетучивания As во время процесса кислотного разложения [32]. Остальные химические характеристики почв определяли с использованием стандартных методов [33]. Гранулометрический состав был определен методом ареометра, в упрощенном варианте [39].

например, для условий полиметаллического загрязнения с превалированием меди было продемонстрировано, что ответные реакции растений теснее всего скоррелированы с концентрацией именно меди в тканях растений, тогда как влияние других металлов было незначительным [18, 23, 46]. Именно на основе такого подхода удается выявить ведущий токсикант даже в случае полиметаллического загрязнения.

Хотя многие исследователи декларируют важность использования нативных техногенно (а не искусственно) загрязненных почв для получения оценок фитотоксичности, в большинстве случаев такой подход остается лишь на уровне декларации и не реализуется на практике. Данная работа обобщает результаты наших исследований по детерминантам фитотоксичности меди именно в нативных почвах в области Вальпараисо центрального района Чили, загрязненных выбросами

медной горнодобывающей промышленности (табл. 1). Чили является лидером в производстве меди в мире [28].

Основной рассматриваемый нами вопрос: какой почвенный пул меди (свободные ионы Cu²⁺, концентрация в солевой вытяжке или валовое содержание) лучше всего определяет реакции растений в нативных техногенно загрязненных почвах? Результаты мы рассматриваем на основе концепции интенсивности/буферности [49]. В работе были использованы аллювиальные почвы сельскохозяйственных земель (Eutric Fluvisols) [13]. Также были использованы несельскохозяйственные почвы, сформировавшиеся на палеодюнах (Dystric Arenosols) [13].

Важно подчеркнуть, что мы используем термин “концентрация” для жидкой фазы почвы (в данной работе – для солевой вытяжки) и термин “содержание” для твердой фазы почвы [5]. В ра-

Таблица 2. Коэффициенты детерминации (R^2) для множественных регрессионных моделей откликов овса и репы. Все переменные в моделях статистически значимы ($p \leq 0.05$)

Вид	Отклик	Детерминанты по результатам пошагового регрессионного анализа	R^2
Овес*	Длина побега	– Валовая Cu	0.36
	Масса побега	– Валовая Cu	0.33
Репа*	Длина побега	– Валовая Cu – ЭП	0.62
	Масса побега	– Валовая Cu – ЭП	0.59
Овес**	Длина побега	– Валовая Cu + рН	0.48
	Масса побега	– Валовая Cu + доступный P + валовый Zn – ОВ	0.81
	Масса корня	– Валовая Cu – ил	0.50
Репа**	Длина побега	– Валовая Cu – ЭП + доступный P	0.78
	Масса побега	– Валовая Cu	0.67
	Длина корня	– Валовая Cu + песок	0.75
	Масса корня	– Валовая Cu + песок	0.51

* Краткосрочный эксперимент (21 день для обоих растений).

** Долгосрочный эксперимент (62 дня для овса и 42 дня для репы).

Примечание. ЭП = удельная электропроводность вытяжки из водонасыщенной пасты; ОВ = органическое вещество почвы.

боте был использован 0.1 М раствор KNO_3 для приготовления солевой вытяжки. В одном из наших исследований [2] мы сравнили химический состав этой вытяжки и внутрипоровой воды почвы, полученной с помощью экстрактора Rhizon компании Rhizosphere Research Products, Нидерланды (www.rhizosphere.com). В обоих случаях были определены концентрации меди и мышьяка, активность свободных ионов Cu^{2+} и рН. Были получены статистически значимые корреляции между этими переменными в вытяжке 0.1 М KNO_3 и во внутрипоровой воде почвы (значения R^2 были равны 0.59, 0.77, 0.58 и 0.94 соответственно, во всех случаях $p < 0.001$). Таким образом, вытяжка 0.1 М KNO_3 может адекватно имитировать концентрации меди и мышьяка, активность свободных ионов Cu^{2+} и рН во внутрипоровой воде почвы.

Важно также отметить, что в исследовании [6] было показано, что концентрации меди в солевых вытяжках из почв были близкими к концентрациям меди в водных вытяжках. Данные результаты показывают, что обменные формы меди не являются основными в солевых вытяжках. В свою очередь, в исследовании [38] было показано, что 98% меди в солевых вытяжках из почв представлено в виде комплексов с растворенным органическим веществом. Эти авторы использовали термин “растворимая медь” (а не “обменная медь”) для концентрации меди в солевых вытяжках. Во избежание терминологической путаницы, в данной работе мы используем термин “концентрация меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке”.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ МЕДИ В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПОЧВАХ

Для оценки фитотоксичности металлов было использовано несколько видов растений: однодольных – овес посевной (*Avena sativa* L.) и райграс многолетний (*Lolium perenne* L.), и двудольных – репа (*Brassica rapa* CrGC syn. Rbr) и салат-латук (*Lactuca sativa* L.). Для овса и репы были использованы две продолжительности эксперимента (краткосрочная и долгосрочная) (табл. 2), для райграса и салата-латука – одна (краткосрочная). Эксперименты выполнены в соответствии со стандартными протоколами [11, 12].

