

Toxicidad del Cadmio en Plantas

M. Rodríguez-Serrano¹, N. Martínez-de la Casa¹, M.C. Romero-Puertas¹, L.A. del Río¹, L.M. Sandalio¹

(1) Dpto. de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Apdo. 419, 18080 Granada, España

➤ Recibido el 22 de enero de 2008, aceptado el 10 de abril de 2008.

Rodríguez-Serrano, M., Martínez-de la Casa, N., Romero-Puertas, M.C., del Río, L.A., Sandalio, L.M. (2008). Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas* 17(3):139-146.

El cadmio es un metal pesado no esencial y poco abundante en la corteza terrestre, sin embargo en las últimas décadas ha aumentado considerablemente su acumulación, como consecuencia de la actividad industrial. La contaminación por cadmio puede causar serios problemas a todos los organismos vivos, resultando altamente tóxico para el ser humano. Una posible fuente de contaminación por cadmio en humanos es la ingesta de plantas contaminadas por el metal. Por este motivo, es importante conocer cuales son los mecanismos de toxicidad del metal en la planta, así como los mecanismos de defensa de la misma. En este trabajo, se ha realizado una revisión de las principales fuentes de contaminación por cadmio, de la toxicidad del metal y de los mecanismos de hiperacumulación y fitoextracción de cadmio.

Palabras clave: cadmio; contaminación; estrés oxidativo; hiperacumulación; fitorremediación; tolerancia

Rodríguez-Serrano, M., Martínez-de la Casa, N., Romero-Puertas, M.C., del Río, L.A., Sandalio, L.M. (2008). Cadmium toxicity in plants. *Ecosistemas* 17(3):139-146.

Cadmium is a non essential and relative rare heavy metal in the earth, although in recent decades its accumulation increased considerably as a consequence of the industrial activity. Cadmium contamination can causes severe problems for living organisms, and can be highly toxic to humans. Humans can be affected by cadmium through ingestion of contaminated vegetables. For this reason, it is important to find out the mechanisms involved in both the toxicity of this metal and defence mechanisms in plants. In this work, the main Cd contamination sources, and the mechanisms involved in metal toxicity, hyperaccumulation and phytoextraction of Cd is reviewed.

Key words: cadmium; contamination; oxidative stress; hyperaccumulation; phytoremediation; tolerance

Fuentes de contaminación de cadmio

El cadmio es un elemento no esencial y poco abundante en la corteza terrestre y a bajas concentraciones puede ser tóxico para todos los organismos vivos. La contaminación ambiental por cadmio ha aumentado como consecuencia del incremento de la actividad industrial que ha tenido lugar a finales del siglo XX y principios del siglo XXI, afectando de forma progresiva a los diferentes ecosistemas (Pinto et al., 2004). Entre los factores antropogénicos de contaminación de cadmio (Cd), caben destacar los siguientes (**Fig. 1**):

Emisiones atmosféricas. Se originan a partir de las minas metalúrgicas, ya que el cadmio se extrae como subproducto del Pb, Zn, Cu y otros metales, las incineradoras municipales, y emisiones industriales procedentes de la producción de pigmentos para cristales, anticorrosivos, baterías de Ni/Cd, e insecticidas (McLaughlin y Singh, 1999).

Depósitos directos. El uso de fertilizantes fosfatados es la principal fuente de contaminación de Cd en suelos agrícolas. Otra fuente de Cd la constituyen los fangos procedentes de aguas residuales que se utilizan en agricultura (Alloway y Steinnes, 1999).

Contaminación accidental. Ocurre eventualmente debido a la contaminación de tierras por procesos industriales, residuos de la minería y corrosión de estructuras galvanizadas. Un ejemplo son los vertidos de Aznalcóllar que tuvieron lugar en 1998, en la provincia de Sevilla, como consecuencia de la rotura de una balsa que contenía concentraciones elevadas de metales pesados procedentes de una mina de esta localidad (Aguilar et al., 2003).

