

РОЗДІЛ II. ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

УДК 581.196.143.6

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-08>

Токсичність іонів важких металів як показник чутливості і стійкості рослин до абіотичних стресів: огляд

Сергєєва Л. Є., Хоменко Л. О., Броннікова Л. І.

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Україна

Zlenko_lora@ukr.net

Ключові слова: іони Cd^{2+} і Ba^{2+} , засолення, водний стрес, клітинна селекція, комплексна стійкість.

Іони важких металів (ІВМ) знаходяться серед найбільш токсичних ксенобіотиків, котрі спричиняють як загальні, так і специфічні ураження організмів. Особливо це стосується елементів, токсичних у залишкових кількостях. Одні з таких ІВМ є предметом різнобічного вивчення (іони Cd^{2+}), водночас інші викликають зацікавлення завдяки своїм особливим характеристикам (іони Ba^{2+}). Часто дія ІВМ посилюється впливом природних абіотичних факторів. Зроблено огляд загальних аспектів патологічної дії ІВМ. Розглядається використання іонних, протеомних, метаболічних складників; підкреслюється роль їхніх взаємозв'язків для встановлення генетичних детермінант стійкості. Звертається увага на спільні прояви адаптації до ІВМ та осмотичних стресів – засолення та водного дефіциту. Розглянуто токсичну дію іонів Cd^{2+} і Ba^{2+} . Пропонується ідея використання іонів Cd^{2+} і Ba^{2+} у клітинній селекції для виділення форм, стійких до водного та сольового стресів. Наведено приклади отримання клітинних ліній рослин із застосуванням летальних для клітинних культур доз іонів. Варіанти відзначались комплексною стійкістю як до іонів селекції, так і до осмотичних стресів. Життєдіяльність за стресових умов контролювалась змінами метаболізму та протеому і проявлялась у збільшенні клітинної маси, збереженні водного статусу, акумуляції вільного проліну, цукрів. При цьому параметри стійкості не втрачались зі збільшенням строку вирощування, а також зберігались у разі зміни умов культивування. Водночас метаболічні показники змінювались у відповідності до змін умов культивування. Такі характеристики, а також їхня хронологія можуть свідчити на користь існування перехресних сигнальних шляхів, котрі поєднують реакції стійкості до ІВМ і осмотичних стресів. Рослини, регенеровані із таких клітинних ліній, відзначались підвищеним рівнем осмостійкості. Нетрадиційний погляд на проблему розширює рамки традиційних підходів у разі створення вихідного матеріалу.

The toxicity of heavy metal ions is a marker of plant sensitiveness and resistance to abiotic stresses: a review

Sergeeva L. E., Khomenko L. A., Bronnikova L. I.

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine

Key words: Cd^{2+} , Ba^{2+} ions, salinity, water stress, cell selection, combined tolerance.

Heavy-metal ions (HMI) provoke vast common and special pathological alterations in plants. The most hazardous are HMI toxic at trace concentrations. Cd^{2+} and Ba^{2+} ions are among them. But usually HMI act together with abiotic stresses and their joint pressure is more dangerous. From the other hand, the tolerance to HMI and abiotic stresses may be combined. The organism maintenance and development under stress pressure are based mainly on the cellular properties. The comparison between the cellular mechanisms stress sensitiveness/tolerance to abiotic stresses are made. The toxic effects of HMI (Cd^{2+} , Ba^{2+}) are revealed. There were detected that Ba^{2+} ions destroy K^+ fluxes in the cells and Cd^{2+} cations affect the water status of the organism. Osmotic stresses make those damages. Cell selection with Cd^{2+} and Ba^{2+} is proposed as a new strategy for obtaining forms with higher tolerance to osmotic stresses. This method is the appropriate biotechnology to pick variants with particular features. Simulating systems with lethal to wild type cell cultures doses of Ba^{2+} or Cd^{2+} cations were elaborated and ion-resistant colonies of various plants were obtained. The frequency of the appearance was 10^{-6} . Resistant cell variants were exposed the stresses: salinity, water deficit, ion stresses. They maintained their viability under any stress pressure; their improved features were depended on changes in metabolism and accumulation of protective solutions, such as free proline and sugars. Recent publications characterize metabolites, transcription factors and stress-inducible proteins as parameters of stress tolerance. In general, abiotic stress tolerance is genetically polygenic process that involved various components of signalling pathways multigenic in nature. Plant resistance mechanisms to HMI are also complicated. So, the further research requires improve HMI tolerance as well as tolerance to other abiotic stresses.

