



Іони важких металів барію та кадмію – реакції рослин та культур клітин

Ірина Зайцева¹, Лариса Броннікова^{1,2}

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна

Адреса для листування: irinaza.ldfr@gmail.com; Zlenko_lora@ukr.net

Отримано: 09.02.23; прийнято до друку: 10.04.23; опубліковано: 29.06.23

Резюме. Функціонування та онтогенез рослин здійснюється під генетичним контролем. Повнота реалізації генетичного потенціалу є наслідком взаємодії генотип/середовище і залежить від навколишніх умов. Реакція на різні стреси встановлює різницю між стійкими і нестійкими генотипами. При цьому виділяються реакції цілісної рослини та реакції, що реалізуються на клітинному рівні. Для визначення вкладу кожного складового у загальній стійкості організму необхідне їхнє паралельне дослідження. У цьому найбільш оптимальним підходом є порівняльний аналіз рослини і клітинної культури, ініційованої з нього. Для отримання об'єктивної інформації необхідно, по-перше, встановлення стресорів, які надають різнобічний вплив на організм. По-друге, виявлення загальних реакцій адаптацію ним. Цим умовам відповідають іони важких металів (ІТМ), зокрема катіони барію, Ba^{2+} , і кадмію, Cd^{2+} . Токсична дія даних катіонів схожа з негативною дією осмотичних стресів – засолення та водного дефіциту. Їхній порівняльний аналіз виявив ключову роль механізмів клітинного рівня. Це надає можливість використання цих катіонів у клітинній селекції – біотехнології, пов'язаної з маніпуляціями культур клітин. Результатом може бути відбір форм із підвищеним рівнем стійкості до абіотичних стресів.

Ключові слова: катіони Ba^{2+} та Cd^{2+} , засолення, водний стрес, стійкість, клітинна селекція.

Barium and cadmium heavy metal ions – reactions of plants and cell cultures

Iryna Zaitseva¹, Larysa Bronnikova^{1,2}

¹Oles Honchar Dnipro National University, 72 Gagarin avenue, Dnipro, 49010, Ukraine

²Institute of Plant Physiology and Genetics, Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

Correspondence: irainaza.ldfr@gmail.com; Zlenko_lora@ukr.net

Abstract. Plant growth and development are the results of genotype/environment interaction and are realized under genetic control. The genetic potential realization completeness essentially depends on surroundings. Biotic and abiotic stresses inhibit the ontogenesis. The reaction on various stresses determines the difference between sensitive and tolerant genotypes. In the first case pathological changes develop in organism. The adaptive processes prevail in the second one. During the division the reactions of entire plant and reactions of cellular level are observed. Organism reactions are directed towards the separation of stress agent from active metabolism zone. They are outward displacement, accumulation in special organs. Cell reactions are cooperated with adaptive metabolism changes. Parallel investigation of both events is needed to estimate the part of each variant in total organism tolerance. In such case the comparative analysis of plant and cell culture obtained from the plant is the most optimal approach. To have the true information it is necessary to estimate some parameters. First point is the detection of agent with all-round stress pressure. Another one is the determination of common reactions of adaptation to such stressor. Heavy metal ions (HMI) satisfy the requirements, especially barium, Ba^{2+} and cadmium, Cd^{2+} cations, HMI – are the most dangerous toxicants because they can produce vast pathological alterations in different tissues of plant organism. But usually HMI act together with abiotic stresses and their joint action is more hazardous. Cd^{2+} and Ba^{2+} cations toxic pressure is similar to osmotic stresses. There was shown that Ba^{2+} interrupted the K^+ intercellular transport and its outward transportation. Ba^{2+} ions affect the Na^+ transport too. Salinity has the similar effect. Cd^{2+} ions injure the water status of the organism. Cd^{2+} negative force due to their influence on LEA. Stress pressure of both cations develop on cellular level. So it is possible to use these cations in cell selection. Cell selection is a biotechnology that gives the opportunity to manipulation with cell populations. This method is connected with various selective systems elaboration to obtain

variants with genetic changes in the massive of wild type cells. The type and the dose of stressor give the opportunity of the direction. The similarity of various agents stress pressure may be the approach for selection variants with combined tolerance. Ba^{2+} and Cd^{2+} ions demonstrate the similarity to osmotic stresses – salinity and water deficit. The selection of forms with higher tolerance levels to those stresses will be the result. Stress tolerance – is one of the fundamental plant features. The osmotic stress tolerance is polygenic feature. The analysis of variants with combined tolerance may open direct and cross links in the metabolism chains. This information extends genetic, biochemical, physiological aspects of tolerance.

Key words: Ba^{2+} and Cd^{2+} cations; salinity; water stress; tolerance; cell selection.

