

镉胁迫对矮生四季豆种子萌发和幼苗生长发育的影响

金海燕^{1,2}, 奚涛^{2,3}, 时唯伟^{2,4}, 戢太云^{2,3}, 邢海波^{2,3}, 支月娥^{2,3}, 姜华¹, 周培^{2,3}

(¹ 辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116029; ² 农业部都市农业(南方)重点实验室, 上海 200240;

³ 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240; ⁴ 厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)

摘要: 为比较系统地探讨 Cd²⁺ 的生物毒性, 作者以水培法研究了不同浓度的 Cd²⁺ 溶液对四季豆种子萌发和幼苗生长发育过程中植物外部生长指标及内部生理生化变化的影响。结果表明: 当 Cd²⁺ 浓度较低时, Cd²⁺ 对种子萌发及幼苗生长发育毒害作用较小, 一定浓度范围内(0.05~0.5 mg/L)还有促生作用, 高浓度 Cd²⁺(5~100 mg/L)能严重抑制四季豆幼苗根及下胚轴的生长; Cd²⁺ 胁迫对四季豆幼苗体内过氧化物酶(POD), 超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化氢酶(CAT)活性存在低浓度激活和高浓度抑制的效应, 且同一浓度的 Cd²⁺ 对四季豆幼苗 POD、CAT 活性的抑制作用表现为根系大于下胚轴, Cd²⁺ 浓度 > 0.5 mg/L 时, 根系 SOD 活性大于下胚轴中的活性; Cd²⁺ 胁迫下, 四季豆下胚轴和根的丙二醛(MDA)含量增加, 且根部含量大于下胚轴的量。Cd²⁺ 对矮生四季豆种苗生长发育的影响因 Cd²⁺ 浓度及幼苗部位的不同而异。

关键词: 镉胁迫; 四季豆; 种子萌发; 生长发育

中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of Cadmium Stress on Seed Germination and Seedling Growth of Dwarf Beans

Jin Haiyan^{1,2}, Xi Tao^{2,3}, Shi Weiwei^{2,4}, Ji Taiyun^{2,3}, Xing Haibo^{2,3}

Zhi Yue'e^{2,3}, Jiang Hua¹, Zhou Pei^{2,3}

(*Life Science College of Liaoning Normal University, Dalian 116029;*

Key Laboratory of Urban Agriculture (South), Ministry of Agriculture, Shanghai 200240;

Agriculture and Biology School of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240;

Life Science College of Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract: In order to explore the biological toxicity of Cd²⁺ more systematically, the effects of Cd²⁺ on the external and internal physiological and biochemical changes in the process of dwarf beans seed germination and seedling growth were studied with hydroponic culture experiments. The results showed that when the concentration of Cd²⁺ at low level, the effects of Cd²⁺ on the seed germination and seedling growth were not significant. Seeds germination were activated at a certain extent when Cd²⁺ concentration ranged from 0.05mg/L to 0.5 mg/L concentrations. The roots and Hypocotyls of seedling exhibited a significant decrease in growth at higher level of Cd²⁺ concentrations (5~100mg/L). The activities of peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) could be enhanced at low Cd²⁺ concentrations but inhibited at higher concentration. The activities of POD, CAT were more inhibited in roots than in Hypocotyls at the same Cd²⁺ concentrations, while that of SOD was higher in roots than in Hypocotyls when the concentration of Cd²⁺ was more than

基金项目: 该研究得到“2007AA10Z441”、“07JC14025”和“07DZ12055”项目的资助。

第一作者简介: 金海燕, 女, 1983年出生, 安徽人, 在读硕士, 研究方向: 环境污染与生物修复。通信地址: 200240 上海市闵行区东川路800号上海交通大学农业与生物学院 0-301室, Tel: 021-34206924, E-mail: jinhaiyan0117@yahoo.cn。

通讯作者: 姜华, E-mail: jianghua1225@yahoo.com.cn。周培, E-mail: zhoupei@sjtu.edu.cn。

收稿日期: 2008-11-11, 修回日期: 2008-11-21。

0.5mg/L. The malondialdehyde (MDA) contents were continuously increased with Cadmium exposure in both roots and Hypocotyls. The effects of Cd^{2+} on the dwarf beans' growth were varied with the concentration of Cd^{2+} and the parts of plants.

