

Накопление ионов Cu, Co и Mg и их влияние на параметры роста *Darlingtonia californica* Torr. в культуре *in vitro*

А. А. ЭРСТ¹, М. А. ЛЕБЕДЕВА^{1, 2}, А. И. СЫСО², Е. В. БАНАЕВ¹

¹ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101
E-mail: erst_aa@csbg-nsk.ru, alnus2005@mail.ru, marinamyadelets@yandex.ru

²ФГБУН Институт почвоведения и агрохимии СО РАН
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2
E-mail: syso@mail.ru

Статья поступила 14.02.2022

После доработки 18.03.2022

Принята к печати 18.03.2022

АННОТАЦИЯ

Исследование проведено с целью изучения реакции растений *Darlingtonia californica* Torr. на воздействие ионов Cu, Co и Mg в культуре *in vitro*. Для этого испытаны следующие концентрации минеральных солей: 0,1 (контроль), 10, 25, 50, 75 и 100 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (что соответствует 0,006, 0,6, 1,6, 3,2, 4,8 и 6,4 мг/л водорастворимых ионов Cu); 0,1 (контроль), 10, 25, 50, 75 и 100 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (что соответствует 0,006, 0,6, 1,5, 3,0, 4,4 и 5,9 мг/л водорастворимых ионов Co) и 1500 (контроль), 4500, 7500, 10500, 15000 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (что соответствует 36, 108, 181, 253 и 362 мг/л водорастворимых ионов Mg). Результаты показали прямую значительную корреляционную зависимость накопления ионов Cu, Co и Mg в растениях *D. californica* в зависимости от их содержания в питательных растворах. Максимальное накопление ионов отмечено через 45 дней культивирования: Cu – 138,24 мг/кг сухого вещества, Co – 249,92 мг/кг, Mg – 4722,26 мг/кг. Показано, что используемые концентрации не оказывали существенного влияния на параметры роста и развития растений в культуре *in vitro*. Проведенные морфоанатомические исследования подтверждают высокий уровень экологической адаптации данного вида к экстремальным условиям. Кроме того, растения не требовали специфичных культуральных условий, низких положительных температур для корневой системы, способны расти на богатых по минеральному составу питательных средах при температуре 24 ± 1 °C. Результаты показывают, что растения *D. californica* способны накапливать ионы Cu, Co и Mg и хорошо переносят высокие концентрации данных элементов в питательных средах в условиях *in vitro*, однако они не характеризуются повышенной потребностью в данных элементах для нормального роста и развития.

Ключевые слова: насекомоядные растения, редкие растения, *Darlingtonia californica*, тяжелые металлы, магний, клональное микроразмножение, анатомия листьев и корней.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблеме устойчивости и адаптации растений к действию тяжелых металлов уделяют большое внимание

во всем мире. Круг вопросов, посвященных этой проблеме, весьма широк. В частности, активно исследуются поглощение, транспорт и аккумуляция тяжелых металлов в тканях и органах растений, влияние токсичных

© Эрст А. А., Лебедева М. А., Сысо А. И., Банаев Е. В., 2022

ионов на основные физиологические процессы (рост, развитие, фотосинтез, водный обмен и минеральное питание), а также механизмы металлоустойчивости, действующие на разных уровнях организации [Syso et al., 2014; Сысо, 2018; Сысо, Сиромля, 2018; Muszyńska, Labudda, 2019]. Элементный состав растений является лабильным показателем, на который влияет большое количество одновременно действующих факторов, условно объединенных в три группы: внутренние биохимические, определяемые биологическими особенностями конкретного вида; внешние ландшафтно-геохимические, определяемые условиями среды обитания; внутренние кристаллохимические, определяемые свойствами ионов, входящих в состав растений [Алексеев, 2001]. В изучении особенностей аккумуляции химических элементов растениями определенный интерес представляют виды, произрастающие в природных геохимических аномалиях, где на ультраосновных горных породах (серпентинит, гарцбургит и др.) с высоким валовым содержанием Mg, но с низким – Ca, K, P, формируются почвы, естественно обогащенные Co, Cr, Cu, Ni и весовым отношением Mg/Ca 3–15 и более [Теплина и др., 2016]. К таким растениям относятся виды травянистых сообществ с высокой пластичностью на почвах серпентинитов [Ernst, 2000; Meharg, 2005]. Представитель монотипного рода *Darlingtonia californica* Torr. (сем. Sarraceniaceae Dumort.) – насекомоядное растение, произрастающее на горных склонах и прибрежных болотах в северо-западной части штата Калифорния и на юго-западе штата Орегон. Редкий вид, эндемик, статус редкости МСОП – 4.2 (limited distribution). В естественной среде обитания на почвах серпентинитов, маломощных, щебнистых, бедных органическим веществом и глинистыми частицами, растения, как правило, испытывают дефицит элементов минерального питания, таких как азот, фосфор, калий и сера, поэтому у некоторых видов растений (насекомоядные) помимо фотосинтеза имеются дополнительные источники питания. Почвы серпентинитов Калифорнии характеризуются повышенным уровнем содержания Ni, Co, Cr и молярным соотношением Ca : Mg менее 1 [Rajakaruna, Boyd, 2014]. Необычные эдафические условия создают уникальные ассо-

циации растений, часто характеризующиеся редкостью и эндемизмом. Хотя эти почвы составляют менее 1 % земной поверхности, они получили значительное внимание из-за их нетипичных химических свойств и необычных растений, которые растут на них, таких как *D. californica* [Oze et al., 2008].

Культивирование растений *in vitro* может являться удобной моделью для оценки потребности растений в элементах питания и влияния их различных концентраций на морфологические, анатомические, биохимические и физиологические параметры. Несмотря на то что имеются некоторые данные о размножении *D. californica* в культуре *in vitro* [Kim et al., 2005; Caldeira et al., 2021], изучение влияния ионов различных металлов в искусственных условиях *in vitro* на рост и развитие этого вида ранее не проводилось.

Цель данного исследования – изучение содержания и особенностей накопления Cu, Co и Mg у растений *D. californica*, выращенных на питательных средах с разным содержанием минеральных солей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исходным растительным материалом для введения в культуру *in vitro* послужили семена *D. californica*, полученные из естественных мест произрастания – район оз. Кангару, округ Сискию, Калифорния, США (рис. 1, а).

Поверхностную стерилизацию проводили по следующей схеме: семена помещали в бумажный чайный пакетик, завязывали и погружали в 70%-й этанол на 30 с, затем в 20%-й раствор “Domestos” (гипохлорит натрия) на 20 мин (100 об./мин, шейкер орбитальный Elmi, Латвия) с последующим трехкратным промыванием стерильной дистиллированной водой. После процедуры стерилизации семена доставали из пакетика и помещали на 0,6%-й водный раствор агар (Difco, USA).

В качестве основной питательной среды использовали среду Мурасиге и Скуга (МС) [Murashige, Skoog, 1962] с добавлением регулятора роста 5 мМ 6-бензиламинопурина (БАП). Для укоренения брали половинный состав среды МС (1/2 МС). Среда дополняла сахарозой (30 г/л) и агаром (6 г/л). рН среды до автоклавирования доводили до 5,8. Продолжительность пассажа составляла 45 дней.