ВСТУП

Кардинальні зміни клімату по всьому світу, незворотні погіршення стану ґрунту, води, атмосфери вже не просто суттєво знижують природне біорізноманіття. Широкий спектр стресових патологій, спричинених комбінованою дією різних агентів, може викликати повну елімінацію цілих генотипів. Філософське особисте питання «*Бути чи не бути*» перетворюється на загальнопланетарну проблему виживання.

Успішні наукові зусилля та матеріальні витрати, що зростають, відстають від поточного моменту. Виявлення та розгляд генетичних та епігенетичних характеристик, їх зв'язків стають безальтернативними складовими протоколів перспективних досліджень. Актуальність системного підходу не викликає сумнівів. У ряді випадків виникає потреба докорінного перегляду ідеологій.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Онтогенез рослини (як прикріпленого організму), особливо в умовах нестабільного навколишнього середовища, забезпечується ступенем реалізації генетичного потенціалу організму. Під генетичним контролем протікають усі метаболічні процеси як на клітинному рівні, так і на рівні цілісного організму. Екзогенні речовини, а також синтез ряду ендогенних сполук, які можуть відігравати роль сигнальних молекул, що регулюють експресію генів, значно впливатимуть на геном [1–3].

Традиційним підходом є окремі дослідження цих, нерідко, подібних подій. У той самий час паралельний аналіз функціонування інтактного рослини та клітинної культури, ініційованої з нього, може прояснити особливості реалізації одноманітного (загального) генетичного потенціалу. Особливо це стає актуальним в умовах зовнішнього пресингу, що посилюється. Реакція з боку клітинної популяції буде очікувано швидше. При цьому генетичні зміни, що підвищують стійкість, у рослині, що реалізуються на клітинному рівні, стають ключовими.

Тому особливу увагу привертають до себе стресори, які стосуються компартментів клітинного рівня. Якщо при цій атаці піддаються не одиничні сайти, а цілі ланцюги, то комплексність впливу може активувати ряд одночасних або послідовних адаптивних реакцій.

Іони важких металів (ІТМ, НМІ) відносяться до категорії стресорів, що викликають численні ураження організму, діючи малими, часто слідовими кількостями. З погляду біології рослинного організму НМІ ділять на дві групи: а) необхідні рослинам у

фізіологічно малих дозах (мікроелементи); б) іони, токсичні у слідових кількостях. До другої категорії відносять катіони; Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ba^{2+} . Більшість НМІ – це перехідні елементи із незаповненими d-орбіталами. Це ініціює утворення комплексів між катіонами та органічними лігандами [4]. Потрапляючи в організм рослини, НМІ викликають експресію багатьох генів. Так, у бібліотеці кДНК рослини *Sesbania drummondii* 95 генів ідентифіковані як Hg-реактивні [5]. Реакції на вплив НМІ різноманітні, ключову роль них відіграє співвідношення генотип/іон металу [6]. Слід також завжди мати на увазі факт: чи проявляється токсичний ефект на клітинному рівні, чи це феномен цілісної рослини.

Серед НМІ, що виділяються особливою токсичністю, широко досліджують катіони кадмію (Cd^{2+}), які провокують широкий спектр порушень при впливі на рослинний організм [7 – 10]. У той же час встановлено, що токсична дія іонів Cd^{2+} на рослини різних таксономічних груп багато в чому схожа. Аналогічні реакції на дію даних катіонів відзначають як у інтактних рослин, і у клітинних культур. Наприклад, у кореневій меристемі гороху Cd^{2+} порушував процес поділу клітин, затримуючи профазу мітозу [9]. У синхронізованій клітинній культурі тютюну BY-2 також зупинявся мітоз; при цьому зазначали, що обробка іонами Cd^{2+} на стадіях S та G2 викликала міжнуклеосомну фрагментацію ДНК, тоді як вплив НМІ на стадіях M та G1 призводив до розривів ДНК [11]. Іони Cd^{2+} можуть викликати широкий спектр мутацій, серед яких точкові, хромосомні аберації, зміни морфології ядра [11–13]. Інтегральним показником цих подій завжди було зниження лінійних розмірів коренів та надземної частини (у рослин) чи біомаси клітинних культур [14]. До цього слід додати той факт, що активність поглинання іонів Cd^{2+} не залежить від аніону зв'язування і не зменшується навіть за температури $0^{\circ}C$ [15, 16].

Є також інформація про дозо-залежні протилежно спрямовані реакції рослин. Так, при вивченні впливу іонів кадмію на суспензійну культуру клітин тютюну відзначали ріст-стимулюючий ефект 0,1 мМ розчину $CdCl_2$ та пригнічуючий – 0,2 мМ розчину [17].

