

УДК 574:615.9+504.5:631.4:[546.47+546.56]

РОЛЬ ЦИНКА В СНИЖЕНИИ ТОКСИЧНОСТИ МЕДИ ДЛЯ РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ В ТЕХНОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ: ОБЗОР

© 2023 г. Э. А. Довлетярова^а, Т. А. Дубровина^а, Е. Л. Воробейчик^б, Ю. А. Крутяков^{с, д},
Х. Санта-Круз^е, К. Яньез^з, А. Неаман^{г, *}

^аДепартамент ландшафтного проектирования и устойчивых экосистем,
Российский университет дружбы народов, Россия 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

^бИнститут экологии растений и животных УрО РАН, Россия 620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

^сМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия 119991 Москва, Ленинские горы, 1

^дНациональный исследовательский центр “Курчатовский институт”,
Россия 123182 Москва, пл. Академика Курчатова, 1

^еФакультет сельскохозяйственных и ветеринарных наук, Университет Винья-дель-Мар,
Чили 2520000 Винья-дель-Мар, ул. Агуа Санта, 7055

^зИнститут биологии, Папский католический университет Вальпараисо,
Чили 2340000 Вальпараисо, просп. Универсидад, 330

^гФакультет сельскохозяйственных наук, Университет Тарапака,
Чили 1000000 Арика, просп. 18 Сентября, 2222

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

Поступила в редакцию 26.04.2023 г.

После доработки 08.06.2023 г.

Принята к публикации 18.07.2023 г.

Обзор посвящен проблеме антагонизма металлов при полиэлементном загрязнении почв выбросами промышленных предприятий. Обсуждается, что известный эффект снижения цинком токсичности меди в водных экосистемах может быть распространен на почву. Описаны результаты нескольких исследований, в которых доказано снижение цинком токсичности меди для растений и микроорганизмов в почвах, загрязненных выбросами медной горнодобывающей промышленности в центральном районе Чили. Рассмотрены механизмы взаимодействия металлов в почвах (модель наземного биотического лиганда, концепция интенсивности/емкости/количества). Обсуждены перспективы дальнейших исследований снижения токсичности меди в техногенно загрязненных почвах.

Ключевые слова: тяжелые металлы, антагонизм элементов, медь, цинк, техногенно загрязненные почвы, искусственно загрязненные почвы

DOI: 10.31857/S0367059723060045, **EDN:** BFLNRE

Загрязнение почв металлами – серьезная угроза для окружающей среды, требующая поиска управляющих решений, в том числе по снижению токсичности металлов в почвах, сохранению экосистемных сервисов и обеспечению производства безопасной сельскохозяйственной продукции. Масштабы загрязнения планеты металлами очень велики: по современному оценкам, на Земле существует уже более 5 млн загрязненных участков общей площадью 20 млн га [1].

Чаще всего выбросы промышленных предприятий загрязняют среду одновременно несколькими металлами. Это обусловлено тем, что, как правило, исходное сырье содержит не только целевой металл, но и сопутствующие элементы.

Например, используемые для добычи меди сульфидные руды включают также и другие халькофильные элементы (т.е. ассоциированные с природными соединениями серы), в частности Zn, As, Cd, Hg и Pb [2]. Поэтому моноэлементное загрязнение можно считать, скорее, исключением, чем правилом.

С точки зрения поведения поллютантов в среде, полиэлементное загрязнение отличается от моноэлементного тем, что в первом случае поступающие с выбросами элементы могут взаимодействовать друг с другом, а не только с уже присутствующими в среде автохтонными элементами и соединениями. Такое взаимодействие может быть трех типов: суммация, усиление токсиче-

ского воздействия (синергизм) и ослабление (антагонизм) [3]. Чаще всего – из-за отсутствия необходимой информации – “по умолчанию” принимают модель суммации, реже рассматривают синергизм [4–6], еще реже – антагонизм [6, 7]. Тем не менее последний вариант важен, поскольку может найти практическое применение за счет использования положительных эффектов снижения токсичности целевого поллютанта элементами-антагонистами. Данный обзор посвящен именно этому аспекту взаимодействия металлов при полиэлементном загрязнении – их антагонизму.

В обзоре основное внимание уделено загрязнению почв медью. Хорошо известно, что медь – жизненно необходимый элемент для растений, животных и микроорганизмов, но он может быть токсичным, если присутствует в среде в высоких концентрациях. Обзор базируется на пока немногочисленных экспериментальных данных для почв, загрязненных выбросами медной горнодобывающей промышленности в центральном районе Чили.

Рассмотрение антагонизма металлов невозможно без более широкого взгляда на проблему. Поэтому мы обсуждаем различия токсических эффектов, возникающих в искусственно и техногенно загрязненных почвах. Кроме того, рассматриваем, какой именно пул металлов (свободные ионы, обменная фракция или валовое содержание) лучше всего детерминирует токсичность меди в почве по отношению к растениям и микроорганизмам. Также мы намечаем перспективы дальнейших исследований, в том числе с точки зрения практического применения.

Оговоримся, что для обозначения рассматриваемой группы загрязняющих веществ используют разные термины – “тяжелые металлы”, “следовые элементы”, “потенциально токсичные элементы” и др. Хотя в научной литературе и регламентирующих природоохранную деятельность документах наиболее распространен термин “тяжелые металлы”, он не рекомендован Международным союзом теоретической и прикладной химии (IUPAC) из-за своей неопределенности [8]. Другие термины пока не стали общепотребимыми и также критикуются [9]. Поэтому далее в работе для краткости использован относительно нейтральный термин “металл” для обозначения потенциально токсичных металлов.

МОДЕЛИ БИОТИЧЕСКОГО ЛИГАНДА

Теоретической основой для анализа механизмов взаимодействия металлов служит модель биотического лиганда (Biotic Ligand Model, BLM) [10]. Первоначально она была разработана для водных систем применительно к ионам Ca^{2+} ,

Na^+ , Cl^- , HCO_3^- и др. [11]. В дальнейшем область применения BLM была расширена за счет анализа поведения металлов в водной среде. В частности, BLM использовали для количественной оценки влияния химического состава водной среды на биодоступность металлов и их переход из одной формы в другую. Под биотическими лигандами понимаются точки абсорбции поллютантов, например участки на поверхности жабр (у водных организмов именно жабры – основной орган-мишень, через который металлы проникают в организм [12]). Применительно к рассматриваемому нами случаю катионы других металлов могут конкурировать с Cu^{2+} за биотические лиганды и тем самым снижать ее токсичность.

Эмпирической основой для обсуждаемой теоретической конструкции послужили многочисленные данные о снижении цинком токсичности меди для водных организмов. Так, протекторное действие цинка было продемонстрировано для фитопланктона [13], ряски [14, 15], моллюсков [16] и рыб [17]. Кроме того, для условий гидропоники показано, что цинк может снижать токсичность меди и в отношении наземных растений, в частности салата-латука [18–20].

По аналогии с BLM для почв была предложена модель наземного биотического лиганда (Terrestrial Biotic Ligand Model, TBLM) [21]. Однако почва более сложная система по сравнению с водной средой из-за наличия нескольких фаз – твердой, жидкой и газообразной. Поэтому в почвах более сложны и механизмы взаимодействия металлов. Они будут рассмотрены далее при обсуждении концепции интенсивности/емкости/количества.