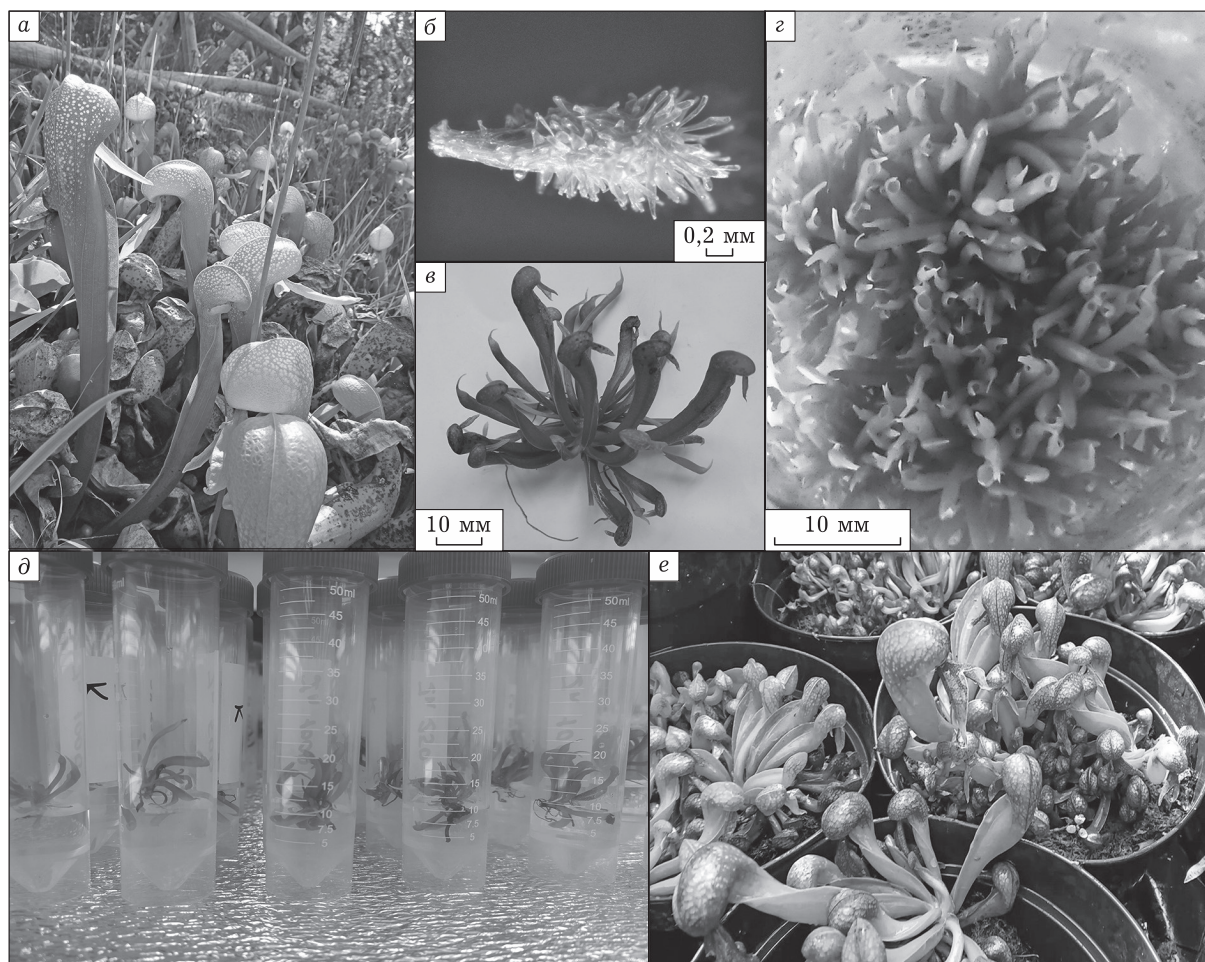


Рис. 1. Этапы клонального микроразмножения *D. californica*.

а – внешний вид растений в стадии плодоношения; б – первичные эксплант – семя; в – укоренение *in vitro* на среде 1/2 МС (сформированные листья плотоядного типа); г – массовое размножение *in vitro* на среде МС, дополненной 5 μМ БАП (первые настоящие трубчатые листья неплотоядного типа); д – растения-регенеранты на стадии изучения воздействия ионов металлов в культуре *in vitro*; е – акклиматизированные двухлетние растения

Т а б л и ц а 1
Содержание Cu, Co, Mg в испытанных питательных средах

CuSO ₄ ·5H ₂ O		Cu	CoCl ₂ ·6H ₂ O		Co	MgSO ₄ ·7H ₂ O		Mg
μМ	мг/л	мг/л	μМ	мг/л	мг/л	μМ	мг/л	мг/л
0,1 (контроль)	0,025	0,006	0,1 (контроль)	0,025	0,006	1500 (контроль)	370	36
10	2,5	0,6	10	2,4	0,6	4500	1107	108
25	6,3	1,6	25	6,0	1,5	7500	1845	181
50	12,5	3,2	50	11,9	3,0	10500	2583	253
75	18,8	4,8	75	17,9	4,4	15000	3690	362
100	25,0	6,4	100	23,8	5,9	–	–	–

П р и м е ч а н и е. Прочерк – нет данных.

Для оценки влияния ионов металлов использовали различные концентрации $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (табл. 1). Контролем послужила безгормональная среда МС. С целью исключения влияния комбинации различных факторов (таких как сочетание регуляторов роста и минеральных элементов) в эксперименте с ионами металлов брали укорененные *in vitro* растения после двух циклов выращивания на безгормональной питательной среде $\frac{1}{2}$ МС. В эксперименте растения-регенеранты помещали в пластиковые конические пробирки объемом 50 мл с жидкой питательной средой МС, дополненной различными концентрациями солей. Объем питательной среды в пробирке 10 мл (рис. 1, д). Продолжительность эксперимента составляла 45 дней.

Экспланты культивировали в следующих условиях: фотопериод – 16/8 ч свет/темнота, освещенность – 2–3 клк, температура – $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

Для изучения морфогенеза *in vitro* учитывали следующие показатели: коэффициент размножения (шт./экспл.), сырая и сухая биомасса растений (г), длина листьев (мм), % укоренения, количество корней (шт.), длина корней (мм).

Полученные *in vitro* растения-регенеранты акклиматизировали к нестерильным условиям в условиях теплицы в кассетах, заполненных промытым сфагновым мхом. Повышенную влажность воздуха создавали с помощью бытового ультразвукового увлажнителя. По мере роста растения пересаживали в контейнеры большего размера, используя в качестве субстрата промытый сфагновый мох. Для создания холодного периода покоя растения помещали в холодильный шкаф (Polair, Россия) без дополнительного освещения на три месяца, с октября по январь, не допуская пересыхания субстрата.

Для световой и сканирующей электронной микроскопии использовали свежие части растений. Образцы корней брали из средней части корня, образцы листьев – на уровне середины трубки листа.

Для анатомической характеристики листьев и корней *D. californica* делали срезы (25–35 мкм) на микротоме MICROM HM 430 (Thermo Fisher Scientific, Германия) с устройством быстрого замораживания KS34 S (Thermo Fisher Scientific, Германия). Полученные

срезы изучали с помощью светового микроскопа Carl Zeiss Axioscope. A1, оснащенного цифровой камерой AxioCam 506 color и программным обеспечением ZEN2012 (blue edition) (Carl Zeiss Ltd, Великобритания), и флуоресцентного микроскопа Carl Zeiss Primo Star iLED, оснащенного системой фильтров (470 нм), цифровой камерой AxioCam MRc 5 и программным обеспечением AxioVision 4.8 (Carl Zeiss Ltd, Великобритания). Морфологию поверхности листа изучали с использованием стереомикроскопа Carl Zeiss SteREO Discovery.V12 с цветной цифровой камерой высокого разрешения AxioCam HRc и с программой AxioVision 4.8 для получения, обработки и анализа изображений (Carl Zeiss Ltd, UK) и на сканирующем электронном микроскопе Hitachi TM1000 (Japan) at 10 kV.

Растения, культивированные на питательных средах с различными концентрациями химических элементов, однократно промывали в дистиллированной воде, затем сушили одни сутки в темноте при комнатной температуре, после этого – двое суток в термостате (ТС-1/20, СКТБ, Россия) при 45°C . Определение общего количества химических элементов в растениях проводили после сухого озоления методом атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной атомизацией на приборе Квант-2А (Россия). Содержание химических элементов приведено в пересчете на абсолютно сухое вещество. Калибровку приборов и контроль точности измерения концентрации химических элементов выполняли по аттестованным величинам их массовой доли в государственном стандартном образце состава элодеи канадской (ЭК-1) № 8921-2007. Относительная погрешность количественного определения химических элементов в пробах находилась в пределах 10 %. Общую зольность определяли согласно Государственной фармакопее Российской Федерации [2015].

При оценке интенсивности накопления химических элементов органами растений рассчитаны коэффициенты накопления (K_n) – отношение содержания элемента в органах к содержанию в среде. Для классификации элементов по данному коэффициенту использовали выделенные А. И. Перельманом [1989] группы: 1) энергичного накопления ($100 > K_n \geq 10$); 2) сильного накопления ($10 > K_n \geq 1$); 3) слабого накопления и

среднего захвата ($1 > K_n \geq 0,1$); 4) слабого захвата ($0,1 > K_n \geq 0,01$); 5) очень слабого захвата ($0,01 > K_n \geq 0,001$) [Перельман, 1989].

Измерения проводили в двух повторностях по пять растений в эксперименте через 45 дней культивирования.

Статистическую обработку результатов и анализ полученных данных выполняли с использованием программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 6.0 (LSD-test, факторный дисперсионный анализ ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные этапы размножения *in vitro* *D. californica* показаны на рис. 1. Семена прорастали через 2–3 дня культивирования *in vitro* на 0,6%-м водном агаре, всхожесть составила 87 %. Через 45 дней культивирования проростки пересаживали на среду для размножения – МС, дополненную 5 μM БАП и культивировали в течение года с 45-дневным циклом субкультивирования. Наблюдали только прямой органогенез, размножение происходило за счет развития уже имеющихся пазушных меристем. Коэффициент размножения на данной питательной среде составил в среднем $8,32 \pm 1,23$ шт./эксплант. Нами показано, что на среде для размножения формируются ювенальные листья, соответствующие первым настоящим листьям *D. californica* и не относящиеся к плотоядному типу (рис. 1, з). На этапе укоренения использована безгормональная среда МС с уменьшенным вдвое содержанием макроэлементов. Укоренение *in vitro* составило 93 %, количество корней – $2,84 \pm 1,16$ шт., длина корней – $23,85 \pm 3,36$ мм (рис. 1, в). На данном этапе культивирования наблюдали формирование листьев, обладающих всеми признаками ловчего аппарата – кувшинчатые листья с капюшоном и придатками, полупрозрачные пятна (ложные оконца, ареолы) на капюшоне, направленные вниз многочисленные волоски различного строения. Капюшон снабжен пальцевидными короткими волосками, далее в переходной части расположены широкие черепитчатые клетки с вниз направленными верхушками и в воронке-трубке – длинные острые многочисленные волоски, которые не позволяют добыче взобраться на стенку трубки (см. рис. 1, в, рис. 2). Нами показано, что культуральные темпера-

турные условия (24 ± 1 °C) не угнетали рост *D. californica*, в то время как температура почвы выше 10 °C рассматривается как лимитирующий фактор для данного вида растения. Полностью сформированные укорененные растения использовались в дальнейших экспериментах по изучению влияния ионов Cu, Co и Mg на рост и развитие *D. californica* в культуре *in vitro*, а также их накопления тканями растений.