Key words: cadmium stress, dwarf beans, seed germination, seedling growth

众所周知,镉是环境中毒性较强的重金属元素之一,土壤镉污染主要由含镉工业废气扩散并自然沉降及含镉的工业废水排入或渗入地下而造成的^[1]。土壤中的镉可以通过植物根部吸收、转移,并进一步富集在植物体内,当镉浓度达到一定程度后,植物体就会表现出叶片褪绿萎黄、根部坏死、生长迟缓等中毒症状,镉的生物毒性已成为土壤中植物减产的一个重要因素^[2-4]。由于镉的易溶、易迁移性及难降解性,残留于植物可食部分的 Cd^{2+} 还可以通过食物链逐级富集,最终对人类的健康构成潜在危害^[5]。矮生四季豆是老百姓餐桌上常见的蔬菜之一,它富含蛋白质和多种氨基酸,具有很高的营养和药用价值。该试验以矮生四季豆为试材,探讨不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下,矮生四季豆种子萌发、幼苗生长、植株体内抗氧化酶活性及膜脂过氧化物(MDA)积累量等生理生化指标的影响,以期为进一步了解镉对植物的毒害机制及其生化解毒机理提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验时间、地点

试验于 2008 年 1 月~4 月在上海交通大学环境生物修复实验室进行。

1.2 试验材料

矮生四季豆品种为法国青刀豆,购自上海闵行种子子公司。

1.3 主要仪器及药品

恒温恒湿箱 SPX-250C,上海博讯实业有限公司
分光光度计 UV1102,上海天美科学仪器有限公司
电热恒温水槽 DK-8D,上海一恒科技有限公司
 $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ 、 CCl_3COOH 、 $C_4H_4N_2O_2S$ 为分析纯;
SOD 活性、CAT 活性、POD 活性测定试剂盒,购于南京建成生物工程研究所。

1.4 试验方法

1.4.1 材料处理与培养 用 $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ 配制镉溶液,使 Cd^{2+} 浓度为 0.05 mg/L、0.5 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、50 mg/L 和 100 mg/L,挑选籽粒饱满、大小均匀的矮生四季豆种子,用 0.5% $NaClO_3$ 表面消毒 10 min 后,去离子水冲洗干净并晾干,置于铺有双层无菌滤纸的培养皿中,每皿 50 粒,并分别加入 5 ml 不同浓度的 Cd^{2+} 溶液,对照组加超纯水,其 Cd^{2+} 浓度为 0 mg/L,每组 3 个重复,加水量以滤纸表面无水,手压现水为准^[6]。25℃ 恒温培养箱中培养,每天加 5 ml 各浓度重金属溶液以补

充发芽时所需水份。

1.4.2 种苗萌发与生长指标的测定 种子培养期间每天观察其发芽及生长情况,根据如下公式在种子处理后第 3 天和第 7 天测定各发芽指标,当幼苗长出两片叶子时(第 10 天)测量幼苗的主根及下胚轴长度、称干重及鲜重计算每 10 株的平均值。

发芽势 (%) = 前 3 天内发芽的种子数 / 皿中供试种子数;

发芽率 (%) = 前 7 天内发芽的种子数 / 皿中供试种子数;

发芽指数 = $\sum G_t/D_t$ (G_t 为第 t 天的发芽增值数, D_t 为相应时间的发芽天数)^[7];

活力指数 = 发芽指数 × 苗长度^[8]

1.4.3 膜脂过氧化物和几种抗氧化酶活性的测定 MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法^[9];可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法^[10]。SOD、CAT、POD 等活性测定,均利用相应的试剂盒进行。

