



## Odporność roślin na stres wywołany przez metale ciężkie

Andrzej Stroiński

Katedra Fizjologii Roślin Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego, Poznań

### Plant Resistance to Heavy Metals Stress

#### Summary

The studies on the effect of heavy metals on plants have shown that they cause intensification of two types of unfavorable processes:

- inactivation of macromolecules and cellular structures,
- induction of oxidative stress.

All molecular, structural and metabolic changes on the level of molecules, tissues and organs lead to changes of plant morphology. One of the changes is inhibition of plant growth, reflected as a reduction of its size, mass of either the whole plant or its part, organs or tissues.

In response the plant activates processes restoring its homeostasis. In removing reversible changes a particular role is played by the processes of heavy metal detoxification as well as removal of active forms of oxygen.

#### Key words:

antioxidants, heavy metals, phytochelatins, plant resistance.

### 1. Wprowadzenie

Metale ciężkie niefunkcjonalne dla roślin, jak kadm, rtęć czy ołów, czy funkcjonalne przy ponad optymalnych stężeniach wykazują w stosunku do nich wysoką toksyczność. Powodują zmiany ich procesów fizjologicznych, które prowadzą do zahamowania wzrostu, ograniczenia pobierania składników mineralnych, chlorozy lub nekrozy liści, zmian ultrastruktury komórki i morfologii roślin. Jednocześnie czynnik stresujący indukuje wiele mechanizmów obronnych w roślinie pozwalających przetrwać jej

#### Adres do korespondencji

Andrzej Stroiński,  
Katedra Fizjologii Roślin,  
Akademia Rolnicza,  
ul. Wolińska 35,  
60-637 Poznań;  
e-mail: astroins@go2.pl

**biotechnologia**

3 (58) 124–134 2002

homeostazę. Strategia tolerowania stresu jest dominująca w mechanizmie odporności roślin na działanie metali ciężkich. W szczególności istotne są dwa jej mechanizmy należące do strategii unikania zmian szkodliwych, mianowicie proces detoksykacji metali oraz proces usuwania aktywnych form tlenu (1-3).

## 2. Pobieranie i translokacja metali ciężkich w roślinie

Jony niektórych metali, np. miedzi, cynku lub kadmu są stosunkowo łatwo pobierane przez rośliny, głównie poprzez korzenie. Intensywność tego procesu jest proporcjonalna do stężenia metalu w roztworze glebowym (4-6). Większość pobranych jonów metali jest zatrzymywana w systemie korzeniowym rośliny przez elementy strukturalne ściany komórkowej, np. przez związki pektynowe i białka (7-8). Transport radialny i wertykalny w korzeniu odbywa się głównie poprzez apoplast, to znaczy poprzez ściany komórkowe i przestwory międzykomórkowe. Istotne ograniczenie transportu radialnego stanowi endoderma, której komórki posiadają ściany wysyczone substancją hydrofobową. Ogranicza to transport wody oraz jonów metali w niej rozpuszczonych i wymusza ich transport poprzez symplast, to znaczy poprzez cytoplazmę komórek połączonych plazodesmami. Transport poprzez błony zachodzi dzięki dyfuzji prostej lub ułatwionej, z udziałem białkowych przenośników lub za pomocą endocytozy. Jony  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  i  $Zn^{+2}$  są transportowane przez plazmolemę za pomocą podobnych systemów transportowych (9). Jony metali mniej ruchliwych, np. ołowiu transportowane są do wnętrza komórki raczej poprzez endocytozę (2).

W cytoplazmie jony metali mogą wiązać się w sposób mniej lub bardziej trwały z anionami organicznymi, np. kwasów jabłkowego i cytrynowego, histydyny czy fitochelatyn (10,11).

Szereg jonów wolnych lub związanych, funkcjonalnych ( $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  i  $Zn^{+2}$ ), lub niefunkcjonalnych ( $Cd^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ) jest transportowanych z cytoplazmy do wakuoli. W *Arabidopsis thaliana* znaleziono rodzinę genów *ZIP* odpowiedzialnych za syntezę transporterów cynku działających w plazmolemie i w tonoplaście (12). Stwierdzono, również, że izolowany z tej samej rośliny wakuolarny antyporter  $Ca^{+2}/H^{+}$  (*CAX2*) może transportować do wakuoli jony  $Mn^{+2}$  i  $Cd^{+2}$ . Tytoń z nadekspresją tego genu wykazuje zwiększoną tolerancję na wyższe poziomy  $Mn^{+2}$  w pożywce (13).

Sprawną detoksykacją metali w komórkach korzenia i (lub) ograniczona ich translokacja poprzez ksylem do części nadziemnej powodują dużą akumulację metali w korzeniu i małą w pędzie pomidora (14), kukurydzy (15), jęczmienia (16) i *Agrostis tenuis* (17), czy jeszcze mniejszą w bulwach ziemniaka (18).