Растения *D. californica*, культивируемые при различных концентрациях CuSO_4 , CoCl_2 и MgSO_4 , продемонстрировали 100%-ю жизнеспособность, при этом значения повреждающих концентраций не было достигнуто в эксперименте (рис. 3). Все растения имели ярко-зеленые листья без признаков некроза, развивались дополнительные побеги. Из различных протестированных концентраций CuSO_4 высокие концентрации (50–100 μM) оказались оптимальными для прироста биомассы. Отмечено также, что растения имели большую длину листьев при CuSO_4 75 μM по сравнению с контролем (табл. 2). Следует отметить, что мы наблюдали снижение биомассы растений примерно в 2 раза при концентрациях CuSO_4 10 и 25 μM по сравнению с контролем и высокими концентрациями этого компонента. Из различных протестированных концентраций Co достоверные отличия от контроля наблюдали только для параметра “длина листьев” при концентрации 50 и 100 μM CoCl_2 (см. табл. 1). При концентрации CoCl_2 50 μM отмечена наименьшая биомасса растений ($0,14 \pm 0,04$ г). Нами показано, что параметры роста и развития растений на всех испытанных концентрациях MgSO_4 не отличались от контрольной среды (см. табл. 2).

При культивировании *D. californica* на питательных средах, существенно различающихся по концентрации солей, в растениях отмечается варьирование в широких пределах содержания химических элементов (табл. 3). Значительные отличия между минимальными и максимальными концентрациями анализируемых химических элементов в растениях не нашли своего отражения в морфологических и анатомических признаках изученных образцов. Превышение принятых нормативов токсических концентраций химических элементов в растениях также не оказало влияния на морфологические показатели *D. californica*.

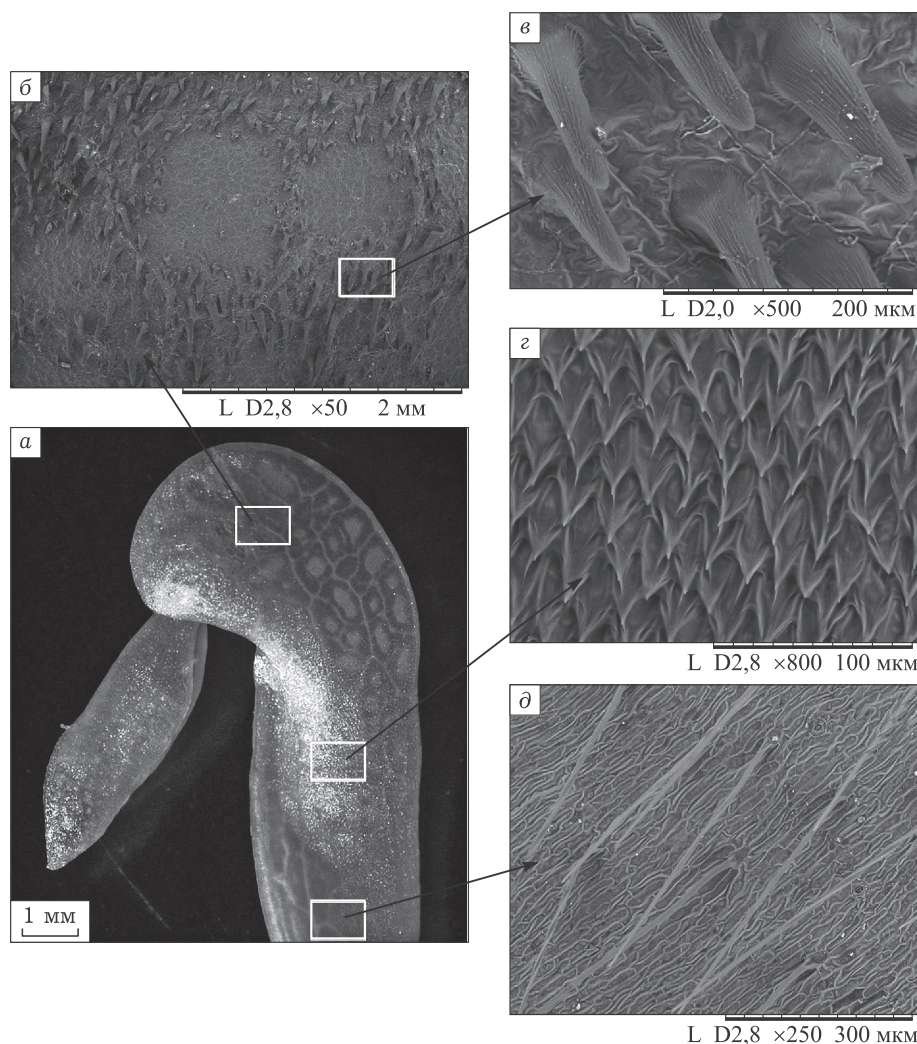


Рис. 2. Строение плотоядного листа растения *D. californica* в культуре *in vitro*. а – кувшинчатый лист с капюшоном и придатками, световая микроскопия, б–д – внутренняя часть листа, сканирующая электронная микроскопия; б, в – капюшон с ареолами и пальцевидными волосками; г – широкие черепитчатые клетки с вниз направленными верхушками в переходной зоне листа; д – длинные острые волоски в трубке листа

Нами отмечена прямая сильная корреляционная зависимость накопления ионов Cu, Co и Mg в растениях *D. californica* в зависимости от их содержания в питательных средах (рис. 4). В то же время значения концентраций Cu и Co в растениях были намного ниже порогового значения гипераккумуляции. Максимальное накопление ионов отмечено через 45 дней культивирования – 138,24 мг/кг Cu, 249,92 мг/кг Co и 4722,26 мг/кг Mg. Количественной мерой интенсивности накопления химических элементов растениями является коэффициент накопления (K_n), отражающий степень биофильности элементов, а также ин-

тенсивность их вовлечения в биологический круговорот. На основании полученных данных для *D. californica* элементом энергичного накопления является Cu (K_n 21,7–48,2), сильного накопления – Co (K_n 0,2–2,3), слабого захвата – Mg (K_n 0,002–0,04) (рис. 5).

Корневые волоски не были обнаружены ни у одного исследуемого образца *D. californica*. На срезах корней показана кора, содержащая многочисленные небольшие межклеточные пространства, которая окружает компактный центральный цилиндр с ксилемой и флоэмой. Клетки паренхимы коры содержит хлорофилл. Ризодерма и экзодерма

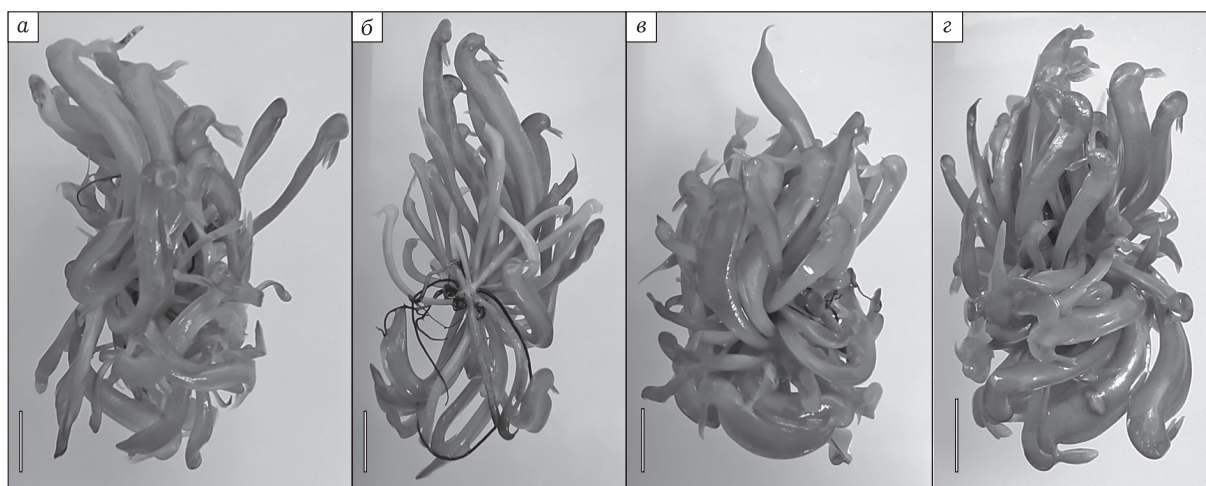


Рис. 3. *D. californica* в культуре *in vitro* при воздействии ионов Cu, Co и Mg.