1.4.4 统计分析 所得数据运用 excel 和 SPSS12.0 软件进行相关分析。

2 结果与分析

2.1 Cd^{2+} 处理对四季豆种苗生长发育的影响

2.1.1 Cd^{2+} 处理对矮生四季豆种子萌发的影响 发芽率能近似地反映出苗率,发芽势则可表明种子活力的高低,两者可指示出苗的好坏,发芽指数和活力指数可反映 Cd^{2+} 对矮生四季豆种子品质的影响程度^[11]。低浓度的 Cd^{2+} 溶液对矮生四季豆种子的萌发有促进作用,高浓度时有抑制作用(见表 1)。 Cd^{2+} 处理后,矮生四季豆种子的发芽势在低浓度(0.05~0.5 mg/L)时比对照组略有升高,当 Cd^{2+} 浓度 ≥ 5 mg/L 时,其发芽势均低于对照组且呈逐渐降低的趋势, Cd^{2+} 浓度为 100 mg/L 时,其发芽势与对照组差异达到显著水平。矮生四季豆种子发芽率在 Cd^{2+} 浓度为 0.05 mg/L 时比对照组提高了 2.81%,但二者比较差异不显著,当 Cd^{2+} 浓度 ≥ 0.5 mg/L 时,发芽率逐渐降低且低于对照组,在 Cd^{2+} 浓度为 10~100 mg/L 时,发芽率与对照组差异达到显著或极显著水平;发芽指数和活力指数变化类似,在 Cd^{2+} 浓度为 0.05 时比对照有所提高,当 Cd^{2+} 浓度 ≥ 0.5 mg/L 时,指数下降且差异均达到极显著水平($P < 0.01$)。由此说明, Cd^{2+} 对矮生四季豆种子胚生长的伤害作用及对以后成苗的抑制作用随其浓度的升高而加大。

表 1 Cd²⁺处理对矮生四季豆种子萌发的影响

Cd ²⁺ 浓 (mg/L)	发芽势 (%)	发芽率 (%)	发芽指数	活力指数
0	75.3%±0.14	96.0%±0.05	47.2±0.67	383.1±5.42
0.05	76.7%±0.03	98.7%±0.02	48.0±0.29*	397.7±4.14**
0.5	76.0%±0.05	93.3%±0.03	45.6±0.92*	306.1±6.17**
5	71.3%±0.01	92.7%±0.05	42.7±1.11**	285.9±7.47**
10	69.3%±0.03	84.7%±0.11*	40.6±1.26**	205.4±6.39**
50	60.7%±0.18	77.3%±0.06**	38.9±0.39**	148.2±1.48**
100	59.3%±0.01*	71.3%±0.07**	38.7±0.57**	127.1±1.86**

注 * 表示与对照组相比差异显著($P<0.05$), ** 表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$)。

表 2 Cd²⁺处理对矮生四季豆幼根和下胚轴长度及干鲜重的影响

Cd ²⁺ 浓度 (mg/L)	主根长 (cm)	下胚轴长 (cm)	根鲜重 (g)	下胚轴鲜重 (g)	根干重 (g)	下胚轴干重 (g)
0	7.18±2.37	9.06±2.93	0.134±0.020	0.421±0.021	0.012±0.001	0.030±0.003
0.05	6.88±1.47	9.69±3.79	0.089±0.019**	0.324±0.004**	0.009±0.010	0.024±0.005
0.5	5.22±2.87	8.22±3.28	0.113±0.004*	0.306±0.011**	0.011±0.010	0.023±0.009
5	5.73±2.11	7.65±1.78	0.099±0.007**	0.263±0.026**	0.010±0.003	0.023±0.004
10	5.35±3.79	4.78±1.04	0.086±0.006**	0.189±0.008**	0.010±0.005	0.018±0.007*
50	2.97±0.99**	4.65±1.39**	0.075±0.005**	0.244±0.008**	0.010±0.006	0.018±0.007*
100	2.13±1.61**	4.44±1.76**	0.065±0.005**	0.172±0.009**	0.010±0.009	0.019±0.008