Вступ

Серед найбільш токсичних ксенобіотиків, котрі спричиняють як загальні, так і специфічні ураження живих організмів, є іони важких металів (ІВМ). Системний вплив ІВМ з часом посилюється, оскільки вони можуть суттєво знижувати природну стійкість біооб'єктів до біотичних та абіотичних стресорів довкілля.

Важкі метали – це елементи, густина яких перевищує 5 г/см^3 . У межах групи розрізняють дві категорії, а саме: фізіологічно актуальні іони, шкодочинні у надлишкових кількостях і токсичні у залишкових кількостях¹. До другої категорії належать катіони Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Ba^{2+} , а також аніони деяких металів. Одні з ІВМ є предметом різнобічного вивчення, водночас інші викликають зацікавлення завдяки своїм особливим характеристикам²⁻⁴. Тому надзвичайно важливе встановлення взаємодії у клітинах регуляторних механізмів усіх рівнів, котрі мають стосунки до реакцій на дію ІВМ. Крім досконального дослідження послідовностей і функціонування регуляторних генів, таких як транскрипційні фактори, варто критично оцінювати специфічну та загальну експресію кон-

трольних механізмів відповідей рослин з боку протеому, метаболому, іоному. Численні факти відображають зміни, спровоковані абіотичними стресами⁵⁻⁸. Всі вони свідчать на користь участі значної кількості генів, а також перед- і пост-транскрипційних і/або трансляційних факторів і процесів у протіканні реакцій рослин, спрямованих на подолання зовнішнього пресингу. Тому деякі автори наполягають на використанні поняття усебічної «(global) регуляції генома»⁹. Під цим кутом зору викликає зацікавлення порівняння чутливості/стійкості рослин до ІВМ та інших абіотичних стресів – осмотичних, температурних тощо.

Токсичність ІВМ; клітинні реакції чутливості/стійкості

Негативна дія ІВМ проявляється від моменту потрапляння в рослину до моменту виділення/секвестрування. При цьому точкою зміни концентрації ІВМ у ґрунтах вважають природний вміст кларків¹⁰. Після поглинання ІВМ діють на всіх рівнях, починаючи від субклітинного, завершуючи цілісним організмом. Так, катіони Cd^{2+} і Zn^{2+} у концентраціях, що переважають 250 мкМ , суттєво знижували синтез ДНК¹¹. Водночас іони Cd^{2+} у

концентрації 50,0 мкМ стимулювали синтез РНК. Так, спостерігали, що рівень мРНК АТФ-сульфурилази за 24 години дії ІВМ підвищився майже у три рази¹². У рослинах, які витримували на постійно зростаючих концентраціях Cd^{2+} , кількість мРНК збільшувалась лінійно. Аналогічна подія проходила за дії іонів Cu^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} . Хоча рівень нуклеїнової кислоти зростає, власна активність ферменту АТФ-сульфурилази пригнічувалась Cd^{2+} .

Серед порушень клітинного рівня відзначаються зміни редокс потенціалу. Взаємодіючи з цитоплазматичною мембраною, ІВМ активізують перекисне окиснення ліпідів. Пероксидавання поліненасичених жирних кислот на мембрані призводило до її uszkodження та клітинної декомпартментації¹³⁻¹⁷. У відповідь на окислювальний стрес зростає активність каталази, пероксидази, СОД. Так, обробка проростків цукрової тростини 2,0 мМ CdCl_2 викликала появу семи ізоферментних форм Cu/Zn-SOD ^{3, 15}. Дослідники вважають, що активація пероксидного окиснення ліпідів є загальною метаболічною ланкою реакції рослини на стрес, а взаємодія ІВМ – мембрана є первинним сайтом атаки^{3, 15}.

Токсичний вплив ІВМ зростає по мірі їх потрапляння в клітину. Розрізняють два різновиди впливу ІВМ на поглинання. Перший зумовлений близькістю розмірів іонних радіусів ІВМ і визначається фізико-хімічними причинами. Так, Cd^{2+} (1,03 Å) знижує поглинання Zn^{2+} (0,83 Å) та Ca^{2+} (1,06 Å). Паралельно із цим феноменом на поглинання ІВМ може впливати взаємний антагонізм іонів. Іони лужних і лужно-земельних металів за ступенем гальмівного впливу на поглинання Cd^{2+} розміщуються у такому порядку: $\text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$ ¹⁸. Іони Zn^{2+} та Cu^{2+} і навіть елементи однієї групи можуть бути антагоністами поглинання Cd^{2+} ¹⁹. Другий пов'язаний із викликанням ІВМ порушенням метаболізму клітин, внаслідок якого відбувається перебудова мембран²⁰. Так, Л. Кендересова зі співавторами (2012) вивчали вплив ІВМ на мембрани трьох різних за стійкістю до стресів, викликаних ІВМ, видів арабідопсису. Було встановлено, що стійкі генотипи характеризувались меншою деполаризацією мембран порівняно з чутливим²¹.