а – контрольная среда МС; б – среда МС, дополненная 100 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; в – среда МС, дополненная 100 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; з – среда МС, дополненная 15000 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Т а б л и ц а 2

Влияние различных концентраций CoCl_2 , CuSO_4 и MgSO_4 на параметры роста и развития *D. californica* в культуре *in vitro*

Концентрация, μM	Сырая масса, г	Сухая масса, г	Длина листьев, мм	Количество корней, шт.	Длина корней, мм
Контроль	3,18 ± 0,32 ^{ab}	0,24 ± 0,01 ^{ab}	29,07 ± 1,29 ^{bcd}	2,75 ± 0,28 ^{abc}	31,64 ± 2,01 ^{abc}
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$					
10	1,40 ± 0,51 ^c	0,14 ± 0,02 ^c	32,60 ± 2,09 ^{abc}	3,21 ± 0,44 ^{abc}	33,69 ± 2,79 ^{abc}
25	1,64 ± 0,51 ^c	0,15 ± 0,03 ^c	31,50 ± 2,09 ^{abcd}	2,80 ± 0,40 ^{abc}	34,50 ± 2,91 ^{abc}
50	2,23 ± 0,50 ^{abc}	0,17 ± 0,03 ^{bc}	30,60 ± 2,09 ^{abcd}	2,42 ± 0,41 ^{abc}	33,40 ± 3,18 ^{abc}
75	2,66 ± 0,52 ^{abc}	0,23 ± 0,03 ^{ab}	36,22 ± 2,21 ^a	3,23 ± 0,39 ^{abc}	33,81 ± 3,18 ^{abc}
100	2,45 ± 0,51 ^{abc}	0,21 ± 0,03 ^{abc}	32,54 ± 1,99 ^{abc}	3,45 ± 0,37 ^{ab}	30,42 ± 3,18 ^{abc}
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$					
10	2,25 ± 0,51 ^{abc}	0,22 ± 0,04 ^{abc}	28,00 ± 1,83 ^{cd}	2,20 ± 0,44 ^{bc}	26,77 ± 3,35 ^{abc}
25	3,10 ± 0,50 ^{ab}	0,25 ± 0,03 ^{ab}	35,70 ± 2,10 ^{ab}	3,61 ± 0,44 ^a	38,81 ± 3,03 ^a
50	1,42 ± 0,50 ^c	0,14 ± 0,04 ^c	36,10 ± 2,10 ^a	2,62 ± 0,40 ^{abc}	33,18 ± 3,0 ^{abc}
75	2,43 ± 0,51 ^{abc}	0,20 ± 0,05 ^{abc}	32,70 ± 2,10 ^{abc}	2,40 ± 0,45 ^{abc}	34,90 ± 3,18 ^{abc}
100	2,02 ± 0,52 ^{bc}	0,31 ± 0,07 ^a	36,90 ± 2,10 ^a	3,44 ± 0,42 ^{ab}	35,91 ± 2,91 ^{ab}
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$					
4500	3,29 ± 0,51 ^{ab}	0,24 ± 0,03 ^{ab}	33,30 ± 2,10 ^{abc}	2,61 ± 0,39 ^{abc}	24,81 ± 3,03 ^{bc}
7500	3,22 ± 0,51 ^{ab}	0,24 ± 0,04 ^{ab}	27,40 ± 2,10 ^{cd}	2,40 ± 0,44 ^{abc}	22,02 ± 3,03 ^c
10500	2,36 ± 0,5 ^b	0,22 ± 0,03 ^{ab}	25,62 ± 2,34 ^d	2,01 ± 0,49 ^c	23,28 ± 3,81 ^{bc}
15000	3,51 ± 0,50 ^a	0,28 ± 0,06 ^a	26,70 ± 2,10 ^{cd}	3,60 ± 0,43 ^a	37,92 ± 2,79 ^a

П р и м е ч а н и е. Данные представлены в виде средних значений ± стандартная ошибка. Средние значения, за которыми следует одна и та же буква, существенно не отличаются, тест LSD при уровне вероятности 0,05 %.

Т а б л и ц а 3

Содержание химических элементов в растениях *D. californica* в культуре *in vitro*

Химический элемент, мг/кг	min	max	M ± t (без добавления солей)	Кларк в растениях суши [Романкевич, 1988]	Содержание в листьях различных растений [Kabata-Pendias, 2011]	
					нормальное	токсичное
Cu	0,9	138,3	1,3 ± 0,1	10	5–30	20–100
Co	0,61	249,92	1,12 ± 0,09	1,0	0,02–1,00	15–50
Mg	1099	4722	1307 ± 51	3200	–	–
Зола, %				9,5 ± 0,8		

П р и м е ч а н и е. Прочерк – нет данных.

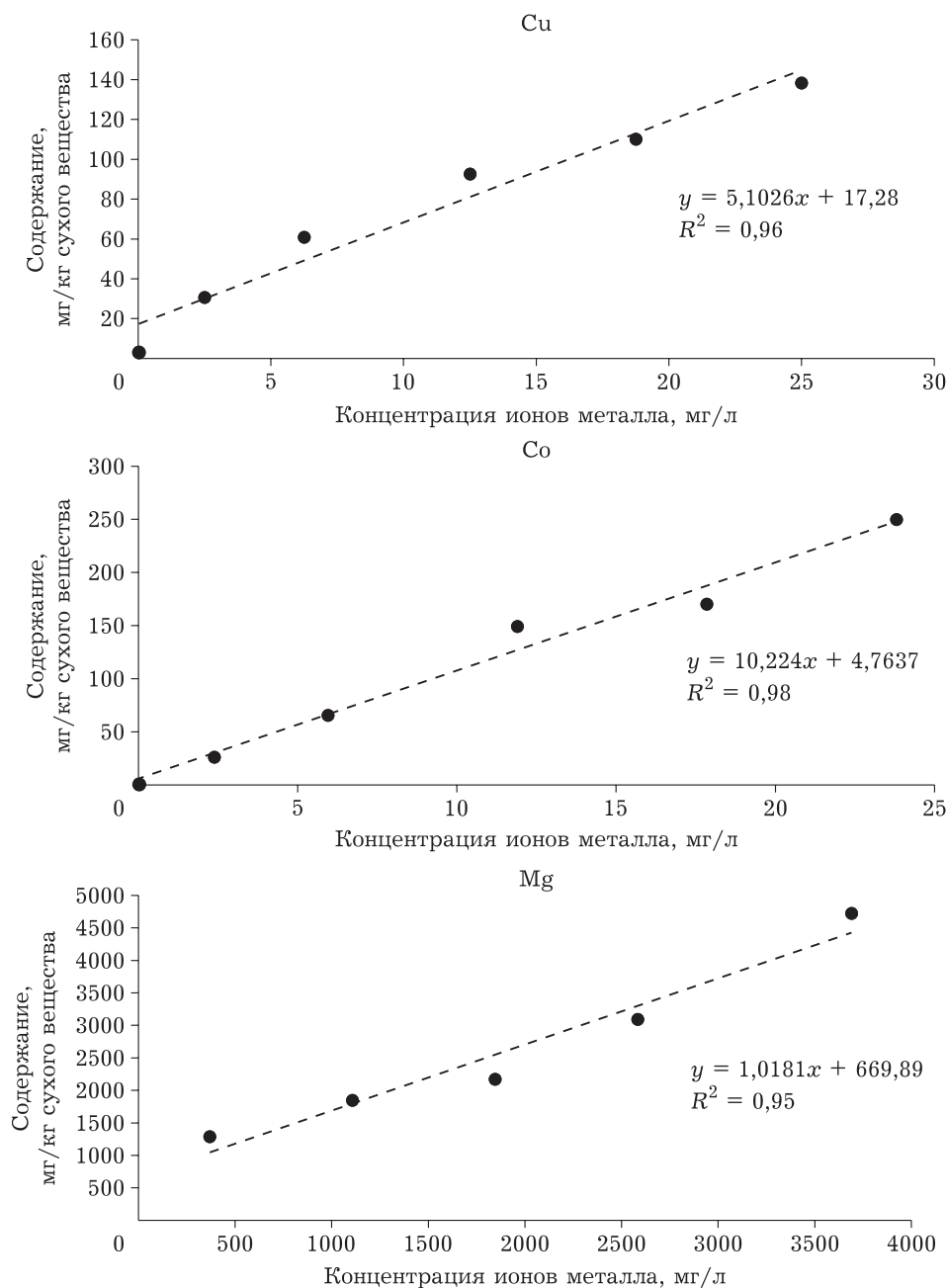


Рис. 4. Зависимость содержания Cu, Co, Mg в растениях *D. californica* от концентрации ионов металла в питательной среде

толстостенные и сильно импрегнированы суберином. Такие клеточные стенки становятся трудно проницаемыми для воды и растворов и выполняют защитные функции. Клетки ризодермы содержат танины, придающие корням темно-коричневый цвет и также выполняющие защитную функцию. Наибольшее количество танинов обнаружено в корнях растений, культивируемых на средах, содер-