В нашем исследовании [23] было установлено, что все реакции овса и репы в основном определены валовым содержанием меди в почве. В то же время, валовые содержания свинца и мышьяка в почве не оказали статистически значимого влияния на рост растений. В свою очередь, отмечена положительная корреляция содержания цинка с массой побегов овса в долгосрочном эксперименте. Последний феномен может быть связан с неспецифической конкуренцией между ионами Zn^{2+} и Cu^{2+} [42]. Таким образом, можно сделать вывод, что медь оказывает наибольшее негативное влияние на рост растений в загрязненных почвах в рассматриваемом районе.

Эти результаты подтвердились и в другом нашем исследовании [46]. В частности, валовое содержание меди оказалось более показательным индикатором отклика райграса по сравнению с концентрацией меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке и ак-

Таблица 3. Коэффициенты детерминации (R^2) между различными пулами меди в почве и откликами райграса

Отклик	Валовая Cu	Обменная Cu	pCu^{2+}
Длина побега	0.58	0.24	н.з.
Длина корня	0.40	0.40	0.33
Масса побега	0.34	н.з.	н.з.
Масса корня	0.35	н.з.	н.з.

Примечание. н.з. = корреляция статистически не значима ($p > 0.05$).

тивностью свободных ионов Cu^{2+} (pCu^{2+}) в той же вытяжке (табл. 3). В свою очередь, содержание меди в побегах коррелировало с валовым содержанием меди в почве, в то время как влияние концентрации меди и активности свободных ионов Cu^{2+} (pCu^{2+}) в 0.1 М KNO_3 вытяжке на содержание меди в побегах было статистически незначимо [46]. Эти данные согласуются с результатами другого исследования по поглощению меди овощными культурами, выращенными на техногенно загрязненных почвах в Чили [8].

Результаты наших исследований согласуются с заключением работы [48] о том, что пополнение запасов меди из твердой фазы почвы вследствие локального истощения в ризосфере – доминирующий процесс контроля поглощения меди растениями. Другими словами, процесс поглощения меди корневыми системами зависит от буферной способности почвы к пополнению запасов свободного иона Cu^{2+} [49]. Именно поэтому фитотоксичность меди зависела от валового содержания элемента в почве (табл. 2, 3) в соответствии с концепцией интенсивности/буферности, которая утверждает, что, хотя токсичность определяется активностью свободных ионов Cu^{2+} , она также зависит от факторов, влияющих на буферность субстрата по отношению к свободным ионам Cu^{2+} [49].

Что касается влияния других физико-химических свойств почвы на реакции растений в нашем исследовании [23], то удельная электропроводность оказала негативное влияние на рост репы (табл. 2), что согласуется с предыдущими исследованиями о чувствительности видов рода *Brassica* к солям [3]. Доступный фосфор оказал положительное влияние на рост растений, возможно из-за его недостатка как основного элемента питания, поскольку удобрения не вносились. С другой стороны, включение pH и органического вещества в итоговые модели можно объяснить их влиянием на биодоступность меди, что обсуждается далее. В то же время, растения росли лучше на песчаных почвах, по сравнению с глинистыми, возможно из-за неблагоприятных физических свойств глинистых почв.

В исследовании [23] диапазон содержания меди в побегах овса был узким (17–33 мг/кг), не-

смотря на широкий диапазон содержания меди в почве (82–1295 мг/кг). Вероятно, это было основной причиной того, что корреляция между ростовыми характеристиками овса и содержанием меди в побегах была статистически незначимой. По данным работы [9] накопление меди происходит преимущественно в корнях овса, а из-за выраженного корневого барьера не происходит пропорциональной транслокации элемента в побеги. Таким образом, содержание меди в побегах овса нельзя считать точным показателем фитотоксичности у этого вида.