Конкуренція/антагонізм між ІВМ проявляється не тільки у разі внесення іонів, а також у разі їх переміщення в клітині та евакуації.

Відомо, що головний негативний ефект іону Ba^{2+} на рослини полягає у його взаємодії з фізіологічно необхідними іонами K^{+22-24} . Так, додавання лише 1,0 мМ Ba^{2+} знижувало інтенсивність потоків K^+ на 30%²². Цей катіон впливав на експресію гена *AtHAK1* – високо афінного транспортера K^+ . Із використанням лінії арабідопсису, котра мала

інсерцію в тДНК, було показано, що цей ген опосередковує Ba -чуттєвий компонент поглинання K^{+23} . Також було з'ясовано, що катіон Ba^{2+} впливає на поглинання Na^+ . У галофіта *Suaeda maritima* був відкритий Ba -залежний шлях поглинання Na^+ , який відкривався за умов високого засолення (150,0 мМ NaCl). Було доведено, що він опосередковується каналом типу АКТ1. Присутність іонів Ba^{2+} зменшувало поглинання Na^+ і втрату K^{+24} .

Перебудова компартментів клітин координується із порушенням ланок загального метаболізму. Під дією іонів Ni^{2+} вміст розчинного азоту та білка у деяких видів рослин знижувався, а рівень відновлених цукрів і крохмалю, навпаки, зростає^{25, 26}. ІВМ негативно діють на фотосинтез, склад пігментів, структуру тилакоїдів²⁷. Загальним проявом є зменшення вмісту ксантофілів, хлорофілу, причому рівень хлорофілу *b* знижується більше ніж хлорофілу *a*. Л. Лі зі співавторами (2012) повідомляли про зменшення квантового викиду ФС II, що є проявом пригнічення фотосинтезу²⁸. За силою стресового тиску на метаболізм азоту та білків ІВМ ранжуються таким чином: $\text{Cd} > \text{Pb} > \text{Ni} > \text{Mo}^{29, 30}$.

Масштаб стресового ураження проявляється в інтегральних показниках: рості, морфогенезі, продуктивності³¹. Вразливими є всі стадії розвитку, хоча найстійкішими до шкодочинної дії ІВМ є насіння та проростки, оскільки останні на початку онтогенезу здебільшого розвиваються за рахунок вмісту ендосперму. Наприклад, схожість насіння *Vigna ambacensis*, яке пророщували на розчинах солей кадмію, ртуті, свинцю (концентрація 0,05–50,0 мМ), знижувалась навіть за найнижчої концентрації. У присутності 50,0 мМ будь-якого стресового чинника насіння не проростало взагалі³². Однак і цьому разі чутливість до ІВМ була генотипово залежною.

Дія ІВМ вивчається у системі *in vitro*. У дослідженнях клітинних культур прослідковується аналогія до дії стресора на цілісний організм. Для деяких генотипів визначено феномен чутливості клітинної культури як такої. Так, калюс, отриманий із різних тканин рослини *Sesbania rostrata*, характеризувався різними ступенями стійкості до іонів Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} . Стійкість культури, індукованої з листків, становила 1/8–1/4 показників, отриманих для культури кореневого походження³³. Дослідження дії іонів Cd^{2+} на суспензійну культуру клітин дурману показала, що за концентрації чинника 12,5 мкМ виживала одна (!) клітина із 10^5 ³⁴. Концентрація 100,0 мкМ була летальною для клітин тютюну³⁵. Отримано дані, котрі вказують на обернені, залежні від дози токсиканта, реакції рослин. Так, культивування суспензійної культури тютюну у присутності іонів Cd^{2+} показало ріст-стимулюючий ефект

0,1 мМ розчину CdCl_2 та пригнічуючий – 0,2 мМ такого розчину³⁶.

У загальному випадку дослідження культури клітин *in vitro* за різних умов культивування є, на нашу думку, доцільною (обов'язковою) процедурою, оскільки надає особливу інформацію³⁷.