жащих $100 \mu\text{M CuSO}_4$. Отличий в анатомическом строении корней контрольных образцов и образцов, культивируемых на различных концентрациях Cu, Co и Mg, нами не выявлено (рис. 6). Морфоанатомический анализ листьев также не показал различий между опытными и контрольными образцами. В наружном эпидермальном слое листьев нами обнаружены многочисленные выделительные

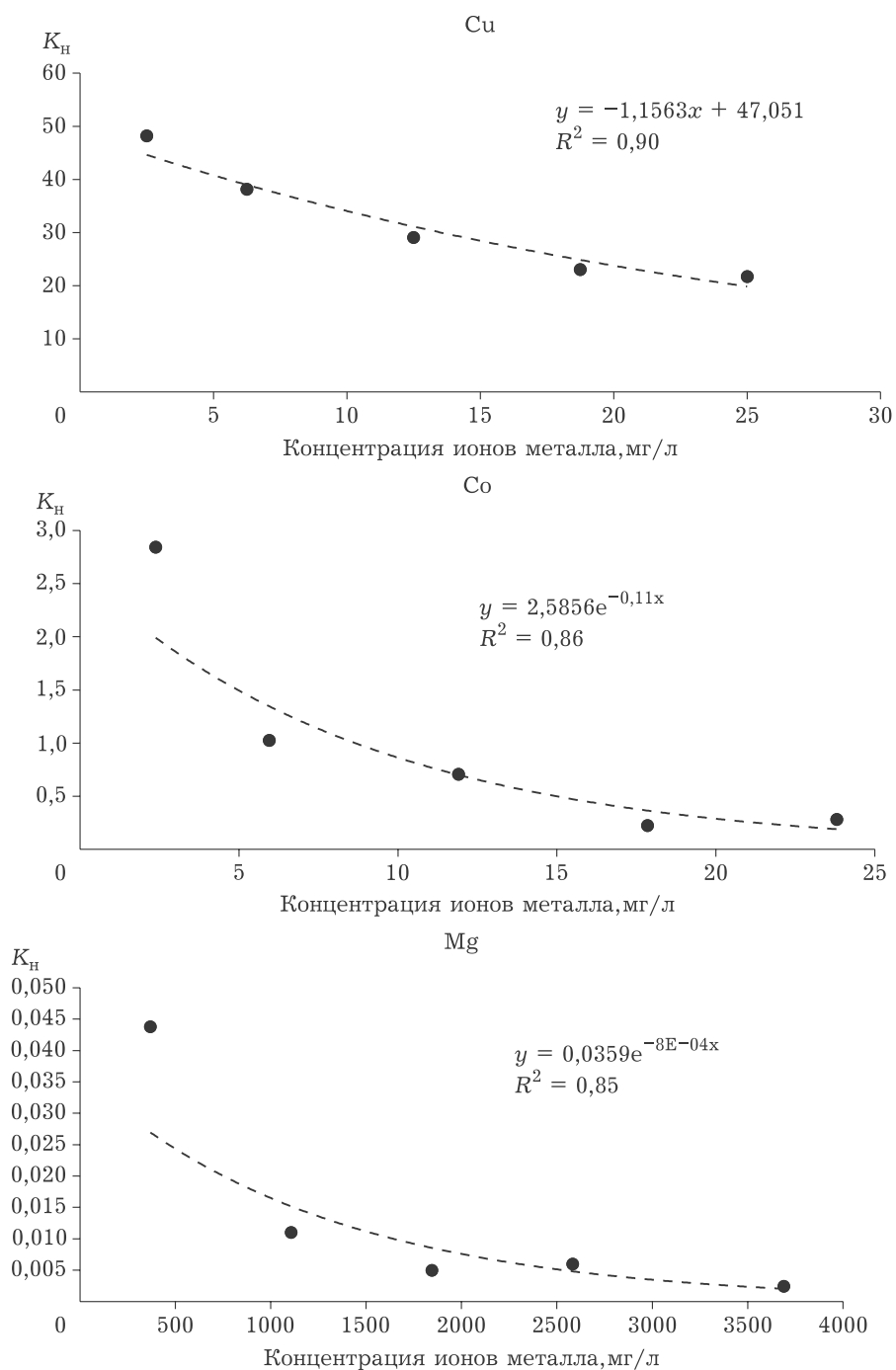


Рис. 5. Коэффициенты накопления (K_n) Cu, Co, Mg в сухом веществе растений *D. californica* в зависимости от концентрации ионов металла в питательной среде

железки (рис. 7), содержимое которых нами не изучалось.

Растения-регенеранты успешно акклиматизированы с использованием сфагнового мха в качестве субстрата (рис. 1, е). Приживаемость растений составила 85 %. В услови-

ях *ex vitro* нами отмечено вегетативное размножение *D. californica* за счет формирования подземных столонов. В культуре *in vitro* размножение происходило по пути развития уже имеющихся пазушных меристем, образование столонов не наблюдали.

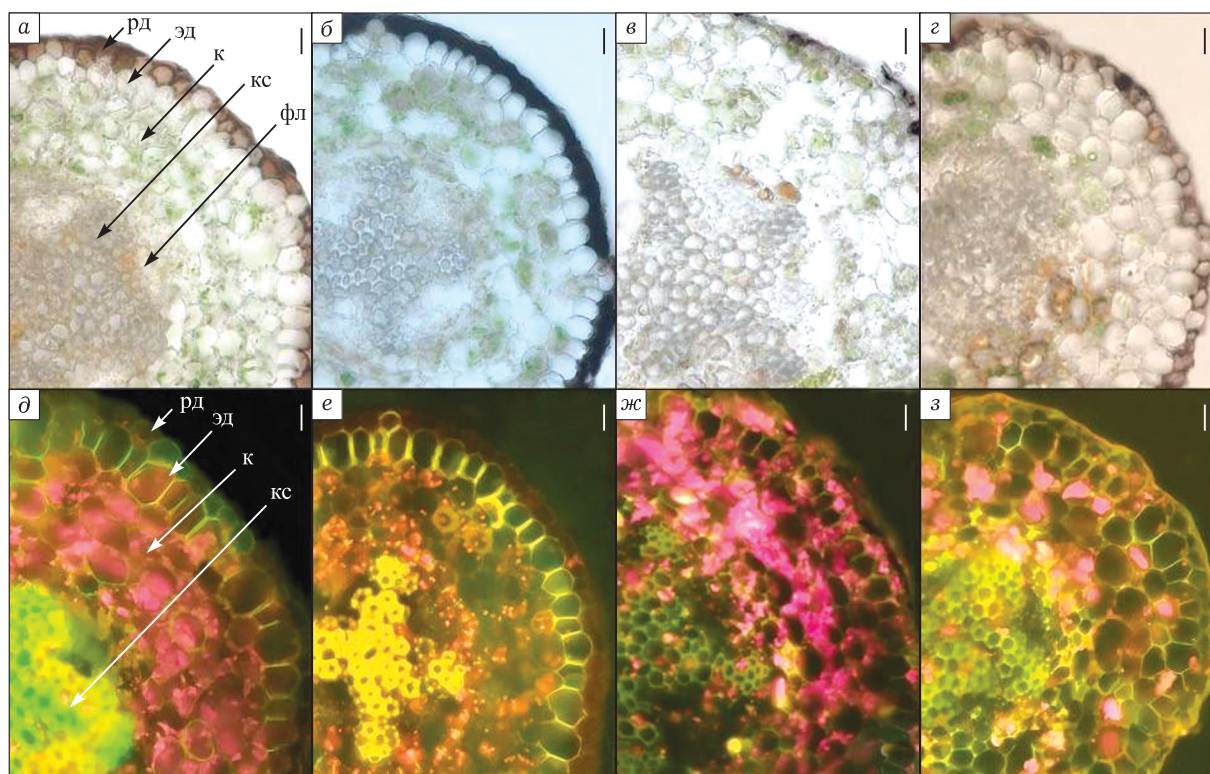


Рис. 6. Анатомическое строение корня растений *D. californica*, культивируемых на различных концентрациях ионов металлов.

