

STRATEGIA UNIKANIA STRESU W ODPORNOŚCI ROŚLIN NA METALE CIĘŻKIE

Stress avoidance strategy in heavy metal resistance of plants

Anna WÓJCIK, Anna TUKENDORF

Summary. Many stresses impact plant cell physiological function, altering cytoplasmic pH, membrane electrical potential and ion fluxes. Such alteration can affect basic cell activity including metabolism, transport functions, enzyme activity. Physiological processes and biochemical pathways leading to the maintenance or recovery of cellular homeostasis in cells under stress, form the basis of stress-resistant genotypes. One of the stresses can be the presence of heavy metals. Generally, heavy metal resistance mechanisms can act along either of two strategies: stress avoidance or stress tolerance. Tolerance mechanism permit the plant to absorb the heavy metal ions, but act upon them in such a way as to minimize their effects. Avoidance mechanisms include different processes limiting the rate of uptake of the toxic ions into the cells. In this paper were described the main mechanisms of metal avoidance (external metal detoxification mechanisms). They include: 1) alteration of cell membrane permeability, 2) metal exclusion, 3) excretion of metal-complexing compounds, 4) external metal precipitation, 5) metal immobilization in the cell wall, 6) changes of redox state and pH of rhizosphere.

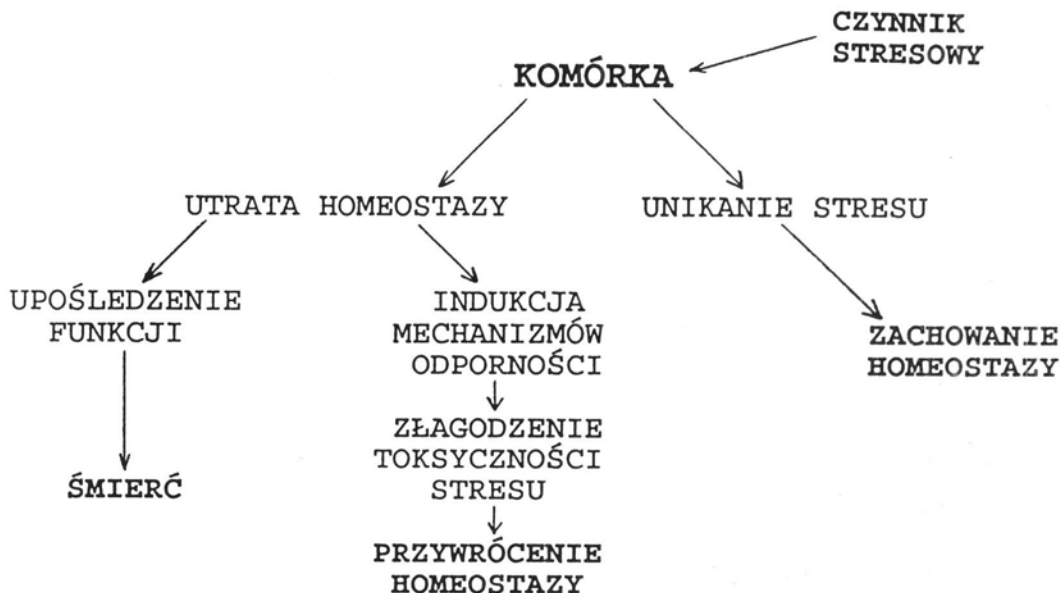
Key words: metal avoidance mechanisms, heavy metal tolerance.

Mgr Anna Wójcik, dr hab. Anna Tukendorf, Zakład Fizjologii Roślin, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Niekorzystne czynniki środowiska są dla komórki roślinnej sygnałem indukującym w niej szereg odpowiedzi biochemicznych, takich jak zmiany pH cytoplazmy, potencjału elektrycznego błon, przepływów jonowych. Wywołane czynnikiem stresowym zmiany właściwości komórek prowadzą najczęściej do zakłóceń ich funkcji metabolicznych i transportowych, a w konsekwencji do utraty homeostazy komórkowej, co dla organizmów wrażliwych jest letalne. Czynnikiem stresowym może jednak indukować lub aktywować szereg mechanizmów, które pozwalają na wytworzenie adaptacji, utrzymanie normalnego funkcjonowania komórki i wytworzenie genotypów odpornych. Naprawa uszkodzeń powstałych w wyniku działania czynnika stresowego i przywrócenie homeostazy komórce, zależą od możliwości adaptacyjnych organizmu, czasu trwania i nasilenia stresu oraz od innych

czynników towarzyszących [31]. Skutki oddziaływania kilku niekorzystnych czynników jednocześnie, najczęściej nie są addytywne, jednak nabywanie odporności na jeden stres, obniża często wrażliwość na pozostałe.