У деяких публікаціях представлена вагома інформація, що дозволяє пов'язувати окремі напрями реакцій взаємодії Cd^{2+} із системами поглинання, транспорту, зв'язування [4, 18]. Незважаючи на токсичність, іон Cd^{2+} здатний накопичуватись у значних кількостях, деякі генотипи є навіть гіперакумуляторами цього іону [7]. Це підкреслює різницю між реакціями клітинного рівня та рівня організму (sic!).

Іони кадмію проникають усередину організму і переміщуються в його межах за участю транспортерів мембран цитоплазми та тонопласту [19–21]. Експресія в рослинах тютюну генів катіонного обміну арабідопсису *AtCAH4* та *AtCAH2* викликала посилення транспорту та накопичення Cd^{2+} у коренях молодих рослин [20]. Підвищену акумуляцію Cd^{2+} відзначали і у разі надекспресії гена *AtHMA3*. Даний ген кодує білок, що відноситься до підгрупи P1B-2 сімейства АТФ-аз Р-типу, що беруть участь у транспорті НМІ. Білок задіяний у вакуолярній локалізації Cd^{2+} [21]. Ці транспортери обслуговують важливі процеси секвестрування Cd^{2+} у вакуолі. Тому зміни активності такого перенесення можуть бути суттєвим напрямом генетичних модифікацій. До транспортерів, здатних переміщати Cd^{2+} у вакуолі, відносять САХ – (cation/ H^+ exchangers) – групу протеїнів, які виводять катіони з цитозолу підтримки гомеостазу мембран. Вони працюють за рахунок градієнта рН, що забезпечується протонними помпами, такими як H^+ -АТФ-ази та H^+ -пірофосфатази [22, 23]. Експресія САХ1, що посилювала активність транспорту Cd^{2+} у дріжджах, у рослинах петунії призводила до збільшення накопичення даного катіону, яке у 2,5 рази перевищувало показник контролю [24].

Поглинання та транспорт катіону Cd^{2+} можуть суттєво впливати на вміст внутрішньоклітинного Ca^{2+} [24–26]. Радіуси іонів Cd^{2+} та Ca^{2+} практично ідентичні (0,97Å та 0,99Å відповідно) [27].

Тому вважається, що Cd^{2+} може переноситись кальцієвими каналами. При вирощуванні культури ріпаку у присутності 400,0 мкМ іонів Ca^{2+} спостерігали накопичення токсичних катіонів у вакуолях, що супроводжувалося зниженням активності SV-каналів (SV, slow vacuolar channels) від $0,28 \pm 0,05$ мкМ/м² у нормальних умовах до 0,005 мкМ/м² при стресі [28]. Накопичення іонів Cd^{2+} у багатьох випадках активувало синтез перекисних сполук, змінювало активність антиоксидантних ферментів [29–31].

Крім акумуляції Cd^{2+} у вакуолі та активізації антиоксидантних систем у рослинах відбувається експресія транскрипційних факторів [32–34]. Це, мабуть, свідчить на користь включення інтегрованої мережі безлічі процесів, а чи не окремих функцій. Обробка іонами кадмію активувала також мітоген-активуючі (MAP)-кінази, які виступають сигналом біотичних та абіотичних стресів, фітогормонів, клітинного циклу [35]. Вже через 12 годин після збільшення 100,0–400,0 мкМ Cd^{2+} до середовища вирощування в клітинах суспензійної культури рису з'явилися транскрипти OsMAP2 [35]. Активізуються гени, що підсилюють протеолітичну активність та стабілізують структури під час мітозу [36, 37].

Встановлено вплив іонів Cd^{2+} на водний статус рослин. Зокрема, це стосується LEA (*late embryogenesis abundant proteins*, білки пізньої стадії ембріогенезу), протеїнам, що належать до групи дегідринів. Ця категорія протеїнів виявлена в ядрі, цитоплазмі, мітохондріях. LEA, подібно до шаперонів, можуть запобігати денатурації молекул при

зневодненні [38–40]. У той самий час встановлено, що іони Cd^{2+} негативно впливають на LEA [14].

Таким чином, стає доцільною ідеологія використати іони Cd^{2+} у біотехнологіях *in vitro* для підвищення (одержання) комплексної стресостійкості рослин.

До категорії іонів, токсичних у слідових кількостях відносять катіони Ba^{2+} . Катіон Ba^{2+} , в порівнянні з Cd^{2+} , використовується в наукових експериментах рідше і в більш вузьких цілях. Головний негативний ефект Ba^{2+} на рослинний організм полягає у його взаємодії з фізіологічно необхідними іонами K^+ [41–43]. Додаток лише 1,0 мМ Ba^{2+} знижувало інтенсивність потоків K^+ на 30% [41]. Цей катіон вплинув на експресію гена *AtNAK1* – високо афінного транспортера K^+ . З використанням лінії арабідопсису, яка мала інсерцію в тДНК, було показано, що цей ген опосередковує чутливий компонент поглинання K^+ [42]. Встановлено також, що іон Ba^{2+} впливає на поглинання Na^+ . У галофита *Suaeda maritima* був відкритий залежний шлях поглинання Na^+ , який відкривався при високих концентраціях засолення (150,0 мМ NaCl). Було підтверджено, що він опосередковується каналом типу АКТ1. Присутність іонів Ba^{2+} зменшувало поглинання Na^+ та втрату K^+ [43]. У рослин арабідопсису канал типу АКТ1 також блокувався Ba^{2+} ; у своїй взаємодії Ba^{2+}/K^+ реалізовувалося при концентрації фізіологічного катіону менше 50,0 мкМ [44, 45].