а, д – контроль; б, е – 100 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; в, ж – 100 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; г, з – 15000 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. а–г – световая микроскопия; д–з – флуоресцентная микроскопия. рд – ризодерма, эд – экзодерма, к – кора, кс – ксилема, фл – флоэма. Линейка 20 μm

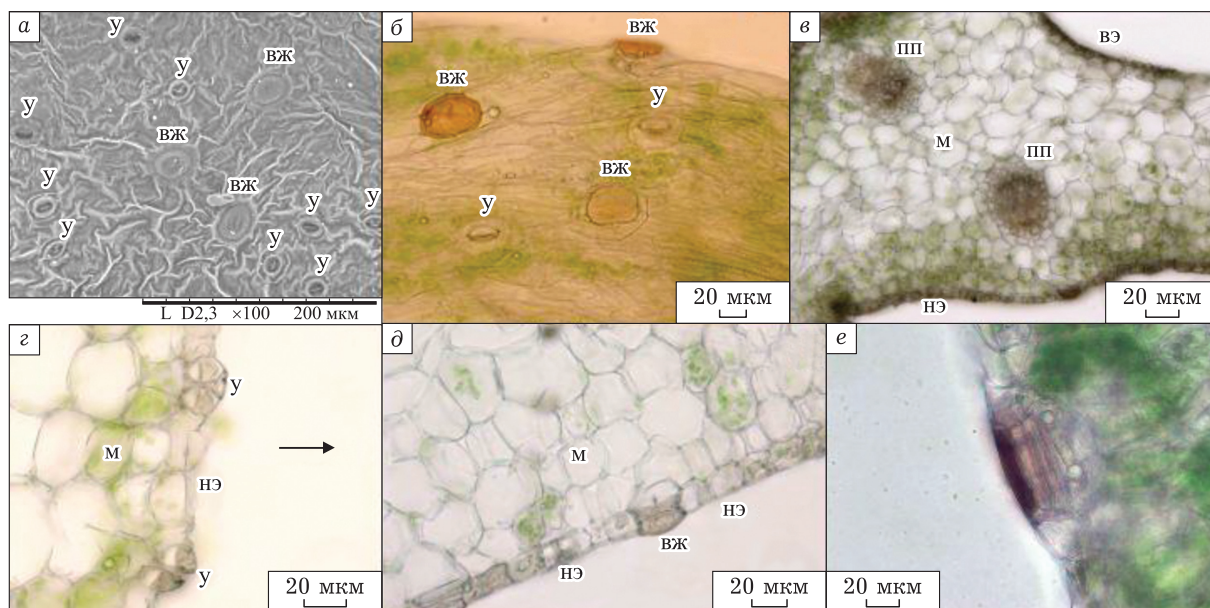


Рис. 7. Морфоанатомическое строение листа *D. californica* в культуре *in vitro*.

Наружный эпидермис листа с устьицами и выделительными железами: а – электронная сканирующая микроскопия, б – световая микроскопия. Поперечный срез листа: в – общий вид, г – устьица; д, е – выделительная железа. у – устьице; вж – выделительная железа; м – клетки мезофилла; пп – проводящий пучок; нэ – наружный эпидермис; вэ – внутренний эпидермис

ОБСУЖДЕНИЕ

Почвы на серпентинитах естественно богаты тяжелыми металлами и представляют собой прекрасную модель для изучения толерантности к ним растений, механизмов их адаптации к загрязнению почв тяжелыми металлами. Большинство тяжелых металлов, таких как Cu, Zn, Fe, Mn, Co, в низких концентрациях являются эссенциальными микроэлементами, необходимыми для нормального роста и развития растений. Дефицит металлов-микроэлементов вызывает пожелтение листьев (Zn), побурение кончиков побегов и хлороз (Cu, Fe), задержку роста (Mn), а иногда гибель растений. Но эти микроэлементы также проявляют цитотоксические эффекты при накоплении в больших количествах [Shahid et al., 2016]. Высокие концентрации химических элементов – фактор стресса, которому противостоит корневая система некоторых плотоядных растений. Например, *D. californica* [Juniper et al., 1989], *Nepenthes rajah* Hook. f. [Gibson, 1983], *N. x alisaputrana* J. H. Adam & Wilcock [Clarke, 2001], *N. villosa* Hook. f. [Kaul, 1982] и *Stylidium* spp. [Darnowski, 2002] произрастают на почвах на серпентиновых породах. Исследователями выдвигаются различные филогенетические гипотезы о происхождении и эволюции устойчивости растений, приуроченных к данным почвам [Kruckeberg, 2006; Sacho et al., 2014]. Эти растения разработали различные стратегии, чтобы избежать или выдержать токсическое влияние тяжелых металлов, и, вероятно, корни здесь играют ключевую роль [Greger, 1999; Meharg, 2005]. Большое количество толерантных к металлам растений избегают поглощения металлов из почвы, тем самым предотвращая перемещение металлов в надземную часть [Viehweger, 2014]. Растения, которые переносят высокие концентрации металлов, могут исключать их из своих тканей или метаболизировать, чтобы свести к минимуму накопление металлов, особенно в надземных органах [Baker, 1981]. В качестве адаптивной реакции на стресс, вызванный металлами, у растений происходят морфологические и метаболические изменения [Jain et al., 2000; Samantaray et al., 2001; Dixit et al., 2002; Shanker et al., 2005].

Анализ содержания Cu, Co, Mg в исследуемых образцах *D. californica* показал, что

данный вид способен произрастать на питательных средах как с низким, так и с высоким содержанием изучаемых химических элементов. Максимальное содержание Cu в исследуемых образцах *D. californica* превышает стандартные значения и соответствует принятым токсичным концентрациям для растений. Сравнивая с относительно устойчивым к токсическим концентрациям меди *Brassica napus* L., следует отметить, что для растений рапса при действии меди в концентрациях 10 и 50 μM наблюдалось ингибирование накопления биомассы корней (за 10 дней составило 24–60 %) и листьев (25–49 %), также наблюдалось сильное снижение содержания воды в последних [Иванова, 2011]. В то же время значения концентраций Cu в растениях были намного ниже порогового значения гипераккумуляции (т. е. 1000 мг/кг). О стимулирующем действии меди в культуре *in vitro* ранее сообщалось для *Elucine coracana* Gaertn. [Kothari et al., 2004], *Stevia rebaudiana* Bertoni [Jain et al., 2009] и *Withania somnifera* (L.) Dunal [Fatima et al., 2011]. Показано, что некоторые виды растений проявляют повышенную потребность в ионах меди и являются купрофитами, например *Haumaniastrum katangense* (S. Moore) P. A. Duvign. & Plancke [Chipeng et al., 2010]. Нами выявлено, что *D. californica* обладает высокой устойчивостью к Cu, но не характеризуется повышенной потребностью в этом элементе и не является гипераккумулятором Cu. Анатомо-морфологические исследования свидетельствуют о большем накоплении танинов в клетках ризодермы в ответ на высокие концентрации Cu. При концентрации 100 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в питательной среде наблюдается превышение токсических концентраций Co в исследуемых образцах в 5 раз. Вместе с тем для почв на серпентиновых породах свойственно высокое содержание Co (валовое содержание 200–226 мг/кг) [Oze et al., 2008], и имеются сведения о высоком содержании Co в растениях этих местообитаний (420 мг/кг в листьях *Homalium kanaliense* (Vieill.) Briq., 270 мг/кг – *Hybanthus austrocaledonicus* (Vieill.) Melch.) [Karataglis et al., 1982]. У высших растений концентрация Co, вызывающая токсичность, сильно различается у разных видов или генотипов внутри одного вида [Vanselow, 1965]. Хотя избыток Co токсичен для большинства растений, гиперакку-

муляторы Co могут накапливать более 0,1 % Co в сухих побегах без каких-либо признаков токсичности [Baker, Brooks, 1989]. Растения разработали несколько стратегий, которые могут активировать ряд защитных систем. Например, лимонная кислота и цистеин участвуют в комплексообразовании ионов Co в суспензионных клетках гипераккумулятора Co *Crotalaria cobalticola* [Oven et al., 2002]. Кобальт не считается незаменимым элементом. Тем не менее он содержится примерно в половине большой выборки опубликованных культуральных сред для растений [George et al., 2008]. Настоящее исследование показывает, что *D. californica* обладает способностью аккумулировать Co. Растение также продемонстрировало сильную толерантность к высокой концентрации Co, проявляя хороший рост после накопления его в 250 мг/кг. При сравнении содержания Mg в растениях *D. californica* на питательных средах с добавлением $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и без добавления солей значительных отличий не отмечается, что является особенностью видов, произрастающих в районах с почвами, сформированными на серпентиновых породах, которые обладают способностью переносить высокие концентрации биодоступного Mg (2812–3738 мг/кг в почве) [Oze et al., 2008]. Кроме того, известно, что Mg является важным питательным элементом, который может снизить токсичность многих ионов в почве. Магний может ослаблять стресс тяжелых металлов за счет снижения отрицательного электрического потенциала и, следовательно, активности ионов металлов на поверхности плазматической мембраны (физико-химическая конкуренция) за счет усиления активности ферментов, участвующих в биосинтезе органических лигандов, и увеличения вакуолярной секвестрации тяжелых металлов за счет увеличения H^+ -насосной активности тонопласта [Rengel et al., 2015]. Растения *D. californica*, культивируемые при различных концентрациях сульфата магния, продемонстрировали 100%-ю жизнеспособность, а значение повреждающей концентрации не было достигнуто в эксперименте.

Следует отметить, что в естественных местах произрастания *D. californica*, кроме высокого содержания тяжелых металлов в почве, сталкивается с экстремальными факторами окружающей среды, такими как вы-

сокая влажность почв, дефицит кислорода корневой системы, низкие значения температуры почвы и низкотемпературные пожары. Влияние этих факторов нашло отражение в морфоанатомическом строении растений. Экологическая адаптация некоторых плотоядных растений к почвам с дефицитом кислорода отражается в анатомии их корней. Кора может быть тонкой и незаметной, практически без экзодермы, как у *Dionaea* [Fraustadt, 1877; Smith, 1931]. Напротив, во внутренней коре может образовываться много заполненных газом межклеточных пространств, которые часто объединяются в лакуны из-за лизиса клеток и, следовательно, обеспечивают аэрацию ткани [Oels, 1879; Freidenfelt, 1904; Guttentberg, 1968]. Это характерно для многих видов *Drosera*, *Pinguicula* и *Sarracenia*. *D. californica* имеет многочисленные небольшие межклеточные пространства, практически вокруг каждой клетки коры [Adlassnig et al., 2005].