Важно подчеркнуть, что TBLM тестировали только на искусственно загрязненных почвах, т.е. исходно чистых и загрязненных специально в ходе экспериментов [22]. Как мы обсуждаем ниже, существуют значительные трудности при экстраполяции результатов работ с искусственно загрязненными почвами на реальные условия загрязнения почв от выбросов промышленных предприятий [23].

ИСКУССТВЕННО И ТЕХНОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫЕ ПОЧВЫ

Несмотря на чрезвычайно большое число работ по токсичности металлов в почвах, их большинство базируется на лабораторных или натуральных экспериментах с искусственным загрязнением субстратов. Обычная схема таких экспериментов включает добавление в исходно незагрязненную почву растворимых солей металлов, причем чаще всего формируют серию вариантов с увеличивающимися концентрациями. Однако исследователи неоднократно обнаруживали очень большие – иногда на порядки величин – различия между

оценками токсичности, которые получены в экспериментах с искусственно и техногенно загрязненными почвами. В наших обзорах [24, 25] были обобщены результаты экотоксикологических исследований, оценивавших концентрации половинного эффекта (полуэффективные концентрации) металлов для растений и микроорганизмов, полученные с использованием искусственно и техногенно загрязненных почв. На рис. 1 представлен пример для откликов растений в качестве индикатора токсичности: в среднем значения EC_{50} меди (валовое содержание) в искусственно загрязненных почвах были существенно и статистически значимо ниже, чем в техногенно загрязненных.

Данное несоответствие экотоксикологи связывают с тем, что токсичность зависит от времени пребывания металла в почвах — процесса, называемого “старением” [26]. Действительно, при искусственном загрязнении металлы находятся в почве, как правило, несколько месяцев, редко — несколько лет, тогда как на территориях, подверженных загрязнению от выбросов промышленных предприятий, — несколько десятилетий, иногда даже столетий. Хотя концепция “старения” металлов в почвах была предложена еще в 1990-е годы [27], до сих пор нет полного понимания физических, химических и биологических процессов, которые управляют превращением ионов металлов в менее мобильные или так называемые “фиксированные” формы [26]. Возможными причинами “старения” металлов могут быть сорбция металлов на неорганических и органических компонентах твердой фазы почвы, а также осаждение металлов в виде малорастворимых форм. Для этих процессов необходим длительный промежуток времени, исчисляемый годами и десятилетиями.

Еще одна возможная причина расхождений оценок токсичности на основе экспериментов с искусственно и техногенно загрязненными почвами — исходно разная химическая форма металлов, вносимых искусственно и поступающих с промышленными выбросами. Например, в одной из наших работ [28] результаты электронно-зондового микроанализа показали, что основные фазы-носители мышьяка в исследованных техногенно загрязненных почвах — это малорастворимые оксиды железа и сульфиды меди. В то же время в искусственно загрязненных почвах, как правило, добавляют растворимые соединения мышьяка (арсенат калия или натрия) [29].

Аналогична ситуация с различием реакции искусственно и техногенно загрязненных почв на внесение различных мелиорантов. Например, в экспериментах с искусственным загрязнением субстратов добавление в почву сульфата кальция снижало токсичность кадмия [30] и свинца [31] для растений, возможно, из-за антагонистиче-

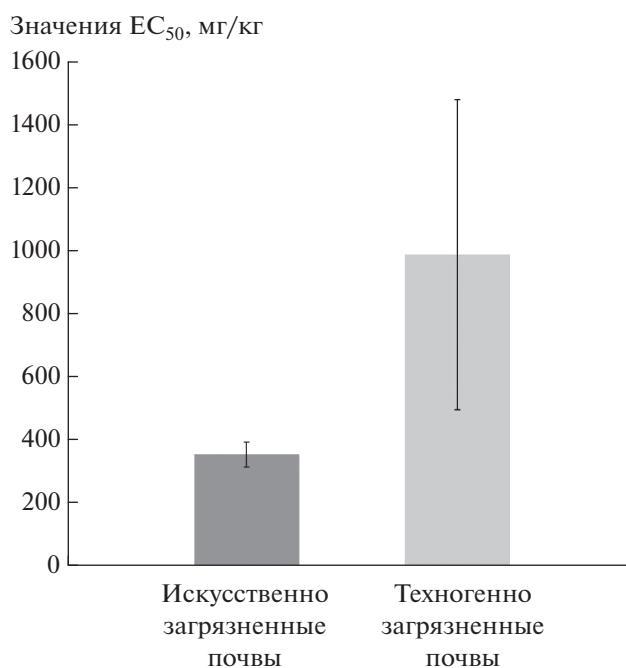


Рис. 1. Сравнение средних полуэффективных концентраций (EC_{50}) меди (валовое содержание) для откликов растений в искусственно ($n = 4$) и техногенно ($n = 7$) загрязненных почвах (ANOVA: различия статистически значимы, $p < 0.05$) по данным обзоров [24, 25]. Планки погрешностей — стандартное отклонение.

ского взаимодействия кальция с ионами металлов. Однако эксперименты с использованием техногенно загрязненных почв показали, что добавление в почву сульфата кальция наоборот увеличило токсичность металлов для растений [32]. Этот результат может быть связан с тем, что кальций вытесняет катионы металлов из почвенного поглощающего комплекса, а поскольку сульфат кальция, в отличие от карбоната кальция [33], не повышает pH почвы, не происходит иммобилизации металлов. Поэтому добавление в почву сульфата кальция увеличило доступность металлов для растений в техногенно загрязненных почвах.

Оба примера — по разнице оценок полулетальных концентраций и снижению токсичности мелиорантами — подчеркивают приоритет для экологических исследований использования нативных почв, подверженных многолетнему поступлению промышленных выбросов, по сравнению с искусственно загрязненными субстратами. Это важно и для изучения поведения металлов в почвах, и поиска закономерностей их транслокации в растения и почвообитающие организмы, и выявления факторов биодоступности и токсичности металлов [34, 35]. Хотя многие исследователи декларируют важность использования именно техногенно загрязненных почв в экотоксикологических исследованиях [36], в большинстве случаев, к сожалению,

такой подход остается лишь декларацией и редко реализуется на практике.

Одна из причин такой ситуации связана со сложностью вычленения вкладов отдельных металлов в общую токсичность почвы. В некоторой степени преодолеть эту сложность позволяет детальный анализ химического состава тканей организмов. Например, для условий полиметаллического загрязнения с превалированием меди было продемонстрировано [37], что ответные реакции растений теснее всего коррелировали с концентрацией именно меди в тканях, тогда как корреляция с другими металлами была слабой. Другой подход к выявлению ведущего токсиканта заключается в сравнении регрессионных зависимостей реакции организмов от содержания разных элементов в почве. Например, в экспериментах с дождевым червем *Eisenia fetida* линейный регрессионный анализ показал, что количество продуцируемых коконов связано с валовым содержанием в почве мышьяка, а не других элементов [38]. Этот результат оказался неожиданным, поскольку предполагалось, что в загрязненных выбросами медной промышленности почвах наиболее токсичной будет медь.