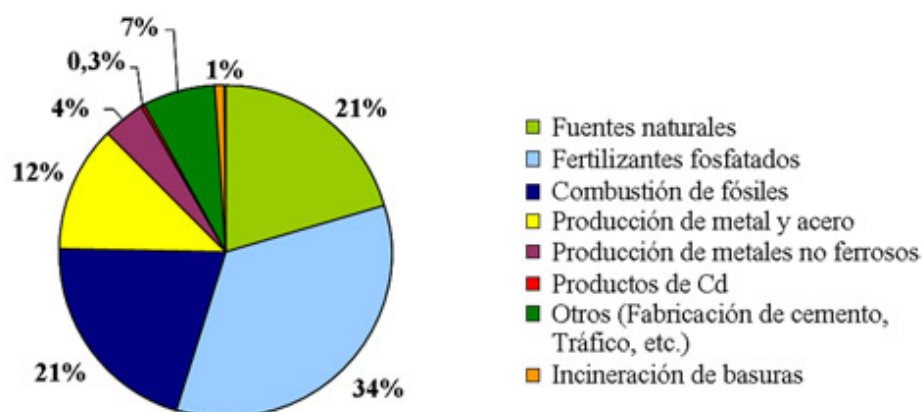


Figura 1: Contribución relativa de las diferentes fuentes de cadmio. Tomado de la presentación L. Regoli para la LR/UNECE-LRTP Heavy Metals 16-03-05 (Comisión Económica de las Naciones Unidas para Europa-Contaminación Transfronteriza del Aire de Larga Distancia por metales pesados). Disponible en: www.chem.unep.ch/pb_and_cd/SR/Files/Submission%20NGO/ICdA/L.%20Regoli-Cd%20contribution%20to%20human%20health-Berlin%202005.pdf

Ingreso del cadmio en la cadena trófica

La principal fuente de contaminación de cadmio en el ser humano es la ingesta de vegetales contaminados con este metal (Norvell et al. 2000). Químicamente, el cadmio se puede encontrar disuelto en el agua contenida en el suelo, adsorbido en superficies orgánicas e inorgánicas, formando parte de minerales, precipitado con otros compuestos del suelo o incorporado a estructuras biológicas. Sin embargo la biodisponibilidad del cadmio para la planta depende de numerosos factores físicos, químicos y biológicos que modifican su solubilidad y el estado del metal en el suelo. Uno de los principales factores es el pH del suelo, el potencial redox, la temperatura y el contenido en arcillas, materia orgánica, y agua (Christensen y Haung 1999). Por último es importante destacar el tipo de cultivo del que se trate, ya que no todas las plantas acumulan cadmio en igual medida (Prince et al. 2002). En la **Figura 2**, se muestra la capacidad para acumular cadmio de distintas especies vegetales de interés agrícola.

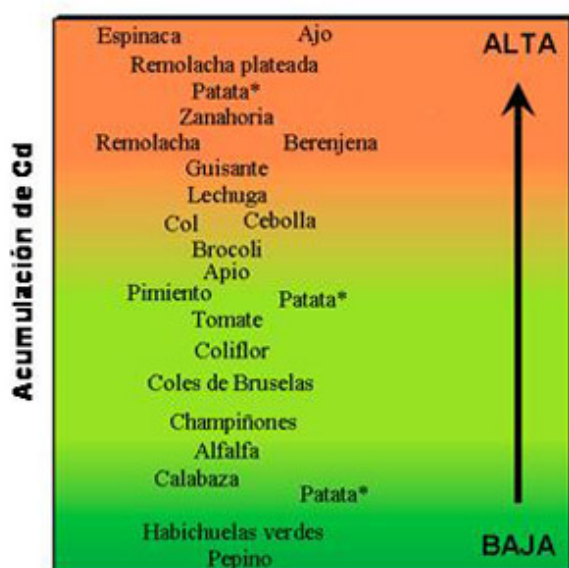


Figura 2: Acumulación de cadmio en cultivos vegetales de interés agrícola (*Variedades específicas de patata). Tomado de *Managing Cadmium in Vegetables*. VEGEnotes, Julio 2003. Disponible en: www.cadmium-management.org.au

Ingreso, transporte y acumulación de cadmio

Por ser un metal no esencial se asume que no existen mecanismos de entrada específicos para el cadmio. Entre las proteínas responsables de la entrada de cadmio a la célula caben destacar el transportador específico de calcio LCT1 (Clemens et al. 1998), y la proteína IRT1, perteneciente a la familia de transportadores de Zn y Fe (ZIP) (Guerinot 2000). Otra familia de transportadores implicados es la Nramp, localizada en la membrana de la vacuola, por lo que probablemente tenga una función en la movilización del metal y no en el ingreso del mismo a la raíz (Thomine et al. 2003).