Аналіз публікацій, присвячених вивченню взаємодії іонів Ba^{2+} і Cd^{2+} з рослинним організмом, виявив дві загальні закономірності. По-перше, їхній токсичний ефект у більшості випадків проявлявся на клітинному рівні. По-друге, деякі патологічні реакції були подібні до порушень, викликаних осмотичними стресами (сольовим і водним). Дослідження процесів клітинного рівня будуть найбільш адекватними у разі використання спеціалізованих біотехнологій, зокрема клітинної селекції. Тому цілком аргументованою є ідея використання зазначених катіонів для відбору форм з підвищеним рівнем стійкості до осмотичних стресів.

Як біотехнологічний метод відбору стресостійких форм, клітинна селекція була широко задіяна ще в минулому столітті [46]. У той самий час паралельно з незаперечними її перевагами і досягненнями клітинна селекція, як і будь-яка методологія, не змогла забезпечити гарантований успіх [47].

Подолання недоліків успішно реалізується із залученням клітинних та молекулярних підходів. Так, використання AFLP-детекції (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) локусів кількісних ознак (QTLs) *in vitro* у рекомбінантних інбредних ліній соняшнику показало наявність трьох базових областей хромосом, асоційованих з ембріогенезом, органогенезом 4,8. Загалом, реакція рослинного об'єкта на систему *in vitro* (взаємини генотип/середовище) може бути найрізноманітнішою, часто непередбачуваною [50, 51].

Не виключені також ядерно-цитоплазматичні взаємини. Так, у інбредних ліній сояшнику, які мали однакові ядра, відзначали різний рівень тотипотентності. У цьому фертильні лінії мали цитоплазму *H. annuus*, а стерильні – цитоплазму *H. petiolaris* [52]. На думку деяких авторів, реалізація генетичних програм розвитку в культурі *in vitro*, відображенням якої є диференціальна експресія генів, регуляція їх транскрипції може бути наслідком комплексних процесів, що здійснюються на рівні взаємодії *cis*-активних елементів ДНК і *trans*-діючих факторів, так і просторово-тимчасових варіацій у хроматиновому оточенні генів. При цьому як одна з детермінантів може бути метилювання ДНК [53]. Автори трактують ферментативну модифікацію цитозину як успадкований епігенетичний чинник, що впливає на реалізацію генетичних програм *in vitro*.

Диференціальна експресія генів в окремих складових популяції (клітинах) змінюється/виявляється у часі та залежить від стадії розвитку культури [51]. Коли клітинна культура піддається стресовому тиску, фенотипічні реакції стійких і нестійких (звичайних) клітин можуть суттєво відрізнитися як за ступенем, і характером прояви. Це дає можливість виділення змінених форм [54]. Тут, однак, слід мати на увазі, що між візуальними проявами реакцій стресу та адаптації буває значна аналогія, що ускладнює оцінку. У цьому випадку необхідно звертати увагу на величину стресового навантаження та характер стресу.

Катіони Va^{2+} та Cd^{2+} викликають патологічні зміни, аналогічні ураженням, що виникають при впливі осмотичних стресів. На нашу думку рослинні форми, стійкі до даних НМІ, будуть відрізнитися комплексною стійкістю. Клітинні лінії, відібрані на селективних середовищах, що містять ці іони, а також регенеранти з них, відрізнялися підвищеною осмотостійкістю [54–56]. Це може свідчити роботу перехресних механізмів стійкості.