В другом нашем исследовании [45], валовое содержание меди, цинка, свинца и мышьяка в почве были слабыми определителями реакции салата-латука; аналогичные результаты наблюдались для концентраций металлов в 0.1 М KNO_3 вытяжке (табл. 4) и для активности свободных ионов Cu^{2+} в этой вытяжке. Пошаговый регрессионный анализ показал, что длина побега салата-латука лучше всего объяснялась валовым содержанием меди (в мг/кг) и содержанием доступного фосфора в почве (в мг/кг), определенном в экстракте 0.5 N $NaHCO_3$, pH 8.5 [29]. Обе переменные были статистически значимыми ($p < 0.05$) в следующем уравнении: $ДП = 8.5 - 0.003 Cu_{вал} + 0.042 P_{дост}$ ($R^2 = 0.58$), где ДП = длина побега, $Cu_{вал}$ = валовая Cu в почве, $P_{дост}$ = доступный P в почве. При этом важно отметить, что не было никакой статистически значимой зависимости между валовой медью и доступным фосфором в почве ($p > 0.05$).

Известно, что токсичность меди снижает поглощение фосфора растениями [31]. Однако с помощью регрессионного анализа показано, что эффект взаимодействия этих факторов был статистически незначимым ($p > 0.05$), что позволяет предположить, что эти два фактора не зависели друг от друга. Таким образом, салат-латук имеет ограниченную применимость для оценки токсичности металлов в техногенно загрязненных почвах из-за чувствительности его реакции на дефицит фосфора, часто наблюдаемый в несельскохозяйственных районах.

Таблица 4. Коэффициенты детерминации (R^2) между различными пулами металлов и металлоидов в почве и откликами салата-латука

Элемент	Длина побега		Длина корня		Масса побега		Масса корня	
	Ме валовое	Ме (KNO_3)	Ме валовое	Ме (KNO_3)	Ме валовое	Ме (KNO_3)	Ме валовое	Ме (KNO_3)
Cu	0.19	н.з.	0.21	н.з.	н.з.	н.з.	н.з.	н.з.
Zn	н.з.	—	н.з.	—	0.14	—	н.з.	—
Pb	н.з.	—	н.з.	—	н.з.	—	н.з.	—
As	н.з.	н.з.	н.з.	н.з.	н.з.	н.з.	н.з.	0.19

Примечание. Ме валовое – валовое содержание металла/металлоида в почве; Ме (KNO_3) – концентрация металла/металлоида в 0.1 М KNO_3 вытяжке; н.з. – корреляция не является статистически значимой ($p > 0.05$). Прочерк означает отсутствие данных.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ МЕДИ В НЕСЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПОЧВАХ

В одном из наших исследований [26] было продемонстрировано, что ирригационная вода в области Вальпараисо имеет значение pH 8.6 и значение щелочности 2.5 ммоль(экв)/л, то есть она может нейтрализовать кислотность почвы [1]. В то же время, во всех сельскохозяйственных угодьях области практикуют орошение из-за полусухливого климата центральной части Чили. Из-за этого на территории, подверженной загрязнению выбросами медеплавильного завода, pH почв на близлежащих сельскохозяйственных участках равен 8.1, тогда как на несельскохозяйственных участках – 4.6–5.5 [26]. Именно по этой причине в наших предыдущих исследованиях диапазоны значений pH в сельскохозяйственных почвах были относительно узкими (табл. 1), что, в свою очередь, определяло относительно узкие диапазоны концентрации меди и активности свободных ионов Cu^{2+} в 0.1 М KNO_3 вытяжке, и данное обстоятельство, возможно, ограничило влияние этих пулов меди на ее фитотоксичность.

В другой нашей работе [18] фитотоксичность меди была определена в полевых условиях на территории вблизи медеплавильного комбината с использованием несельскохозяйственных участков с более широкими значениями концентрации меди и активности свободных ионов Cu^{2+} в 0.1 М KNO_3 вытяжке (табл. 1). Для оценки фитотоксичности были изучены характеристики нескольких видов растений, выросших в ходе естественного самозаращения опытных участков из почвенного банка семян и/или семян, распространяющихся воздушным путем. Были определены биомасса побегов, площадь проективного покрытия и число зарегистрированных видов.

На исследуемых участках преобладали 4 вида растений: калифорнийский мак (*Eschscholzia californica* Cham., Papaveraceae), многолетнее растение в фазе цветения; райграс пастбищный (*Lolium perenne* L., Poaceae), многолетнее растение в фазе

колошения; вульпия костровидная (*Vulpia bromoides* (L.) Gray, Poaceae), однолетнее растение в фазе колошения; и горчичник серый (*Hirschfeldia incana* (L.) Lagr.-Fossat, Brassicaceae), однолетнее растение в фазе цветения. Все 4 вида – адвентивные, первые 3 из них – инвазивные в Чили [4]. Несмотря на то, что проективное покрытие растительности на исследуемых участках варьировало от 4 до 49%, относительный вклад доминирующих видов был одинаковым на всех участках. В частности, на всех опытных участках доля доминантных видов составляла $86 \pm 5\%$ от суммарного проективного покрытия.

