

ORIGINAL ARTICLE

**The influence of high Cd²⁺ concentrations on lipid peroxidation
and antioxidant system function of wheat (*Triticum aestivum*)
and rye (*Secale cereale*) etiolated shoots**

Kolesnichenko V.V.¹, Kolesnichenko A.V.^{2,3}

¹ Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia

² Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Division RAS, Irkutsk, Russia

³ Baikal Research Center, Irkutsk, Russia

*E-Mail: akol2005@mail.ru

Received May 1, 2012

The influence of high Cd²⁺ concentrations on lipid peroxidation and antioxidant system function of winter wheat (*Triticum aestivum*) and rye (*Secale cereale*) etiolated shoots. It is shown that etiolated shoots of winter rye with different length dare progressively inhibited by high Cd²⁺, but wheat seedlings are not inhibited by such way. The rate of lipid peroxidation in the presence of Cd²⁺ in wheat shoots was lower than in rye shoots. Catalase activity in the presence of Cd²⁺ in rye shoots was lower than in wheat shoots but peroxidase activity was higher in wheat shoots.

Key words: antioxidant enzymes / Triticum aestivum L / Secale cereale / catalase / peroxidase / Lipid peroxidation / Cd stress

ORIGINAL ARTICLE

**Изучение влияния высоких концентраций кадмия на
интенсивность процессов перекисного окисления липидов и
активность антиоксидантных систем этиолированных
проростков пшеницы (*Triticum aestivum*) и ржи (*Secale cereale*)**

Колесниченко В.В.¹, Колесниченко А.В.^{2,3}

¹ Институт Физиологии Растений им. К.А. Тимирязева Российской Академии Наук. Москва, Россия

² Сибирский Институт Физиологии и Биохимии Растений СО РАН, Иркутск, Россия

³ Байкальский Исследовательский Центр, Иркутск, Россия

*E-Mail: akol2005@mail.ru

Поступила в редакцию 1 мая 2012 г.

Изучено влияние высоких концентраций CdCl₂ на интенсивность процессов перекисного окисления липидов и функционирование антиоксидантных систем этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum*) и ржи (*Secale cereale*). Показано, что, если у ржи высокие концентрации кадмия прогрессирующе ингибируют увеличение веса и роста проростков с увеличением их возраста, то у пшеницы этот эффект выражен в гораздо меньшей степени — со временем скорость прироста восстанавливается. Содержание МДА в проростках пшеницы со временем снижается сильнее, чем в проростках ржи. При этом активность каталазы в присутствии кадмия в среднем в проростках пшеницы значительно ниже, чем в проростках ржи, а активность пероксидазы в среднем несколько выше.

Ключевые слова: antioxidant enzymes / Triticum aestivum L / Secale cereale / catalase / peroxidase / Lipid peroxidation / Cd stress

Кадмий является одним из наиболее высокотоксичных антропогенных загрязнителей, широко используется в антикоррозионных покрытиях и при производстве аккумуляторов и относится к металлам второго класса опасности. Кадмий попадает в окружающую среду в основном за счет промышленных процессов, орошения сточными водами и применения загрязненных им металл-содержащих пестицидов, фосфатных удобрений и с

атмосферными осадками. Загрязнение кадмием вызывает растущее беспокойство, так как кадмий из почвы может быть потреблен растениями, в результате чего создаются угрозы здоровью человека и животных при его последующей передаче через пищевую цепь (Кузнецов, Дмитриева, 2005; Ranieri, *et al.*, 2005). К настоящему времени установлено, что кадмий снижает поглощение кислорода корнями и изолированными клетками растений,

ингибирует транспорт электронов и протонов в митохондриях, вследствие чего нарушается функционирование электронно-транспортной цепи. Кадмий ингибирует активность ключевых ферментов гликолиза и пентозофосфатного окислительного пути, нарушает водный статус и рост растения (Belimov *et al.*, 2003; Титов *и др.*, 2007; Ahmad *et al.*, 2009; Farouk *et al.*, 2011).