Una vez dentro de la célula el cadmio puede coordinarse con ligandos de S como glutatión (GSH) o fitoquelatinas (PCs) y ácidos orgánicos como el citrato (Clemens 2006; Domínguez-Solís et al. 2004). Otras posibles moléculas responsables de la quelación del cadmio son pequeñas proteínas ricas en cisteína denominadas metalotioneínas (MTs). De esta forma, los complejos Cd-ligando pueden ser transportados al interior de la vacuola o a otras células (Shah y Nongkynrh 2007).

En la planta, el cadmio se acumula preferentemente en la raíz secuestrado en la vacuola de las células, y solo una pequeña parte es transportada a la parte aérea de la planta concentrándose en orden decreciente en tallos, hojas, frutos y semillas (Chan y Hale 2004). En células de levadura se ha demostrado que el cadmio ingresa en la vacuola unido a fitoquelatinas (PCs) a través de un transportador de tipo ABC (Ortiz et al. 1995). Otro posible mecanismo de entrada del cadmio en la vacuola es mediante un cotransportador de $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^{+}$ ubicado en la membrana de la misma (Salt y Wagner 1993). Los transportadores de cationes CAX, implicados en el transporte de calcio a la vacuola, también transportan otros metales como el cadmio (Park et al. 2005). Una vez en la raíz, el cadmio puede pasar al xilema a través del apoplasto y/o a través del simplasto formando complejos (Clemens et al. 2002). En la **Figura 3** se muestra un esquema del ingreso del cadmio a través de las células de la raíz, hasta llegar al xilema.

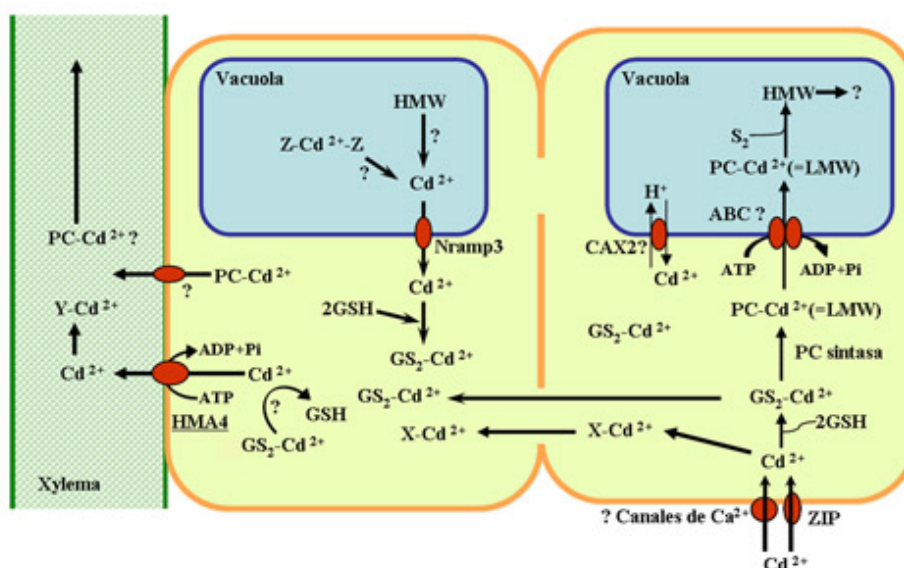


Figura 3: Representación esquemática de los mecanismos de ingreso, secuestro y translocación del Cd en raíces (adaptado de Clemens, 2006). Aparecen representadas dos células, la de la derecha en contacto con la rizosfera, y la adyacente en contacto con el xilema. La capacidad de secuestro del metal en las células de la raíz juega un papel clave en la translocación del mismo a la parte aérea. Otro factor importante es la accesibilidad y movilización del metal secuestrado, la eficiencia del paso radial por el simplasto y a través de la endodermis, y por último el flujo al xilema. Abreviaturas: GSH; glutatión, posible ligando del Cd, con el que formaría el complejo bisglutionato-Cd ($\text{GS}_2\text{-Cd}^{2+}$). PC, fitoquelatina; CAX2, posible proteína de *Arabidopsis*, responsable del transporte de $\text{H}^{+}/\text{Cd}^{2+}$; ABC, transportador de tipo ABC; HMA4, posible bomba de Cd de *Arabidopsis*; ZIP, transportadores ZIP; Nramp3, transportador de la familia Nramp; HMW y LMW, complejo Cd-PC de elevado y bajo peso molecular, respectivamente.