В нашей выборке почв [18] влияние свинца, цинка и мышьяка на реакции растений было статистически незначимым, причем и для валового содержания, и для концентраций металлов в 0.1 М KNO_3 вытяжке. Аналогичным образом, органическое вещество почвы, содержание доступных питательных элементов (N, P, K), гранулометрический состав и удельная электропроводность вытяжки из почвы не влияли на реакции растений. В то же время на исследуемом участке наблюдалась высокая микропространственная вариабельность содержания элементов и других характеристик почвы (табл. 1), что согласуется с полученными ранее результатами [7]. Именно широкий диапазон варьирования и позволил выявить пул меди в почве, определяющий фитотоксичность. В частности, влияние валового содержания меди в почве на реакции растений было статистически незначимым, но биомасса побегов негативно коррелировала с концентрацией меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке ($R^2 = 0.99$, $p < 0.001$) и значением $p\text{Cu}^{2+}$ в вытяжке 0.1 М KNO_3 ($R^2 = 0.69$, $p < 0.05$). В свою очередь, концентрация меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке также негативно коррелировала с проективным покрытием ($R^2 = 0.67$, $p < 0.05$) и биоразнообразием ($R^2 = 0.78$, $p < 0.05$), в то время как влияние значений $p\text{Cu}^{2+}$ было статистически незначимым для этих показателей. Таким образом, эти результаты доказали, что концентрация меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке лучше определяет

Таблица 5. Значения валового содержания меди (мг/кг), соответствующих 10, 25, 50% вероятности негативного эффекта (EC_{10} , EC_{25} , EC_{50}) для растений, выращенных на техногенно загрязненных почвах

Исследование	Виды растений	ПТ (дни)	EC_{10}	EC_{25}	EC_{50}
[23]*	Овес, репа, райграс	21	356	621	904
[23]*	Овес, репа	42–62	355	513	688
[46]*	Райграс	21	404	750	1050
[10]	Ячмень	14	–	–	1370
[15, 16]	Подсолнух	30	237	–	562

* Наш эксперимент.

Примечание. ПТ = продолжительность теста; прочерк означает отсутствие данных.

Таблица 6. Значения концентраций растворенных соединений меди (мг/л), соответствующих 10, 25, 50% вероятности негативного эффекта (EC_{10} , EC_{25} , EC_{50}) для растений, выращенных на техногенно загрязненных почвах

Исследование	Виды растений	EC_{10}	EC_{25}	EC_{50}
[18]*	Растительные ассоциации	255	391	533
[10]	Ячмень	–	–	76
[15, 16]	Подсолнух	221	–	526

* Наш эксперимент.

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных.

фитотоксичность по сравнению с валовым содержанием этого элемента в почве и значениями pCu^{2+} в этой вытяжке.

Полученные результаты согласуются с вышеупомянутой концепцией интенсивности/буферности [48, 49]. Например, в исследовании [36] побеги растений накопили в 40000 раз больше меди, чем присутствовало в виде свободных ионов Cu^{2+} в почвенном растворе. Данный эффект возможен только в том случае, если активность свободных ионов Cu^{2+} контролируется реакциями десорбции/растворения [35]. В соответствии с этим, нами [18] была определена следующая множественная линейная регрессия, где все переменные статистически значимы ($p \leq 0.05$), концентрация меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке, $Cu(KNO_3)$ – в мг/кг, органическое вещество почвы, OB – в %, а pCu^{2+} – отрицательный логарифм активности свободного иона Cu^{2+} : $pCu^{2+} = 6.21 - 2.58 \log Cu(KNO_3) + 1.51 \log OB$; $R^2 = 0.74$.

Мы не включили в уравнение регрессии валовое содержание меди в почве из-за сильной корреляции с содержанием органического вещества, так как токсичность меди препятствует микробному разложению органического вещества в почве [17]. Таким образом, фитотоксичность меди может зависеть от различных пулов этого элемента в почве, которые способны переводить медь в почвенный раствор одновременно с поглощением ионов корнями растений.

ПОРОГИ ФИТОТОКСИЧНОСТИ МЕДИ

Число работ, в которых пороги фитотоксичности меди были определены при использовании нативных техногенно-загрязненных почв, буквально можно пересчитать по пальцам рук (табл. 5, 6): две из них выполнены во Франции [15, 16], другая – в Швеции [10], три – в Чили [18, 23, 46], причем в последнем случае – это наши исследования. Столь небольшое число работ, которые даже в минимальной степени не охватывают реальное разнообразие природных ситуаций, не позволяет пока выйти на формулирование сколь-нибудь широких обобщений.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МЕДИ И АКТИВНОСТИ СВОБОДНЫХ ИОНОВ Cu^{2+}

Установив, что концентрация меди и активность свободных ионов Cu^{2+} в 0.1 М KNO_3 вытяжке являются индикаторами фитотоксичности, важно, в свою очередь, определить эти пулы меди в почвах.