Mechanizmy adaptacyjne, pozwalające organizmom na przeżywanie w stresowych warunkach środowiska są dwojakiego rodzaju [23, 24]. Jedne z nich polegają na wytworzeniu fizycznych lub chemicznych barier, zmniejszających prawdopodobieństwo dostępu czynnika stresowego do komórek i wywołania uszkodzeń. Ten sposób obrony przed stresem nazwano unikaniem (stress avoidance). Jeśli jednak strategia unikania nie jest skuteczna w ochronie przed niekorzystnymi czynnikami środowiska, wówczas u organizmów odpornych ulegają indukcji wewnątrzkomórkowe mechanizmy, umożliwiające naprawę negatywnych skutków wywoła-



Ryc. 1. Odpowiedź roślin na czynniki stresowe.

Fig. 1. The possibilities of plant responses to stress.

nych stresem. Ten sposób minimalizacji uszkodzeń spowodowanych stresem, nazywa się tolerancją (stress tolerance). Według niektórych autorów, odporność na stres wymaga uruchomienia obu typów mechanizmów odpornościowych, tzn. unikania i tolerancji [9, 24, 28]. Reakcje roślin wrażliwych i odpornych na działanie czynników stresowych przedstawia Ryc. 1.

Szybko postępujące w ostatnich latach zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi, było przyczyną rozpoczęcia intensywnych badań nad mechanizmami przystosowania się roślin do tego rodzaju czynnika stresowego. Wiadomo, że sposoby wytwarzanych adaptacji zależą zarówno od rodzaju metalu, jak i gatunku rośliny, a konsekwencją tego jest różny stopień pobierania metalu i jego toksyczności. Najczęściej opisuje się trzy rodzaje zależności między zawartością metalu w glebie i roślinie (Ryc. 2).

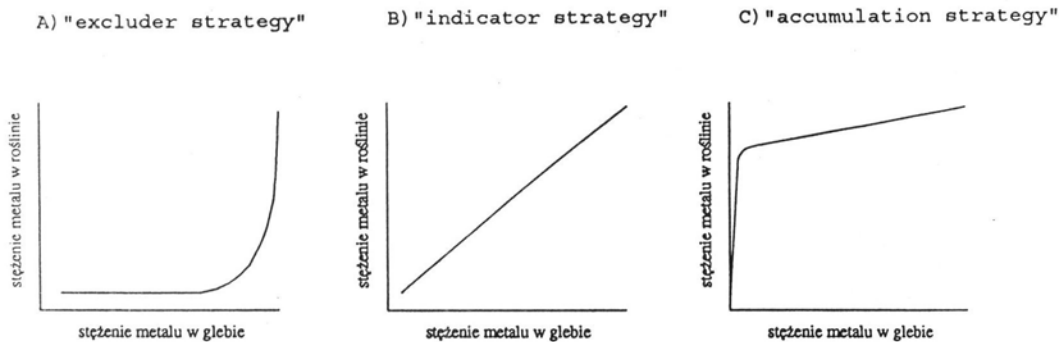
„Excluder strategy” – polega na ograniczeniu pobierania i utrzymywaniu niskiego poziomu metalu w roślinie mimo jego dużej zawartości w glebie. Dopiero powyżej pewnego krytycznego stężenia metalu w środowisku, jego ilość

w tkankach gwałtownie rośnie, ponieważ systemy regulujące pobieranie przestają być skuteczne i transport metalu do rośliny staje się niekontrolowany.

„Indicator strategy” – polega na pasywnym pobieraniu metalu ze środowiska. Wskutek tego jego zawartość w roślinie odpowiada stężeniu metalu w środowisku zewnętrznym. Rośliny, u których takie zależności występują, nazywa się wskaźnikowymi i charakteryzuje je wiele przystosowań morfologicznych, anatomicznych i biochemicznych, pozwalających unieruchamiać i detoksyfikować nadmiar pobranego metalu.

„Accumulator strategy” – polega na aktywnym gromadzeniu metalu w tkankach roślin, dzięki wysoce specjalistycznemu metabolizmowi. W ten sposób akumulowane są najczęściej miedź, cynk, molibden, bor, nikiel i krzem, a rośliny te nazywa się hyperakumulatorami.