Transport metali poprzez naczynia ksylemu wymaga często ich skompleksowania przez różne ligandy, co ogranicza wiązanie się metali do jonowymiennych elementów strukturalnych naczyń. W soku ksylemowym *Alyssum lesbiacum*, hiperaku-



mulatora Ni, stwierdzono około 40 razy więcej histydyny niż w soku *Alyssum montanum*, która nie akumuluje dużych ilości tego metalu (19).

### 3. Reakcje roślin na metale ciężkie

Podczas wzrostu roślin w kulturach glebowych lub wodnych z dodatkiem jonów metali ciężkich ujawniają się charakterystyczne objawy toksyczności tych metali. Odnotowano zahamowanie wzrostu pod wpływem kadmu (4,20-22), ołowiu i innych metali (23,24). Metale ciężkie mogą ograniczać transpirację (25), wywoływać chlorozę liści i ich zasychanie (4). Spadek zawartości chlorofilu w roślinach traktowanych kadmem nie jest spowodowany obniżeniem poziomu Mg (4), ale zahamowaniem syntezy chlorofilu. Jony kadmu hamują działanie syntetazy kwasu  $\delta$ -aminolewulinowego i reduktazy protochlorofilidu (26), enzymów szlaku biosyntezy chlorofilu.

Natomiast zasychanie liści ziemniaka (4) spowodowane może być zakłóconym pobieraniem wody (25). Metale ciężkie zmieniają ultrastrukturę komórek, najczęściej chloroplastów (4,22,26,29,30). Zmniejsza się liczba gran i ich wielkość, zostaje zredukowana stroma i pojawiają się w niej liczne i duże plastoglobule wskazujące na rozkład błon (4,22,29). Zmiany te powiązane są z obniżoną intensywnością fotosyntezy (31-33). Zmianom podlegają również mitochondria (30). Zwiększa się ich objętość, zmienia się kształt i ulega redukcji liczba grzebieni. Towarzyszy tym zmianom obniżenie aktywności oddychania (34,35). Charakterystyczną zmianą strukturalną komórek poddanych działaniu różnych czynników stresowych jest wakuolizacja cytoplazmy (36-38).

Ołów powoduje zaburzenia cytokinezy, hamując proces tworzenia przegrody pierwotnej (39-41). Metale ciężkie modyfikują właściwości błon poprzez oddziaływanie z grupami funkcyjnymi białek i lipidów błony (42). Hamując syntezę kwasów tłuszczowych oraz steroli zmieniają skład lipidów w membranie (43). Kadm aktywując kwaśną fosfatazę, uwalniającą  $\text{HPO}_4^{2-}$  z fosfolipidów, intensyfikuje procesy rozkładu błon komórkowych (44). Jednocześnie tworzący się anion reaguje z jonami kadmu i powstaje trudno rozpuszczalna sól (43).

Metale ciężkie zakłócają metabolizm azotowy w roślinie (45). Hamują działanie reduktazy azotanowej bezpośrednio i pośrednio (46). Metale ciężkie, podobnie jak szereg innych czynników abiotycznych i biotycznych, zwiększają syntezę aktywnych form tlenu (AFT) w komórce roślinnej. AFT działając destrukcyjnie na wszystkie makrocząsteczki komórki wywołują w niej stres oksydacyjny (47,48). Równowagę pomiędzy syntezą AFT i ich rozkładem utrzymuje system antyoksydacyjny komórki (49). Krótkotrwałe traktowanie tkanki mięksiszowej bulwy ziemniaka jonami kadmu prowadzi do szybkiej akumulacji  $\text{O}_2^-$  i  $\text{H}_2\text{O}_2$  w tkance (50). Podobny wzrost stężenia  $\text{H}_2\text{O}_2$  obserwowano w siewkach łubinu traktowanych  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  przez 48 godzin (51).



#### 4. Odporność roślin na metale ciężkie

W strategii unikania zmian szkodliwych (*strain avoidance*) dwa mechanizmy są szczególnie znaczące: procesy detoksykacji metali oraz procesy rozkładu AFT.

Na detoksykację metali składa się kilka, mniej lub bardziej specyficznych, procesów zachodzących w ryzosferze, apoplacie i w protoplacie.

System korzeniowy wydziela do roztworu glebowego szereg substancji organicznych mogących wiązać jony metali i ograniczać ich transport do rośliny. W kwaśnych glebach korzenie genotypów kukurydzy odpornych na glin wydzielają do podłoża kwas cytrynowy, który tworzy kompleksy z jonami metalu (Al-III) (52). Nadekspresja bakteryjnego genu syntetazy kwasu cytrynowego w tytoniu podnosi jego odporność na działanie Al-III (53). O odporności rośliny na toksyczne metale w glebie decyduje również mikroflora ryzosfery, w szczególności grzyby ektomikoryzowe, filtrujące wodę pobieraną przez korzenie (54). Na przykład, *Pinus silvestris* jest chroniony przed nadmiarem Zn przez *Paxillus involutus* (55), natomiast *Thelephora terrestris* i *Suillus bovinus* chronią go przed nadmiarem jonów miedzi (56).