Порівняльна дія ІВМ і абіотичних стресів

У низці випадків реакції рослин на вплив ІВМ аналогічні реакціям на інші абіотичні стреси, зокрема водний і сольовий³⁸⁻⁴¹. Так, вивчаючи дію іонів Cd^{2+} і Hg^{2+} на корінці ячменю Л. Тамас зі співавторами (2010) відмічали подібність між ранніми сигналами токсичності Cd^{2+} та сигналами водного дефіциту⁴². Встановлено також, що сприйняття та трансдукція сигналів окисдативного стресу аналогічна цим подіям у разі впливу ІВМ⁴³.

Так, катіони Ba^{2+} порушують переміщення іонів K^+ та впливають на транспорт Na^+ ²²⁻²⁴. Водночас патологічною дією засолення є порушення гомеостазу K^+/Na^+ . Катіони Cd^{2+} негативно діють на водний статус рослини.

Зокрема, це стосується LEA (*late embryogenesis abundant proteins*), білків, які належать до групи дегідринів. Ця категорія протеїнів знайдена в ядрі, цитоплазмі, мітохондріях. Подібно до шаперонів LEA можуть попереджати денатурацію внутрішньоклітинних сполук у разі зневоднення⁴⁴⁻⁴⁶. Водночас встановлено, що іони Cd^{2+} спричиняють шкодочинний вплив на LEA⁴⁶.

Різноманітні стресори викликають експресію низки генів у рослині⁴⁷. Особливо це стосується транскрипційних факторів (ТФ). Дослідження показали, що один ТФ може контролювати експресію багатьох генів-мішеней за рахунок специфічного зв'язування ТФ із *цис*-діючим елементом у промоторах його генів-мішеней⁴⁷. Чисельні сімейства ТФ, такі як: AREB/ABF, MYB, EREB, bZIP, MYC, DREB/CBF, ARID, C_2C_2 -CO-like, C_2C_2 -Gal4 і т.д., здійснюють вплив на стрес-індуковані реакції рослин⁴⁸. ІВМ ініціюють ТФ, а з їхньою участю регулюють відповідні процеси.

З огляду на все вищезазначене закономірна ідея поєднання стійкості до ІВМ і абіотичних стресів (комплексної стійкості).

У загальному випадку подія появи генетично зміненої форми рослини, пов'язаної з ІВМ, не виняткова. Так, встановлено, що ознака стійкості пшениці до іонів, чутливість до іонів Cd^{2+} визначена як рецесивна, контрольована одним геном⁴⁹⁻⁵¹. Підвищену чутливість пояснюють дефіцитом фітохелатинів, які відіграють суттєву роль у детоксикації ІВМ. Л. Пена зі співавторами (2012) досліджували токсичність Cd^{2+} на клітинний цикл у пшениці. Було встановлено, що розвиток G_1/S фази та перехід через S фазу зумовлюється рівнем пост-трансляційної модифікації циклін-залежної кінази (CDK). Автори вважають цей факт суттєвим

для розвитку стійкості⁵². Повідомлялось про стабілізацію фотосинтезу у трансгенних рослин соняшнику з інтегрованим трансгеном, що частково репресував ендегенний ген проліндегідрогенази. Автори пов'язують цю подію із процесом метаболізму проліну³⁷.

Останнім часом наукові пошуки узагальнюються за ключовими окремими спрямуваннями, так званими “omics”-tools. Це – транскриптоміка, метаболоміка, іономіка, протеоміка^{53, 54}. Так, метаболоміка охоплює ключові ланки метаболізму в динаміці. У рамках іономіки та протеоміки досліджуються та фіксуються зміни неорганічних компартментів і протеома. Транскриптоміка об'єднує фенотипові реакції та вказує на можливі їх причини. Отримані узагальнені дані будуть сприяти поглибленню поняття загальної стрес-стійкості.

Клітинна селекція з ІВМ для отримання рослинних форм із підвищеним рівнем осмотичності

Системний підхід дозволив суттєво переосмислити традиційні ідеології та модифікувати відпрацьовані методології. Так, запропоновано використання ІВМ у клітинній селекції для отримання стійких до осмотичних стресів форм рослин⁵⁵⁻⁵⁷. Такий метод спрямований на виділення виключно клітинних реакцій чутливості/стійкості. Зміна характеру метаболізму (іоному, протеому) в ту чи іншу сторону може виявити динаміку активної адаптації.