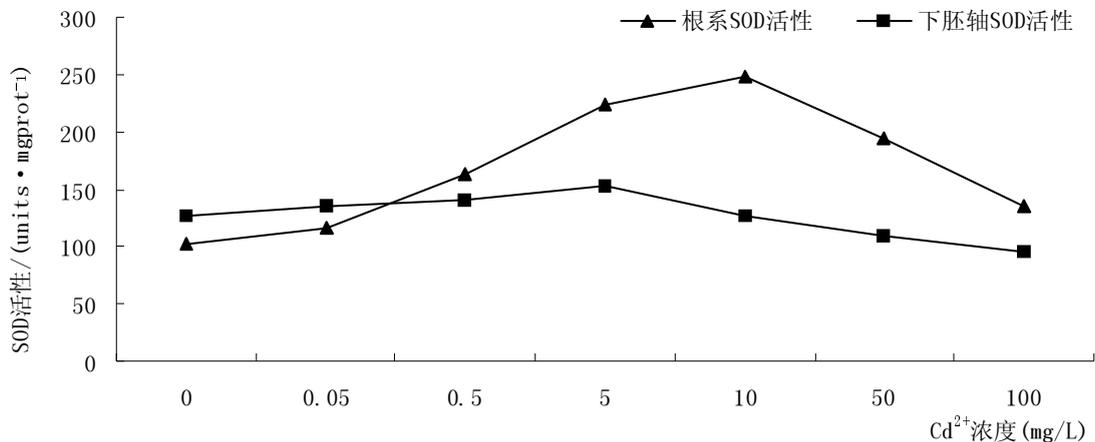
注 * 表示与对照组相比差异显著($P<0.05$), ** 表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$)。

2.1.2 Cd²⁺处理对矮生四季豆幼苗根与下胚轴生长的影响 由表 2 可知,矮生四季豆幼苗主根长度随 Cd²⁺浓度的增加呈逐渐下降趋势,当 Cd²⁺浓度为 5~10 mg/L 时,被处理的矮生四季豆主根长度与对照组相比差异不明显,当 Cd²⁺浓度为 50~100 mg/L 时,其主根退化且长度比对照组短了约 3.21~5.05 cm,二者比较差异极显著($P<0.01$)。当 Cd²⁺浓度为 0.05 mg/L 时,矮生四季豆幼苗下胚轴长度稍有增加,但当 Cd²⁺浓度在 0.5~100 mg/L 时,其下胚轴的长度随着 Cd²⁺浓度的升高而逐渐变短,Cd²⁺浓度为 50~100 mg/L 时,Cd²⁺极显著地抑制了下胚轴的生长,对幼苗的生长产生了明显的毒害作用。在 Cd²⁺胁迫下,矮生四季豆幼苗根和下胚轴的鲜重均低于对照组,Cd²⁺对幼苗鲜重的影响表

现为抑制作用,其中当 Cd²⁺浓度为 0.5 mg/L 时,幼苗根系鲜重与对照组相比差异显著,其余 Cd²⁺处理组与对照组相比差异均达到极显著水平,Cd²⁺溶液培养的幼苗,其下胚轴鲜重与对照组比差异均达到极显著水平,根和下胚轴的干重受 Cd²⁺的影响不大。

2.2 Cd²⁺处理对矮生四季豆生理生化特性的影响

2.2.1 Cd²⁺处理对矮生四季豆幼苗 SOD 活性的影响 Cd²⁺胁迫下(图 1),根系中的 SOD 活性变化明显,呈先上升后下降的趋势,在 Cd²⁺浓度为 10mg/L 时,SOD 活性达到最大,比对照组提高了 143.7%,Cd²⁺浓度继续增大后,SOD 活性受到抑制,当 Cd²⁺浓度达到 100 mg/L 时,其 SOD 活性仅比对照组提高了 33.73%。下胚轴中的 SOD 活性变化平缓,当 Cd²⁺浓度为 0~10