W detoksyfikację pobranego metalu (jak u roślin wskaźnikowych, Ryc. 2B) czy jego biochemiczną tolerancję (jak u hyperakumulatorów, Ryc. 2C) zaangażowane są różne procesy wewnątrzkomórkowe. Wśród nich najczęściej



Ryc. 2. Zawartość metalu w roślinach w zależności od stężenia metalu w glebie, wg [3].

Fig. 2. Strategies of metal concentration in plants in relation to metal concentration in the soil, after [3].

opisywane jest wytwarzanie kompleksów metalopeptydowych zwanych fitochelatynami [43, 44], udział kwasów organicznych [6, 7, 17, 27], aminokwasów [34] czy antocyjanów [10] w tworzeniu kompleksów metaloorganicznych oraz adaptacje enzymatyczne [13, 48].

W strategię wyłączenia (Ryc. 2A) zaangażowane są natomiast w największym stopniu mechanizmy zewnątrzkomórkowe, pozwalające roślinom na unikanie czynnika stresowego, jakim jest wzrastające stężenie metalu. Literatura dotycząca tego zagadnienia jest znacznie uboższa od informacji na temat tolerancji, a przecież mechanizmy umożliwiające unikanie stresu są, przy niezbyt wysokich dawkach metalu, szeroko rozpowszechnionym sposobem nabywania odporności. Artykuł omawia te z nich, które najczęściej spotyka się u roślin.

Jednym ze sposobów unikania stresu, jakim jest obecność metali ciężkich, może być zdolność pewnych gatunków roślin do ograniczania pobierania metalu i jego transportu przez plazmalemę. Sprzyja temu chemiczna budowa błony cytoplazmatycznej, która utrudnia pasywny ruch roztworów, zwłaszcza, gdy zawierają one jony obdarzone silnym ładunkiem. Redukcja przepuszczalności błony zależy od jej ładunku powierzchniowego [41], zmiany selektywności nośników jonowych, zawartości i składu kwasów tłuszczowych [8] oraz steroli [11]. Obecność jonów metali w środowisku modyfikuje właściwości plazmalemmy, zmieniając

proporcje sitosterolu do stigmasterolu oraz glikolipidów do fosfolipidów. Być może zmiany te są wynikiem toksycznego działania na wzajemne przemiany lipidów błonowych, ale równocześnie pobieranie metalu maleje. Obserwowano taki efekt w hodowlach *Saccharomyces cerevisiae* i *Chlorella vulgaris*, gdzie opisane modyfikacje plazmalemmy zachodziły w obecności Cu^{2+} w środowisku, a komórki grzybów i glonów były tolerancyjne na miedź [10].

Ograniczenie pobierania jonów metali ze środowiska przez plazmalemę, odgrywa niewielką rolę w tolerancji roślin wyższych na metale ciężkie. Mechanizm taki stwierdzono u Cu-tolerancyjnej *Silene cucubalus* [25], ale większość Cu-tolerancyjnych ekotypów roślin wyższych pobiera więcej miedzi niż ekotypy wrażliwe.

Duże znaczenie w tolerancji na metale ma możliwość szybkiego wydzielania nadmiaru pobranego metalu na zewnątrz komórek. Jest to mechanizm odporności spotykany częściej u bakterii, grzybów i glonów, niż u roślin wyższych.

Wydzielanie nadmiaru jonów z komórki dobrze poznano u *Prokaryota*. U *Alcaligenes eutrophus* nabycie tolerancji na cynk wymaga wcześniejszej obecności jonów Zn^{2+} w środowisku, co indukuje syntezę błonowej Zn^{2+} – ATP – azy, transportującej cynk z komórki na zewnątrz [29]. Podobny mechanizm funkcjonuje u *Alcaligenes*, w odporności na Cd, Co, Ni, Cr

a także *Pseudomonas* i *Streptococcus* [4, 12]. Nie wiadomo, czy u roślin wyższych wydzielanie nadmiaru pobranych metali odbywa się również przy udziale ATP – az błonowych, ale wydzielanie jonów Al^{3+} przez korzenie opisano u *Triticum aestivum* [52], *Brassica oleracea*, *Lactuca sativa* [20] *Raphanus sativus*, *Cucumis sativus* i *Oryza sativa* [47]. U pewnych gatunków obserwowano wydzielanie ołowiu przez liście lub z całych roślin [46]. *Anthyllis vulneraria* i *Biscutella laevigata* gromadzą wysokie stężenia cynku w korzeniach wiosną i latem. Jesienią ilość tego metalu zmniejsza się znacznie, w wyniku przemieszczenia go do nadziemnych części roślin i usuwania przez łodygi. Podobny, efektywny mechanizm usuwania miedzi, obserwuje się u *Becium homblei*, gdzie w końcu sezonu wegetacyjnego, metal ten akumuluje się w opadających na zimę częściach rośliny [3].