Pewne ograniczenie transportu jonów metali do rośliny może powodować ściana komórkowa komórek epidermy korzenia wiążąc kationy metali poprzez grupy karboksylowe polisacharydów lub grupy tiolowe białek, lub zatrzymując nierozpuszczalne sole, np. krzemiany (57,58).

Istotną barierą dla transportu jonów metali ciężkich do wnętrza komórki jest plazmolema. Dotąd wykryto tylko nieliczne transportery kationów w roślinnych błonach plazmatycznych. Pierwsze geny kodujące transportery cynku w roślinach wykryto w *Arabidopsis thaliana* i nazwano rodziną genów ZIP (90). Niektóre z tych genów są indukowane jedynie w korzeniu przez niedobór cynku i są odpowiedzialne za pobieranie cynku z roztworu glebowego. Inny z tej grupy genów jest indukowany zarówno w korzeniu jak i w pędzie, i może odpowiadać za transport wewnątrz komórki i transport między komórkami rośliny. W tytoniu wykryto transporter Nt CBP4 będący białkiem wiążącym kalmodulinę i strukturalnie podobnym do niektórych białek kanałów kationowych i odpowiedzialnym za odporność roślin na Ni<sup>+2</sup> i za nadwrażliwość na Pb<sup>+2</sup> (59). W roślinach z nadekspresją tego transportera obserwowano wyższą tolerancję na jony niklu, związaną z mniejszą akumulacją tych jonów, i zwiększoną wrażliwością na jony ołowiu, wynikającą ze zwiększonej akumulacji tych jonów. W badaniach prowadzonych w ostatnich latach ujawniono obecność w roślinach innych klas transporterów. W *Arabidopsis* znaleziono geny *Nramps* odpowiedzialne za transport Cd. Ich nadekspresja zwiększała nadwrażliwość roślin na Cd (60). W hiperakumulatorze *Thlaspi caerulescens* znaleziono transporter, ZNT1, odpowiedzialny za transport Zn<sup>+2</sup> do wnętrza komórki (61).

Ważną rolę w mechanizmie odporności rośliny na działanie metali ciężkich odgrywają białka opiekuńcze (*chaperons*). Białka te wykryto w pierw jako HSPs (*heat shock proteins*), a zatem białka, których synteza rosła podczas wzrostu roślin w temperaturach ponad optymalnych (62). Okazało się, że białka te uczestniczą w proce-



sie kształtowania się struktury przestrzennej polipeptydu syntetyzowanego na rybosomie oraz pełnią ochronną funkcję w czasie różnych stresów, w tym wywołanych metalami ciężkimi (63,64). W ryżu zarówno stres temperaturowy jak i HMe powodują wzmożoną syntezę HSPs o c.cz. 17-20 kD (65). W zawieszinie komórkowej *Lycopersicon peruvianum* stwierdzono zwiększoną syntezę HSP70 pod wpływem stresu kadmowego (66).

## 5. Fitochelatyny

Fitochelatyny (PC) są chelatorami peptydowymi, często klasyfikowane jako metalotioneiny III klasy (67). PC występują powszechnie w roślinach i mają w swej strukturze dipeptydowe elementy  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n$ , gdzie  $n = 2-11$ . Ze względu na rodzaj aminokwasu końca  $-\text{COOH}$  peptydu rozróżniamy 5 rodzin tych związków:

- $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$  – fitochelatyny (PC);
- $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Ala}$  – homofitochelatyny (hPC), lub izo-PC- $\beta$ -Ala;
- $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Ser}$  – hydroksymetylofitochelatyny lub izo-PC-Ser;
- $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Glu}$  – izo-PC-Glu;
- $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n$  – izo-PC-des-Gly.

Fitochelatyny występują powszechnie w roślinach jedno- i dwuliściennych, przy czym występowanie poszczególnych rodzajów zależy od gatunku rośliny oraz rodzaju metalu. Na przykład, z roślin strączkowych 7 gatunków syntetyzuje fitochelatyny, 13 gatunków produkuje homofitochelatyny, a 23 gatunki syntetyzują oba rodzaje peptydów. Niektóre gatunki *Gramineae*, takie jak ryż, pszenica, żyto i owies, syntetyzują PC i hPC (68), natomiast kukurydza wytwarza izo-PC-Glu i izo-PC-des-Gly (69). W tkance perimedularnej bulwy ziemniaka traktowanej  $\text{CdCl}_2$  odnotowano wzrost poziomów PC:  $\text{PC}_2$  ( $(\gamma\text{-Glu-Cys})_2\text{-Gly}$ ),  $\text{PC}_3$  i  $\text{PC}_4$  (70).