图 1 Cd²⁺对矮生四季豆幼苗 SOD 活性的影响

注 *mgprot 为毫克蛋白数

mg/L 时,其活性缓慢上升,在 Cd^{2+} 浓度为 5 mg/L 时达到最大,比对照组提高了 20.49%,随着 Cd^{2+} 浓度的增加, SOD 活性下降, Cd^{2+} 浓度为 100 mg/L 时,仅为对照的 75.28%。

2.2.2 Cd^{2+} 处理对矮生四季豆幼苗 POD 活性的影响
从总体上看,矮生四季豆幼苗下胚轴中 POD 活性变化明显,根系中 POD 的活性变化相对平缓,且同一浓度

组时下胚轴中 POD 活性大于根系中的活性(图 2)。当 Cd^{2+} 浓度为 0.5 mg/L 时,矮生四季豆幼苗根系和下胚轴中 POD 活性达到最高,分别比对照组提高了 26.52% 和 55.89%,当 Cd^{2+} 浓度为 0.5~50 mg/L 时,下胚轴中 POD 活性急剧降低,说明 POD 受到伤害,当 Cd^{2+} 浓度为 100 mg/L 时,其活性仅比对照组提高了 3.06%,同时根系 POD 活性降为最低,比对照组降低了 22.02%。