Ciekawe zjawisko wydzielania przez korzenie roślin wyższych, opisano u *Pisum sativum* i *Hordeum vulgare* rosnących w obecności dwutlenku siarki w atmosferze [19]. Pobrany przez liście toksyczny SO_2 rozpuszcza się w wodnej fazie ścian komórkowych, dyfunduje przez plazmalemmę do cytozolu komórek, gdzie w wyniku reakcji z wodą tworzy się kwas siarkawy. Jony SO_3^{2-} są zwykle neutralizowane w roślinach przez redukcję do siarczków, a następnie grup –SH wbudowywanych do białek. Jeśli zapotrzebowanie na grupy tiolowe w syntezie białek zmniejsza się, funkcjonuje inny mechanizm detoksyfikacji dwutlenku siarki wnikającego przez aparaty szparkowe liści. SO_2 , uwodniony w tkankach do formy SO_3^{2-} ; ulega utlenieniu do jon SO_4^{2-} . Jony siarczanowe są następnie transportowane przez floem z liści do korzeni i wydzielane do środowiska. Równocześnie, zbędny komórkom nadmiar jonów H^+ jest usuwany z komórek wymiennie za kationy K^+ i Na^+ , wnikające do komórek korzeni ze środowiska. Opisywane jest również zjawisko emisji siarkowodoru przez pewne gatunki roślin (*Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*), jako mechanizm obronny przed zanieczyszczeniem atmosfery dwutlenkiem siarki [35].

Możliwość unikania stresu istnieje również dzięki detoksyfikacji jonów metali w środowi-

sku na skutek wydzielanych przez rośliny związków kompleksujących metale. Chelatowanie metali w środowisku zewnętrznym, znacznie redukuje ich toksyczność i ogranicza pobieranie przez rośliny. Natura chelatorów w wielu przypadkach nie jest dobrze poznana. Mogą to być polipeptydy, jak u sinicy *Anabaena cylindrica*, lub silnie kompleksujące metale kwasy hydroksamowe, wydzielane przez *Anabaena flos-aquae*, a wykryte w próbkach wody morskiej podczas zakwitów tych gatunków [22]. Kwasy hydroksamowe, wydzielane przez sinice i pełniące w nich funkcję sideroforów aktywnych w transporcie żelaza, mogą więc dodatkowo detoksyfikować nadmiar miedzi w środowisku.

Ograniczone pobieranie miedzi, jako efekt wydzielania do środowiska organicznych związków kompleksujących ten metal, obserwowano u *Euglena gracilis* i *Scenedesmus quadricauda* [3] oraz *Chlorella vulgaris* [14]. Glony tolerancyjne, w odróżnieniu od gatunków wrażliwych, produkują na ogół większe ilości efektywnie wiążących metal chelatorów.

Funkcję składników kompleksujących metale w środowisku pełnią też peptydy, kwasy organiczne (cytrynowy, jabłkowy), cukry, aminokwasy i fenole wydzielane przez rośliny [30, 37]. Wytwarzanie i wydzielanie na zewnątrz substancji chelatujących nie odbywa się stale, lecz tylko w odpowiedzi na obecność jonów metali w środowisku wzrostu. Zaobserwowano taką zależność u okrzemki *Nitzschia closterium*, która wytwarza eksudat kompleksujący jedynie w obecności jonów Cu^{2+} w środowisku, a jego ilość rośnie wraz ze wzrostem stężenia miedzi [26].

Ciekawy przykład zabezpieczania komórek przed wnikaniem nadmiaru toksycznych jonów obrazuje hodowla drożdży *Saccharomyces elipsoideus* w obecności 0,5 mM $CuSO_4$. Obecność jonów Cu^{2+} stymuluje metabolizm siarkowy, w wyniku którego z komórek drożdży do środowiska dyfunduje H_2S . Po kilkunastu godzinach hodowli precypitatu siarczku miedziowego obserwowano zarówno w medium inkubacyjnym jak i na zewnętrznej powierzchni komórek [2].

Mechaniczną i chemiczną barierą dla swobodnego wnikania metali do symplastu może

być ściana komórkowa. Imobilizację metali w tym przedziale komórki, wykazano w przypadku jonów Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} i niskich stężeń Al^{3+} . Ściana może zatrzymywać 80–95 % ilości metalu pobieranego przez komórkę. Metale występują tu często w roztworze wodnym wypełniającym przestrzenie między micellami celulozy. Również grupy karboksylowe komponentów ścian komórkowych, zwłaszcza kwasów pektynowych, uznawane są za skuteczne czynniki chelatujące metale [1, 32, 49, 51].