В нашем исследовании [24] с помощью регрессионного анализа выявлено статистически значимое влияние валового содержания меди и органического вещества почвы на концентрации меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке (табл. 7). Однако органическое вещество оказывало противоположное влияние на концентрацию меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке в разных исследованиях из-за раз-

Таблица 7. Уравнения линейной регрессии для переменной логарифма концентраций растворенной меди [мкг/л] в различных исследованиях. Все переменные в моделях статистически значимы ($p \leq 0.05$)

Исследование	Регрессионная модель	R^2
[24]*	$0.69 + 0.50 \log$ валовая Cu + $0.73 \log$ ОВ	0.36
[24]*	$-1.01 + 0.75 \log$ валовая Cu + $0.95 \log$ РОУ	0.70
[37]	$0.12 + 0.88 \log$ валовая Cu – $0.50 \log$ ОВ	0.72
[44]	$1.37 + 0.93 \log$ валовая Cu – $0.21 \text{ рН} - 0.21 \log$ ОВ	0.61

* Наш эксперимент.

Примечание. ОВ = органическое вещество почвы; РОУ – растворенный органический углерод.

Таблица 8. Уравнения линейной регрессии для переменной pCu^{2+} в различных исследованиях. Все переменные в моделях статистически значимы ($p \leq 0.05$)

Исследование	Регрессионная модель	R^2
[24]*	$5.54 - 0.74 \log$ валовая Cu + $0.67 \text{ рН} + 0.75 \log$ ОВ	0.58
[38]	$3.42 - 1.70 \log$ валовая Cu + 1.40 рН	0.85
[43]	$-1.34 - 0.54 \log$ валовая Cu + $1.15 \text{ рН} + 0.40 \log$ ОВ	0.94

* Наш эксперимент.

Примечание. ОВ = органическое вещество почвы.

ной кислотности почвы. Известно, что концентрация металлов в почвенном растворе уменьшается с увеличением рН в диапазоне от 4 до 6–7 единиц, но затем увеличивается при более высоких значениях рН [20]. Это связано с тем, что концентрация органического вещества в почвенном растворе повышается при рН выше 6–7, что повышает концентрацию меди в растворе за счет образования растворенных органических комплексов. Следовательно, необходимо учитывать данный фактор влияния рН почвы из-за возможного влияния растворимого органического вещества на концентрацию меди в почвенном растворе.

В нейтральных и щелочных почвах района наших исследований растворенный органический углерод повышал концентрацию меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке за счет комплексообразования. Однако, по данным других исследований, органическое вещество сорбировало медь, уменьшая его концентрацию в солевых вытяжках [43]. В свою очередь, замена содержания органического вещества в почвах на концентрацию растворенного органического углерода во множественной линейной регрессии существенно повысила коэффициент детерминации, что согласуется с выводами о том, что 95% меди в почвенном растворе может образовывать комплексы с растворенным органическим веществом [38, 44]. Из-за противоположного воздействия органического вещества в почвах с разной кислотностью, концентрация растворенного органического углерода является оптимальной переменной для объяснения концентрации меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке.

Очевидно, что факторы, влияющие на концентрацию органического вещества в почвенном растворе, такие как рН, также воздействуют на концентрацию меди в почвенном растворе. Тем не менее, исследуемые почвы имели довольно узкий диапазон рН (6.2–7.8), из-за чего в исследовании [24] рН почвы был статистически незначимой переменной для объяснения концентрация меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке, в отличие от других работ [44].

В свою очередь, в нашем исследовании активность свободных ионов Cu^{2+} в 0.1 М KN вытяжке показала значимую корреляцию с валовым содержанием меди, рН и содержанием органического вещества, тогда как корреляция с растворенным органическим углеродом была статистически незначимой (табл. 8). Все регрессионные модели показывают, что активность свободных ионов Cu^{2+} увеличивается при снижении рН почвы, так как определяется конкуренцией ионов Cu^{2+} и протонов за лиганды органического вещества почвы [20]. Таким образом, валовое содержание меди и рН почвы – оптимальные переменные для прогнозирования активности свободных ионов Cu^{2+} в вытяжке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на полиэлементный характер загрязнения исследованных почв, медь – основной фактор, лимитирующий рост растений, тогда как влияние других элементов статистически незначимо. Концентрация меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке – лучший индикатор фитотоксичности по сравне-