PC i ich analogii są syntetyzowane nietranslacyjnie, a mianowicie z glutationu lub jego analogów (h-GSH, HO-Me-GSH i  $\gamma\text{-Glu-Cys-Glu}$ ) z udziałem transpeptydaz. Transpeptydazę dipetydu  $\gamma\text{-Glu-Cys}$  (EC 2.3.2.15), syntetyzującą PC z GSH, wyizolowano z komórek *Silene vulgaris* (71). Enzym ten nazywamy zwyczajowo syntezą fitochelatynową, jest tetrametrem o m.cz. 95 000. Aktywują go jony Cd, As, Bi, Pb, Zn, Cu, Hg i Au.

Jednocześnie trzy zespoły scharakteryzowały geny syntezy fitochelatynowej w *Arabidopsis thaliana* (*AtPCS1*) (72,73), w pszenicy (*TaPCS1*) (74) oraz w drożdżach (*SpPCS*) (73,74).

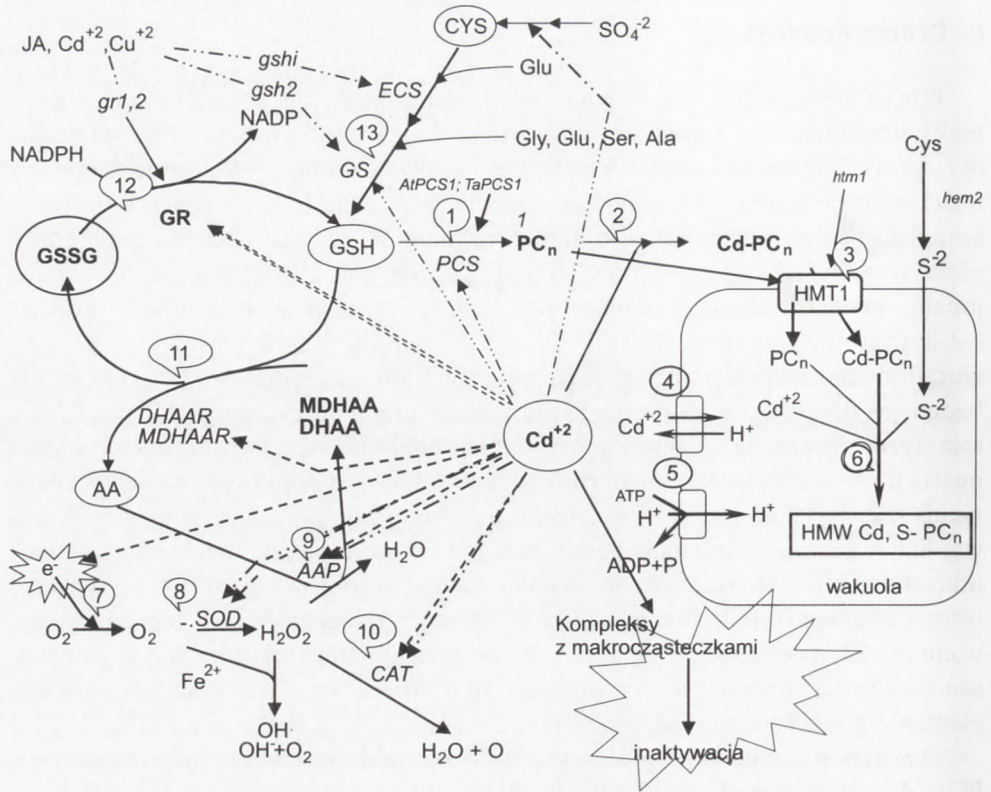
## 6. Proces detoksykacji

Proces detoksykacji jonów metali w komórce składa się z trzech etapów: kompleksowania jonów w cytozolu, transportu kompleksów do wakuoli i ich składowania (rys. 1). Sprawność każdego z tych etapów, jak się wydaje, jest istotna dla odporności rośliny na stres wywołany przez metale ciężkie. Spośród możliwych ligandów kompleksujących jony metali w komórce roślinnej, PC są, jak się wydaje, najbardziej efektywne w detoksykacji jonów kadmu. Na przykład aktywność inaktywowanej jonami kadmu reduktazy azotanowej można całkowicie przywrócić, dodając  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_3\text{-Gly}$  przy stosunku  $\text{PC}_3 : \text{Cd} = 1 : 4$ . Natomiast podobny efekt za pomocą glutationu można osiągnąć przy jego stężeniu 1000 razy większym (75). Większość badań, jak dotąd, ograniczała się do pierwszego etapu detoksykacji. Badania te charakteryzowały zależność pomiędzy wzrostem poziomu PC w roślinach a ich odpornością na stres. Stwierdzono, że rośliny mające większą odporność na kadm, syntetyzują szybciej i (lub) więcej PC niż rośliny mniej odporne (76-80). W tkance mięsiszowej bulwy ziemniaka odmiany Bzura, bardziej tolerancyjnej na działanie kadmu niż odmiana Bintje (4), traktowanej jonami kadmu odnotowano szybszy i większy wzrost stężenia PC (70). Ponieważ w wielu pracach takiej zależności nie zaobserwowano (81-83) należy sądzić, że albo w detoksykacji metalu stężenie PC nie jest zawsze istotne dla sprawności tego procesu, albo proces ten nie zawsze jest głównym elementem mechanizmu odporności.