Токсическое воздействие тяжелых металлов вызывает в растительной клетке образование активных форм кислорода (состояние окислительного стресса) (Ercal *et al.*, 2001; Pinto *et al.*, 2003; Benavides *et al.*, 2005) и, следовательно, денатурацию белков, повреждение нуклеиновых кислот и интенсификацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и вследствие этого накопление такого продукта ПОЛ, как малоновый диальдегид (МДА) (Mediouini *et al.*, 2006, Jin *et al.*, 2008, Kolesnichenko, 2009, Kirichenko *et al.*, 2011). Механизмы, защищающие растительную клетку от активных форм кислорода, достаточно универсальны для всех типов стресса и включают в себя такие ферменты как пероксидазу, каталазу, глутатионпероксидазу, супероксиддисмутазу и др. (Grant *et al.*, 1997; Ercal *et al.*, 2001; Pinto *et al.*, 2003; Benavides *et al.*, 2005; Ratheesh Chandra *et al.*, 2010).

Ранее, при изучении влияния высоких концентраций кадмия на рост и развитие озимой пшеницы (*Triticum aestivum L.*, сорт «Московская 69») было установлено, что ее устойчивость к действию данного токсиканта выше, чем рапса (Kolesnichenko, 2009) и близка к таковой ячменя и представителей семейства *Poaceae*, определенной Титовым с соавторами (Титов *и др.*, 2008). При этом была отмечена

более высокая активность пероксидазы по сравнению с двудольными (рапсом) при значительном ингибировании активности каталазы. В то же время изучение интенсивности процессов ПОЛ показало, что рост интенсивности процессов ПОЛ у пшеницы по сравнению с рапсом был незначителен (Kolesnichenko, 2009). Данные о ингибировании активности пероксидазы (He *et al.*, 2009) и активации каталазы (He *et al.*, 2009; Amirjani, 2012) у пшеницы под действием высоких концентраций кадмия были получены для 3-х — 7-и суточных проростков, однако при этом данными авторами наблюдалась и значительная линейная концентрационно-зависимая интенсификация процессов ПОЛ (He *et al.*, 2009; Amirjani, 2012).

Известно, что рожь намного устойчивее пшеницы к действию различных типов индуцированного окислительного стресса, например таких, как последовательное замораживание — оттаивание (Bolduc *et al.*, 1988) и токсическое воздействие алюминия (Rodriguez Milla *et al.*, 2002), что позволяет предположить, что и к окислительному стрессу, вызванному токсическим действием кадмия рожь должна быть более устойчива, чем пшеница. В связи с этим представляло интерес сравнить в лабораторных условиях особенности роста и функционирования некоторых антиоксидантных систем проростков пшеницы и ржи под действием высоких концентраций кадмия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение растительного материала. В работе были использованы этиолированные проростки ржи (*Secale cereale*, сорт «Дымка») и пшеницы (*Triticum aestivum L.*, сорт

«Московская 69»).

Для получения этиолированных проростков семена ржи и пшеницы тщательно промывали в мыльном растворе, обрабатывали в слабом растворе марганцовки и оставляли для набухания при комнатной температуре в течение 1 — 2 часа. Затем семена раскладывали в кюветы на влажную фильтровальную бумагу и проращивали в термостате при 26 °С от 3 до 21 дня.

Для изучения влияния солей кадмия на рост растений, уровень перекисного окисления липидов, активности каталазы и пероксидазы в разложенные на фильтровальной бумаге в кюветах семена пшеницы и ржи добавляли раствор $CdCl_2$ в диапазоне концентрации от 0,5 до 7.5 мМ.

Определение активности ПОЛ по содержанию МДА. Об изменении интенсивности ПОЛ судили по содержанию вторичного продукта ПОЛ — МДА с помощью метода Costa с соавторами (2002). Метод основан на том, что при высокой температуре в кислой среде МДА реагирует с 2 — ТБК, образуя розовый триметилловый комплекс с максимум поглощения при 535 нм (Costa *et al.*, 2002).