В експериментах були створені селективні системи із додаванням летальних для клітинних культур дикого типу доз катіонів Ba^{2+} і Cd^{2+} . Із частотою 10^{-6} були отримані стійкі до ІВМ клітинні лінії тютюну, сої, соняшнику, пшениці. Після ряду пасажувань у присутності іонів-стресорів, а також за умов чергування стрес – нормальні умови стійкі клітинні варіанти переносили в умови летальних осмотичних стресів (засолення, водний дефіцит). Усі отримані тестовані варіанти відзначались стійкістю до альтернативних стресів. Життєдіяльність за стресових умов контролювалась змінами метаболізму та протеому і проявлялась у збільшенні клітинної маси, збереженні водного статусу, акумуляції вільного проліну, цукрів⁵⁵. Ротація умов культивування не впливала на розвиток культур (не зменшувала рівня стійкості). Водночас метаболічні характеристики змінювались у відповідності до змін умов культивування. Рослини, регенеровані із таких клітинних ліній, відзначались підвищеним рівнем осмотичності⁵⁷. Такі характеристики нових форм можуть свідчити на користь існування сигнальних шляхів, котрі поєднують реакції стійкості до ІВМ і осмотичних стресів.

Нині проблема комплексної стійкості рослин до абіотичних стресів потребує детального вивчення. Однак можна зробити низку висновків.

По-перше, деякі особливості ІВМ і реакції на них з боку рослин мають бути враховані у разі встановлення показників стійкості до абіотичних стресів. По-друге, процес моніторингу має здійснюватись на всіх етапах взаємодії стрес/об'єкт. По-третє, отримана інформація внесе додаткову користь у разі створення алгоритмів селекції на стійкість. Катіони барію (Ba^{2+}) і кадмію (Cd^{2+}) є перспективними новими складниками протоколів відбору.

На відміну від біотичного стресу, який контролюється моногенною ознакою, толерантність до абіотичних стресів є генетично складною характеристикою (динамічним процесом). Вона включає у себе чисельні компоненти сигнальних ланцюгів, мультигенних за своєю природою. При цьому зв'язки між окремими ланками можуть бути і прямими, і зворотними, і перехресними. Сімейства ТФ, диференційна експресія індукованих стресом генів забезпечує стабільність життєдіяльності у разі зміни умов культивування⁵⁸. Адаптація до конкретної ситуації проявляється у спеціалізації метаболізму: синтезі/аккумуляції протекторних сполук різного складу.

Пропонуючи ідею застосування ІВМ у клітинній селекції для отримання форм із комплекс-

ною стрес-стійкістю, крім генетичної регуляції, слід враховувати епігенетичні аспекти стійкості як такої. Особливо у зв'язку із регенерацією рослин, які б відзначались підвищеним рівнем стійкості до абіотичних факторів. Так, відзначалось, що органогенез соняшнику координується як з генетичними програмами, так і з епігенетичними подіями⁵⁹.

Методології отримання рослин із застосуванням ІВМ мають бути пов'язані із дослідженнями експресії гена(ів), продукту(ів), які беруть участь у сигнальних шляхах або синтезі функціональних чи структурних білків і метаболітів^{60, 61}. Планування перспективних досліджень, які базуються на системному підході із використанням транскриптоміки, метаболоміки, протеоміки і т.д., є гарантованою стратегією покращення стійкості рослин до ІВМ та інших абіотичних стресів.

Завдання отримання форм, стійких до абіотичних стресів, із застосуванням ІВМ стає окресленим за умов реалізації ланцюга:

Запропонований у представленому огляді алгоритм успішно використаний. У такий спосіб отримано стійкі до летальних сольового та водного стресів клітинні лінії та регенеранти рослин.



Література

- (1) Nies D.H. Microbial heavy-metal resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, 51, 730–750.
- (2) He Bing, Yang Xiao-e, Ni Wu-Zhong, Wei-You Zhang, Ye Hai-bo. Pb uptake, accumulation subcellular distribution in a Pb-accumulating ecotype of *Sedum alfredii* (Hance). *J. Zhejiang Univ. Sci.* **2003**, 4, 474–479.
- (3) Gabbrielli R., Gori P., Scala NNi toxicity on carnation (*Dyanthus carioophyllus* L. cv. *Corrida*) cell cultures. Selection Ni tolerant lines and effect of Ca and Mg. *Plant Sci.* **1995**, 104, 225–230.
- (4) Yong P., Macaskie L.E. Bioaccumulation of lanthanum, uranium and thorium and use of model system to develop a method for the biologically-mediated removal of plutonium from solution. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1998**, 71, 15–18.
- (5) Rizvi A., Ahmed B., A. Zaidi A., Khan M.S. Heavy metal mediated phytotoxic impact on winter wheat: oxidative stress and microbial management of toxicity by *Bacillus subtilis* BM2, *RSC Adv.*, **2019**, 9, 6125–6142. RSC.
- (6) Munir M., Khan Z.I., Ahmad K., Wajid K., Bashir H., Malik I.S., Nadeem M., Ashfaq A., Ugulu I. Transfer of heavy metals from different sources of fertilizers in wheat variety (Galaxy-13), *Asian J. Biol. Sci.* **2019**, 12, 832–841. CrossRef CAS.
- (7) Bhalerao S.A., Sharma A.S. Toxicity of nickel in plants *Indian J. Pure Appl. Biosci.*, **2015**, 3, 345–355. Search PubMed.
- (8) Rizvi A., Zaidi A., Ameen F., Alumed B., AlKaftani M.D.F. Sadhir Khan M. Heavy metal induced stress on wheat: phytotoxicity and microbiological management. *RSC Adv.* **2020**, 10, 38379–38403. DOI: 10.1039/D0RA05610C.