U wielu roślin wyższych barierą chemiczną, a zarazem mechaniczną, skutecznie chroniącą przed toksycznym działaniem jonów metali, są substancje śluzowe, wydzielane przez komórki czapeczki korzenia. Odkładają się one na powierzchni części wierzchołkowych korzeni, zapobiegając wnikaniu jonów metali do wnętrza komórek. Na podstawie doświadczeń z roślinami motylkowymi z rodzaju *Vigna* stwierdzono, że usunięcie osłaniającej apikalne części korzenia śluzowatej otoczki, składającej się głównie z polisacharydów i kwasów uronowych, zwiększa stopień uszkodzeń korzeni przez glin. Szybsza synteza i sekrecja śluzowych substancji u odmian tolerancyjnych, wpływa na zmniejszenie pobierania Al^{3+} oraz trwałe wiązanie metalu ze składnikami śluzu [19, 36].

Podobnie jak śluz, barierą dla pobieranych przez komórkę jonów, może być kaloza, syntetyzowana i odkładana od wewnętrznej strony ściany komórkowej. W korzeniach *Glycine max*, synteza kalozy jest odpowiedzią na obecność jonów Al^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} i Zn^{2+} w środowisku [50]. Enzymem, uczestniczącym w syntezie tego polimeru glukozy, jest związana z błoną syntetaza beta – 1, 3 – glukanu. Wytwarzanie tego enzymu jest regulowane przez takie właściwości komórek, jak potencjał elektryczny skład i właściwości błony oraz wewnątrzkomórkowy poziom wapnia. W komórkach korzeni *Glycine max*, gdzie obecność metali wywołuje depolaryzację i związany z tym wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} , obserwowano aktywację syntetazy beta – 1, 3 – glukanu i wzmożoną syntezę kalozy.

Rolę chemicznej i mechanicznej bariery, chroniącej korzenie roślin wyższych przed wni-

kaniem metali ciężkich ze środowiska, mogą pełnić również symbiotyczne grzyby mikoryzowe. Jest to możliwe przede wszystkim dzięki strzępkom absorpcyjnym grzybni, które wydają się mieć największe znaczenie w regulacji transportu metali toksycznych, ewentualnej ich detoksyfikacji i selekcji już na powierzchni grzybni. Odbywa się to najczęściej albo dzięki wytwarzaniu przez grzybnię substancji wiążących nadmiar metali, albo przez umiejętność szybkiego odcinania części skażonych za pomocą systemu sept. Wśród wielu związków organicznych, wydzielanych do środowiska przez grzybnię, największe znaczenie w detoksyfikacji metali mają kwasy cytrynowy i szczawiowy, związki fenolowe, siderofory, a także jony fosforanowe, tworzące z metalami ciężkimi nierozpuszczalne sole. Grzyby mikoryzowe mogą również adsorbować znaczne ilości metali na powierzchni komórek, unieruchamiać wewnątrz ściany komórkowej albo detoksyfikować w obrębie swoich komórek. Dużą rolę odgrywa tu grzybowy barwnik melanina, powstający w zależności od gatunku grzyba, wewnątrz lub na zewnątrz komórek grzybni. Melanina może tworzyć trwałe kompleksy, zwłaszcza z miedzią, co obserwowano u takich grzybów jak: *Pisolithus tinctorius*, *Boletinus merulioides*, *Suillus granulatus* [16, 45].

Obecność grzybów mikoryzowych wpływa również na znaczną akumulację toksycznych metali w korzeniu roślin i ogranicza ich transport do części nadziemnych. Obserwowano taką zależność u *Calluna vulgaris*, uprawianej w obecności nadmiaru cynku i miedzi w pożywce. Rośliny, których korzenie pozbawiano grzybów mikoryzowych, wykazywały dużą wrażliwość na Zn i Cu. Mikoryza u tego samego gatunku dawała odporność na miedź i cynk, a ponadto metale te w znacznie mniejszym stopniu transportowane były do łodyg. Również u *Phaseolus aureus* wykazano, że mikoryza typu VA ogranicza transport manganu do części nadziemnych. Brak mikoryzy powodował u tego gatunku nieograniczony transport Mn do łodyg, gdzie obserwowano objawy jego toksyczności [3].