К сожалению, далеко не всегда на основе таких подходов удастся выявить ведущий токсикант в случае полиметаллического загрязнения. Часто реакции объектов биоты в экотоксикологических экспериментах одинаково хорошо коррелируют с содержанием нескольких металлов в почве [39, 40].

ПОЧВЕННЫЕ ПУЛЫ МЕТАЛЛОВ

Хорошо известно, что валовое содержание элементов питания в почвах недостаточно для прогнозирования их потенциальной доступности для растений [41]. Это же касается и металлов: общепринято, что их валовое содержание недостаточно для прогнозирования потенциальной токсичности субстратов [42]. Существует много примеров, когда при очень высоком валовом содержании металлов в почве не было проявлений токсичности. Приведем один из них, касающийся почв, загрязненных деятельностью Каргалинских рудников в Оренбургской области, где в XVIII–XX вв. велась добыча и выплавка меди [43]. До сих пор на поверхности почв обнаруживаются осколки медной руды, содержащей малахит ($\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$). Оказалось, что, несмотря на чрезвычайно высокое валовое содержание меди в исследованных почвах (~10 г/кг), концентрация ее обменной формы была очень низкой (<0.5 мг/кг) [44]. Показательно, что высокое валовое содержание меди в исследованных почвах не влияло на рост растений: такая низкая фитотоксичность загрязненных почв может быть объяснена слабой растворимостью малахита [44].

В течение последних десятилетий неоднократно предпринимались попытки прогнозировать содержание в почве биодоступной фракции металлов путем анализа корреляций между откликами организмов и различными пулами металлов в почве [45]. К настоящему времени достигнут консенсус в том, что обменные формы металлов, т.е. фракция, извлекаемая химически неагрессивными нейтральными солями (например, 0.05 М раствором CaCl_2 или 0.01 N раствором KNO_3), наиболее информативны для оценки их токсичности в почвах [46]. Например, при работе с техногенно загрязненными почвами на основе анализа корреляций между концентрациями и откликами растений было установлено [47], что именно обменная форма меди в почве – лучший индикатор фитотоксичности по сравнению с валовым содержанием и другими пулами этого элемента в почве. Альтернативный подход к оценке потенциальной токсичности заключается в использовании показателя активности свободных ионов металла в почвенном растворе [48].

С другой стороны, нельзя игнорировать и другие пулы металлов. В обзоре [25] представлены результаты исследований, анализирующих корреляции между откликами разных объектов биоты и основными пулами металлов в почве. Хотя полученные данные противоречивы, большинство рассмотренных в обзоре [25] исследований демонстрируют, что по валовому содержанию металлов также можно предсказывать отклики растений и микроорганизмов, причем почти столь же успешно, как и в случае биодоступных фракций (свободные ионы, водорастворимые и обменные формы). Ниже мы обсудим, как эти результаты согласуются с концепцией интенсивности/емкости/количества.

КОНЦЕПЦИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ/ ЕМКООСТИ/КОЛИЧЕСТВА

Концепция интенсивности/емкости/количества исходно была предложена для описания процессов поглощения питательных элементов растениями [49]. В ней интенсивность – концентрация элемента в почвенном растворе, количество – валовое содержание элемента в почве, а емкость – буферная способность почвы, определяющая кинетику высвобождения ионов из твердой фазы почвы в почвенный раствор. Считается, что находящиеся в почвенном растворе металлы доступны корням в любой момент времени.

Таким образом, поглощение элементов растениями зависит не только от их концентраций в почвенном растворе (интенсивности), но также от валового содержания элементов в почве (количества) и кинетики их высвобождения из твердой фазы почвы в почвенный раствор (емкости). Это

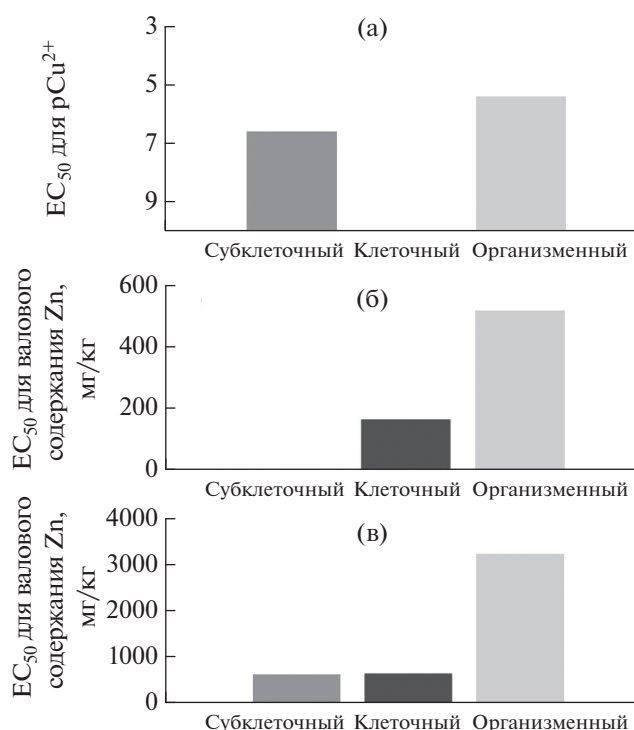


Рис. 2. Сравнение полуэффективных концентраций (EC_{50}) для откликов разных уровней биологической организации в техногенно загрязненных почвах: а – EC_{50} активности меди для откликов *Helianthus annuus* [71], б – EC_{50} валового содержания цинка для откликов *Eisenia fetida* [72], в – для *Lumbricus rubellus* [51]. Значения для pCu^{2+} представлены в обратном порядке, чтобы подчеркнуть, что более высокий столбик означает более высокую активность свободного иона Cu^{2+} .

же верно и для фитотоксичности металлов в почве, которая таким же образом определяется факторами интенсивности/емкости/количества [39]. Логично предположить, что те же факторы влияют на токсичность металлов не только для растений, но и для обитающих в почве микроорганизмов.

Итак, токсичность металлов в почве может зависеть от различных пулов металлов. В конечном итоге поглощение металлов корнями и их токсичность для растений зависят от содержания ионов металлов в почвенном растворе. Однако высвобождение ионов в почвенный раствор определяется валовым содержанием металлов и факторами, контролирующими кинетику их перехода из твердой фазы в жидкую. Именно по этой причине валовое содержание металлов может предсказывать отклики растений и микроорганизмов столь же хорошо, как и биодоступные фракции.

СРАВНЕНИЕ ЭКОТОКСИЧНОСТИ МЕДИ И ЦИНКА

Единичное значение эффективной концентрации для конкретного вида организмов и конкретного параметра отклика явно недостаточно для сравнения экотоксичности разных металлов. Надежнее усреднять значения эффективных концентраций для разных видов и разных показате-

лей отклика [50]. В табл. 1 приведены усредненные данные по экотоксичности меди и цинка в техногенно загрязненных почвах, базирующиеся на материалах обзора [25]. Под “экстрагируемыми” формами подразумеваются данные, которые авторы выразили в мг/кг почвы, а под “растворимыми” – в мкг/л почвенного раствора или экстрагента; pMe^{2+} – это отрицательный десятичный логарифм активности иона Cu^{2+} или Zn^{2+} (как и в случае pH, более низкое значение pMe^{2+} соответствует более высокой активности свободного иона металла).