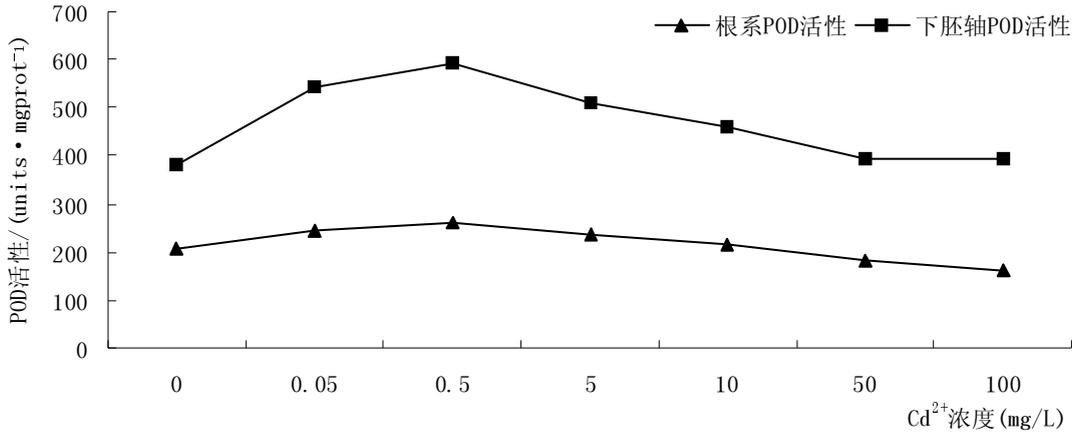


图 2 Cd^{2+} 对矮生四季豆幼苗 POD 活性的影响
注: *mgprot 为毫克蛋白数

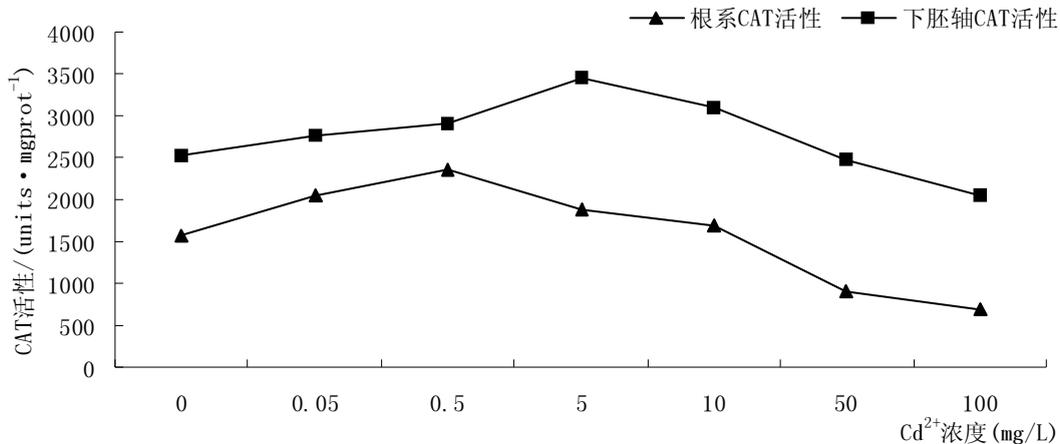
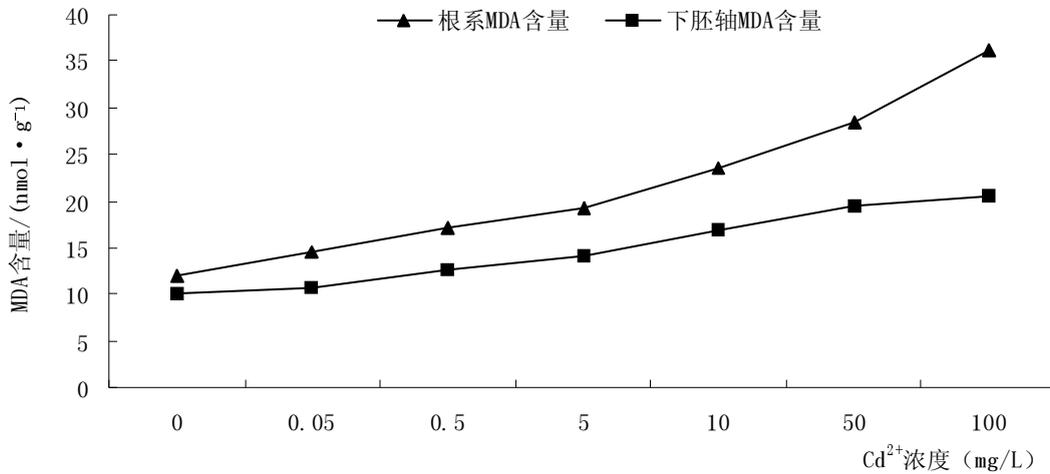


图 3 Cd^{2+} 对矮生四季豆幼苗 CAT 活性的影响
注: *mgprot 为毫克蛋白数

2.2.3 Cd^{2+} 处理对矮生四季豆幼苗 CAT 活性的影响
从图 3 可以看出,在 Cd^{2+} 胁迫下,矮生四季豆幼苗根系和下胚轴中 CAT 活性随着 Cd^{2+} 浓度的增加先上升后下降,同一浓度组中下胚轴 CAT 活性大于根系中的活性。当 Cd^{2+} 浓度为 0.5 mg/L 时,根系中 CAT 活性达到最大值为 2365.38 units · mgprot⁻¹,比对照提高了 50.50%,下胚轴中 CAT 活性在 Cd^{2+} 浓度为 5 mg/L 时,升高至最大值为 3451.50 units · mgprot⁻¹,比对照组提高了 36.54%。随着 Cd^{2+} 浓度的升高,根系和下胚轴中 CAT 的活性降低,当 Cd^{2+} 浓度为 100 mg/L 时,其 CAT 活性分别为 702.28 units · mgprot⁻¹ 和 2049.88 units · mgprot⁻¹,比对照组分别下降了 55.32% 和 18.90%。