Redukcja pobierania jonów przez rośliny może mieć miejsce również w wyniku modyfikacji rizosfery. Zmiany rizosfery prowadzą do

zmniejszenia dostępności dla roślin jonów metali z roztworu glebowego. Jest to możliwe dzięki wytwarzaniu wokół korzeni roślin strefy utleniającej. Powstaje ona jako wynik dyfuzyjnego wydzielania tlenu do rizosfery (utlenianie pasywne), lub enzymatycznego (metabolicznego) utleniania substancji redox na powierzchni korzeni. W takich warunkach, znacznie łatwiej rozpuszczalne, ale przez to i bardziej toksyczne, zredukowane jony metali (np. Mn^{2+} , Fe^{2+}) przechodząc strefę utleniającą, przekształcane są do form utlenionych (Mn^{4+} , Fe^{3+}), trudniej rozpuszczalnych i mniej toksycznych. Tworzenie utlenionej strefy w rizosferze w różnych gatunków jest zależne od tempa dyfuzji tlenu z korzeni, co z kolei jest funkcją długości korzeni, ich porowatości i szybkości zużywania tlenu w oddychaniu. Ponadto, czynnikiem zmniejszającym dostępność toksycznych metali w strefie przykorzeniowej jest akumulacja jonu żelazowego, którego związki, np. wodorotlenek, mają silne właściwości kompleksujące inne metale, głównie Pb i Cu [33, 39, 42].

Modyfikacje rizosfery dotyczyć mogą również zmian pH. W odporności roślin na metale ciężkie ma to znaczenie wówczas, gdy ich jony pobierane są w ściśle określonych warunkach pH z roztworu glebowego. Dotyczy to zwłaszcza jonów Al^{3+} pobieranych, i zarazem toksycznych dla roślin, w pH poniżej 5. Niektóre rośliny tolerancyjne na glin (np. *Triticum aestivum*) są w stanie podwyższyć pH pożywki, lub bezpośrednio przylegającej do korzeni warstwy gleby, dzięki czemu spada toksyczność glinu [5, 15, 38, 40]. Międzygatunkowe różnice w zdolnościach do zmiany odczynu w strefie przykorzeniowej, spowodowane są wykorzystywaniem różnych form azotu glebowego. Genotypy wrażliwe korzystają raczej z azotu w formie amonowej, co powoduje obniżenie pH roztworu glebowego. U genotypów tolerancyjnych, pobieranie jonu NH_4^+ jest ograniczone, a wykorzystywanie przez nie azotu w formie jonu NO_3^- , wiąże się ze wzrostem pH rizosfery i zmniejszeniem dostępności toksycznych jonów Al^{3+} .

Opisane w tym artykule zewnątrzkomórkowe mechanizmy, pozwalające organizmom ro-

ślinnym na zapobieganie przedostawaniu się jonów metali do symplastu i tym samym unikanie stresu, nie jest jednak niezbędną i uniwersalną właściwością roślin tolerancyjnych na metale. Jest wiele przykładów wskazujących na znaczną akumulację metali w korzeniach i liściach roślin, a mimo to, organizmy te charakteryzuje tolerancja na metale [17, 18]. Wówczas jednak pociąga to za sobą konieczność uruchamiania wewnątrzkomórkowych mechanizmów detoksyfikujących metale. W takich przypadkach „koszt” wytworzenia odporności jest często duży, co przejawia się słabszym tempem wzrostu i niższą produkcją biomasy w roślinach tolerancyjnych. Z tego punktu widzenia możliwość wytwarzania mechanizmów unikania stresu, wydaje się dla roślin korzystniejsza.

