

Udział mikoryzy arbuskularnej w procesach fitoremediacji – mikoryzoremediacja

Ewa GUCWA-PRZEPIÓRA

GUCWA-PRZEPIÓRA E. **Contribution of arbuscular mycorrhiza to phytoremediation processes – mycorrhizoremediation.** *Wiadomości Botaniczne* 56(1/2): 5–19.

Heavy metal contamination caused by human activities is one of the serious environmental problems. Phytoremediation is a low-cost environmentally friendly technology for the reclamation of contaminated soils. Recently it was demonstrated that phytoremediation can be enhanced by the use of suitably selected microorganisms, such as arbuscular mycorrhizal fungi. Arbuscular mycorrhiza is the most widespread symbiosis between plants and fungi. Arbuscular mycorrhizal fungi, belonging to phylum Glomeromycota, occur in the soils of most ecosystems, including soils polluted with heavy metals. Mycorrhizal plants play an important role both in phytostabilization and phytoextraction. Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to heavy metal immobilization in soil and thereby improve phytostabilization. The ability of arbuscular mycorrhizal plants to tolerate and to resist metal toxicity may involve more than one of the following mechanisms: avoidance of heavy metals by mycorrhizal hyphae, extracellular metal sequestration and precipitation, intracellular chelation (by metallothioneins and phytochelatins), biological sorption via glomalin, heavy metal storage in extraradical spores or/and in vesicles. Arbuscular mycorrhizal fungi can also enhance phytoextraction. Improved phytoextraction following mycorrhization may be achieved by such mechanism as: facilitation of plant growth and biomass production, helping plants to accumulate heavy metals and increasing plant tolerance to them. Enhanced understanding of mycorrhizal biology and of the heavy metals tolerance of plants and fungi has defined valuable parameters for improving phytoremediation. One example is the use of adapted indigenous fungal strains that are more suitable for phytostabilization and extraction purposes than laboratory strains. Arbuscular mycorrhiza has a great potential in the remediation of disturbed land, however, commercial application of arbuscular mycorrhizal strains still awaits further investigations.

KEY WORDS: arbuscular mycorrhiza, phytostabilization, phytoextraction, heavy metals

Ewa Gucwa-Przepióra, Zakład Botaniki Systematycznej, Uniwersytet Śląski w Katowicach, ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice, e-mail: Ewa.Gucwa-Przepiora@us.edu.pl

WSTĘP

Istnieje wiele technologii umożliwiających immobilizację lub usunięcie zanieczyszczeń z gleby. W większości przypadków są one oparte na metodach ekstrakcji fizykochemicznej. Ich

zastosowanie wiąże się z niezwykle wysokimi kosztami oraz całkowitą eliminacją występujących w glebie mikroorganizmów. Zdecydowanie bardziej przyjazna dla środowiska wydaje się być metoda fitoremediacji czyli zastosowanie roślin wyższych w celu usunięcia zanieczyszczeń ze

środowiska lub przekształcenia ich w formy nieszkodliwe dla organizmów żywych (Marecik et al. 2006, Małkowski 2011). Metodą tą mogą być usuwane zarówno zanieczyszczenia organiczne (np. węglowodory poliaromatyczne, paliwa, pestycydy) jak i nieorganiczne (np. metale ciężkie, jony soli, pierwiastki promieniotwórcze).

Metale ciężkie – to nieprecyzyjne pojęcie określające różnie definiowany zbiór metali i półmetali charakteryzujących się gęstością powyżej 5 g/cm³, często także właściwościami toksycznymi. Wielu badaczy uznaje ten termin za sztuczny i źle zdefiniowany i uważa, że wobec tego nie powinien być stosowany. Jednakże powszechność jego używania w literaturze naukowej wyklucza raczej jego całkowite odrzucenie. Ostatnio zaproponowano zatem nową definicję tej grupy pierwiastków (Appenroth 2010). Zgodnie z nią do metali ciężkich zaliczono konkretne grupy pierwiastków z tabeli okresowej tj.: metale przejściowe (Ti, Zr, Hf, Rf, V, Nb, Ta, Cr, Mo, Hg, Cu, W, Mn, Ni, Tc, Re, Fe, Ru, Os i Zn), pierwiastki ziem rzadkich – lantanowce i aktynowce oraz tzw. „grupę ołowiu”, do której zaliczono metale grup głównych oraz półmetale (Al, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Sb, Bi i Po).