Для проведения эксперимента брали 250 мг этиолированных проростков пшеницы, ржи и гомогенизировали с 4 мл 20% трихлоруксусной кислотой (ТХУ), с последующим центрифугированием в течение 20 мин при 8000 об/мин. Затем к 1 мл реакционной смеси добавляли 4 мл 0.5% ТБК, приготовленной в 20% ТХУ, и в течение 30 мин кипятили при 95°С на водяной бане, с последующим охлаждением. После охлаждения исследуемые пробы центрифугировали в течение 12 мин при 8000

об/мин. Измерение оптической плотности (E) проб проводили на фотоколориметре «КФК — 2» при длине волны 532 нм и 600 нм. Затем рассчитывали содержание МДА: $E_{MDA} = E_{532} - E_{600}$; $C = E_{MDA} / E \cdot L$, где C — концентрация МДА; E_{MDA} — оптическая плотность; L — длина луча (для КФК — 2 = 1 см); E — коэффициент молярной экстинкции МДА ($155 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$).

Определение активности каталазы. При определении активности каталазы исследуемых растений использовали метод Королюк, основанный на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс (Королюк и др., 1988).

Для этого реакцию запускали добавлением 0,1 мл растительного гомогената к 2 мл 0,03% раствора перекиси водорода. В качестве контрольной пробы использовали 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 мин добавлением 4% молибдата аммония. Затем измеряли интенсивность окраски на фотоколориметре «КФК — 2» при длине волны 410 нм против контрольной пробы, в которой вместо перекиси водорода вносили 2 мл воды. Расчет измерений проводили следующим образом:

$$E = (A_k - A_d) \cdot V \cdot t \cdot k \cdot x \cdot p \text{ (мкат/л)}$$

где E — активность каталазы в мкат/л; A — оптическая плотность контрольной и опытной проб; V — объем вносимой пробы, 0,1 мл; t — время инкубации, 600 сек; k — коэффициент миллимолярной экстинкции перекиси водорода, равный $22,2 \cdot 10^3 \cdot \text{мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. За единицу активности каталазы принимали то количество фермента, которое участвует в превращении 1 мкат перекиси водорода за 1 сек при заданных условиях.

Определение активности пероксидазы.

Определение пероксидазной активности проводили с помощью метода H.U. Bergmeyer (1974). Измерение проводили на фотоколориметре «КФК — 2» при длине волны 436 нм. В качестве контроля использовали дистиллированную воду.

Регистрирование скорости увеличения активности в пробах проводили, используя линейную пропорцию кривой после первоначальной лаг фазы.

РЕЗУЛЬТАТЫ**Влияние кадмия на скорость роста проростков**

Определение изменения скорости прироста проростков пшеницы и ржи проводили на 3-и, 6-е и 9-е сутки эксперимента. Как у пшеницы, так и у ржи присутствие кадмия в среде ингибировало скорость роста этиолированных проростков (рис. 1А,В). Однако скорость роста проростков у пшеницы и ржи в присутствии кадмия различалась. Если у ржи со временем скорость прироста стрессированных проростков по отношению к контрольным уменьшалась, в зависимости от использованной концентрации кадмия, на 4-6%, то у пшеницы со временем она несколько увеличивалась (до 8%), хотя и была снижена по сравнению с контролем (рис. 1С).

Влияние кадмия на перекисное окисление липидов

Отбор проб для измерения интенсивности процессов перекисного окисления липидов по накоплению МДА проводили на 6-е, 10-е и 14-е сутки выращивания пшеницы и 6-е, 9-е и 15-е сутки выращивания ржи.

У контрольных 6 и 10 суточных проростков пшеницы содержание МДА и, следовательно, интенсивность процессов ПОЛ были приблизительно одинаковы, а к 14 суткам

содержание МДА в проростках снижалось (рис. 2А). У проростков ржи падение накопления МДА более чем в два раза отмечалось уже к 9 суткам выращивания (рис. 2В) и в дальнейшем уровень накопления МДА значительно не изменялся.

В сравнении с контролем, пробами, у 6 суточных проростков пшеницы присутствие кадмия в среде при низких использованных концентрациях вызывало увеличение интенсивности процессов ПОЛ (рис. 2А). Вместе с тем, при воздействии высоких концентраций кадмия на исследуемые проростки наблюдали отсутствие увеличения накопления МДА по сравнению с контролем (рис. 2А). В то же время, у 10-суточных проростков пшеницы кадмий во всех использованных концентрациях вызывал снижение накопления МДА по сравнению с контролем. Такая же картина наблюдалась и у 14-суточных проростков пшеницы (рис. 2А).