LITERATURA

- [1] ALLAN D. L., JARREL W. M. 1989. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls. *Plant Physiol.* **89**: 823–832.
- [2] ASHIDA J., HIGASHI N., KIKUCHI T. 1963. An electron-microscopic study on copper precipitation by copper-resistant yeast cells. *Protoplasma* **57**: 27–32.
- [3] BAKER A. J.M., WALKER P. L. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plant. W: A. J. SHAW (red.), *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, ss. 155–157.
- [4] BOPP L. H., CHAKRABARTY A. M., EHRLICH H. L. 1983. Chromate resistance plasmid in *Pseudomonas fluorescens*. *J. Bacteriol.* **155**: 1105–1109.
- [5] BORKOWSKA B. 1988. Toksyczność glinu (Al). *Wiad. Bot.* **32**: 157–166.
- [6] BROOKES A. J., COLLINS J. C., THURMAN D. A. 1981. The mechanism of zinc tolerance in grasses. *J. Plant Nutr.* **3**: 695–705.
- [7] BROOKS R. R., SHAW S., MARFIL A. A. 1981. The chemical form physiological function of nickel in some Iberian *Alyssum* species. *Physiol. Plant.* **51**: 161–170.
- [8] BROWN D. J., DUPONT F. M. 1989. Lipid composition of plasma membranes and endomembranes prepared from roots of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiol.* **90**: 955–961.
- [9] CUMMING J. R., TAYLOR G. J. 1990. Mechanisms of metal tolerance in plants: physiological adaptations for exclusion of metal ions from the cytoplasm. W: R. G. ALSCHER, J. R. CUMMING (red.), *Stress responses in plant: adaptation and acclimation mechanisms*, Wiley-Liss, Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore ss. 329–356.
- [10] CUMMING J. R., TOMSETT A. B. 1992. Metal tolerance in plants: signal transduction and acclimation mechanisms. W: D. C. ADRIANO (red.), *Biogeochemistry of*