нию с валовым содержанием меди в почве и активностью свободных ионов Cu^{2+} в 0.1 М KNO_3 вытяжке. В свою очередь, для исследованных почв валовое содержание меди, рН и концентрация растворенного органического углерода – наиболее важные переменные для прогнозирования концентрации меди и активности свободных ионов меди в 0.1 М KNO_3 вытяжке.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность Е.Л. Воробейчику за ценные замечания и правку русского текста. Также авторы благодарят А.Л. Саврову за правку русского текста.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bourrié G. Relations entre le pH, l'alcalinité, le pouvoir tampon et les équilibres de CO_2 dans les eaux naturelles // Science du Sol. 1976. V. 3. P. 145–159.
2. Bustos V., Mondaca P., Sauvé S., Gaete H., Celis-Diez J.L., Neaman A. Thresholds of arsenic toxicity to *Eisenia fetida* in field-collected agricultural soils exposed to copper mining activities in Chile // Ecotoxicology and Environmental Safety 2015. V. 122. P. 448–454. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.009>
3. Dehdari A. Salinity effects on mineral nutrients and performance of turnip (*Brassica rapa* L.) at different growth stages // Iran Agricultural Research. 2013. V. 32. P. 19–30. <https://doi.org/10.22099/iar.2013.1814>
4. Fuentes N., Sánchez P., Pauchard A., Urrutia J., Cavieres L., Marticorena A. Plantas Invasoras del Centro-Sur de Chile: Una Guía de Campo Concepción, Chile: Laboratorio de Invasiones Biológicas (LIB), 2014.
5. Fuentes-Arderiu X. Concentration and content // Biochemia Medica. 2013. V. 23. P. 141–142. <https://doi.org/10.11613/bm.2013.017>
6. Gerritse R.G., Vandriel W. The relationship between adsorption of trace metals, organic matter, and pH in temperate soils // J. Environ Qual. 1984. V. 13. P. 197–204. <https://doi.org/10.2134/jeq1984.00472425001300020005x>
7. Ginocchio R., Carvallo G., Toro I., Bustamante E., Silva Y., Sepulveda N. Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in Central Chile // Environmental Pollution. 2004. V. 127. P. 343–352. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.08.020>
8. Ginocchio R., Rodríguez P.H., Badilla-Ohlbaum R., Allen H.E., Lagos G.E. Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions // Environmental Toxicology and Chemistry. 2002. V. 21. P. 1736–1744. <https://doi.org/10.1002/etc.5620210828>
9. Girotto E., Ceretta C.A., Brunetto G., Miotto A., Tiecher T.L., De Conti L., Lourenzi C.R., Lorensini F., Gubiani P.I., da Silva L.S., Nicoloso F.T. Copper availability assessment of Cu-contaminated vineyard soils using black oat cultivation and chemical extractants // Environ Monit Assess. 2014. V. 186. P. 9051–9063. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4065-2>
10. Hamels F., Malevé J., Sonnet P., Kleja D.B., Smolders E. Phytotoxicity of trace metals in spiked and field-contaminated soils: Linking soil-extractable metals with toxicity // Environmental Toxicology and Chemistry. 2014. V. 33. P. 2479–2487. <https://doi.org/10.1002/etc.2693>
11. ISO 11269-2. Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. Genève, Switzerland: International Organization for Standardization, 2005. 11 p.
12. ISO 22030. Soil quality – Biological methods – Chronic toxicity in higher plants. Genève, Switzerland: International Organization for Standardization, 2005. pp. 18.
13. IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106 Rome: Food and Agricultural Organization, 2015. 192 p.
14. Kader M., Lamb D.T., Mahbub K.R., Megharaj M., Naidu R. Predicting plant uptake and toxicity of lead (Pb) in long-term contaminated soils from derived transfer functions // Environ Sci Pollut Res Int. 2016. V. 23. P. 15460–15470. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6696-z>
15. Kolbas A., Kolbas N., Marchand L., Herzig R., Mench M. Morphological and functional responses of a metal-tolerant sunflower mutant line to a copper-contaminated soil series // Environmental Science and Pollution Research. 2018. V. 25. P. 16686–16701. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1837-1>
16. Kolbas A., Marchand L., Herzig R., Nehnevajova E., Mench M. Phenotypic seedling responses of a metal-tolerant mutant line of sunflower growing on a Cu-contaminated soil series: potential uses for biomonitoring of Cu exposure and phytoremediation // Plant and Soil 2014. V. 376. P. 377–397. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1974-8>
17. Korkina I.N., Vorobeichik E.L. Humus Index as an indicator of the topsoil response to the impacts of industrial pollution // Appl Soil Ecol. 2018. V. 123. P. 455–463. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.025>
18. Lillo-Robles F., Tapia-Gatica J., Díaz-Sieffer P., Moya H., Celis-Diez J.L., Santa Cruz J., Ginocchio R., Sauvé S., Brykov V.A., Neaman A. Which soil Cu pool governs phytotoxicity in field-collected soils contaminated by copper smelting activities in central Chile? // Chemosphere. 2020. V. 242. P. 125176. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125176>
19. Maxwell J.A. Rock and Mineral Analysis. N.Y.: Interscience Publishers, 1968. P. 584.