Розкриття потенціалу рослини вимагає максимальної участі систем, що працюють в організмі, для охоплення всебічних адаптаційних механізмів і пластичності реакцій. Наприклад, дослідження Zn -індукованого стресу у *Withania somnifera* виявило серйозні зміни протеома: зникнення одних білків та синтез інших “*de novo*” [57]. Порівняння абсорбційної здатності іонів алюмінію протопластами двох контрастних за стійкістю ліній кави показало, що Al -толерантна лінія акумулювала менше токсичних іонів у порівнянні з Al -чутливою [58]. Експеримент зв’язування іонів Cd^{2+} *in vitro* показав, що білок дефенсину $CAL2$ здатний до хелатування токсичного іону. Надекспресія $CAL2$ збільшувала накопичення іонів Cd^{2+} у пагонах арабідопсису та рису, але не впливала на вміст інших іонів. Гетерологічна експресія $CAL2$ збільшувала чутливість до іонів Cd^{2+} у арабідопсису; при цьому надмірна експресія $CAL2$ не впливала на толерантність до Cd^{2+} у рису [59]. Також було встановлено, що білок $CAL2$ має 66 % подібності до дефенсину $CAL1$. Обидва білки

локалізовані в клітинних стінках кінчиків коренів, що спрямоване на обмеження перенесення токсиканту в зерно. Вочевидь, що у разі експресія генів пов’язані з підтримкою цілісності організму [59, 60].

У той самий час під час реалізації стійкості мають значення і клітинні механізми, створені задля синтезу і накопичення низки сполук, зокрема сумісних осмолітів [61]. Деякі їх одночасно працюють як у клітинному рівні, і лише на рівні інтактного рослини [51–56, 61].

Тому виключно важливим є розуміння дії регуляторних механізмів усіх рівнів. Крім детального вивчення послідовностей та функціонування регуляторних генів, таких як транскрипційні фактори, варто критично оцінювати специфічну та загальну експресію контрольних механізмів відповіді рослин. Численні дані фіксують зміни, спричинені абіотичні стресами. Всі вони свідчать на користь факту участі значної кількості генів, а також пре- та пост-транскрипційних та/або трансляційних факторів та процесів у реалізації реакцій рослин, спрямованих на подолання зовнішніх впливів. Тому деякі автори починають наполягати на понятті “загальної (*global*) регуляції геному” [62]. Фрагментарна (блокова) організація генів створює можливість для перегрупування структурно-функціональних елементів. Щоб виявити перехресні реакції цих сигнальних шляхах, використовуються кілька векторів. Це транскриптомні, протеомні, метаболомні та іономні характеристики [63]. Комбінація таких «омічних» інструментів у системі *in vitro* може допомогти у подальших дослідженнях у напрямку покращення стійкості НМІ, а також стійкості до інших абіотичних стресів. Поглиблення у проблему виявляє необхідність радикальних удосконалень традиційних методологій, а ідеалі висування нових ідеологій. Тільки така робота на випередження зможе забезпечити реальний прогрес.

ВИСНОВОК

Розвиток феномену стресу *in vitro* від початкового контакту токсичного агента до хронічних стресових подій та подальших адаптаційних змін метаболізму є метою майбутніх наукових стратегій. Серед фізіологічних, біохімічних, генетичних реакцій клітини виділяються реакції клітинного стресу та адаптації. Культура клітин визначається як статистична система, зміни в якій опосередковуються тимчасовою диференціальною експресією генів. У стресових умовах життєздатність зберігають лише толерантні варіанти.