2.2.4 Cd^{2+} 处理对矮生四季豆幼苗 MDA 含量的影响
MDA 是细胞质膜脂过氧化作用分解的产物之一^[12],图 4 显示,随着 Cd^{2+} 浓度的升高,矮生四季豆幼苗根系中 MDA 含量急剧上升,下胚轴中 MDA 含量增加的趋势与之相比变化较为缓慢,当 Cd^{2+} 溶液为 100 mg/L 时,幼苗根系和下胚轴中 MDA 含量分别比对照组增加了 203.8% 和 105.5%,受同一浓度 Cd^{2+} 胁迫时,幼苗根系 MDA 含量大于下胚轴中的量。说明 Cd^{2+} 胁迫加剧了膜脂过氧化的程度,对植物幼苗组织造成了一定的伤害,且随着 Cd^{2+} 浓度增大而加剧,超过植物承受极限时,就会导致植株受损。

图4 Cd²⁺对矮生四季豆幼苗MDA含量的影响

3 结论与讨论

Cd²⁺是植物生长过程中的非必需元素, Cd²⁺胁迫下, 矮生四季豆种苗萌发和生长过程中都受到了不同程度的毒害作用。在该试验中, 低浓度的Cd²⁺能促进种子的萌发, 高浓度时则为抑制作用, 前者可能是由于植物应激反应造成的^[13], 后者也许是因为Cd²⁺胁迫影响了种子萌发中贮藏物质的水解及能量的供应而导致种子萌发受阻^[14], Cd²⁺对矮生四季豆幼苗下胚轴生长的影响与其浓度有关, 低浓度时可促进其生长, 超过一定浓度后, 则抑制下胚轴的生长, 对根系生长的影响则始终为抑制作用, 而未出现促进作用, 但并不代表Cd²⁺对矮生四季豆根系不存在刺激效应, 很可能是由于使用的Cd²⁺浓度超出了其刺激效应的浓度, Cd²⁺对幼苗生长所表现的促进和抑制作用也许与其对细胞有丝分裂的影响有关^[15], Cd²⁺浓度为0.05 mg/L时可促进矮生四季豆幼苗下胚轴的生长但对其根系的生长产生了抑制效应, 说明根系比下胚轴对Cd²⁺的反应更为敏感。Cd²⁺胁迫极显著的抑制了根系和下胚轴的鲜重, 而对两者的干重无显著影响, 此结果间接地反应了Cd²⁺对幼苗细胞自由水的含量有抑制作用, 由此可推断幼苗体内的各项生化反应极有可能受到了一定的影响。

植物在正常的生长发育过程中, 其体内代谢活动的进行必然会导致活性氧自由基的产生, 同时植物体自身产生的一种保护系统可维持活性氧自由基含量于有利无害的水平, 以保证体内代谢的正常进行, Cd²⁺胁迫下, 会造成植物体内的活性氧代谢失调, 从而导致体内活性氧的积累^[16]。试验结果表明作为植物体内活性氧清除系统中重要的抗氧化酶系(SOD、POD和CAT)活性在低浓度的Cd²⁺胁迫下, 其在根和下胚轴中的活性均高于对照组, 表明一定程度的Cd²⁺胁迫, 可以刺激植物通过提高抗氧化酶活性的方式来达到降低活性

氧伤害的目的。随着Cd²⁺浓度的增加, 植物内的酶活性受到抑制, 这可能是由于Cd²⁺通过置换出抗氧化酶中的金属辅基, 导致酶失活而造成的^[17]。Cd²⁺对植物体内的抗氧化系统的伤害直接影响了其对活性氧的清除效果, 造成了植物体内氧化损伤的加剧, 最终使矮生四季豆幼苗的根系和下胚轴的生长停滞, 甚至坏死。植物受到Cd²⁺等重金属胁迫时, 会造成膜脂过氧化作用的加剧, 其产物MDA亦会在机体内大量积累, 最终对细胞膜系统造成损伤, 所以在一定程度上, 机体内MDA的含量可以反映外界胁迫对细胞膜脂过氧化水平的高低和膜受伤程度的大小^[18-20]。试验中MDA含量随Cd²⁺浓度升高而不断增加, 说明Cd²⁺胁迫的加剧导致了膜脂过氧化程度的加深, 同时也可表明植物机体自身的调节作用是有一定限度的, Cd²⁺胁迫打破机体内环境的平衡后即会对植物的生长造成严重的损伤。Cd²⁺是一种具有较强生物毒性的重金属污染物, 如果将含有Cd²⁺的化肥、农药、工业废水施用于四季豆, 必将其生长造成严重的毒害作用, 所以为提高矮生四季豆的质量和产量, 应确保其在无污染的环境中生长。