Utworzone kompleksy PC-Cd są transportowane do wakuoli i tam reagując z  $\text{S}^{-2}$ , PC i  $\text{Cd}^{+2}$ , tworzą większe kompleksy (HMW – *high molecular weight*) i w takiej postaci są składowane (84, rys. 1). Transport kompleksu PC-Cd i PC do wakuoli odbywa się za pomocą ATP-kasetowego transportera (85,86), a jonów kadmu poprzez antyport  $\text{Cd}^{+2}/\text{H}^{+}$  (87). W kompleksach HMW stosunek S : Cd jest większy w porównaniu z kompleksami PC-Cd. Podlegają agregacji tworząc cząstki o średnicy 20 Å, których rdzeń stanowi krystaliczny CdS otoczony kompleksami PC-Cd (91,92).

Kwasy karboksylowe takie jak kwas jabłkowy, cytrynowy czy histydyna mają zdolność kompleksowania jonów metali ciężkich i w ten sposób detoksykując je wpływają na odporność roślin na ponadoptymalne stężenia metali (88,89).





Rys. 1. Wpływ kadmu na system antyoksydacyjny komórki roślinnej i proces jego detoksykacji; 1) – syntaza fitochelatynowa (PCS) syntetyzuje fitochelatyny (PC<sub>n</sub>). Jony kadmu aktywują zarówno PCS jak *AtPCS1*; *TaPCS1*; 2) Cd<sup>2+</sup> łącząc się z PC<sub>n</sub> tworzą kompleksy PC<sub>n</sub>-Cd; 3) transport kompleksów do wakuoli odbywa się z udziałem ATP – kasetowego transportera (HMT1); 4) transport Cd<sup>2+</sup> zachodzi za pomocą Cd<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup> antyportu zależnego od gradientu H<sup>+</sup> poprzez tonoplast; 5) odpowiedni gradient H<sup>+</sup> utrzymuje H<sup>+</sup>-ATPaza; 6) PC<sub>n</sub>, PC<sub>n</sub>-Cd<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> i S<sup>2-</sup> tworzą kompleksy bardziej złożone, agregaty o  $\varnothing$  20 Å, zawierające CdS i wyższy stosunek S<sup>2-</sup>/Cd<sup>2+</sup>; 7) jony Cd<sup>2+</sup> generują AFT w komórce, m.in. O<sub>2</sub><sup>-</sup>, z którego powstają inne AFT; 8) SOD przekształca O<sub>2</sub><sup>-</sup> w H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Poziom H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w komórce regulują, m.in. peroksydaza kwasu askorbinowego (PKA); 9) i katalaza (KAT); 10) aktywność tych enzymów jest hamowana, a biosynteza indukowana przez jony Cd<sup>2+</sup>; 11) KDHA – kwas dehydroaskorbinowy i KMDHA – kwas monodehydroaskorbinowy są redukowane przez odpowiednie reduktazy i GSH do kwasu askorbinowego; 12) RG – reduktaza glutationowa i NADPH redukują GSSG do GSH; 13) GS – syntetaza glutationowa i ECS – syntetaza glutamylcysteinowa obok RG określają poziom GSH w komórce. Biosynteza tych enzymów jest indukowana przez jony Cd<sup>2+</sup> i Cu<sup>2+</sup> oraz przez kwas jasmonowy (JA). Jony Cd<sup>2+</sup> mogą hamować aktywność niektórych enzymów (--->) i indukować ich biosyntezę (----->).

## 7. System antyoksydacyjny

Metale ciężkie, podobnie jak wiele innych stresowych czynników abiotycznych i biotycznych, wywołują stres oksydacyjny. Stres taki wywołany jest zwiększoną syntezą aktywnych form tlenu powodujących inaktywację komórkowych makroczaście-



czek (47), a jednocześnie indukujących zwiększoną syntezę antyoksydantów enzymatycznych i małocząsteczkowych (3). Do tych pierwszych zaliczamy: dysmutazę ponadtlenkową, katalazę, peroksydazę kwasu askorbinowego, reduktazę glutationową i reduktazy kwasów mono- i dehydroaskorbinowego. Wszystkie one są zaangażowane, bezpośrednio lub pośrednio, w usuwanie AFT lub w otrzymywanie zredukowanych form glutationu, kwasu askorbinowego i tokoferolu (3) (rys. 1).