Данные разных исследований (см. табл. 1) были очень вариabельными, а при их агрегации обнаружено много пробелов, что не позволило выявить статистически значимые различия для всех сравнений. Тем не менее можно утверждать, что цинк менее токсичен для растений и беспозвоночных по сравнению с медью. Данные по активности свободных ионов также подтверждают эту тенденцию (но нам известно лишь единственное исследование, в котором эффективные уровни оценены для свободных ионов цинка). Для микроорганизмов такой анализ провести невозможно из-за недостатка данных.

С другой стороны, подход с “тотальным” усреднением полуэффективных концентраций

Таблица 1. Эффективные концентрации (EC₁₀ и EC₅₀) различных почвенных пулов меди и цинка для растений и беспозвоночных в техногенно загрязненных почвах, учитывающая все уровни организации живого и только организменный уровень, на основании данных обзора [25]

Металл	Все уровни организации				Только организменный уровень биологической организации			
	растения		беспозвоночные		растения		беспозвоночные	
	EC ₁₀	EC ₅₀	EC ₁₀	EC ₅₀	EC ₁₀	EC ₅₀	EC ₁₀	EC ₅₀
	Валовое содержание, мг/кг							
Cu	369 ± 151	987 ± 491	233 ± 218 A**	458 ± 461 A***	391 ± 139	991 ± 489	253 ± 187 A*	544 ± 494 A***
Zn	217	1561 ± 2987	716 ± 295 B**	1779 ± 1091 B***	217	1472 ± 3154	716 ± 295 B*	2294 ± 1343 B***
	Экстрагируемая форма, мг/кг							
Cu	–	330 ± 520	–	398	–	330 ± 520	–	398
Zn	–	317 ± 901	–	70 ± 98	–	330 ± 929	–	70 ± 98
	Растворенная форма, мкг/л							
Cu	289 ± 31	382 ± 213 A***	–	–	391	348 ± 232 A**	–	–
Zn	275 ± 177	4117 ± 2052 B***	–	21135 ± 28093	275 ± 177	4117 ± 2052 B**	–	21135 ± 28093
	Активность свободного иона, рМе ²⁺							
Cu	7.3 ± 0.3	6.1 ± 0.3	–	–	6.9	6.1	–	–
Zn	–	3.4	–	–	–	3.4	–	–

Примечание. Приведено среднее арифметическое ± стандартное отклонение. Заглавные буквы в столбце для определенного пула металлов указывают на статистически значимые различия между металлами (* p < 0.1, ** p < 0.05, *** p < 0.01).

игнорирует концепцию иерархического каскада биологических реакций на вызывающие стресс факторы, согласно которой устойчивость к вызванному металлами стрессу коррелирует с уровнем организации живого [51]. Как правило, низкие уровни (субклеточный, клеточный и организменный) более чувствительны к стрессу по сравнению с более высокими (популяционный и ценотический) [51]. На рис. 2 в усредненном виде представлены значения EC_{50} для различных пулов металлов с учетом разных уровней организации живого. Полученный ряд подтверждает закономерность, выявленную для других стрессоров – увеличение порогов токсичности металлов при повышении уровня организации живого: субклеточный < клеточный < организменный.

Таким образом, усреднение значений эффективных концентраций для параметров разных уровней организации живого может искажать оценки токсичности металлов. Однако большинство исследований токсичности меди и цинка касаются откликов только организменного уровня, а работ на других уровнях недостаточно для их отдельного анализа [25]. Тем не менее анализ данных только для организменного уровня не изменил интерпретацию результатов табл. 1, позволяя утверждать, что цинк менее токсичен для растений и беспозвоночных по сравнению с медью.

АНТАГОНИЗМ МЕДИ И ЦИНКА

Взаимодействие цинка с другими металлами относительно хорошо изучено на клеточном и организменном уровнях. Известно, что цинк способен противодействовать окислительному стрессу, вызванному кадмием [52–55]. Он может защищать липиды от окислительной дегградации, вызванной кадмием и медью, а также может увеличивать биосинтез антиоксидантных ферментов [15, 56, 57]. Высказано предположение [58], что Zn^{2+} может конкурировать с Cu^{2+} за одни и те же функциональные группы клеточных мембран или белков. Следствием этого может быть то, что Zn^{2+} ингибирует поглощение Cu^{2+} растениями [59]. Физико-химические свойства Cu^{2+} и Zn^{2+} близки [60], что и объясняет их антагонистические взаимодействия.

В работе [61] показано, что использование содержащих цинк удобрений подавляет поглощение меди растениями риса, т.е. демонстрирует антагонистическое взаимодействие между цинком и медью. К сожалению, исследований взаимодействия цинка с металлами в загрязненных почвах мало. Нам известны только три работы, использующие техногенно загрязненные почвы и непосредственно рассматривающие протекторное действие цинка в отношении токсичности меди. Рассмотрим подробнее результаты этих исследований.

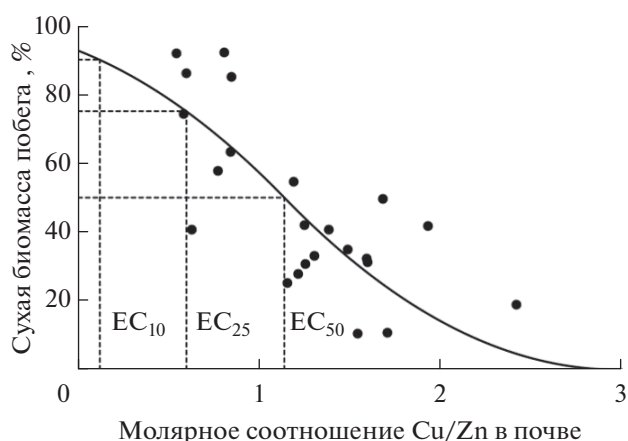


Рис. 3. Сухая масса побега фасоли в зависимости от молярного соотношения Cu/Zn по данным работы [62].

В работе [62] в качестве параметра отклика была использована эффективность симбиотической азотфиксации бактериями рода *Rhizobium*. Принцип метода очень прост: фасоль выращивали в вегетационных сосудах с перлитом (т.е. без почвы) и орошали стерильным безазотным питательным раствором; далее тестируемые образцы почвы вносили в вегетационные сосуды в качестве инокулята. Поскольку симбиотическая азотфиксация – это единственный источник азота в такой системе, сухую массу побегов можно использовать как критерий ее эффективности. Анализировали сельскохозяйственные почвы, загрязненные выбросами медной горнодобывающей промышленности центрального района Чили.

Известно, что высокие концентрации меди и цинка ингибируют азотфиксацию в почвах, причем медь более токсична по сравнению с цинком. Так, полуэффективная концентрация (EC_{50}) для валового содержания металлов в обогащенных осадком сточных вод сельскохозяйственных почвах по отношению к симбиотической азотфиксации клевера в случае цинка была равна 334 мг/кг, а в случае меди – 99 мг/кг [63]. В другой работе [64] минимальная действующая концентрация цинка по отношению к азотфиксации клевера оказалась еще выше – 614–876 мг/кг. В почвах, тестируемых в обсуждаемой работе [62], в большинстве случаев валовое содержание меди превышало указанный порог токсичности для симбиотической азотфиксации, тогда как валовое содержание цинка было значительно ниже. Это позволило считать, что содержание цинка в изученных почвах не достигает токсичного уровня для симбиотической азотфиксации.