20. *McBride M., Sauvé S., Hendershot W.* Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils // *Eur. J. Soil Sci.* 1997. V. 48. P. 337–346.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1997.tb00554.x>
21. *McBride M.B., Cai M.F.* Copper and zinc aging in soils for a decade: changes in metal extractability and phytotoxicity // *Environmental Chemistry*. 2016. V. 13. P. 160–167.
<https://doi.org/10.1071/en15057>
22. *McBride M.B., Pitiranggon M., Kim B.* A comparison of tests for extractable copper and zinc in metal-spiked and field-contaminated soil // *Soil Science*. 2009. V. 174. P. 439–444.
<https://doi.org/10.1097/SS.0b013e3181b66856>
23. *Mondaca P., Catrin J., Verdejo J., Sauvé S., Neaman A.* Advances on the determination of thresholds of Cu phytotoxicity in field-contaminated soils in central Chile // *Environmental Pollution*. 2017. V. 223. P. 146–152.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.076>
24. *Mondaca P., Neaman A., Sauvé S., Salgado E., Bravo M.* Solubility, partitioning and activity of copper in contaminated soils in a semiarid zone // *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2015. V. 178. P. 452–459.
<https://doi.org/10.1002/jpln.201400349>
25. *Nagajyoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M.* Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // *Environmental Chemistry Letters*. 2010. V. 8. P. 199–216.
<https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
26. *Neaman A., Reyes L., Trolard F., Bourrie G., Sauvé S.* Copper mobility in contaminated soils of the Puchuncavi valley, central Chile // *Geoderma*. 2009. V. 150. P. 359–366.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.02.017>
27. *Neaman A., Yáñez C.* Phytoremediation of Soils Contaminated by Copper Smelting in Chile: Results of a Decade of Research // *Eurasian Soil Sci.* 2021. V. 54. P. 1992–1999.
<https://doi.org/10.1134/S1064229321120085>
28. *Nishiyama T.* The roles of Asia and Chile in the world copper market // *Resources Pol.* 2005. V. 30. P. 131–139.
<https://doi.org/10.1016/j.resoupol.2005.05.002>
29. *Olsen S., Watanabe F., Cosper H., Larson W., Nelson L.B.* Residual phosphorus availability in long-time rotations on calcareous soils // *Soil Science* 1954. V. 78. P. 141–152.
30. *Rachou J., Gagnon C., Sauvé S.* Use of an ion-selective electrode for free copper measurements in low salinity and low ionic strength matrices // *Environmental Chemistry*. 2007. V. 4. P. 90–97.
<https://doi.org/10.1071/EN06036>
31. *Rhoads F.M., Barnett R.D., Olson S.M.* Copper Toxicity and Phosphorus Concentration in Florida-502 Oats // *Soil Crop Sci Soc Fla Proc.* 1992. V. 51. P. 18–20.
32. *Sadzawka A., Carrasco M.A., Demanet R., Flores H., Mora M.L., Neaman A., Hernández P., Sandoval M.* Métodos de análisis de lodos y de suelos. Chillán: Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Universidad de Concepción, 2015. 114 p.
33. *Sadzawka A., Carrasco M.A., Grez R., Mora M.L., Flores H., Neaman A.* Métodos de análisis recomen-
- dos para los suelos de Chile. Serie actas INIA N° 34 Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 2006. 164. p.
34. *Santa-Cruz J., Peñaloza P., Korneykova M.V., Neaman A.* Thresholds of metal and metalloids toxicity in field-collected anthropogenically contaminated soils: A review // *Geography, Environment, Sustainability*. 2021. V. 14. P. 6–21.
<https://doi.org/10.24057/2071-9388-2021-023>
35. *Sauvé S.* Speciation of Metals in Soils // *Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems: Importance of Partitioning for Bioavailability to Invertebrates, Microbes, and Plants*. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC): Pensacola, Florida, 2002. P. 7–37.
36. *Sauvé S., Cook N., Hendershot W.H., McBride M.B.* Linking plant tissue concentrations and soil copper pools in urban contaminated soils // *Environmental Pollution*. 1996. V. 94. P. 153–157.
[https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(96\)00081-4](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(96)00081-4)
37. *Sauvé S., Hendershot W., Allen H.* Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: Dependence on pH, total metal burden, and organic matter // *Environmental Science & Technology*. 2000. V. 34. P. 1125–1131.
<https://doi.org/10.1021/es9907764>
38. *Sauvé S., McBride M.B., Norvell W.A., Hendershot W.H.* Copper solubility and speciation of *in situ* contaminated soils: Effects of copper level, pH and organic matter // *Water, Air, and Soil Pollution*. 1997. V. 100. P. 133–149.
<https://doi.org/10.1023/A:1018312109677>
39. *Sheldrick B.H., Wang C.* Particle size distribution // *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers: Boca Raton, FL, USA, 1993. P. 499–511.
40. *Smolders E., Oorts K., van Sprang P., Schoeters I., Janssen C.R., McGrath S.P., McLaughlin M.J.* Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: Using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards // *Environ. Toxicol. Chem.* 2009. V. 28. P. 1633–1642.
<https://doi.org/10.1897/08-592.1>
41. *Stuckey J.W., Neaman A., Ravella R., Komarneni S., Martínez C.E.* Highly charged swelling mica reduces free and extractable Cu levels in Cu-contaminated soils // *Environmental Science & Technology*. 2008. V. 42. P. 9197–9202.
<https://doi.org/10.1021/es801799s>
42. *Stuckey J.W., Neaman A., Verdejo J., Navarro-Villarreal C., Peñaloza P., Dovletyarova E.A.* Zinc alleviates copper toxicity to lettuce and oat in copper contaminated soils // *J. Soil Science and Plant Nutrition*. 2021. V. 21. P. 1229–1235.
<https://doi.org/10.1007/s42729-021-00435-x>
43. *Tippling E., Rieuwerts J., Pan G., Ashmore M.R., Lofts S., Hill M.T.R., Farago M.E., Thornton I.* The solid-solution partitioning of heavy metals (Cu, Zn, Cd, Pb) in upland soils of England and Wales // *Environmental Pollution*. 2003. V. 125. P. 213–225.
[https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00058-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00058-7)
44. *Unamuno V.I.R., Meers E., Du Laing G., Tack F.M.G.* Effect of physicochemical soil characteristics on copper