Toxicidad del cadmio

Los efectos tóxicos del cadmio sobre las plantas, han sido ampliamente estudiados (Sanità di Toppi y Gabrielli 1999; Benavides et al. 2005), sin embargo los mecanismos de su toxicidad aun no se conocen completamente. En general el Cd interfiere en la entrada, transporte y utilización de elementos esenciales (Ca, Mg, P y K) y del agua, provocando desequilibrios nutricionales e hídricos en la planta (Poschenrieder et al. 1989; Sandalio et al. 2001; Singh y Tewari 2003). El Cd también reduce la absorción de nitratos y el transporte de los mismos de la raíz al tallo, además de inhibir la actividad nitrato reductasa en tallos (Gouia et al. 2000). Las plantas expuestas a suelos contaminados con cadmio presentan modificaciones en la apertura estomática, fotosíntesis y transpiración (Sandalio et al. 2001). Uno de los síntomas más extendidos de la toxicidad por cadmio es la clorosis producida por una deficiencia en hierro (Benavides et al. 2005), fosfatos o por la reducción del transporte de Mn (Goldbol y Hutterman 1985). El tratamiento con cadmio produce reducción de la actividad ATPasa de la membrana plasmática, (Astolfi et al. 2005), alteraciones en la funcionalidad de la membrana plasmática (Fodor et al. 1995; Sandalio et al. 2001) y desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO₂ (Ali et al. 2000; Maksymiec et al. 2007).

La toxicidad por metales pesados se debe en parte al estrés oxidativo producido por las especies de oxígeno reactivo (ROS) generadas a través de diferentes mecanismos dependiendo del metal de que se trate (Stohs y Bagchi, 1995). Los cationes metálicos Cd²⁺ y Pb²⁺ no experimentan cambios redox y por lo tanto, a diferencia del Fe²⁺ o Cu²⁺, no actúan directamente en la generación de ROS. Sin embargo, pueden actuar como prooxidantes a través de la reducción del contenido de GSH, necesario para la síntesis de PCs, disminuyendo así su disponibilidad para la defensa antioxidante (Pinto et al. 2003). El estrés oxidativo producido por el cadmio se manifiesta por daños oxidativos a membranas tales como peroxidación lipídica (Lozano-Rodríguez et al. 1997; Sandalio et al. 2001; Wua et al. 2003; Balestrasse et al. 2004), y también se han descrito daños oxidativos a proteínas por formación de grupos carbonilo (Romero-Puertas et al. 2002). Las actividades de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), glutatión reductasa (GR), ascorbato peroxidasa (APX), peroxidasa (POD) y la catalasa (CAT), encargadas de la defensa celular frente a las ROS, experimentan reducciones o incremento de su actividad en función de la concentración de cadmio incluida en el medio de crecimiento, la duración del tratamiento, el tipo de tejido y la especie vegetal de que se trate (Sandalio et al. 2001; Benavides et al. 2005).