Оскільки стресостійкість є полігенною характеристикою, то найбільш раціональною методологією буде використання спеціальних токсичних агентів. Найбільше відповідають даним обставинам іони важких металів (НМІ). Діючи за багатьма напрямками одночасно, ці чинники ініціюють вироблення комплексу адаптивних реакцій та змін. Вони можуть бути використані у клітинній селекції для відбору форм із підвищеним рівнем стійкості до осмотичних стресів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аверина, Н.Г.; Щербаков, Р.А.; Недведь, Е.Л.; Минков И.Н. Влияние нитропирина на повышение солеустойчивости растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.). *Вестник Национальной академии наук Беларуси. Сер. Биологических наук.* 2017, 2, с.33–39.
2. Куземенский А.В. Генетические источники повышения качества плодов томата. *Физиология и биохимия культурных растений.* 2006, 38, 3, с.266–273.
3. Miranda D. Salinity effects on proline accumulation and total antioxidant activity in leaves of the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality.* 2014, 87, pp. 67–73. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.010>
4. Nies, D.H. Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 1999, 51, pp.730-750. <https://doi.org/10.1007/s002530051457>
5. Venkatachalam, P.; Srivastava, A.K.; Raghothava, K.G.; Sahi, S.V. Genes induced in response to mercury-ion-exposure in heavy metal hyperaccumulator *Sesbania drummondii*. *Environmental Science and Technology.* 2009, 43, pp.843-850. <https://doi.org/10.1021/es801304n>
6. Jahangir, M.; Abdel-Farid, I.B.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Metal ion-inducing accumulation in *Brassica rapa*. *J. Plant Physiology.* 2008, 165, pp. 1429–1437.
7. Surosz, W.; Palinska, K.A. Ultrastructural changes induced by selected cadmium and copper concentrations in the cyanobacterium *Phormidium*: interaction with salinity. *Journal of Plant Physiology.* 2000, 187, pp. 643–650.
8. Pavlokin, J.; Luxov'la, M.; Mistrikova, I.; Mistrik, I. Short- and long-term effects of cadmium on transmembrane electric potential (E_m) in maize roots. *Journal Biologia Sekcia Botanica Biologia Sec. Bot.* 2006, 61, pp.114 – 122.
9. Горовая, А.И.; Стрельченко, С.Д.; Руденко, С.С. Цитогенетична оцінка мутагенної дії хлориду кадмію і хлориду алюмінію та модифікуючої дії селеніту натрію у кореневих меристемах *Pisum sativum*. *Цитологія і генетика.* 1999, 33, с.52–56.
10. Yoshihara, T.; Hodoshima, H.; Miyano, Y.; Shoji, K.; Shimada, H.; Goto, F. Cadmium inducible Fe deficiency responses observed from macro and molecular views in tobacco plants. *Plant and Cell Reports.* 2006, 25, pp.365–373. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0092-3>.
11. Kuthanova, A.; Fisher, L.; Nick, P.; Opatrny, Z. Cell cycle phase-specific death response of tobacco BY-2 cell line to cadmium treatment. *Plant Cell and Environment.* 2008, 31, pp.1634–1643. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0573-3>
12. Howden, R.; Goldsbrough, P.D.; Andersen, C.R.; Cobbett, C.S. Cadmium-sensitive cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient. *Plant Physiology.* 1995, 107, pp. 1059–1066. <https://doi.org/10.1007/BF02191599>
13. Kuthanova, A.; Gemperlova, L.; Zelenkova, S.; Eder, J.; Machackova, I.; Opatrny, Z.; Cvikvova, M. Cytological changes and alterations in polyamine contents induced by cadmium in tobacco BY2 cells. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2004, 42, pp.149–156. <https://doi.org/10.1007/sl1240-008-9389-6>.
14. Серёгин, И.В.; Иванов, В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения. *Физиология растений.* 2002, 48, с.606–630.
15. Hagemeyer, J.; Kahle, H.; Breckle, S.-W.; Waisel, Y. Cadmium in *Fagus sylvatica* L. trees and seedlings: Leaching, uptake and interconnection with transpiration. *Water, Air, Soil Pollution.* 1986, 29, pp. 347–359.
16. Hardiman, R.T.; Jacoby, B. Absorption and translocation of Cd in bush beans (*Phaseolus vulgaris*). *Physiologia Plantarum.* 1984, 61, pp. 670–674. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1984.tb05189x>
17. Gratao, P.L.; Pompeu, G.B.; Capaldi, F.R.; Vitorello, V.A.; Leo, P.J.; Ajavedo, R.A. Antioxidant response of *Nicotiana tabacum* cv. Bright Yellow 2 cells to cadmium and nickel stress. *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 2008, Vol. 94 PP. 73–83. <https://doi.org/10.1007/sl1240-008-9389-6>