- and lead solubility in polluted and unpolluted soils // Soil Science. 2009. V. 174. P. 601–610.
<https://doi.org/10.1097/SS.0b013e3181bf2f52>
45. Verdejo J., Ginocchio R., Sauvé S., Mondaca P., Neaman A. Thresholds of copper toxicity to lettuce in field-collected agricultural soils exposed to copper mining activities in Chile // J. Soil Science and Plant Nutrition. 2016. V. 16. P. 154–158.
<https://doi.org/10.4067/S0718-95162016005000011>
46. Verdejo J., Ginocchio R., Sauvé S., Salgado E., Neaman A. Thresholds of copper phytotoxicity in field-collected agricultural soils exposed to copper mining activities in Chile // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2015. V. 122. P. 171–177.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.07.026>
47. Zeng S.Q., Li J.M., Wei D.P., Ma Y.B. A new model integrating short- and long-term aging of copper added to soils // PLoS One. 2017. V. 12. P. e0182944.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182944>
48. Zhang H., Zhao F., Sun B., Davison W., McGrath S. A new method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants // Environmental Science & Technology. 2001. V. 35. P. 2602–2607.
<https://doi.org/10.1021/es000268q>
49. Zhao F.J., Rooney C.P., Zhang H., McGrath S.P. Comparison of soil solution speciation and diffusive gradients in thin-films measurement as an indicator of copper bioavailability to plants // Environmental Toxicology and Chemistry. 2006. V. 25. P. 733–742.
<https://doi.org/10.1897/04-603r.1>

Predictors of Copper Phytotoxicity in Mining-Contaminated Soils: Findings of Several Years of Research

A. Neaman^{1, *} and C. Yáñez²

¹*Departamento de Recursos Ambientales, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Tarapacá, Arica, 1000000 Chile*

²*Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, 2340000 Chile*

*e-mail: alexander.neaman@gmail.com

This paper summarizes the findings of several years of the authors' research on copper phytotoxicity in soils contaminated by copper mining industry in the Valparaiso region of central Chile. Although soils under study were contaminated by several elements, copper was found to be the most important factor limiting plant growth, while the other elements had no statistically significant effect. The concentration of copper in the 0.1 KNO₃ extract proved to be the best indicator of phytotoxicity compared to the total copper content or the activity of free Cu²⁺ ions in the same extract. The total copper content, pH, and dissolved organic carbon concentration were in turn found to be the most important variables in predicting copper concentration and copper ion activity in the 0.1 KNO₃ extract.

Keywords: toxicity, Eutric Fluvisols, Dystric Arenosols, Cu²⁺ activity, pH, limiting of plant growth