En los últimos años se ha incrementado el interés por el estudio de los mecanismos íntimos implicados en la producción de ROS en respuesta al Cd. Como consecuencia de ello, se ha demostrado la producción de ROS en distintos compartimentos celulares (membrana plasmática, mitocondrias y peroxisomas) siendo la NADPH oxidasa una de las principales fuentes de ROS (Olmos et al. 2003; Romero-Puertas et al. 2004; Garnier et al. 2006). En los últimos años se ha prestado una atención especial al estudio de la regulación de la producción de ROS y la síntesis de antioxidantes, así como la implicación de hormonas como el ácido jasmónico y el etileno, y de moléculas como el NO. En la **Figura 4** se muestra un esquema que resume la respuesta al Cd de la planta, teniendo en cuenta los resultados obtenidos por distintos autores (Romero-Puertas et al. 2004, 2007; Olmos et al. 2003, entre otros). Según este esquema, el Cd podría inducir la NADPH oxidasa de membrana y las ROS que se formarían (O₂⁻ y H₂O₂) podrían intervenir en la lignificación de la pared celular que actúa como barrera de entrada del metal (Sanità di Topi y Gabbrielli 1999). Las ROS pueden ser eliminadas por los sistemas antioxidantes pero cuando la intensidad y duración del tratamiento superan la barrera antioxidante, se produce un exceso de ROS que se traduce en daños oxidativos a membranas y proteínas. Los daños a membranas van acompañados de un incremento en la síntesis de etileno y jasmónico (JA), que junto con el H₂O₂ van a regular la expresión de un gran número de proteínas de defensa (HSPs, quitinasa o antioxidantes, entre otras). Recientemente se ha demostrado un importante papel regulador del NO en distintos procesos de desarrollo en vegetales (del Río et al. 2004). El papel de esta molécula está siendo estudiado y parece ser que el Cd reduce considerablemente la acumulación de NO en tratamientos largos, si bien no se conocen los mecanismos implicados en este proceso (Rodríguez-Serrano et al. 2006).

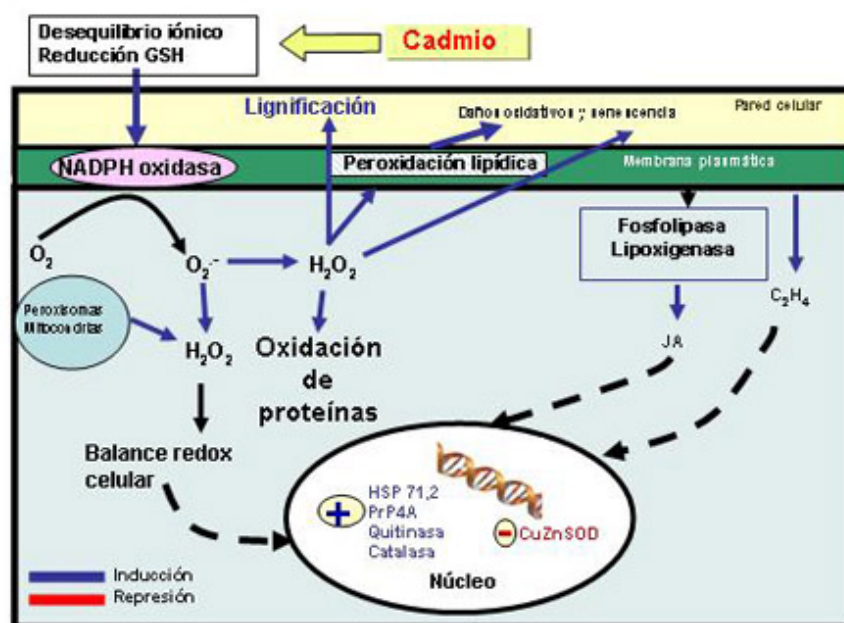


Figura 4: Esquema de la respuesta celular al cadmio: producción de ROS, daños oxidativos y señalización. Modificado de Romero-Puertas (2002). HSP 71,2, proteína de estrés térmico de 71,2 kDa; PrP4A, proteína relacionada con la patogénesis. C_2H_4 , etileno.