Корни *D. californica* сталкиваются и с еще одним видом стресса. Этот вид произрастает только в прохладной проточной пресной воде; таким образом, его корни подвергаются воздействию температуры около 10 °C даже в жаркое время года, когда температура воздуха превышает 25 °C [Juniper et al., 1989]. Эксперименты по выращиванию показывают, что корни абсолютно нуждаются в этой низкой температуре; они погибают при длительном воздействии температуры выше 10 °C, а проростки еще более чувствительны к пониженной температуре. Побег, с другой стороны, не очень чувствителен к высоким температурам [Slack, 2000]. Причиной такой необычайной чувствительности корней к высоким температурам, вероятно, является очень низкая и ограниченная оптимальная температура их ионных насосов в клетках корней [Ziemer, 1973]. Подобные экстремальные специализации к определенной температуре известны и для многих других гигрофитов [Sapper, 1935], но не характерны только для одного органа растения.

Проведенные нами анатомоморфологические исследования показали, что в культуре *in vitro* развиваются растения с полностью сформированными плотоядными листьями. Следует отметить, что на этапе массового размножения при добавлении 5 μM БАП формируются первые настоящие трубчатые

листья неплотоядного типа. Схожие наблюдения сделаны для *Hedysarum theinum* Krasnob. [Erst et al., 2014, 2015], на средах с БАП у этого вида формировались листья, соответствующие ювенильной фазе развития. На контрольных и опытных питательных средах растения-регенеранты обладали признаками экологической адаптации к высокому содержанию тяжелых металлов в окружающей среде – толстостенные и импрегнированные суберином клетки ризодермы и экзодермы корня, накопление танинов клетками ризодермы, отсутствие корневых волосков, наличие многочисленных выделительных железок на наружном эпидермисе листьев. Растения не требовали специфичных культуральных условий, способны расти на богатых по минеральному составу питательных средах (МС) при температуре 24 ± 1 °C и не требуют низких положительных температур для корневой системы. Растения проявили схожие параметры роста и развития на контрольной среде МС и при добавлении высоких концентраций Cu, Co и Mg.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты эксперимента подтвердили данные о высокой экологической устойчивости *D. californica* к высоким концентрациям Cu, Co и Mg в окружающей среде. Прослеживается прямая сильная корреляционная зависимость ($r = 0,95...0,98$) накопления ионов Cu, Co и Mg в растениях в зависимости от их содержания в питательных растворах. Растения *D. californica* способны накапливать ионы Cu (>138 мг/кг сухого вещества) и Co (>249 мг/кг) в концентрациях, превышающих токсические для различных видов растений. Содержание Mg в исследуемых образцах *D. californica* на применяемых питательных средах остается на относительно постоянном уровне (1847–4722 мг/кг). Используемые концентрации Cu, Co и Mg в питательных растворах не оказывали существенного влияния на параметры роста и развития растений *D. californica* в культуре *in vitro*. Проведенные морфоанатомические исследования подтверждают высокий уровень экологической адаптации данного вида к экстремальным условиям. Известно, что если геохимическая обстановка соответствует требованиям рас-

тений, то в элементном химическом составе главным образом отражается влияние генетического фактора. При этом осуществляется генотипическая программа поглощения химических элементов, выдерживается качественный и количественный регламент насыщения тканей ионами [Ильин, Юданова, 1989; Ильин, Сысо, 2001]. Наши данные подтверждают выводы о ведущей роли генетического фактора в формировании элементного химического состава растений.

Работа выполнена в рамках государственного задания № гос. регистрации 121031700309-1 ИПА СО РАН, АААА-А21-121011290027-6 и АА-АА-А21-121011290025-2 ЦСБС СО РАН. При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН “Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте”, УНУ № USU440534.

ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев В. А. Основные факторы накопления химических элементов организмами // Сорос. образоват. журн. 2001. Т. 7, № 8. С. 20–24.
- Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. М., 2015. Т. I. 1470 с.
- Иванова Е. М. Токсическое действие меди и механизмы ее детоксикации растениями рапса: автореф. дис... канд. биол. наук. М., 2011. 26 с.
- Ильин В. Б., Сысо А. И. Микроэлементы и тяжелые металлы в почвах и растениях Новосибирской области. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 226 с.
- Ильин В. Б., Юданова Л. А. Тяжелые металлы в почвах и растениях // Поведение ртути и других тяжелых металлов в экосистемах. Ч. II. Процессы биоаккумуляции и экотоксикология. Новосибирск, 1989. С. 6–47.
- Перельман А. И. Геохимия. М.: Высшая школа, 1989. 528 с.
- Романкевич Е. А. Живое вещество Земли (биогеохимические аспекты проблемы) // Геохимия. 1988. № 2. С. 292–306.
- Сысо А. И. Тяжелые металлы в окружающей среде как угроза растениям, животным и человеку // Агрохимия в XXI веке: материалы Всерос. науч. конф. с междунар. участием, посвящ. памяти академика РАН В. Г. Минеева. Новосибирск, 2018. С. 30–33.
- Сысо А. И., Сиромля Т. И. Химические элементы и их соединения в почвах и растениях нативных и антропогенных экосистем Сибири // Биогеохимия химических элементов и соединений в природных средах: Материалы III Междунар. shk.-семинара молодых исследователей. Новосибирск, 2018. С. 30–33.
- Сысо А. И., Сиромля Т. И. Химические элементы и их соединения в почвах и растениях нативных и антропогенных экосистем Сибири // Биогеохимия химических элементов и соединений в природных средах: материалы III Междунар. shk.-семинара молодых исследователей. Новосибирск, 2018. С. 137–150.