- (9) Arnholdt-Shmitt B. Stress-induced cell reprogramming. A role for global genome regulation. *Plant Physiol.* **2004**, 136, 2579–2586.
- (10) Алексеев Ю.В. Тяжёлые металлы в почвах и растениях. Ленинград: Агропромиздат **1987**, 141 с.
- (11) Hirt H., Casari G., Barta A. Cadmium-enhanced gene expression in suspension-culture cells of tobacco. *Planta* **1989**, 179, 414–429.
- (12) Lee S., Leustek T. The effect of cadmium on assimilation enzymes in *Brassica juncea*. *Plant Sci.* **1999**, 141, 291–207.
- (13) Chen S.L., Kao C.H. Cd induced changes in proline level and peroxidase activity in roots of rice seedlings. *Plant Growth Reg.* **1995**, 17, 67–71.
- (14) Chongpraditnum P., Mori S., Chino M. Excess copper induces Cu, Zn-superoxide dismutase in soybean root *Plant Cell Physiol.* **1993**, 33, 239–244.
- (15) Jouili H., El Ferjiani E. Changes in antioxidant lignifying enzyme activities in sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots stressed with copper excess. *C. R. Acad. Sci. D.* **2003**, 32, 639–644.
- (16) Wang Q.H., Liang X., Dong Y.J., Xu L.L., Zhang X.W., Hou J., Fan Z.Y. Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity, element contents and antioxidative system in perennial ryegrass, *Plant Growth Regul.*, **2013**, 69, 11–20. CrossRef CAS.
- (17) Pérez-Pérez M.E., Lemaire S.D., Crespo J.L. Reactive oxygen species and autophagy in plants and algae. *Plant Physiol.*, **2012**, 160, 156–164. CrossRef.
- (18) Hordiman R.T., Jacoby B. Absorption and translocation of Cd in Bush beans (*Phaseolus vulgaris*) *Physiol. Plant.* **1984**, 61, 670–674.
- (19) Cutler J.M., Rains D.M. Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiol.* **1974**, 54, 67–71.
- (20) Серёгин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения. *Физиол. растений.* **2002**, 48, 606–630.
- (21) Janicka-Russak M., Kabała K., Burzyński M. Different effect of cadmium and copper on H⁺-ATPase activity in plasma membrane vesicles from *Cucumis sativus* roots, *J. Exp. Bot.*, **2012**, 63, 4133–4142. CrossRef CAS.
- (22) Kenderešová L., Staňová A., Pavlokin J., Ďurišova E., Nadubinská M., Ciamporová M. et al. Early Zn²⁺-induced effects on membrane potential account for primary heavy metal susceptibility in tolerant and sensitive. *Arabidopsis* species *Ann. Bot.* **2012**, 110, 445–459. DOI: 10.1093/aob/mcs111.
- (23) Fan L.-M., Wu W.-H., Yang Y.-Y. Identification and characterization the inward K⁺ channel in the plasma membrane of *Brassica* pollen protoplasts. *Plant and Cell Physiol.* **1999**, 40, (8), 859–865.
- (24) Rubio F., Nieves-Cordones M., Aleman F., Martinez V. Relative contribution of AtHAK5 and AtHAK1 to K⁺ uptake in the high-affinity range of concentrations. *Physiol. Plant.* **2008**, 134, 598–608.
- (25) Wang S.-M., Zhang J.-L., Flowers T.J. Low-affinity Na⁺ uptake in the halophyte. *Suaeda maritime* *Plant Phys.* **2007**, 145, 559–571.
- (26) Vasantha Pillay S., Rao V.S., Rao K.V.N. Effect of nickel toxicity in *Hyptis suaveoles* (L) Poit and *Helianthus annuus* L. *Ind. J. Plant Physiol.* **1996**, 1, 153–156.
- (27) Paunov M., Koleva L., Vassilev A., Vangronsveld J., Goltsev V.V. Effects of different metals on photosynthesis: cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat, *Int. J. Mol. Sci.*, **2018**, 19, 787, DOI: 10.3390/ijms19030787.
- (28) Li L., Huang X., Borthakur D., Ni H. Photosynthetic activity and antioxidative response of seagrass *Thalassia hemprichii* to trace metal stress *Acta Oceanol. Sin.* **2012**, 31, 98–108. DOI: 10.1007/s13131-012-0210-3.
- (29) Kervesan S., Petrovic N., Popovic M., Kandrac J. Nitrogen and protein metabolism in young pea plant as affected by different by different nickel, cadmium, lead, molybdenum. *J. Plant Nutr.* **2001**, 24, 1633–1644.
- (30) Joner E.J., Leyval C. Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes *Biol. Fertil. Soils.* **2001**, 33, 351–357.
- (31) Kirmani H.F., Hussain M., Ahmad F., Shahid M., Asghar A. Impact of zinc uptake on morphology, physiology and yield attributes of wheat in Pakistan, *Cercetari Agronomice în Moldova*, **2018**, 51, 29–36. Search PubMed.
- (32) Al-Yemeni M.N. Effect of cadmium, mercury, and lead on seed germination and early seedlings of *Vigna ambacensis*. *Indian J. Plant Physiol.* **2001**, 6 2 (N.S.), 147–151.
- (33) Ku Hao-Juan, Xi Jia-bin, Yang Zhang-yi. Effects of heavy metals on *Sesbania rostrata* suspension cultures obtained from roots, stems and leaves. *Acta Sci. Nat. Univ. Sutyatseni Natur. Sci.* **2001**, 40, 84–87.