У ржи, в отличие от пшеницы, у 9-и суточных проростков кадмий вызывал интенсификацию процессов ПОЛ и накопление МДА (рис. 2В). У 15-и суточных проростков ржи этот процесс был не так выражен, но при концентрациях кадмия в среде 5,5 и 7,5 мМ накопление МДА было достоверно выше, чем у контрольных проростков.

Таким образом, с увеличением возраста этиолированных проростков пшеницы, выращенных в условиях действия от 1 мМ до 7,5 мМ кадмия в среде более 6 суток, наблюдали, в отличие от проростков ржи, снижение интенсивности образования продуктов ПОЛ.

Влияние кадмия на активность каталазы

При определении активности каталазы у этиолированных проростков пшеницы обнаружили, что у контрольных проростков

пшеницы с возрастом наблюдается повышение активности фермента в полтора раза (рис. 3А). В то же время у проростков ржи активность каталазы незначительно снижалась (рис. 3В).

Присутствие в среде уже 1 мМ кадмия у 6-и суточных проростков пшеницы вызывало значительное ингибирование активности каталазы по сравнению с контрольными проростками. Дальнейшее увеличение содержания кадмия до 7,5 мМ приводило к дальнейшему снижению активности данного фермента в исследуемых проростках (рис. 3А). У 9-и суточных проростков, все использованные концентрации кадмия также вызывали резкое снижение активности каталазы по сравнению с контрольными 9-и суточными проростками. Однако при этом и активность каталазы в контрольных 9-и суточных проростках была выше, чем у 6-и суточных контрольных проростков пшеницы, и активность каталазы при всех использованных концентрациях кадмия у 9-и суточных проростков была выше, чем у 6-и суточных (рис. 3А). У 12-и суточных проростков при всех использованных концентрациях кадмия активность каталазы была выше, чем у 9-и суточных проростков пшеницы (рис. 3А).

У ржи, в отличие от пшеницы, воздействие кадмия не вызывало такого значительного ингибирования активности каталазы, как у пшеницы (рис. 3В). Ингибирование наблюдалось только у 6-и суточных проростков ржи при концентрациях 1 и 2,5 мМ кадмия в среде (рис. 3В). Во всех остальных вариантах опыта у 6-и, а также во всех вариантах опыта у 9-и и 12-и суточных проростков отмечалось увеличение активности каталазы по сравнению с контролем того же возраста (рис. 3В).

Таким образом, на основании полученных

результатов можно сделать вывод, что, в отличие от ржи, у пшеницы уже в присутствии небольших концентраций кадмия в исследуемых растениях происходит ингибирование активности каталазы. При этом, при возрастании концентрации кадмия, активность фермента у всех экспериментальных проростков пшеницы одного возраста падает. В то же время для каждой использованной концентрации кадмия активность каталазы с увеличением возраста проростков увеличивается.

Влияние кадмия на активность пероксидазы

При определении активности пероксидазы в проростках пшеницы было установлено, что у 6, 10 и 14 суточных контрольных проростков пероксидазная активность различается незначительно с тенденцией к снижению с возрастом и находится в пределах 1,3 — 1,5 у.е. (Рис. 4А). У 6-и суточных контрольных проростков ржи активность пероксидазы находилась в тех же пределах, но с увеличением возраста не снижалась, а возрастала до почти 2,5 у.е. (Рис. 4В).

Как видно из рисунка 4А, у проростков пшеницы всех возрастов активность пероксидазы при всех использованных концентрациях кадмия возрастала. При этом, у 10-и суточных проростков максимум активности в абсолютных цифрах значительно превышал таковой у 6-и суточных проростков. У 14-и суточных проростков пшеницы максимальные значения активности пероксидазы отмечались уже при низких концентрациях кадмия в среде (рис. 4А).

У ржи, в отличие от пшеницы, значительный рост активности пероксидазы под действием кадмия наблюдался только у 10-и суточных

проростков. Впоследствии у 14-и суточных проростков при концентрациях кадмия 1 — 2,5 мМ активность пероксидазы снижалась до уровня 6-и суточных проростков, хотя при более высоких концентрациях кадмия активность пероксидазы сохранялась на уровне ее активности у 10-и суточных проростков (Рис. 4В).