参考文献

- [1] 陈媛. 土壤中镉及铜的赋存形态研究进展. 广东微量元素科学, 2007, 14(7): 7-13.
- [2] Artetxe U., Garcia-Plazaola J.L., Hernandez A., et al. Low light grown duckweed plants are more protected against the toxicity induced by Zn and Cd. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40 (10): 859-863.
- [3] Fediuc E., Erdei L. Physiological and biochemical aspects of cadmium toxicity and protective mechanisms induced in *Phragmites australis* and *Thypha latifolia*. *Journal of Plant Physiology*, 2002, 159 (3): 265-271.
- [4] Sandalio L.M., Dalurzo H.C., Gómez M., et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Jour-*

- nal of Experimental Botany, 2001, 52(364):2115-2126.
- [5] 刘伟成, 李明云. 镉毒性毒理学研究进展. 广东微量元素科学, 2005,12(12):1-5.
- [6] 曾翔, 张玉焯, 王凯荣, 等. 镉对水稻种子萌发的影响. 应用生态学报, 2007,18(7):1665-1668.
- [7] 杨和连, 车灵艳, 卢二乔. 重金属铬对西葫芦种子发芽及出苗的影响. 种子, 2004,23(6):60-62.
- [8] 周青, 黄晓华, 张一. 镉对种子萌发的影响. 农业环境保护, 2000,19(3):156-158.
- [9] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导. 第2版. 广州: 华南理工大学出版社, 2006:74.
- [10] 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000:71-74.
- [11] 慈恩, 高明, 王子芳, 等. 镉对紫花苜蓿种子萌发与幼苗生长的影响研究. 中国生态农业学报, 2007,15(1):96-98.
- [12] 张治安, 王振民, 徐克章. Cd 胁迫对萌发大豆中活性氧代谢的影响. 农业环境科学学报, 2005,24(4):670-673.
- [13] 张颖, 高景慧. 镉胁迫对红三叶种子萌发及幼苗生理特性的影响. 西北农业学报, 2007,16(3):57-59.
- [14] 葛才林, 杨小勇, 孙锦荷, 等. 重金属胁迫引起的水稻荷小麦幼苗 DNA 损伤. 植物生理与分子生物学报, 2002,28(6):419-424.
- [15] 周锦雯, 韩善华, 冯珊, 等. Cd²⁺对蚕豆根生长发育的影响. 中国微生物学杂志, 2006,18(1):43-44.
- [16] 汤春芳, 刘云国, 曾光明, 等. 镉胁迫对萝卜幼苗活性氧产生、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响. 植物生理与分子生物学报, 2004,30(4):469-474.
- [17] 熊愈辉, 杨肖娥. 镉对植物毒害与植物耐镉机理研究进展. 安徽农业科学, 2006,34(13):2969-2971.
- [18] Zhang H.Y., Jiang Y.N., He Z.Y., et al. Cadmium accumulation and oxidative burst in garlic (*Allium sativum*). Journal of Plant Physiology, 2005,162(9):977-984.
- [19] Tripathi B.N., Mehta S.K., Amar A., et al. Oxidative stress in *Scenedesmus* sp. During short- and long-term exposure to Cu²⁺ and Zn²⁺. Chemosphere, 2006, 62(4):538-544.
- [20] MacFarlane G.R., Burchett M.D. Photosynthetic pigments and peroxides activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *avicennia marina* (forsk.) vierh. Marine Pollution Bulletin, 2001, 42(3):233-240.