- (34) Jackson R.J., Roth E.J., McClure P.R., Natanjo C.M. Selection, isolation and characterization of Cd-resistant. *Datura innoxia* *Plant Physiol.* **1984**, 75, 914–918.
- (35) Domazlicka E., Opatrny Z. The effect of cadmium on tobacco cell culture and the selection of potentially Cd-resistant cell lines. *Biol. Plant.* **1989**, 1, 19–27.
- (36) Gratao P.L., Pompeu G.B., Capaldi F.R., Vitorello V.A., Leo P.J., Ajivedo R.A. Antioxidant response of *Nicotiana tabacum* cv. Bright Yellow 2 cells to cadmium and nickel stress *Plant Cell Tissue and Org. Cult.* **2008**, 94, 73–83 DOI: <https://doi.org/10.1007/s1240-008-9389-6>.
- (37) Сергеева Л.Е., Михальская С.И., Комисаренко А.Г. Современные биотехнологии повышения устойчивости растений к осмотическим стрессам. Киев; Кондор, **2019**, 160 с.
- (38) Иванов А.А., Кособрюхов А.А. Изменение фотосинтетических характеристик и физиологических показателей у растений пшеницы при действии кадмия на фоне NaCl. *Сел.-хоз. биол. Сер. Буол. растений.* **2009**, 3, 104–109.
- (39) Maróti M., Bognár J. Growth response of plant callus tissue to toxic heavy metal compounds and ion contaminating the environment. *Acta Bot. Hung.* **1985**, 31, 251–259.
- (40) Nakazawa R., Ikawa M., Yasuda K., Takenaga H. Synergistic inhibition of the growth of suspension cultured tobacco cells by simultaneous treatment with cadmium and arsenic in relation to phytochelatin synthesis. *Soil Sci. and Plant Nutr.* **2000**, 46, 271–275.
- (41) Surosz W., Palinska K.A. Ultrastructural changes induced by selected cadmium and copper concentrations in the cyanobacterium *Phormidium*: interaction with salinity. *J. Plant Physiol.* **2000**, 187, 643–650.
- (42) Tamás L., Mistrík I., Huttová J., Halusková L., Valentovicová K., Zelinova V. Role of reactive oxygen species-generating enzymes and hydrogen peroxide during cadmium, mercury and osmotic stresses in barley root tip. *Planta* **2010**, 231, 221–231. DOI: 10.1007/s00425-009-1042-z.
- (43) Hernandez L.E., Villasante C.O., Montero-Palmero M.B., Escobar C. Carpena R.O. “Heavy metal perception in a microscale environment: a model system using high doses of pollutants” in Metal toxicity in plants. Perception, signaling and remediation; eds D.K. Gupta and L.M. Sandalio (Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag), **2012**, 23–37. DOI: 10.1007/978-3-642-22081-4_2.
- (44) Qing G., Zhai X.-G. & Han Z.-X. Cloning and sequence analysis of new gene coding drought tolerance, LEA3 from Tibet hull-less barley. *Zuowu xuebao=Acta Agr. Sin.* **2007**, 33, 292–296.
- (45) Tioleter D., Jaquinod M., Mangavel C., Passirani C., Saulner P., Manon S., Teyssier E., Payet N., Avelange-Macherel M.-H., Macherel D. Structure and function of a mitochondrial late embryogenesis abundant protein by desiccation. *Plant Cell*, **2007**, 19, 1580–1587.
- (46) Verslues P.E. Bray E.A. *LWR1* and *LWR2* are required for osmoregulation and osmotic adjustment in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **2004**, 136, 2831–2842.
- (47) Nakashima K., Ito Y., Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stress in plants. *Physiol. Plant.* **2009**, 149, 88–95. DOI: 10.1104/pp.108.129791.