- Теплина А. Ю., Пауков А. Г., Морозова М. В. Аккумуляция Ni представителями семейства Brassicaceae на почвах ультраосновных пород Южного и Среднего Урала // Уч. зап. Петрозавод. гос. ун-та. 2016. № 4 (157). С. 110–117.
- Adlassnig W., Peroutka M., Lambers H., Lichtscheidl I. K. The roots of carnivorous plants // Plant Soil. 2005. Vol. 274. P. 127–140. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-2754-2>
- Baker A. J. M. Accumulators and excluders – strategies in the response of plants to heavy metals // J. Plant Nutr. 1981. Vol. 3, N 1–4. P. 643–654. <https://doi.org/10.1080/01904168109362867>
- Baker A. J. M., Brooks R. R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry // Biorecovery. 1989. Vol. 1. P. 81–126.
- Cacho N. I., Burrell A. M., Pepper A. E., Strauss Sh. Y. Novel nuclear markers inform the systematics and the evolution of serpentine use in *Streptanthus* and allies (Thelypodieae, Brassicaceae) // Mol. Phylogenet. Evolut. 2014. Vol. 72. P. 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.11.018>
- Caldeira M. M. M., Jesus J. V. M. de, Magalhães H. S., Carvalho M. A. S. de, Andrade M. S., Nunes, C. F. Tissue culture applied to carnivorous species // Scientia Agraria Paranaensis. 2021. Vol. 19, N 4. P. 312–320. <https://doi.org/10.18188/sap.v19i4.22193>
- Chipeng F. K., Hermans C., Colinet G., Faucon M. P., Ngongo M., Meerts P., Verbruggen N. Copper tolerance in the cuprophyte *Haumaniastrum katangense* (S. Moore) P. A. Duvern. & Plancke // Plant Soil. 2010. Vol. 328. P. 235–244. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0105-z>
- Clarke C. A Guide to the pitcher plants of Sabah. Natural History Publications, Kota Kinabalu. 2001. 40 p.
- Darnowski D. W. Triggerplants. Rosenberg Publishing. 2002. 92 p.
- Dixit V., Pandey V., Shyam R. Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria // Plant Cell Environ. 2002. Vol. 25. P. 687–690.
- Ernst W. H. O. Evolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation hype // New Phytol. 2000. Vol. 146. P. 357–358.
- Erst A. A., Zhelezniichenko T. V., Novikova T. I., Dorogina O. V., Banaev E. V. Ecological and geographic variability of *Hedysarum theinum* and features of its propagation in vitro // Contemporary Problems of Ecology. 2014. Vol. 7. P. 67–71. <https://doi.org/10.1134/S1995425514010053>
- Erst A. A., Zvyagina N. S., Novikova T. I., Dorogina O. V. Clonal micropropagation of rare species of *Hedysarum theinum* Krasnob. (Fabaceae) and assessment of genetic stability of regenerated plants with ISSR-markers // Rus. J. Genet. 2015. Vol. 51(2). P. 158–162. <https://doi.org/10.1134/S1022795415020076>
- Fatima N., Ahmad N., Anis M. Enhanced in vitro regeneration and change in photosynthetic pigments, biomass and proline content in *Withania somnifera* L. (Dunal) induced by copper and zinc ions // Plant Physiol. Biochem. 2011. Vol. 49, Issue 12. P. 1465–1471. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.08.011>
- Fraustadt A. Anatomie der vegetativen organe von *Dionaea muscipula* Ell. // Cohns Beitrage zur Biologie der Pflanzen. 1877. Vol. 2. P. 27–64.
- Freidenfelt T. Der anatomische Bau der Wurzeln in seinem Zusammenhang mit dem Wassergehalt des Bodens (Studien über die Wurzeln der krautigen Pflanzen II.) // Bibl. Bot. 1904. Vol. 61. P. 1–118.
- George E. F., Hall M. A., Klerk G. J. D. The components of plant tissue culture media I: macro- and micro-nutrients // Plant Propagation by Tissue Culture / Eds.: E. F. George, M. A. Hall, G. J. D. Klerk. Dordrecht: Springer, 2008. P. 65–113. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3_3
- Gibson T. C. On the cultivation of the giant Malaysian pitcher plant (*Nepenthes rajah*) // Carniv. Plant Newslett. 1983. Vol. 12. P. 82–84.
- Greger M. Metal availability and bioconcentration in plants // Heavy metal stress in plants. From molecules to ecosystems / Eds.: M. N. V. Prasad, J. Hagemeyer. Berlin: Springer, 1999. 401 p.
- Guttenberg H. Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. Berlin, Stuttgart: Gebrüder Borntraeger, 1968. 472 p.
- Jain P., Kachhwaha S., Kothari S. L. Improved micropropagation protocol and enhancement in biomass and chlorophyll content in *Stevia rebaudiana* (Bert.) Berton by using high copper levels in the culture medium // Scientia Horticulturae. 2009. Vol. 119, Issue 3. P. 315–319. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.08.015>
- Jain R., Srivastava S., Madan V. K., Jain R. Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane // Indian J. Plant Physiol. 2000. Vol. 5. P. 228–231.
- Juniper B. E., Robins R. J., Joel D. M. The Carnivorous Plants. London: Academic Press Limited, 1989. 353 p.
- Kabata-Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants. Boca Raton; London; New York: Taylor & Francis Group, 2011. 105 p.
- Karataglis S., Babalonas D., Kabasakalis B. The ecology of plant populations growing on serpentine soils. ii Ca/Mg ratio and the Cr, Fe, Ni, co concentrations as development factors of *Buxus sempervirens* L. // Phytol. 1982. Vol. 22. P. 317–327.
- Kaul R. B. Floral and fruit morphology of *Nepenthes lowii* and *N. villosa*, montane carnivores of Borneo // Am. J. Bot. 1982. Vol. 69. P. 793–803.
- Kim J. K., Kim Y. J., Shin S. N., Lee Ch. H. Effect of media components on in vitro propagation of *Darlingtonia californica* // Proc. of the Plant Resources Society of Korea. 2005.
- Kothari S. L., Agarwal K., Kumar S. Inorganic nutrient manipulation for highly improved in vitro plant regeneration in finger millet – *Eleusine coracana* (L.) Gaertn // In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant. 2004. Vol. 40. P. 515–519. <https://doi.org/10.1079/IVP2004564>
- Kruckeberg A. R. Introduction to California soils and plants: serpentine, vernal pools, and other geobotanical wonders. Berkeley (California): University of California Press, 2006. Vol. 86. 280 p.
- Meharg A. A. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloids ions and potential biotechnological applications // Root Physiology: from Gene to Function. Plant Ecophysiology / Eds.: H. Lambers, T. D. Colmer. Dordrecht: Springer, 2005. Vol. 4. P. 163–174. https://doi.org/10.1007/1-4020-4099-7_8
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15 (3). P. 473–497.
- Muszyńska E., Labudda M. Dual role of metallic trace elements in stress biology – from negative to beneficial

- impact on plants // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20 (13). P. 3117. <https://doi.org/10.3390/ijms2013117>
- Oels W. Vergleichende Anatomie der Droseraceen. W. London, Liegnitz, 1879. 34 p.
- Oven M., Grill E., Golan-Goldhirsh A., Kutchan T. M., Zenk M. H. Increase of free cysteine and citric acid in plant cells exposed to cobalt ions // Phytochemistry. 2002. Vol. 60, Issue 5. P. 467–474. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00135-8)
- Oze Ch., Skinner C., Schroth A. W., Coleman R. G. Growing up green on serpentine soils: Biogeochemistry of serpentine vegetation in the Central Coast Range of California // Appl. Geochem. 2008. Vol. 23. P. 3391–3403.
- Rajakaruna N., Boyd R. S. Serpentine Soil. Oxford Bibliographies in Ecology, 2014. <https://doi.org/10.1093/OBO/9780199830060-0055>.
- Rengel Z., Bose J., Chen Q., Tripathi B. N. Magnesium alleviates plant toxicity of aluminium and heavy metals // Crop and Pasture Sci. 2015. Vol. 66. P. 1298–1307. <https://doi.org/10.1071/CP15284>
- Samantaray S., Rout G. R., Das P. Induction, selection and characterization of Cr and Ni-tolerant cell lines of *Echinochloa colona* (L.) *in vitro* // J. Plant Physiol. 2001. Vol. 158. P. 1281–1290.
- Sapper I. Versuche zur Hitzeresistenz der Pflanzen // Planta. 1935. Vol. 23. P. 518–556.
- Shahid A., Ahmad N., Anis M., Alatar A. A., Faisal M. Morphogenic responses of *Rauvolfia tetraphylla* L. cultures to Cu, Zn and Cd ions // Rendiconti Lincei. 2016. Vol. 27. P. 369–374.
- Shanker A. K., Cervantes C., Loza-Tavera H., Avudainayagam S. Chromium toxicity in plants // Environment International. 2005. Vol. 31, Issue 5. P. 739–753. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003>
- Slack A. Carnivorous Plants. Yeovil: MIT-Press, 2000. 240 p.
- Smith C. M. Development of *Dionaea muscipula*. II Germination and seed and development of seedling to maturity // Bot. Gaz. 1931. Vol. 91, N 4. P. 377–394.
- Syso A. I., Kolpashchikov L. A., Ermolov Y. V., Cherevko A. S., Siromlya T. I. Elemental chemical composition of soils and plants in Western Taimyr // Contemporary Problems of Ecology. Vol. 7. P. 636–642 (2014). <https://doi.org/10.1134/S1995425514060146>
- Vanselow A. P. Cobalt // Diagnostic Criteria of Plants / Ed. H. D. Chapman. Quality Printing Company, Abilene, TX, 1965. P. 142–156.
- Viehweger K. How plants cope with heavy metals // Bot. Stud. 2014. Vol. 55. P. 35. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-55-35>
- Ziemer R. R. Some field observations of *Darlingtonia* and *Pinguicula* // Carniv. Plant Newslett. 1973. Vol. 2. P. 25–27.

Accumulation of Cu, Co and Mg ions and its effect on growth of *Darlingtonia californica* Torr. *in vitro*

A. A. ERST¹, M. A. LEBEDEVA^{1, 2}, A. I. SYSO², E. V. BANAIEV¹

¹Central Siberian Botanical Garden SB RAS
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101

E-mail: erst_aa@csbg-nsk.ru, alrus2005@mail.ru, marinamyadelets@yandex.ru

²Institute of Soil Science and Agrochemistry SB RAS
630090, Novosibirsk, Akademik Lavrentiev av., 8/2

E-mail: syso@mail.ru

The present work was carried out to study the reaction of plants *Darlingtonia californica* Torr. on the effect of Cu, Co and Mg ions in *in vitro* culture. For this, the following concentrations of mineral salts were tested: 0.1 (control), 10, 25, 50, 75 and 100 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (which corresponds to 0.006, 0.6, 1.6, 3.2, 4.8 and 6.4 mg/l of water-soluble Cu ions); 0.1 (control), 10, 25, 50, 75 and 100 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (corresponding to 0.006, 0.6, 1.5, 3.0, 4.4 and 5.9 mg/l of water-soluble Co ions) and 1500 (control), 4500, 7500, 10500, 15000 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (corresponding to 36, 108, 181, 253, and 362 mg/l of water-soluble Mg ions). The results showed a direct significant correlation between the accumulation of Cu, Co, and Mg ions in *D. californica* plants depending on their content in nutrient solutions. The maximum accumulation of ions was noted after 45 days of cultivation, Cu – 138.24 mg/kg of dry matter, Co – 249.92 mg/kg and 4722.26 mg/kg Mg. It was shown that the concentrations used did not significantly affect the parameters of plant growth and development in *in vitro* culture. The morpho-anatomical studies confirm the high level of ecological adaptation of this species to extreme conditions. In addition, the plants did not require specific cultural conditions, they are able to grow on nutrient media rich in mineral composition at a temperature of $24 \pm 1^\circ\text{C}$ and do not require low positive temperatures for the root system. The results show that *D. californica* plants are able to accumulate Cu, Co, and Mg ions and tolerate high concentrations of these elements in nutrient media under *in vitro* conditions; however, they are not characterized by an increased need for these elements for normal growth and development.

Key words: carnivorous plants, rare plants, *Darlingtonia californica*, heavy metals, magnesium, clonal micropropagation, leaf and root anatomy.