Полученные в работе [62] результаты представлены на рис. 3: выявлена четкая обратная зависимость между сухой массой побега фасоли и молярным отношением Cu/Zn, тогда как связь с

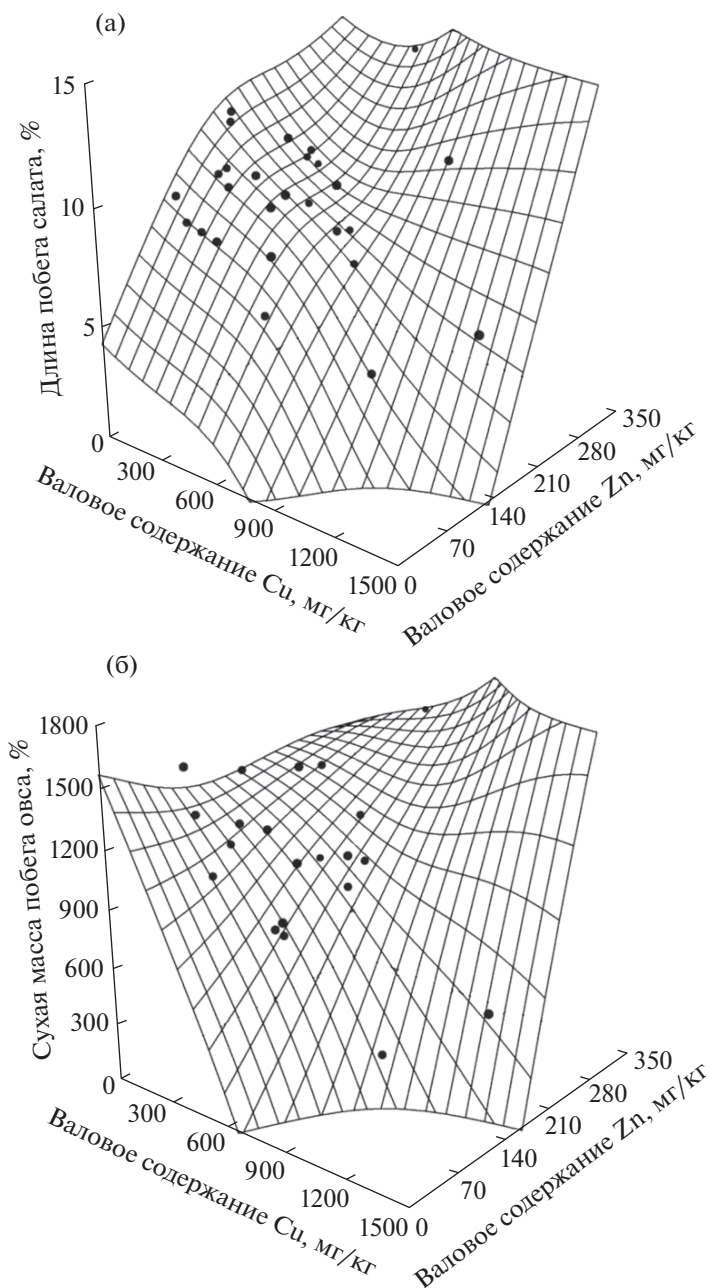


Рис. 4. Зависимость длины побега салата (а) и сухой массы побега овса (б) от валового содержания меди и цинка в почве по данным работы [67].

валовым содержанием меди была статистически незначимой. Другими словами, токсичность начинает проявляться тогда, когда содержание в почве меди уже не “уравновешивается” цинком. Использованное в [62] соотношение Cu/Zn по своему смыслу аналогично соотношению $(Ni + Cu)/(Ca + Mg)$, предложенному в работах [65, 66] для почв, загрязненных выбросами медно-никелевого комбината на Кольском полуострове. Однако в [62] соотношение Cu/Zn лучше

объясняло варьирование параметров отклика по сравнению с соотношениями Cu/Ca и Cu/Mg .

В работах [67] и [68] показано протекторное действие цинка в отношении токсичности меди для ростовых откликов растений. При использовании сельскохозяйственных почв, загрязненных выбросами медной горнодобывающей промышленности в Чили [67], наблюдали отрицательный (токсичный) эффект валового содержания меди в почве и положительный (защитный) эффект валового содержания цинка в почве по отношению

Таблица 2. Регрессионные зависимости ростовых откликов растений от содержания меди и цинка в почве по данным работы [67]

Предиктор	Уравнение регрессии	R^2	p
Салат, длина побега			
Валовая Cu	$10.80 - 0.004 \text{ Cu}$	0.20	0.019
Валовый Zn	Статистически незначимо	—	—
Валовые Cu и Zn	$8.00 - 0.005 \text{ Cu} (p = 0.001) + 0.021 \text{ Zn} (p = 0.003)$	0.45	0.001
Cu/Zn	$11.44 - 0.810 \text{ Cu/Zn}$	0.38	0.001
Овес, длина побега			
Валовая Cu	$10.94 - 0.005 \text{ Cu}$	0.28	0.015
Валовый Zn	Статистически незначимо	—	—
Валовые Cu и Zn	$8.27 - 0.006 \text{ Cu} (p = 0.002) + 0.020 \text{ Zn} (p = 0.013)$	0.49	0.002
Cu/Zn	$11.37 - 0.822 \text{ Cu/Zn}$	0.39	0.003
Овес, сухая масса побега			
Валовая Cu	Статистически незначимо	—	—
Валовый Zn	Статистически незначимо	—	—
Валовые Cu и Zn	$0.13 - 0.0001 \text{ Cu} (p = 0.032) + 0.0006 \text{ Zn} (p = 0.060)$	0.30	0.043
Cu/Zn	$0.22 - 0.022 \text{ Cu/Zn}$	0.23	0.028

Примечание. Указан коэффициент детерминации (R^2) и уровень значимости (p).

к росту побегов салата и овса (рис. 4, табл. 2). Эти результаты также послужили основанием для рекомендации использовать молярное отношение Cu/Zn в почве в качестве предиктора токсичности [67]. Важно, что отношение Cu/Zn в почве лучше объясняло рост растений по сравнению с валовым содержанием меди (см. табл. 2). В работе [68] отношение концентраций Cu/Zn в тканях растений хорошо объясняло рост райграса.

Для сравнения толерантности объектов биоты к металлам можно использовать полуэффективное отношение Cu/Zn ($ЭC_{50}$), которое было введено по аналогии с полуэффективной концентрацией. Для симбиотической азотфиксации оно оказалось равно 1.2 (см. рис. 3), для скорости роста овса и салата — 5.9 и 7.0 соответственно (рис. 5). Эти результаты хорошо соотносятся с другими исследованиями, в которых продемонстрирована большая чувствительность почвенных микроорганизмов к металлам по сравнению с растениями [48, 69].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наш обзор выявил существенные пробелы в современных представлениях об антагонизме меди и цинка в техногенно загрязненных почвах, несмотря на определенный потенциал практического использования этого феномена. Такая ситуация контрастирует с относительно хорошей

изученностью вопроса для водных экосистем. Дальнейшие исследования в рамках обсуждаемой проблематики могут развиваться по нескольким направлениям.