В результате анализа полученных данных, можно сделать вывод, что при увеличении

возраста проростков пшеницы активность пероксидазы возрастала, причем максимум ее активности с возрастом смещался в область более низких концентраций кадмия. У ржи с увеличением возраста проростков ее активность сначала возрастала, а затем, в зависимости от концентрации кадмия, либо падала, либо сохранялась на прежнем уровне.

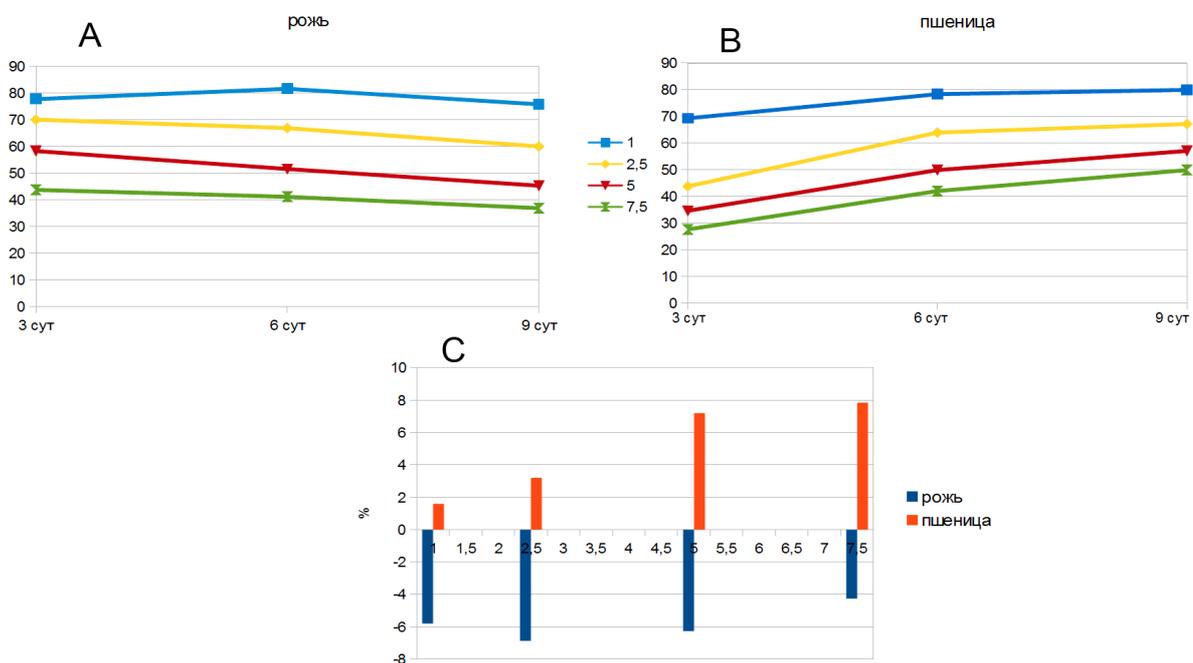


Рисунок 1. Влияние кадмия на прирост проростков ржи (А) и пшеницы (В) и изменение скорости их прироста (С).