Estrategias de tolerancia al cadmio

Las plantas han desarrollado distintas estrategias para evitar la toxicidad de metales pesados. En general, la tolerancia a metales viene determinada por la reducción del transporte del mismo al interior de la célula y/o una mayor capacidad para secuestrar estos metales. La raíz constituye una de las principales barreras de defensa mediante la inmovilización del Cd por pectinas de la pared celular. Los carbohidratos extracelulares (mucílago y calosa) de la raíz también pueden intervenir en la inmovilización del metal (Benavides et al. 2005). La acumulación del metal en los tricomas de la superficie foliar también es un mecanismo de inmovilización y defensa celular (Salt et al. 1995). Otro mecanismo consiste en la reducción del transporte o aumento de la extrusión del Cd por transportadores de cationes de la membrana plasmática (Thomine et al. 2000). Una vez dentro de la célula, el Cd u otros metales, pueden ser secuestrados por ácidos orgánicos, aminoácidos, fitoquelatinas y metalotioneínas, y posteriormente compartimentalizados en la vacuola para prevenir su toxicidad. Las fitoquelatinas constituyen uno de los principales mecanismos de defensa frente a metales pesados. Su síntesis tiene lugar a partir del glutatión y se induce en presencia de metales pesados (Clemens, 2006). Plantas que sobreexpresan la enzima fitoquelatina sintasa muestran una mayor tolerancia frente al Cd (Pomponi et al. 2006). Otras posibles moléculas responsables de la acumulación del cadmio son las metalotioneínas (MTs), pequeñas proteínas ricas en cisteína, si bien en las plantas no son las principales responsables de la detoxificación del cadmio, como ocurre en células animales (Hamer 1986).

Hiperacumulación y fitoextracción de cadmio

Las plantas hiperacumuladoras son, en muchos casos, endémicas de suelos ricos en metales pesados. El contenido en Cd de estas plantas es aproximadamente 100 veces superior al de plantas no hiperacumuladoras cultivadas en las mismas condiciones (Brooks 1998). La mayoría de estas plantas pertenecen a los géneros *Thlaspi*, *Silene* o *Arabidopsis*. Los mecanismos responsables de la hiperacumulación pueden variar dependiendo de la especie y consisten, básicamente, en una o varias estrategias de tolerancia mencionadas en el apartado anterior. En *Thlaspi caerulescens* la hiperacumulación de Cd y Zn se debe a una estimulación del transporte de los metales a la raíz y alteración del transporte intracelular con disminución de la acumulación del metal en la vacuola y aumento del transporte a la parte aérea (Shah y Nongkynrich 2007). Diferentes autores han propuesto aprovechar la característica inusual de estas plantas para la limpieza de terrenos contaminados (Raskin et al. 1997; Shah y Nongkynrich 2007). Sin embargo, la limitación principal de este tipo de fitoextracción es la pequeña biomasa de estas plantas, y el escaso tamaño y poca profundidad de sus raíces. Es por ello, que se ha potenciado el uso de plantas de mayor biomasa y crecimiento rápido modificadas genéticamente para sobreexpresar genes responsables de la hiperacumulación (Yang et al. 2005; Shah y Nongkynrich 2007). Así, se han obtenido plantas transgénicas tolerantes que sobreexpresan genes que codifican enzimas del metabolismo del glutatión, fitoquelatinas, o transportadores de cationes (Shah y Nongkynrich 2007). El estudio de los mecanismos de tolerancia en nuevos mutantes, así como la identificación de

sensores de metales y factores de transcripción implicados en la respuesta celular a metales serán de gran relevancia en un futuro para el desarrollo de nuevas estrategias de fitorremediación.

Perspectivas futuras

En los últimos diez años se ha realizado un considerable progreso en nuestro conocimiento de los mecanismos implicados en la toxicidad al Cd y la tolerancia a este y a otros metales en plantas. Sin embargo, es necesario mejorar nuestros conocimientos sobre la regulación de los procesos de translocación y acumulación del Cd en la célula vegetal. La participación de las ROS y el NO en la regulación de la actividad y expresión de transportadores de metales también es un tema emergente que requiere una investigación en profundidad. Igualmente, es necesario abordar el estudio de posibles moléculas sensoras de metales tóxicos y los procesos de señalización implicados en la regulación de la respuesta celular a nivel transcripcional. Estos estudios podrían ser de utilidad en el diseño de programas de especies de interés agrícola en suelos contaminados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto BIO2005-03305) y la Junta de Andalucía (Grupo de Investigación CVI 0192).