Во-первых, рассмотренные в обзоре результаты касаются снижения цинком токсичности меди только для микроорганизмов и растений, причем по ограниченному набору откликов. Важно не только расширить спектр тестируемых откликов микроорганизмов и растений, но и вовлекать в такие работы другие объекты биоты. В частности, перспективным представляется проведение экспериментов с дождевыми червями: в работе [70] доказано протекторное действие цинка на поглощение кадмия дождевыми червями при обогашении почв осадком сточных вод, что дает основание предполагать аналогичные эффекты и в отношении меди.

Во-вторых, обсуждаемые в обзоре исследования включают очень ограниченный набор почв и вариантов промышленного загрязнения — фактически только почвы одного типа в одном природном районе. Перспективно увеличение разнообразия тестируемых ситуаций как в отношении свойств почв (гранулометрический состав, содержание органического вещества, кислотно-основные свойства) и природных условий, так и разных вариантов загрязняющих среду предприятий.

Наконец, в-третьих, перспективны исследования эффектов искусственного внесения добавок

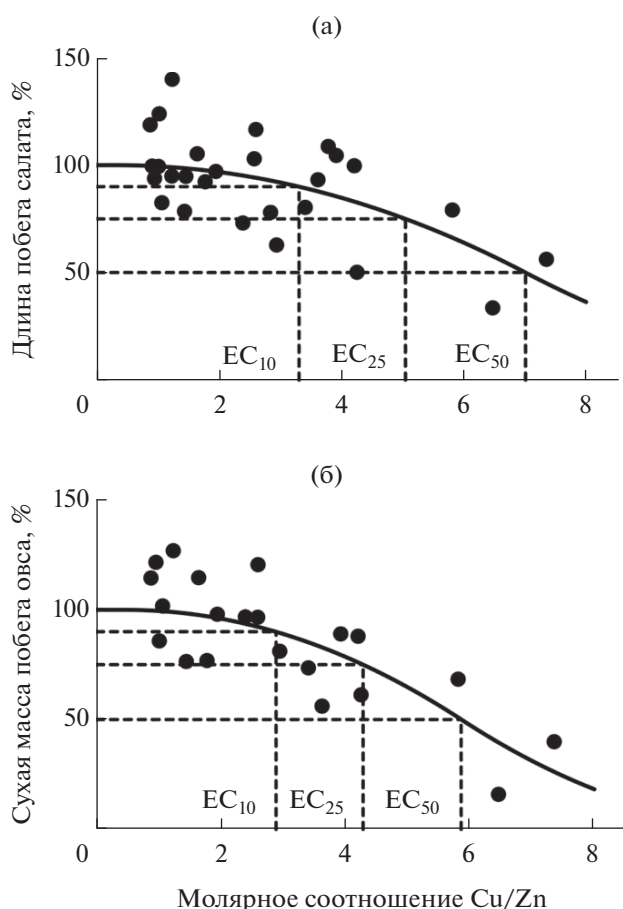


Рис. 5. Длина побега салата (а) и сухая масса побега овса (б) в зависимости от молярного соотношения Cu/Zn по данным работы [67].

цинка, например цинковых удобрений ($ZnSO_4$), для снижения токсичности меди. На удивление, такой подход никогда не тестировался для техногенно загрязненных почв. Важно оценить, в том числе в экономических терминах, его эффективность при ремедиации, а также выявить ограничения метода (в частности, уровни загрязнения почв цинком, при которых применение цинковых удобрений еще имеет смысл).

Обзор подготовлен при частичной финансовой поддержке FONDECYT (проект № 1200048). Выражаем признательность двум анонимным рецензентам за замечания. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liu L.W., Li W., Song W.P., Guo M.X. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability // *Science of the Total Environment*. 2018. V. 633. P. 206–219. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>

2. Wieser P.E., Jenner F.E. Chalcophile Elements: Systematics and Relevance // *Encyclopedia of Geology* (Second Edition). Eds. Alderton D., Elias S.A. 2021. P. 67–80.
3. Preston S., Coad N., Townend J. et al. Biosensing the acute toxicity of metal interactions: Are they additive, synergistic, or antagonistic? // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2000. V. 19. № 3. P. 775–780. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190332>
4. Cedergreen N. Quantifying synergy: A systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology // *PloS One*. 2014. V. 9. № 5. Article e96580. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096580>
5. Escher B.I., Stapleton H.M., Schymanski E.L. Tracking complex mixtures of chemicals in our changing environment // *Science*. 2020. V. 367. № 6476. P. 388–392. <https://doi.org/10.1126/science.aay6636>
6. Bart S., Short S., Jager T. et al. How to analyse and account for interactions in mixture toxicity with toxicokinetic-toxicodynamic models // *Science of the Total Environment*. 2022. V. 843. Article 157048. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157048>
7. De Oliveira V.H., Tibbett M. Cd and Zn interactions and toxicity in ectomycorrhizal basidiomycetes in axenic culture // *PeerJ*. 2018. V. 6. Article e4478. <https://doi.org/10.7717/peerj.4478>
8. Duffus J.H. “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report) // *Pure and Applied Chemistry*. 2002. V. 74. P. 793–807. <https://doi.org/10.1351/pac200274050793>
9. Hodson M.E. Heavy metals - geochemical bogey men? // *Environmental Pollution*. 2004. V. 129. № 3. P. 341–343. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.11.003>
10. Koptsik S.V., Koptsik G.N. Assessment of current risks of excessive heavy metal accumulation in soils based on the concept of critical loads: A review // *Eurasian Soil Science*. 2022. V. 55. № 5. P. 627–640. <https://doi.org/10.1134/s1064229322050039>
11. Paquin P.R., Gorsuch J.W., Apte S. et al. The biotic ligand model: a historical overview // *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*. 2002. V. 133. № 1–2. P. 3–35. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(02\)00112-6](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(02)00112-6)
12. Moiseenko T.I. Bioavailability and ecotoxicity of metals in aquatic systems: Critical contamination levels // *Geochemistry International*. 2019. V. 57. № 7. P. 737–750. <https://doi.org/10.1134/s0016702919070085>
13. Bræk G.S., Jensen A., Mohus Å. Heavy metal tolerance of marine phytoplankton. III. Combined effects of copper and zinc ions on cultures of four common species // *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 1976. V. 25. № 1. P. 37–50. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-0981-\(76\)90074-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-0981-(76)90074-5)
14. Dirilgen N., Inel Y. Effects of zinc and copper on growth and metal accumulation in duckweed, *Lemna minor* // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1994. V. 53. № 3. P. 442–449. <https://doi.org/10.1007/bf00197238>
15. Upadhyay R., Panda S.K. Zinc reduces copper toxicity induced oxidative stress by promoting antioxidant de-