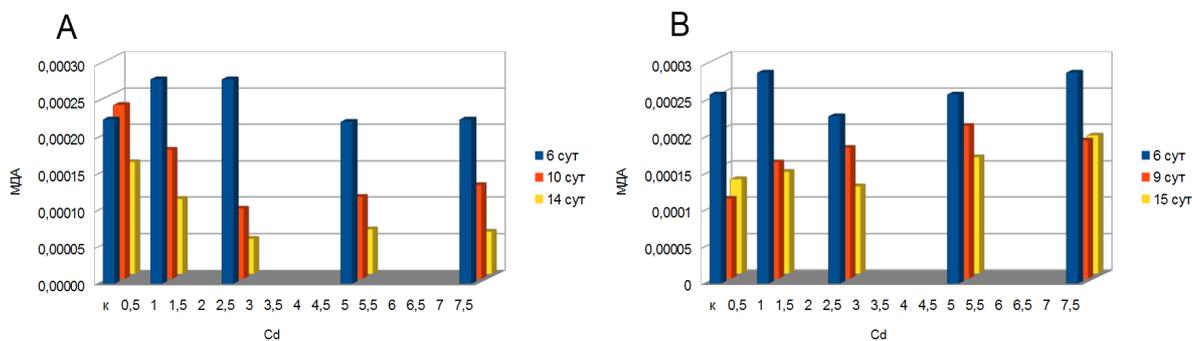


Рисунок 2. Накопление МДА в проростках пшеницы (А) и ржи (В) в зависимости от концентрации кадмия.

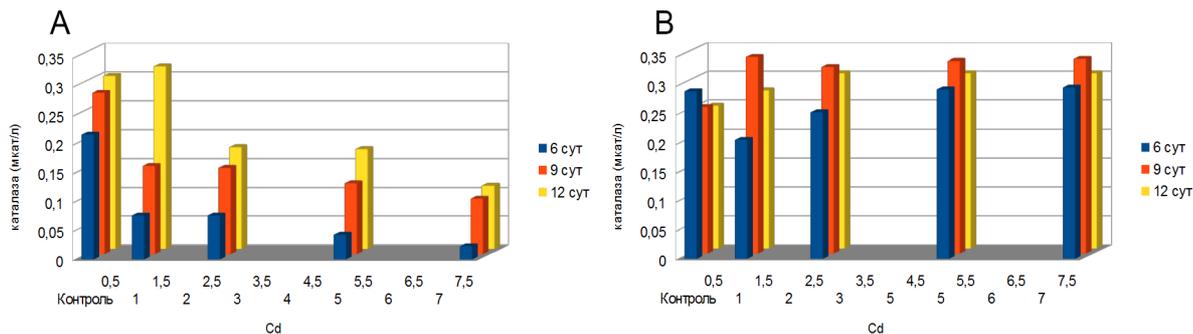


Рисунок 3. Активность каталазы в проростках пшеницы (А) и ржи (В) в зависимости от концентрации кадмия.

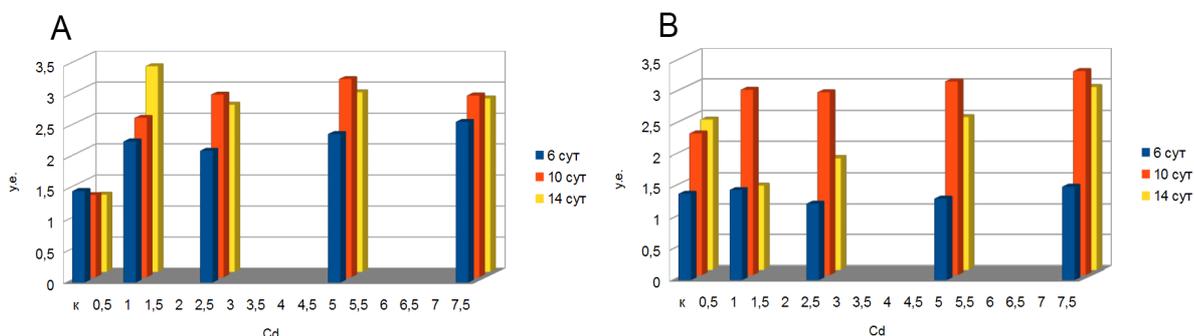


Рисунок 4. Активность пероксидазы в проростках пшеницы (А) и ржи (В) в зависимости от концентрации кадмия.

ОБСУЖДЕНИЕ

Присутствие кадмия в среде вызывало ингибирование роста проростков как пшеницы, так и ржи, однако степень ингибирования у них отличалась. Если у ржи со временем рост под действием кадмия все более замедлялся, то у пшеницы после первоначальной задержки скорость роста проростков несколько увеличивалась. Эти данные достаточно хорошо коррелировали с результатами определения интенсивности процессов ПОЛ в проростках. Если у ржи практически во всех вариантах опыта кадмий вызывал накопление МДА в проростках по сравнению с контролем, то у пшеницы в большинстве случаев в присутствии кадмия накопление МДА было ниже, чем в контрольных проростках соответствующего возраста.