Referencias

- Aguilar, J., Dorronsoro, C., Bellver, R., Fernández, E., Fernández, J., García, I., Iriarte, A., Martín, F., Ortiz, I., Simón, M. 2003. *Contaminación de los suelos tras el vertido tóxico de Aznalcóllar*. Universidad de Granada-Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. España.
- Ali, G., Srivastava, P.S., Iqbal M. 2000. Influence of cadmium and zinc on growth and photosynthesis of *Bacopa monniera* cultivated *in vitro*. *Biologia Plantarum* 43:599-601.
- Alloway, B.J., Steinnes, E. 1999. Anthropogenic additions of cadmium to soils. En *Cadmium in Soils and Plants* (eds. McLaughlin, M.J. y Singh, B.R.), pp. 97-123. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- Astolfi, S., Zuchi, S., Passera, C. 2005. Effect of cadmium on H(+)ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from roots of different S-supplied maize (*Zea mays* L.) plants. *Plant Science* 169:361-368.
- Balestrasse, K.B., Gallego, S.M., Tomaro, M.L. 2004. Cadmium-induced senescence in nodules of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Plant Soil* 262:373-381.
- Benavides, M.P., Gallego, S.M., Tomaro, M. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17:21-34.
- Brooks, R.R. 1998. *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. CAB International, Wallingford, UK.
- Chan, D.Y., Hale, B.A. 2004. Differential accumulation of Cd in durum wheat cultivars: uptake and retranslocation as sources of variation. *Journal of Experimental Botany* 55:2571-2579.
- Christensen, T.H., Haug, P.M. 1999. Solid phase cadmium and the reactions of aqueous cadmium with soil surfaces. En: *Cadmium in Soils and Plants* (eds. McLaughlin, M.J. y Singh, B.R.), pp. 65-96. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- Clemens, S., Antosiewicz, D.M., Ward, J.M., Schachtman, D.P., Schroeder, J.I. 1998. The plant cDNA LCT1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95:12043-12048.
- Clemens, S., Palmgren, M.G., Krämer, U. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science* 7:309-315.
- Clemens, S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88:1707-1719.
- Domínguez-Solís, J.R., López-Martin, M.C., Ager, F.J., Ynsa, M.D., Romero, L.C., Gotor, C. 2004. Increased cysteine availability is essential for cadmium tolerance and accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology Journal* 2:469-476.
- Fodor, A., Szabó-Nagy, A., Erdei, L. 1995. The effects of cadmium on the fluidity and H⁺-ATPase activity of plasma membrane

from sunflower and wheat roots. *Journal of Plant Physiology* 14: 787-792.

Garnier, L., Simon-Plas, F., Thuleau, P., Agnel, JP., Blein, JP., Ranjeva, R., Montillet, JL. 2006. Cadmium affects tobacco cells by a series of three waves of reactive oxygen species that contribute to cytotoxicity. *Plant Cell and Environment* 29:1956-1969.

Goldbol, D.L., Hutterman, A. 1985. Effect of zinc, cadmium and mercury on root elongation on *Picea abies* (Karst.) seedlings and the significance of these metals to forest die-back. *Environmental Pollution* 38:375-381.

Gouia, H., Ghorbal, M.H., Meyer, C. 2000. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiology and Biochemistry* 38:629-638.

Guerinot, M.L. 2000. The ZIP family of metal transporters. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465:190-198.

Hamer, D. 1986. Metallothionein. *Annual Review of Biochemistry* 55:913-951.

Lozano-Rodríguez, E, Hernández, L.E., Bonay, P., Cárpene-Ruiz, R.O. 1997 Distribution of Cd in shoot, and root tissues of maize and pea plants: physiological distribution. *Journal of Experimental Botany* 48:123-128.

Maksymiec, W., Wojcik, M., Krupa, Z. 2007. Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate. *Chemosphere* 66:421-427.

McLaughlin, M.J., Singh, B.R. 1999. *Cadmium in Soils and Plants*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.

Norvell, W.A., Wu, J., Hopkins, D.G., Welch, R. 2000. Association of cadmium in durum wheat grain with soil chlorine and chelate-extractable soil cadmium. *Soil Science Society of America Journal* 64:2162-2168.

Olmos, E., Martínez-Solano, J.R., Piqueras, A., Hellin, E. 2003. Early steps in the oxidative burst induced by cadmium in cultured tobacco cells (BY-2 line). *Journal of Experimental Botany* 54:291-301.

Ortiz D.F., Ruscitti, T., McCue, K.F., Ow, D.W. 1995. Transport of metal-binding peptides by HMT1, a fission yeast ABC-type vacuolar membrane protein. *Journal of Biological Chemistry* 270:4721-4728.