## 8. Podsumowanie

W badaniach prowadzonych nad wpływem metali ciężkich na rośliny wykazano, że aktywują one w roślinie dwa niekorzystne procesy:

- reakcje inaktywacji makrocząsteczek oraz złożonych struktur komórkowych poprzez wiązanie się ze specyficznymi grupami (np.  $\text{SH}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) lub podstawienie funkcjonalnych jonów metali;

- wzmożoną syntezę aktywnych form tlenu (AFT), które dodatkowo intensyfikują procesy destrukcyjne w komórce.

Wszystkie zmiany molekularne, strukturalne i metaboliczne, na poziomie komórki, tkanek i organów, prowadzą do zmian morfologicznych rośliny. Między innymi powodują zahamowanie wzrostu przejawiające się zredukowaniem jej rozmiarów oraz masy całej rośliny lub jej organów. Przed tymi procesami chronią roślinę jej systemy detoksykacji metalu oraz antyoksydacyjny. Ten pierwszy składa się z trzech etapów: kompleksowania jonów, transportu kompleksów do wakuoli lub do apoplastu. Sprawność każdego z tych etapów jest ważna dla stopnia tolerancji rośliny na działanie metalu. Spośród możliwych ligandów kompleksujących jony metali w komórce roślinnej metalotioneiny III klasy, z charakterystycznym elementem strukturalnym  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n$  są, jak się wydaje, najbardziej efektywne.

Metale ciężkie, podobnie jak inne stresowe czynniki abiotyczne i biotyczne, wywołują w komórce roślinnej stres oksydacyjny. Proces ten charakteryzuje się wzmożoną syntezą aktywnych form tlenu, które mogą działać destrukcyjnie na wiele makrocząsteczek komórki. Takim niekorzystnym zmianom zapobiega system antyoksydacyjny komórki składający się z wielu enzymatycznych i małocząsteczkowych antyoksydantów. Konstytutywne poziomy antyoksydantów, szybkość i wielkość ich spadku, np. pod wpływem kadmu, a następnie szybkość ponownej ich syntezy są istotne, jak się wydaje, dla poziomu odporności rośliny na jony metali ciężkich.

Na podstawie dotychczasowych badań dowodzi się, że strategia tolerowania stresu jest ważna dla odporności roślin na działanie metali ciężkich. W szczególności dominujące są dwa mechanizmy należące do strategii unikania zmian szkodliwych (*strain avoidance*), a mianowicie proces detoksykacji metalu oraz proces usuwania aktywnych form tlenu.