Сравнивая данные по накоплению МДА и активности пероксидазы можно предположить, что достаточно низкий уровень накопления МДА в присутствии кадмия у пшеницы коррелирует с достаточно высокой активностью пероксидазы во всех вариантах с присутствием кадмия в среде, а также с увеличением со временем активности каталазы, хотя и значительно более низкой, чем активности каталазы ржи при соответствующих концентрациях кадмия в среде. При этом, если активность пероксидазы у ржи со временем возрастала до такого уровня у пшеницы, то активность каталазы по времени у ржи значительно не менялась.

Данные о ингибировании активности пероксидазы (He *et al.*, 2009) и активации каталазы (He *et al.*, 2009; Amirjani, 2012) у

пшеницы под действием высоких концентраций кадмия были получены для 3-х — 7-и суточных проростков, однако при этом данными авторами наблюдалась и значительная линейная концентрационно-зависимая интенсификация процессов ПОЛ (He *et al.*, 2009; Amirjani, 2012), что отмечалось в исследовании (Kolesnichenko and Kolesnichenko, 2011) только для субпопуляции проростков пшеницы более старшего возраста (10 суток) с минимальной длиной при высокой концентрации кадмия в среде.

К настоящему времени известно, что способность растений аккумулировать кадмий может изменяться в ходе онтогенеза (Sanità di Torpi and Gabbrielli, 1999; Regvar and Vogel-Mikuš, 2008). В частности, изучение возрастных эффектов в накоплении кадмия и его распределении по органам растения, проведенное на проростках ячменя показало, что у более взрослых растений в связи с усилением барьерной функции уменьшается доля кадмия, поступающего из корней в побеги, в связи с чем содержание кадмия в побегах снижается (Батова *и др.*, 2012). Этим можно объяснить факт значительного уменьшения накопления МДА с возрастом проростков у пшеницы. В то же время определенную роль в этом должно играть и увеличение активности каталазы и, особенно, увеличение активности пероксидазы в проростках пшеницы в присутствие кадмия. В то же время у ржи, по-видимому, барьерная функция с возрастом проростков усиливается в меньшей степени, в связи с чем интенсивность процессов ПОЛ находится на более высоком уровне, несмотря на более высокую, в целом, активность каталазы и значительную активацию пероксидазы.

ЛИТЕРАТУРА

- Батова Ю.В., Титов А.Ф., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. (2012) Накопление кадмия и его распределение по органам у растений ячменя разного возраста, *Труды Карельского научного центра РАН*, (2). 32–37.
- Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. (1988) Метод определения активности каталазы *Лабораторное дело*. (1). 16–19.
- Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. (2005) Физиология растений, Москва, «Высшая школа», 736 с.
- Титов А. Ф., Таланова В. В., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф. (2007). Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 170 с.
- Титов А.Ф., Казнина Н.М., Шалыго Н.В., Радюк М.С., Будакова Е.А., Лайдинен Г.Ф., Таланова В.В., Таланов А.В., Венжик Ю.В., Батова Ю.В. (2008) Устойчивость растений семейства POACEAE к кадмию. Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века: Материалы всеросс. конф. (22–27 сентября 2008 г.). Часть 6: Экологическая физиология и биохимия растений. Интродукция растений. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 129–131.
- Ahmad I., Naeem M., Khan N.A., Samiullah (2009) Effects of cadmium stress upon activities of antioxidative enzymes, photosynthetic rate, and production of phytochelatins in leaves and chloroplasts of wheat cultivars differing in yield potential. *Photosynthetica*, **47(1)**, 146-151.