Park, S., Cheng, N.H., Pittman, J.K., Yoo, K.S., Park, J., Smith, R.H., Hirschi, K.D. 2005. Increased Calcium levels and prolonged shelf life in tomatoes expressing *Arabidopsis* H⁺/Ca²⁺ transporters. *Plant Physiology* 39:1194-1206.

Pinto, E., Sigaud-Kutner, T.C.S., Leitão, M., Okamoto, O.K., Morse, D., Colepicolo, P. 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *Journal of Phycology* 39:1008-1018.

Pinto, A.P., Mota, A.M., De Varennes, A., Pinto, F.C. 2004. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants. *Science of the Total Environment* 326:239-274.

Pomponi, N., Censi, V., Di Girolamo, U., De Paolis, A., Di Toppi, L.S., Aromolo, R., Constantino, P., Cardarelli, M. 2006. Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase in tobacco plants enhances Cd²⁺ tolerance and accumulation but not translocation to the shoot. *Planta* 223:180-190.

Poschenrieder C., Gonsé, B., Barceló, J. 1989. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiology* 90:1365-1371.

Prince, W.S.P.M., Kumar, S.P., Doberschütz, K.D., Subburam, V. 2002. Cadmium toxicity in mulberry plants with special reference to the nutritional quality of leaves. *Journal of Plant Nutrition* 25:689-700.

Raskin, I., Smith, R.D., Salt, D. 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology* 8:221-226.

Del Río, L.A., Corpas, F.J., Barroso, J.B. 2004. Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry* 65:783-792.

Rodríguez-Serrano, M., Romero-Puertas, M.C., Zabalza, A., Corpas, F.J., Gómez, M., del Río, L.A., Sandalio, L.M. 2006. Cadmium effect on the oxidative metabolism of pea roots. Imaging of ROS and NO production *in vivo*. *Plant Cell and Environment* 29:1532-1544.

Romero-Puertas, M.C. 2002. *Metabolismo de especies de oxígeno reactivo en plantas de guisante (*Pisum sativum* L.) y en*

peroxisomas de hojas en condiciones de estrés por cadmio. Tesis Doctoral, Universidad de Granada. España.

Romero-Puertas, M.C., Corpas, F.J., Rodríguez-Serrano, M., Gómez, M., del Río, L.A., Sandalio, L.M. 2007. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *Journal of Plant Physiology* 164:1346-1357.

Romero-Puertas, M.C., Palma, J.M., Gómez, M., del Río, L.A., Sandalio, L.M. 2002. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. *Plant Cell and Environment* 25:677-686.

Romero-Puertas, M.C., Rodríguez-Serrano, M., Corpas, F.J., Gómez, M., del Río, L.A., Sandalio, L.M. 2004. Cadmium-induced subcellular accumulation of $O_2^{\cdot -}$ and H_2O_2 in pea leaves. *Plant Cell and Environment* 27:1122-1134.

Salt, D.E., Wagner, G.J. 1993. Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots. Evidence for a Cd^{2+}/H^+ antiport activity. *Journal of Biological Chemistry* 268:12297-12302.

Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J., Raskin, I. 1995. Mechanism of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. *Plant Physiology* 109:1427-1433.

Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., del Río, L.A. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany* 52:2115-2126.

Sanità di Toppi, L., Gabbrielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41:105-130.

Shah, K., Nongkynrih, J.M. 2007. Metal hyperaccumulator and bioremediation. *Biologia Plantarum* 51:618-634.

Singh, P.K., Tewari, R.K. 2003. Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of *Brassica juncea* L. plants. *Journal of Environmental Biology* 24:107-112.

Stohs, S.J., Bagchi, D. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine* 18:321-336.

Thomine, S., Wang, R., Ward, J., Crawford, N., Schroeder, J. 2000. Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in *Arabidopsis* with homology to Nramp genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97:4991-4996.

Wua, F., Zhang, G., Dominy, P. 2003. Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. *Environmental and Experimental Botany* 50:63-78.

Yang, X-E., Jin, X-F., Feng, Y., Islam, E., 2005. Molecular mechanisms and genetic basis of heavy metal tolerance/hyperaccumulation in plants. *Journal of International Plant Biology* 47:1025-1035.