18. Загоскина, Н.В.; Гончарук, Е.А.; Алявина, А.К. Изменения в образовании фенольных соединений при действии кадмия на каллусные культуры, инициированные из различных органов чайного дерева. *Физиология растений.* 2007, 54, с.267–274.
19. Ebbs, S.D.; Zambrano, M.C.; Spiller, S.M.; Neville, M. Cadmium sorption and efflux at the mesophyll layer of leaves from ecotype of the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist.* 2009, 181, pp.626–636.
20. Korenkov, V.; King, B.; Hirschi, K.; Wagner, J. Root-selective expression of AtCAX4 and AtCAX2 results in reduces lamina cadmium in field-grown *Nicotiana tabacum*. *Plant Biotechnology Journal.* 2009, 7, pp. 219–226. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2008.00390.x>
21. Morel, M.; Crouzet, J.; Gravot, A.; Auroy, P.; Leonhardt, N.; Vavasseur, A.; Richand, P. AtHVA a P_{1B}-ATPase allowing Cd/Zn/Pb vacuolar storage in Arabidopsis. *Plant Physiology.* 2009, 149, pp. 894–904 <https://doi.org/10.1104/pp.108.130294>.
22. Pittman, I.K.; Hirschi, K.D. Don't shoot the (second) messenger: endomembrane transporters and binding proteins modulate cytosolic Ca²⁺ levels. *Current Opinion Plant Biology.* 2002, 63, pp. 257–262.
23. Shigaki, T.; Hirschi, K.D. Diverse functions and molecular properties emerging for CAX cation/H⁺ exchangers in plants. *Plant Biology.* 2006, 8, pp. 419–429. <https://doi.org/10.1055/s-2006-923950>
24. Wu, Q.; Shigaki, T.; Williams, K.A.; Jcung-Sul, Han; Chang, K.K.; Kendal, D.; Hirschi, S.P.; Park, S. Expression of an *Arabidopsis* Ca²⁺/H⁺ antiporter CAX1 variant in petunia enhances cadmium tolerance and accumulation. *Journal of Plant Physiology.* 2011, 168, pp. 167–173. <http://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.06.0050>
25. Antosiewicz, D.M.; Henning, J. Overexpression of LCT1 in tobacco enhanced the protective action against cadmium toxicity. *Environmental Pollution.* 2004, 129, pp. 237–245. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.10.025>
26. Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta.* 2001, 212, pp.475–486. <http://doi.org/10.1007/s004250000458>
27. Bondgaard, M.; Bjerregaard, P. Association between cadmium and calcium uptake and distribution during the moult cycle of female shore crabs *Carcinus maens*: an in vivo study. *Aquatic Toxicology.* 2005, 72, pp. 17–28. <http://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.11.017>
28. Dziubinska, H.; Filek, M.; Krol, E.; Trebacz, K. Cadmium and selenium modulate slow vacuolar channels in rape (*Brassica napus*) vacuoles. *Journal of Plant Physiology.* 2010, 167, pp.1566–1570. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.06.016>
29. Chen, J.; Zhu, C.; Lin, D.; Sun, Z.-X. The effects of Cd on lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings. *Canadian Journal of Plant Science.* 2007, 87, pp. 49–57.
30. Yang, H.Y.; Shi, G.X.; Xu, Q.S.; Wang, H.X. Cadmium effects on mineral nutrition and stressed-related indices in *Potamogeton crispus*. *Russian Fiziologia rastenii (Russ.).* 2011, 58, с.213–220. <https://doi.org/10.1134/S1021443711020245>
31. Krotz, R.M.; Evangelou, B.P.; Wagner, G.J. Relationships between cadmium, zinc, Cd-peptide and organic acid in tobacco suspension cells. *Plant Physiology.* 1989, 91, pp. 780–787.
32. Farinati, S.; Dalcorsio, G.; Varotto, S.; Furini, A. The *Brassica juncea* BjCdR15, ortholog of Arabidopsis TGA3 is a regulator of cadmium uptake. Transport and accumulation in shoots and confers cadmium tolerance in transgenic plants. *New Phytologist.* 2010, 185, pp. 964–978. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03132.x>
33. Shim, D.; Hwang, J.-U.; Lee, J.; Lee, S.; Choi, J.; An, G.; Martinoia, E.; Lee, J. Orthologs of the class A4 heat shock transcription factor HsfA4 confer cadmium tolerance in wheat and rice. *Plant Cell.* 2009, 21, pp.4031–4043. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.066902>.
34. Van de Mortel, J.E.; Schat, H.; Moerland, P.D.; van Themaat, L.; Ver, E.; van der Blankenstijn-de, Vries M.H.C.; Ghandilyan, A.; Tsiatsiani, S.; Aarts, M.G.M. Expression differences in response to cadmium in *Arabidopsis thaliana* and the related Zn/Cd- hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell and Environment.* 2008, 31, pp. 301–324. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01764.x>.
35. Yeh, C.-M.; Hsiao, L.J.; Huang, H.-J. Cadmium activates a mitogen-activated protein kinase gene and MBP kinases in rice. *Plant Cell Physiology.* 2004, 45, pp. 1306–1312.
36. Louie, M.; Kondor, N.; de Witt, J.G. Gene expression in cadmium-tolerant *Datura innoxia*: detection and characterization