- Amirjani, M.R. (2012). Effects of Cadmium on Wheat Growth and Some Physiological Factors, *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, **2(1)**, 50-58.
- Belimov, A.A., Safronova, V.I., Tsyganov, V.E., Borisov, A.Y., Kozhemyakov, A.P., Stepanok, V.V., Martenson, A.M., Gianinazzi-Pearson, V., Tikhonovich, I.A. (2003) Genetic variability in tolerance to cadmium and accumulation of heavy metals in pea (*Pisum sativum* L.). *Euphytica*, **131(1)**, 25-35.
- Benavides M.P., Gallego S.M., Tomaro M.L. (2005) Cadmium toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* **17**, 21-34.
- Bergmeyer H.U. (1974) Reagents for enzymatic analysis. In: Methods of Enzymatic Analysis Vol I. (Eds: Bergmeyer HU, Gawehn K) Verlag Chemie, Weinheim 494-495.
- Bolduc, R., Comeau, A., Couture, L. St-Pierre, C. A. (1988). Resistance to alternating freeze and thaw stresses in wheat, rye, triticale and foxtail barley. *Can. J. Plant Sci.* **68**, 331-335.
- Costa H., Gallego S.M., Tomaro M.L. (2002) Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, **162(6)**, 939-945
- Ercal, N. Gurer-Orhan, H. Aykin-Burns, N. (2001) Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal-induced Oxidative Damage, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **1(6)**, 529-539.
- Farouk S., Mosa A.A., Taha A.A., Ibrahim H.M., EL-Gahmery A.M. (2011) Protective Effect of Humic acid and Chitosan on Radish (*Raphanus sativus*, L. var. sativus) Plants Subjected to Cadmium Stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **7(2)**, 99-116.
- Grant Ch.M., MacIver F.H., Dawes I.W. (1997) Mitochondrial function is required for resistance to oxidative stress in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*, **410**. 219-222.
- He Jun-yu, Ren Yan-fang, Ren Ming-jian, Wang Yang-yang (2009). Effect of Cadmium Stress on Seed Germination, Seedling Growth and the Activities of Antioxidant Enzymes of Wheat. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, **(05)**.
- Jin X., Yang X., Islam E., Liu D., Mahmood Q. (2008) Effects of cadmium on ultrastructure and antioxidative defense system in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Hazardous Materials*, **156(1-3)**, 387-397.
- Kirichenko K.A., Pobezhimova T.P., Sokolova N.A., Dudareva L.V., Voinikov V.K. (2011) The influence of cadmium chloride on fatty acid composition of high aquatic plants from Angara river. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **7(1)**, 79-87.
- Kolesnichenko V.V. (2009) The influence of high Cd concentrations on winter wheat (*Triticum aestivum* L.) and canola (*Brassica napus* L.) etiolated shoots. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **5(1-2)**, 16-31.
- Kolesnichenko V.V., Kolesnichenko A.V. (2011) The influence of high Cd²⁺ concentration on antioxidant system of wheat etiolated shoots with different length. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **7(3)**, 212-221.
- Lin Ai-jun, Zhang Xu-hong, Chen Mei-mei, Cao Qing (2007). Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation, *Journal of Environmental Sciences*, **19**, 596–602

- Mediouni C., Benzarti O, Tray B., Ghorbel M.H., Jemal F. (2006) Cadmium and copper toxicity for tomato seedlings. *Agronomy for Sustainable Development*. **26(4)**, 227-232
- Pinto E., Sigaud-kutner T.C.S., Leitão M.A.S., Okamoto O.K., Morse D., Colepicolo P. (2003) Heavy metal-induced oxidative stress in algae, *Journal of Phycology*, **39(6)**, 1008–1018.
- Ranieri, A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., et al. (2005). Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiol Biochem*, **43(1)**, 45-54
- Ratheesh Ch.P., Abdussalam A.K., Salim N., Puthur J.T. (2010) Distribution of Bio-accumulated Cd and Cr in two *Vigna* species and the associated histological variations. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **6(1)**, 4-12
- Regvar M., and Vogel-Mikuš K. (2008). Recent advances in understanding of plant responses to excess metals: exposure, accumulation and tolerance. in: Sulfur assimilation and abiotic stress in plants (Ed. N. A. Khan). Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 227– 251.
- Rodriguez Milla, M.A., Butler E., Rodriguez Huete A., Wilson C.F., Anderson O. and Gustafson J.P. (2002) Expressed Sequence Tag-Based Gene Expression Analysis under Aluminum Stress in Rye, *Plant Physiol.*, **130(4)**: 1706–1716.
- Sanità di Toppi L., Gabbriellini R. (1999). Response to cadmium in higher plants, *Environ. Exp. Bot.* **41**. 105–130.