## Literatura

1. Woźny A., Stroiński A., Gwóźdź E., (1990), *Plant cell responses to cadmium*, Wyd. Nauk. UAM, Poznań.
2. Woźny A., Krzesłowska M., Tomaszewska B., (1995b), *Odporność na ołów, w: Ołów w komórkach roślinnych*, red. A. Woźny, Sorus, Poznań.
3. Stroiński A., (1999), *Acta Physiol. Plant.*, 21, 175-188.
4. Stroiński A., Floryszak-Wieczorek J., Woźny A., (1990), *Biochem. Physiol. Pflanzen.*, 186, 43-54.
5. Sparrow L. A., Salardini A. A., Bishop A. C., (1993), *Aust. J. Agri. Res.*, 44, 855-861.
6. Moral R., Palacios G., Gomez L., Navarro-Pedreno J., Mataix J., (1994), *Fresenius Envir. Bull.*, 3, 395-399.
7. Khan D. H., Duckett J. G., Frankland B., Kirkham J. B., (1984), *J. Plant Physiol.*, 115, 19-28.
8. Sela M., Tel-Or E., Fritz E., Huttermann A., (1988), *Plant Physiol.*, 88, 30-36.
9. Clarkson D. T., Lüttge U., (1989), *Prog. Bot.*, 51, 93-112.
10. Ernest W. H. O., Verkleij J. A. C., Schat H., (1992), *Acta Bot. Neerl.*, 41, 229-248.
11. Zenk M. H., (1996), *Gen*, 179, 21-30.
12. Grotz N., Fox T., Connolly E., Park W., Guerinot M. L., Eide D., (1998), *PNAS USA* 95, 7220-7224.
13. Hirschi K. D., Korenkov V. D., Wilganowski N. L., Wagner G. J., (2000), *Plant Physiol.*, 124, 125-133.
14. Moral R., Palacios G., Gomez I., Navarro-Pedreno J., Mataix J., (1994), *Fresenius Envir. Bull.*, 3, 395-399.
15. Meuwely P., Thibault P., Schwan A. L., Rauser W. E., (1995), *Plant J.*, 7, 391-400.
16. Page A. L., Bingham F. T., Nelson C., (1972), *J. Envir. Qual.*, 1, 288-291.
17. Herstein U., Jäger H. J., (1986), *Env. Exp. Bot.*, 26, 309-319.
18. Stroiński A., Woźny A., Floryszak-Wieczorek J., (1990), *Biochem. Physiol. Pflanzen.*, 186, 229-238.
19. Krämer U., Cotter-Howells J. D., Charnck J. M., Baker A. J. M., Smith J. A. C., (1996), *Nature*, 379, 635-638.
20. Greger M., Brammer E., Lindberg S., Lisson G., Idestam-Linquist J., (1991), *J. Exper. Bot.*, 42, 729-737.
21. Godbold D. L., (1991), *Tree Physiol.*, 9, 349-358.
22. Rascio N, Vecchia F. D., Ferretti M., Merlo L., Ghisi R., (1993), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 25, 244-249.
23. Woźny A., Zatorska B., Młodzianowski F., (1982), *Acta Soc. Bot.*, 51, 345-351.
24. Fargasova A., (1994), *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 52, 452-456.
25. Barcelo J., Poschenrieder Ch., Andren I., Gunse B. J., (1986), *Plant Physiol.*, 125, 7-25.
26. Stobart A. K., Griffiths W. T., Ameen-Bukhari I., Sherwood R. P., (1985), *Physiol. Plant.*, 63, 293-298.
27. Baszyński T., Wajda L., Wolińska D., Krupa Z., Tukendorf A., (1980), *Physiol. Plant.*, 48, 365-370.
28. Krupa Z., Baszyński T., (1995), *Acta Physiol. Plant.*, 17, 177-190.
29. Krupa Z., Skórzyńska E., Maksymiec W., Baszyński T., (1987), *Photosynthetica*, 21, 156-164.
30. Woźny A., Idzikowska K., Krzesłowska, Samardakiewicz S., (1995), w: *Ołów w komórkach roślinnych*, red. A. Woźny, Sorus, Poznań, 39-56.
31. Baszyński T., (1986), *Acta Soc. Bot. Pol.*, 55, 291-304.
32. Poskuta J. W., Parys E., Romanowska E., (1987), *Acta Soc. Bot. Pol.*, 56, 127-137.
33. Streb P., Michael-Knauf A., Feierabend J., (1993), *Physiol. Plant.*, 88, 590-598.
34. Ratajczak L., Mossor-Pietraszewska T., Mazurowa H., Ratajczakowa W., (1995), w: *Ołów w komórkach roślinnych*, red. A. Woźny, Sorus, Poznań, 64-65.
35. Koeppel D. E., Miller R. J., (1970), *Science*, 167, 1376-1378.
36. Hajibagheri M. A., Yeo A. R., Flowers T. J., (1985), *New Physiol.*, 99, 331-334.
37. Przymusiński R., Woźny A., (1987), w: *Biological reaction of trees to industrial pollution*, Instytut Dendrologii PAN, Kórnik, 165-173.
38. Wierzbicka M., (1987), *Plant Cell Envir.*, 10, 17-26.
39. Röder G., (1986), *Environm. Res.*, 39, 205-231.
40. Wierzbicka M., (1988), *Caryologia*, 41, 143-160.
41. Wierzbicka M., (1989), *Environm. Ex. Bot.*, 29, 123-133.