- (48) Shameer K., Ambika S., Varghese S.M., Karaba N., Udayakumar M., Sowdhamini R. STIFDB – *Arabidopsis* stress-responsive transcription factor Data Base. *Inr. J. Plant Genomics.* **2009**: 583429. DOI: 10.1155/2009/583429.
- (49) Гамзикова О.И., Барсукова В.С. Полиморфизм и характер наследования устойчивости пшеницы к избытку никеля. *Физиол. и биохимия культ. растений* **1993**, 25, 8–14.
- (50) Howden R., Goldsbrough P.B., Andersen C.R., Cobbett C.S. Cadmium-sensitive cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient. *Plant Physiol.* **1995**, 107, 1059–1066.
- (51) Howden R., Andersen C.R., Goldsbrough P.B., Cobbett C.S. A cadmium-sensitive, glutathione deficient mutant of *Arabidopsis thaliana* *Ibid.* **1995**, 107, 1067–1073.
- (52) Pena L.B., Barcia R.A., Azpilicueta C.E., Méndez A.A., Gallego S.M. Oxidative post translational modifications of proteins related to cell cycle are involved in cadmium toxicity in wheat seedlings. *Plant Sci.* **2012**, 196, 1–7. DOI: 10.1016/j.plantsci.2012.07.008.
- (53) Singh S., Parihar P., Singh R., Singh V.P., Prasad S.M. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics and ionomics. *Frontiers in Plant Science* **2016**, URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143>.
- (54) Emamverdian A., Ding Y., Mokhberdorani F., Xie Y. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *Sci. World J.*, **2015**. DOI: 10.1155/2015/756120.
- (55) Сергеева Л.Е. Клеточная селекция с ионами тяжёлых металлов для получения генотипов растений с комплексной устойчивостью к абиотическим стрессам. Киев: Логос, **2013**, 211 с.
- (56) Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cadmium ions in cell selection for obtaining wheat cell forms tolerant to water stress. *Visn. Cherkassy Univ. Ser. Biology.* **2019**, 2, 74–80. DOI: 10.31651/2076-5835-2018-1-2019-2-74-80

- (57) Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cell selection with barium ions for obtaining genetically modified salt tolerant tobacco forms. *Visn. Cherkassy Univ. Ser. Biology*. **2020**, 1, 71–78. DOI: 10.31651/2076-5835-2018-1-2020-1-71-78.
- (58) Naika M., Shameer K., Mathew O.K., Gowda R., Sowdhamini R. STIFDB₂: An update version of plant stress-responsive stress signals, stress-responsive transcription factors binding sites and stress-responsive genes in *Arabidopsis* and rice. *Plant Cell Phys.* **2013**, 54:e8. DOI: 10.1093/pcp/pcs185.
- (59) Тищенко Е.Н., Михальская С.И. Агробактериальная трансформация подсолнечника. *Физиол. и биохим. культ. растений*. **2006**, 38. 187–196.
- (60) Amini S., Ghobadi C., and Yamchi A. Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants, *Journal of Plant Molecular Breeding*, **2015**, 3, 44–55. Search PubMed.
- (61) Fasani E., Manara A., Martini F., Furini A., DalCorso G. The potential of genetic engineering of plants for the remediation of soils contaminated with heavy metals. *Plant Cell Environ.* **2018**. 41, 1201–1232. 10.1111/pce.12963 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].