- trace metals, Lewis Publishers, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, ss. 329–364.
- [11] DOUGLAS T. J., SYKES S. R. 1985. Phospholipid, galactolipid, and free sterol composition of fibrous roots from citrus genotypes differing in chloride exclusion ability. *Plant Cell Environ.* **8**: 693–699.
- [12] EFSTATHIOU J. D., MCKAY L. L. 1977. Inorganic salts resistance associated with a lactose – fermenting plasmid *Streptococcus lactis*. *J. Bacteriol.* **130**: 257–265.
- [13] FERNANDES J. C., HENRIQUES F. S. 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *Bot. Rev.* **57**: 246–273.
- [14] FOSTER P. L. 1977. Copper exclusion as mechanism of heavy metal tolerance in a green alga. *Nature* **269**: 322–323.
- [15] FOY C. D., CHANEY R. L., WHITE M. C. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **29**: 511–566.
- [16] GADD M., DEROME L. 1988. Bisorption of copper by fungal melanin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **29**: 610–617.
- [17] GODBOLD D. L., HORST W. J., COLLINS J. C., THURMAN D. A., MARSCHNER H. 1984. Accumulation of zinc and organic acids in roots of zinc tolerant and non-tolerant ecotypes of *Deschampsia caespitosa*. *J. Plant Physiol.* **116**: 59–69.
- [18] HOGAN G. D., RAUSER W. E. 1981. Role of copper binding, absorption, and translocation in copper tolerance of *Agrostis gigantea* Roth. *J. Exp. Bot.* **32**: 27–36.
- [19] HORST W. J., WAGNER A., MARSCHNER H. 1982. Mucilage protects root meristems from aluminium injury. *Z. Pflanzenphysiol.* **105**: 435–444.
- [20] HUETT D. O., MENARY R. C. 1978. Aluminium uptake by excised roots of cabbage, lettuce, and kikyuu grass. *Aust. J. Plant Physiol.* **6**: 643–653.
- [21] KAISER W. M., HOFER M., HEBER U. 1993. Can plants exposed to SO₂ excrete sulfuric acid through the roots? *Physiol. Plant.* **87**: 61–67.
- [22] KOWALEWSKA G. 1988. Toksyczne działanie miedzi na fitoplankton w środowisku morskim. *Wiad. Bot.* **32**: 9–20.
- [23] LEVITT J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.
- [24] LEVITT J. 1990. Stress interactions – back to the future. *Hort. Sci.* **25**: 1363–1365.
- [25] LÖLKEMA P. C., VOOÏS R. 1986. Copper tolerance in *Silene cucubalus*. *Planta* **167**: 30–36.
- [26] LUMSDEN B. R., FLORENCE T. M. 1983. A new algal assay procedure for the determination of the toxicity of copper species in sea water. *Environ. Tech. Letters* **4**: 271–276.
- [27] MATHYS W. 1977. The role of malate, oxalate and mustard oil glucosides in the evolution of zinc – resistance in herbage plants. *Physiol. Plant.* **40**: 130–136.
- [28] MILLER D. E. 1986. Root systems in relation to stress tolerance. *Hort. Sci.* **21**: 963–970.
- [29] NIES D. H., SILVER S. 1989. Plasmid – determined inducible efflux is responsible for resistance to cadmium, zinc, and cobalt in *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.* **171**: 896–900.
- [30] OJIMA K., ABE H., OHIRA K. 1984. Release of citric acid into the medium by aluminum-tolerant carrot cells. *Plant Cell Physiol.* **25**: 855–858.
- [31] PALTA J. P. 1990. Stress interactions at the cellular and membrane levels. *Hort. Sci.* **25**: 1377–1381.
- [32] POULTER A., COLLIN H. A., THURMAN D. A., HARDWICK K. 1985. The role of the cell wall in the mechanism of lead and zinc tolerance in *Anthoxanthum odoratum* L. *Plant Sci.* **42**: 61–66.
- [33] REDDY C. N., PATRICK W. H. 1977. Effect of redox potential and uptake of cadmium and lead by rice plants. *J. Environ. Qual.* **6**: 259–262.
- [34] REILLY C. 1972. Amino acids and amino acid – copper complexes in water – soluble extracts of copper – tolerant and non – tolerant *Becium homblei*. *Z. Pflanzenphysiol.* **66**: 294–296.
- [35] STASZEWSKI T. 1985. Emisja siarkowodoru przez rośliny jako mechanizm obronny przed nadmiarem związków siarki w środowisku. *Wiad. Bot.* **29**: 285–296.
- [36] ŚLASKI J. J. 1992. Mechanizmy tolerancji na toksyczne działanie jonów glinu u roślin wyższych. *Wiad. Bot.* **36**: 31–45.
- [37] TAYLOR G. J. 1987. Exclusion of metals from the symplast: a possible mechanism of metal tolerance in higher plants. *J. Plant Nutr.* **10**: 1213–1222.
- [38] TAYLOR G. J. 1988. Aluminum tolerance is independent on rhizosphere pH in *Triticum aestivum* L. *Commun. Soil. Anal.* **19**: 1217–1227.
- [39] TAYLOR G. J., CROWDER A. A. 1983. Uptake and accumulation of copper, nickel, and iron by *Typha latifolia* L. grown in solution culture. *Can. J. Bot.* **61**: 1825–1830.
- [40] TAYLOR G. J., FOY C. D. 1985. Mechanisms of aluminum tolerance in *Triticum aestivum* L. (wheat). I. Differential pH induced by winter cultivars in nutrient solutions. *Amer. J. Bot.* **72**: 695–701.
- [41] THIBAUD J. – B., ROMIEU C., GIBRAT R., GROUZIS J. – P., GRIGNON C. 1984. Local ionic environment of plant membranes: effect on membrane functions. *Z. Pflanzenphysiol.* **114**: 207–213.
- [42] TROLDENIER G. 1977. Mineral nutrition and reduction processes in the rhizosphere of rice. *Plant Soil* **47**: 193–202.
- [43] TUKENDORF A. 1993. Fitochelaty – roślinne peptydy wiążące metale ciężkie. *Post. Biochem.* **39**: 60–67.
- [44] TUKENDORF A., RAUSER W. E. 1990. Changes in glutathione and phytochelatin in roots of maize seedlings exposed to cadmium. *Plant Sci.* **70**: 155–166.
- [45] TURNAU K. 1993. Mikoryza w siedliskach skażonych metalami toksycznymi. *Wiad. Bot.* **37**: 43–58.
- [46] VERKLEIJ J. A. C., SCHAT H. 1990. Mechanisms of metal tolerance in higher plants. W: A. J. SHAW (red.), *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, ss. 179–193.
- [47] WAGATSUMA T. 1983. Effect of non – metabolic conditions on the uptake of aluminum by plant roots. *Soil Sci. Plant Nutr.* **29**: 323–333.
- [48] WAINWRIGHT S. J., WOOLHOUSE H. W. 1975. Physiological mechanisms of heavy metal tolerance in plants.

- W: M. J. CHADWICK, G. T. GOODMAN (red.), *The ecology of resource degradation and renewal*, Blackwell, Oxford, ss. 231–259.
- [49] WIERZBICKA M. 1987. Lead translocation and localization in *Allium cepa* roots. *Can. J. Bot.* **65**: 1851–1860.
- [50] WISSENMEIER A. H., KLOTZ F., HORST W. J. 1987. Aluminium induced callose synthesis in roots of soybean (*Glycine max* L.). *J. Plant Physiol.* **129**: 487–492.
- [51] WOŻNY A., ZATORSKA B., MŁODZIANOWSKI F. 1982. Influence of lead on the development of lupin seedlings and ultrastructural localization of this metal in the roots. *Acta Soc. Bot. Pol.* **51**: 345–351.
- [52] ZHANG G., TAYLOR G. J. 1989. Kinetics of aluminum uptake in *Triticum aestivum*. *Plant Physiol.* **91**: 1094–1099.