- of DNAs induced in response to Cd²⁺. *Plant Molecular Biology*. 2003, 52, pp. 81–89. <https://doi.org/10.1023/A:1023926225931>
37. Polge, C.; Jaquinod, M.; Holzer, F.; Bouguignon, J.; Walling, L.; Brouquisse, R. Evidence for the existence in *Arabidopsis thaliana* of the proteasome proteolytic pathway. Activation in response to cadmium. *Journal Biological Chemistry*. 2009, 284, pp.35412–35424. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.035394>
 38. 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 Agraria Sinica*. 2007, 33, pp. 292–296.
 39. 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, pp. 1580–1587.
 40. Verslues, P.E.; Bray, E.A. *LWR1* and *LWR2* are required for osmoregulation and osmotic adjustment in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 2004, 136, pp. 2831–2842.
 41. Fan, L.-M.; Wu, W.-H.; Yang, Y.-Y. Identification and characterization of the inward K⁺ channel in the plasma membrane of *Brassica* pollen protoplasts. *Plant and Cell Physiology*. 1999, 40(8), pp. 859–865.
 42. 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. *Physiologia Plantarum*. 2008, 134, pp. 598–608. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2010.01354.x>
 43. Wang, S.-M.; Zhang, J.-L.; Flowers, T.J. Low-affinity Na⁺ uptake in the halophyte *Suaeda maritima*. *Plant Physiology*. 2007, 145, pp. 559–571.
 44. Bertl, A.; Reid, J.D.; Sentenac, H.; Slayman, C.L. Functional comparison of plant inward – rectifier channels expressed in yeast. *Journal of Experimental Botany*. 1997, 48, pp. 405–413.
 45. Rubio, F.; Aleman, F.; Nieves-Cordones, M.; Vicente, M. Studies on *Arabidopsis* athak5, atakt1 double mutants disclose the range of concentrations at which AtHAK5, AtAKT1 and unknown systems mediated K⁺ uptake. *Physiologia Plantarum*. 2010, 139, pp. 220–228.
 46. Maliga, P. Isolation and characterization of mutants in plant cell culture. *Annual Review of Plant Physiology*. 1984, 35, pp. 519–542.
 47. Dracup, M. Why does in vitro cell selection not improve the salt tolerance of plants? Genetic aspects of plant mineral nutrition. *Kluwer Academic Publishers*. 1993, pp. 137–142.
 48. Flores, E.; Sarrati, A.; Fabre, F.; Alibert, G. Genotypic variation and chromosomal location of QTLs for somatic embryogenesis revealed by epidermal layers culture of recombinant inbred lines in the sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2000, 101, pp. 1307–1312. <https://doi.org/10.1007/s.001220051611>.
 49. Flores, E.; Gentzbittel, L.; Kayyal, H.; Alibert, A. AFLP mapping QTLs for in vitro organogenesis traits using recombinant inbred lines in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Ibid*. 2000, 101, pp.1299–1306 <https://doi.org/10.1007/s001220051610>.
 50. Ubaydullaeva, K.; Sultonova, S.; Buriev, Z.; Bolkiev, A. Abdullaev, S. *In vitro* regeneration of pomegranate *Punica granatum* L.) from nodal explants. *Scientific Bulletin of Namangan State University*. 2019, 1, pp. 134–139.
 51. Сергеева, Л.Е. Биология и биотехнология злаков *in vitro*. Клеточная селекция для повышения осмоустойчивости кукурузы и пшеницы. *Киев. Кондор*. 2020, 125с.
 52. Deglene, L.; Lesignes, P.; Alibert, G.; Saffari, A. Genetic control of organogenesis in cotyledons of sunflower (*H. annuus*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1997, 48, pp. 127–130.
 53. Тищенко, Е.Н.; Михальская, С.И. Агробактериальная трансформация подсолнечника. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2006, 38, с. 187–196.
 54. Сергеева, Л.Е. Изменения культуры клеток пол действием стресса. *Киев: Логос*. 2001, 100 с.
 55. Sergeeva, L.E.; Bronnikova, L.I. Cadmium ions in cell selection for obtaining wheat cell forms tolerant to water stress. *Bulletin of the Cherkasy University, Series Biological Science*. 2019, 2 pp.74-80. <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2019-2-74-80>
 56. Sergeeva, L.E.; Bronnikova, L.I. Cell selection with barium ions for obtaining genetically modified salt tolerant tobacco forms. *Bulletin of the Cherkasy University, Series Biological Science*. 2020, 1, pp. 71-78. <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2020-1-71-78>.
 57. Rout, J.R.; Kerri, R.J.; Panighrahi, D.; Sahoo, S.L.; Pradham, C.; Ram, S.S.; Chakraborty, A.; Sudarsham, M. Biochemical, molecular, and elemental profiling of *Withania somnifera* L. with response to zinc stress. *Environment Science and Pollution. Researched Institute*. 2019, 26(4), pp.4116-4129. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3926-6>
 58. Ramirez-Benites, J.E.; Ernandes-Sotomayor, S.M.; Muñoz-Sanches, J.A. Gene Expression Analysis Suggests Temporal Differential Response to Aluminum in *Coffea arabica* Cultivars. *Tropical Plant Biology* 2013, 6(4), pp. 191–198 <https://doi.org/10.1016/j.jinorbio.2009.07.016>.
 59. Luo, J.S.; Xiao, Y.; Yao, J.; Vu, Z.; Yang, Y.; Ismoil, A.M.; Chjan, Z. Overexpression of a defension-like gene *CAL2* enhances cadmium accumulation in plants. *Frontiers in Plant Science*. 2020, 27, pp. 211–217. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00217>.
 60. 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 Journal of Biological Sciences*. 2019, 12, pp. 832–841.
 61. Hasegawa, P.M.; Bressan, R.A.; Zhu, J.-K.; Bohner, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 2000, 51, pp.63–499. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.463>
 62. Arnholdt-Shmitt, B. Stress-induced cell reprogramming. A role for global genome regulation. *Plant Physiology*. 2004, 136, pp. 2579–2586.
 63. 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*. 2015, 31, pp.1 – 28. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143>.