- fense in freshly grown aquatic duckweed *Spirodela polyrrhiza* L // Journal of Hazardous Materials. 2010. V. 175. № 1-3. P. 1081–1084.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.016>
16. *Otiolaju A.A.* Evaluation of the joint-action toxicity of binary mixtures of heavy metals against the mangrove periwinkle *Tympanotonus fuscatus* var *radula* (L.) // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2002. V. 53. № 3. P. 404–415.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0147-6513-\(02\)00032-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0147-6513-(02)00032-5)
 17. *Obiakor M.O., Ezeonyejiaku C.D.* Copper-zinc coergisms and metal toxicity at predefined ratio concentrations: Predictions based on synergistic ratio model // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2015. V. 117. P. 149–154.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.03.035>
 18. *Le T.T.Y., Vijver M.G., Kinraide T.B.* et al. Modelling metal-metal interactions and metal toxicity to lettuce *Lactuca sativa* following mixture exposure (Cu^{2+} – Zn^{2+} and Cu^{2+} – Ag^{+}) // Environmental Pollution. 2013. V. 176. P. 185–192.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.017>
 19. *Versieren L., Smets E., De Schampheleere K.* et al. Mixture toxicity of copper and zinc to barley at low level effects can be described by the Biotic Ligand Model // Plant and Soil. 2014. V. 381. № 1–2. P. 131–142.
<https://doi.org/10.1007/s11104-014-2117-6>
 20. *Liu Y., Vijver M.G., Peijnenburg W.J.G.M.* Comparing three approaches in extending biotic ligand models to predict the toxicity of binary metal mixtures (Cu–Ni, Cu–Zn and Cu–Ag) to lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Chemosphere. 2014. V. 112. P. 282–288.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.077>
 21. *Thakali S., Allen H., Di Toro D.* et al. A terrestrial biotic ligand model. 1. Development and application to Cu and Ni toxicities to barley root elongation in soils. // Environmental Science & Technology. 2006. V. 40. P. 7085–7093.
<https://doi.org/10.1021/es061171s>
 22. *Smolders E., Oorts K., van Sprang P.* et al. Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: Using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards // Environmental Toxicology and Chemistry. 2009. V. 28. № 8. P. 1633–1642.
<https://doi.org/10.1897/08-592.1>
 23. *Neaman A., Selles I., Martínez C.E., Doveltyarova E.A.* Analyzing soil metal toxicity: Spiked or field-contaminated soils? // Environmental Toxicology and Chemistry. 2020. V. 39. P. 513–514.
<https://doi.org/10.1002/etc.4654>
 24. *Santa-Cruz J., Vasenev I.I., Gaete H.* et al. Metal ecotoxicity studies with spiked versus field-contaminated soils: Literature review, methodological shortcomings and research priorities // Russian Journal of Ecology. 2021. V. 52. № 6. P. 478–484.
<https://doi.org/10.1134/S1067413621060126>
 25. *Santa-Cruz J., Peñaloza P., Korneykova M.V., Neaman A.* Thresholds of metal and metalloid toxicity in field-collected anthropogenically contaminated soils: A review // Geography, Environment, Sustainability. 2021. V. 14. № 2. P. 6–21.
<https://doi.org/10.24057/2071-9388-2021-023>
 26. *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. № 1. P. 160–167.
<https://doi.org/10.1071/en15057>
 27. *Ford R.G., Bertsch P.M., Farley K.J.* Changes in transition and heavy metal partitioning during hydrous iron oxide aging // Environmental Science & Technology. 1997. V. 31. № 7. P. 2028–2033.
<https://doi.org/10.1021/es960824+>
 28. *Ávila G., Gaete H., Morales M., Neaman A.* Reproducción de *Eisenia fetida* en suelos agrícolas de áreas mineras contaminadas por cobre y arsénico // Pesquisa Agropecuaria Brasileira. 2007. V. 42. № 3. P. 435–441.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000300018>
 29. *Fischer E., Koszorus L.* Sublethal effects, accumulation capacities and elimination rates of As, Hg and Se in the manure worm, *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) // Pedobiologia. 1992. V. 36. № 3. P. 172–178.
 30. *Abbas M.S., Akmal M., Ullah S.* et al. Effectiveness of zinc and gypsum application against cadmium toxicity and accumulation in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Communications in Soil Science and Plant Analysis. 2017. V. 48. № 14. P. 1659–1668.
<https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1373798>
 31. *Rehman M.Z.U., Rizwan M., Ali S.* et al. Contrasting effects of organic and inorganic amendments on reducing lead toxicity in wheat // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2017. V. 99. № 5. P. 642–647.
<https://doi.org/10.1007/s00128-017-2177-4>
 32. *Dubrovina T.A., Losev A.A., Karpukhin M.M.* et al. Gypsum soil amendment in metal-polluted soils—an added environmental hazard // Chemosphere. 2021. V. 281. Article 130889.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130889>
 33. *Koptsik G.N., Koptsik S.V., Smirnova I.E.* Alternative technologies for remediation of technogenic barrens in the Kola Subarctic // Eurasian Soil Science. 2016. V. 49. № 11. P. 1294–1309.
<https://doi.org/10.1134/s1064229316090088>
 34. *Neaman A.* Metal phytoextraction from polluted soils: A utopian idea // Idesia (Chile). 2022. V. 40. № 4. P. 2–5.
<https://doi.org/10.4067/S0718-34292022000400002>
 35. *Neaman A.* Soil metals // Idesia (Chile). 2022. V. 40. № 2. P. 2–6.
<https://doi.org/10.4067/S0718-34292022000200002>
 36. *Nahmani J., Hodson M.E., Black S.* A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms // Environmental Pollution. 2007. V. 145. № 2. P. 402–424.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.009>
 37. *Verdejo J., Ginocchio R., Sauvé S.* et al. 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>
 38. *Bustos V., Mondaca P., Sauvé S.* et al. Thresholds of arsenic toxicity to *Eisenia fetida* in field-collected agricultural