42. de Filippis L. F., (1979), *Z. Pflanzphysiol.*, 92, 39-49.
43. Jones G. J., Nichols P. B., Johns R. S., Smith J. B., (1987), *Phytochemistry*, 26, 1343-1348.
44. Kawabe H., Sugiura Y., Tanake H., (1981), *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 103, 203-207.
45. Ratajczak L., Mossor-Pietraszewska T., Mazurowa H., Ratajczakowa W., (1995), w: *Ołów w komórkach roślinnych*, red. A. Woźny, Sorus, Poznań, 67-72.
46. Burzyński M., (1988), *Acta Soc. Bot. Pol.*, 52, 231-238.
47. Scandalios J. G., (1993), *Plant Physiol.*, 101, 7-12.
48. Stroiński A., (1999), *Acta Physiol. Plant.*, 21, 175-188.
49. Monk L. S., Davies H. V., (1989), *Physiol. Plant.*, 75, 411-416.
50. Stroiński A., Kozłowska M., (1997), *Acta Soc. Bot. Pol.*, 66, 189-195.
51. Rucińska R., Tukendorf A., Stroiński A., Gwóźdź E., (1997), *Biol. Bull., Poznań*, 34 (Suppl.), 50-51.
52. Pellet D. M., Grunes D. L., Kochani L. V., (1995), *Planta*, 196, 788-795.
53. de la Fonte J. M., Ramirez-Rodriguez V., Cabrera-Ponce J. L., (1997), *Science*, 1566-1568.
54. Jentchke G., Godbold D. L., (2000), *Physiol. Plant.*, 109, 107-116.
55. Colpaert J., van Assche J., (1992), *Plant and Soil*, 143, 201-211.
56. van Tichelen K. K., Colpaert J. V., Vangronsveld J., (2001), *New Phytologist*, 150, 203-213.
57. Ernst W. H. O., Verkleij J. A. C., Schat H., (1992), *Acta Bot. Neerl.*, 41, 229-248.
58. Bringezu K., Lichtenberger O., Leopold I., Neumann D., (1999), *J. Plant Physiol.*, 154, 536-546.
59. Arazi T., Sunkar R., Kaplan B., Fromm., (1999), *Plant J.*, 20, 171-182.
60. Thomine S., Wang R., Ward J. M., Crawford N. M., Schroeder J. I., (2000), *PNAS USA*, 97, 4991-4996.
61. Pence N. S., Larsen P. B., Ebbs E. D., Letham D. L. D., Lasat M. M., Garvin D. F., Eide D., Kochian L. V., (2000), *PNAS USA*, 97, 4956-4960.
62. Bray E. A., Bailey-Serres J., Werentilnyk E., (2000), in: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Eds. Buchanan B., Gruissem W., Jones R., American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, 1158-1203.
63. Vierling E., (1991), *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42, 579-620.
64. Lewis S., Handy R. D., Cordi B., Billingham Z., Depledge M. H., (1999), *Ecotoxicology*, 8, 351-368.
65. Tseng T. S., Tzeng S. S., Yeh C. H., Chang F. C., Chen Y. M., Lin C. Y., (1993), *Plant Cell Physiol.*, 34, 165-168.
66. Neumann D., Lichtenberger O., Gunther D., Tschiersch K., Nover L., (1994), *Planta*, 194, 360-367.
67. Robinson N. J., Tommey A. M., Kuske C., Jackson P. J., (1993), *Biochem. J.*, 295, 1-10.
68. Klapheck S., Flingner W., Zimmer I., (1994), *Plant Physiol.*, 104, 1325-1332.
69. Meuwely P., Thibault P., Schwan A. L., Rauser W. E., (1995), *Plant J.*, 7, 391-400.
70. Stroiński A., Zielezińska M., (1997), *Acta Physiol. Plant.*, 19, 127-136.
71. Grill E., Löffler S., Winnacker E.-L., Zenk M. H., (1989), *PNAS USA*, 86, 6838-6842.
72. Vatamaniuk O. K., Mari S., Lu Y.-P., Rea P/A., (1999), *PNAS USA*, 96, 7110-7115.
73. Ha S.-B., Smith A. P., Howden R., Dietrich W. M., Bugg S., O'Connell M. J., Goldbrough P. B., Cobbett C. S., (1999), *Plant Cell*, 11, 1153-1164.
74. Clemens S., Kim E. J., Neumann D., Schroeder J. I., (1999), *EMBO J.*, 18, 3325-3333.
75. Kneer R., Zenk M. H., (1992), *Phytochemistry*, 31, 2663-2667.
76. Steffens J. C., Hunt D. F., Williams B. G., (1986), *J. Biol. Chem.*, 261, 13879-13882.
77. Jackson P. J., Unkefer P. J., Doolen J. A., Watt K., Robinson N. J., (1987), *PNAS USA*, 84, 6619-6623.
78. Delhaize E., Jackson P. J., Lujan L. D., Robinson N. J., (1989), *Plant Physiol.*, 89, 700-706.
79. Gupta C. G., Goldsbrough P. B., (1991), *Plant Physiol.*, 97, 306-312.
80. Howden R., Goldsbrough P. B., Andersen C. R., Cobbett C. S., (1995), *Plant Physiol.*, 107, 1059-1066.
81. Verkleij J. A. C., Koevoets P., van't Riet J., Nijdam Y., Ernest W. H. O., (1990), *Plant Cell Environ.*, 13, 409-423.
82. de Knecht S. A., Koevoets P. L. M., Verkleij J. A. C., Ernest W. H. O., (1992), *New Phytol.*, 122, 681-688.
83. Howden R., Goldsbrough P. B., Andersen C. R., Cobbett C. S., (1995), *Plant Physiol.*, 107, 1059-1066.
84. Rauser W. E., (1995), *Plant Physiol.*, 109, 1141-1149.
85. Oritz D. F., Rescitti T., McCue K. F., Ow D. W., (1995), *J. Biol. Chem.*, 270, 4721-4728.



86. Salt D. E., Rauser W. E., (1995), *Plant Physiol.*, 107, 1293-1301.
87. Salt D. E., Wagner G. J., (1993), *J. Biol. Chem.*, 268, 12297-12302.
88. Rauser W. E., (1999), *Cell Biochem. Biophys.*, 31, 19-48.
89. Clemens S., (2001), *Planta*, 212, 475-486.
90. Grotz N., Fox T., Connolly E., Park W., Guerinot M. L., Eide D., (1998), *PNAS USA*, 95, 7220-7224.
91. Dameron C. T., Reese R. N., Mehra R. K., Kortan A. R., Carroll P. J., Steigerwart M. L., Brus L. E., Winge D. R., (1989), *Nature*, 338, 596-597.
92. Reese R. N., White C. A., Winge D. R., (1992), *Plant Physiol.*, 98, 225-229.