- soils exposed to copper mining activities in Chile // *Eco-toxicology and Environmental Safety* 2015. V. 122. P. 448–454.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.009>
39. Prudnikova E.V., Neaman A., Terekhova V.A. et al. Root elongation method for the quality assessment of metal-polluted soils: Whole soil or soil-water extract? // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2020. V. 20. P. 2294–2303.
<https://doi.org/10.1007/s42729-020-00295-x>
 40. Zhikharev A.P., Sahakyan L., Tepanosyan G. et al. Metal phytotoxicity thresholds in copper smelter-contaminated soils // *Idesia (Chile)*. 2022. V. 40. № 3. P. 135–143.
<https://doi.org/10.4067/S0718-34292022000300135>
 41. Artemyeva Z.S., Frid A.S., Titova V.I. The migration availability of potassium to plants on loamy soils // *Agrokhimiya*. 2019. V. 7. P. 16–26.
<https://doi.org/10.1134/s0002188119070032>
 42. Il'in V.B. Heavy metals in the soil-crop system // *Eurasian Soil Science*. 2007. V. 40. № 9. P. 993–999.
<https://doi.org/10.1134/s1064229307090104>
 43. Garcia J.M.V., Navarrete M.I.M., Saez J.A.L., Morencos I.D. Environmental impact of copper mining and metallurgy during the Bronze Age at Kargaly (Orenburg region, Russia) // *Trabajos de Prehistoria*. 2010. V. 67. № 2. P. 511–544.
<https://doi.org/10.3989/tp.2010.10054>
 44. Dovletyarova E.A., Zhikharev A.P., Polyakov D.G. et al. Extremely high soil copper content, yet low phytotoxicity: A unique case of monometallic soil pollution at Kargaly, Russia // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2023. V. 42. № 3. P. 707–713.
<https://doi.org/10.1002/etc.5562>
 45. 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. № 2. P. 153–157.
[https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(96\)00081-4](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(96)00081-4)
 46. Kabata-Pendias A. Soil-plant transfer of trace elements – An environmental issue // *Geoderma*. 2004. V. 122. P. 143–149.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.004>
 47. Lillo-Robles F., Tapia-Gatica J., Díaz-Sieffer P. et al. Which soil Cu pool governs phytotoxicity in field-collected soils contaminated by copper smelting activities in central Chile? // *Chemosphere*. 2020. V. 242. Article 125176.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125176>
 48. Sauvé S., Dumestre A., McBride M., Hendershot W. Derivation of soil quality criteria using predicted chemical speciation of Pb²⁺ and Cu²⁺ // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1998. V. 17. № 8. P. 1481–1489.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620170808>
 49. Echevarria G., Morel J.L., Fardeau J.C., Leclerc-Cessac E. Assessment of phytoavailability of nickel in soils // *Journal of Environmental Quality*. 1998. V. 27. № 5. P. 1064–1070.
<https://doi.org/10.2134/jeq1998.00472425002700050011x>
 50. Checkai R., Van Genderen E., Sousa J.P. et al. Deriving site-specific clean-up criteria to protect ecological receptors (plants and soil invertebrates) exposed to metal or metalloid soil contaminants via the direct contact exposure pathway // *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2014. V. 10. № 3. P. 346–357.
<https://doi.org/10.1002/ieam.1528>
 51. Spurgeon D.J., Ricketts H., Svendsen C. et al. Hierarchical responses of soil invertebrates (earthworms) to toxic metal stress // *Environmental Science & Technology*. 2005. V. 39. № 14. P. 5327–5334.
<https://doi.org/10.1021/es050033k>
 52. Hassan M.J., Zhang G., Wu F. et al. Zinc alleviates growth inhibition and oxidative stress caused by cadmium in rice // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2005. V. 168. P. 255–261.
<https://doi.org/10.1002/jpln.200420403>
 53. Milone M.T., Sgherri C., Clijsters H., Navari-Izzo F. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium // *Environmental and Experimental Botany*. 2003. V. 50. № 3. P. 265–276.
[https://doi.org/10.1016/s0098-8472\(03\)00037-6](https://doi.org/10.1016/s0098-8472(03)00037-6)
 54. Venkatachalam P., Jayaraj M., Manikandan R. et al. Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: A physiochemical analysis // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2017. V. 110. P. 59–69.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.022>
 55. Zhao A.Q., Tian X.H., Lu W.H. et al. Effect of zinc on cadmium toxicity in winter wheat // *Journal of Plant Nutrition*. 2011. V. 34. № 9–11. P. 1372–1385.
<https://doi.org/10.1080/01904167.2011.580879>
 56. Cakmak I. Tansley review № 111 – Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species // *New Phytologist*. 2000. V. 146. № 2. P. 185–205.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00630.x>
 57. Aravind P., Prasad M.N.V. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: A free floating freshwater macrophyte // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2003. V. 41. № 4. P. 391–397.
[https://doi.org/10.1016/s0981-9428\(03\)00035-4](https://doi.org/10.1016/s0981-9428(03)00035-4)
 58. Tomasik P., Magadza C.M., Mhizha S. et al. Metal-metal interactions in biological systems. Part IV. Freshwater snail *Bulinus globosus* // *Water Air and Soil Pollution*. 1995. V. 83. № 1–2. P. 123–145.
<https://doi.org/10.1007/bf00482599>
 59. Montvydiene D., Marciulioniene D. Assessment of toxic interaction of metals in binary mixtures using *Lepidium sativum* and *Spirodela polyrrhiza* // *Polish Journal of Environmental Studies*. 2007. V. 16. № 5. P. 777–783.
 60. Weast R. CRC Handbook of Chemistry and Physics. Cleveland: CRC Press, 1976.
 61. Kausar M.A., Chaudhry F.M., Rashid A. et al. Micronutrient availability to cereals from calcareous soils. 1. Comparative Zn and Cu deficiency and their mutual interaction in rice and wheat // *Plant and Soil*. 1976. V. 45. № 2. P. 397–410.
<https://doi.org/10.1007/bf00011702>
 62. Stowhas T., Verdejo J., Yáñez C. et al. Zinc alleviates copper toxicity to symbiotic nitrogen fixation in agricultural soil affected by copper mining in central Chile // *Chemosphere*. 2018. V. 209. P. 960–963.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.166>

63. McGrath S.P., Brookes P.C., Giller K.E. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. // *Soil Biology and Biochemistry*. 1988. V. 20. № 4. P. 415–424.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0038-0717-\(88\)90052-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0038-0717-(88)90052-1)
64. Broos K., Mertens J., Smolders E. Toxicity of heavy metals in soil assessed with various soil microbial and plant growth assays: A comparative study // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2005. V. 24. № 3. P. 634–640.
<https://doi.org/10.1897/04-036R.1>
65. Evdokimova G.A., Kalabin G.V., Mozgova N.P. Contents and toxicity of heavy metals in soils of the zone affected by aerial emissions from the Severonikel enterprise // *Eurasian Soil Science*. 2011. V. 44. № 2. P. 237–244.
<https://doi.org/10.1134/s1064229311020037>
66. Slukovskaya M.V., Kremenetskaya I.P., Ivanova L.A., Vasilieva T.N. Remediation in conditions of an operating copper-nickel plant: Results of perennial experiment // *Non-ferrous Metals*. 2017. V. 2. P. 20–26.
<https://doi.org/10.17580/nfm.2017.02.04>
67. Stuckey J.W., Neaman A., Verdejo J. et al. Zinc alleviates copper toxicity to lettuce and oat in copper contaminated soils // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2021. V. 21. P. 1229–1235.
<https://doi.org/10.1007/s42729-021-00435-x>
68. Stuckey J.W., Mondaca P., Guzmán-Amado C. Impact of mining contamination source on copper phytotoxicity in agricultural soils from central Chile // *AgroSur*. 2021. V. 49. № 1. P. 21–27.
<https://doi.org/10.4206/agrosur.2021.v49n1-04>
69. Giller K.E., Witter E., McGrath S.P. Assessing risks of heavy metal toxicity in agricultural soils: Do microbes matter? // *Human and Ecological Risk Assessment*. 1999. V. 5. № 4. P. 683–689.
<https://doi.org/10.1080/10807039.1999.9657732>
70. Beyer W.N., Chaney R.L., Mulhern B.M. Heavy metal concentrations in earthworms from soil amended with sewage sludge // *Journal of Environmental Quality*. 1982. V. 11. № 3. P. 381–385.
<https://doi.org/10.2134/jeq1982.00472425001100030012x>
71. Kolbas A., Marchand L., Herzig R. et al. 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>
72. Scott-Fordsmand J.J., Weeks J.M., Hopkin S.P. Importance of contamination history for understanding toxicity of copper to earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta: Annelida), using neutral-red retention assay // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2000. V. 19. № 7. P. 1774–1780.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620190710>