Spowodowane działalnością człowieka zanieczyszczenie środowiska przez metale ciężkie stanowi jeden z najpoważniejszych problemów w przyrodzie. Znaczne ilości metali ciężkich są zdeponowane w glebie, gdzie pozostają przez długi czas. Jedynie 10% metali ciężkich stanowi naturalny składnik gleb, podczas gdy 90% trafia do gleby w wyniku przemysłowej i gospodarczej działalności człowieka. (np. kopalnie, huty metali nieżelaznych) (Kabata-Pendias, Mukherjee 2007). W południowej Polsce, gdzie prawie w całości zlokalizowany jest przemysł związany z wydobyciem i przerobem metali nieżelaznych, koncentracje metali ciężkich w glebach położonych wokół kopalń i hut metali nieżelaznych wielokrotnie przekraczają tło geochemiczne (Gucwa-Przepióra et al. 2007, Małkowski 2011). Zawartości wymienionych pierwiastków są jeszcze wyższe w podłożu zwałowisk hutniczych i kopalnianych (Gucwa-Przepióra, Turnau 2001, Karczevska et al. 2006).

Metale występują w glebie w postaci wolnych jonów, w związkach organicznych, w formie tlenków, węglanów, wodorotlenków lub wchodzą w skład nieorganicznych krzemianów (naturalny składnik gleb). Niektóre z nich jak Cu, Co, Mo, Zn, Ni są istotnymi elementami szlaków metabolicznych u zwierząt, roślin i mikroorganizmów. Wiele innych prawdopodobnie nie pełni żadnej istotnej roli np. Cd, Pb, Hg, natomiast w wysokich stężeniach wszystkie stają się toksyczne. Poziom toksyczności jest specyficzny dla poszczególnych pierwiastków i zależy od wielu czynników, szczególnie od odczynu podłoża, temperatury, potencjału redoks, a także od ich dostępności dla organizmów żywych oraz czynników biologicznych jak biosorpcja czy bioakumulacja (Kabata-Pendias, Mukherjee 2007). Powszechnie wiadomo, że mikroorganizmy pełnią rolę zarówno w uruchamianiu jak i unieruchamianiu jonów metali ciężkich w glebie (Audet, Charest 2010). Wśród mikroorganizmów glebowych grzyby mikoryzowe stanowią ważne, bezpośrednie połączenie pomiędzy glebą a korzeniami. Mogą więc z jednej strony odgrywać istotną rolę w udostępnianiu metali ciężkich roślinom, a z drugiej też chronić rośliny przed toksycznym ich działaniem.

Rola mikoryzy w fitoremediacji jest szeroko dyskutowana w literaturze. Najwięcej prac dotyczy mikoryzy arbuskularnej chociaż i ektomikoryza znajduje tutaj zastosowanie. (Gaur, Adholeya 2004, Giasson et al. 2006, Göhre, Paszkowski 2006, Khan 2005, Khan 2006, Turnau et al. 2006, Rashid et al. 2009, Bothe et al. 2010, Rabęda et al. 2011). Opisują technologię wykorzystującą grzyby mikoryzowe do zwiększenia tolerancji roślin na metale ciężkie oraz przyczyniającą się do oczyszczania podłoża nazwano mikoryzoremediacją (ang. *mycorrhizoremediation*) (Khan 2006, Rabęda et al. 2011).

W niniejszej pracy przeglądowej podjęto próbę podsumowania najnowszych badań nad udziałem mikoryzy arbuskularnej w procesach fitoremediacji. Rola pozostałych mikroorganizmów glebowych jak bakterie i inne typy mikoryzy nie została uwzględniona w tym opracowaniu.

MIKORYZA ARBUSKULARNA

Arbuskularne grzyby mikoryzowe (ang. *arbuscular mycorrhizal fungi*) należą do najpowszechniej występujących grzybów glebowych. Tworzą one związek mikoryzowy z około 80% wszystkich znanych roślin naczyniowych (Smith, Read 2008). Mikoryza arbuskularna występuje nawet u roślin halofilnych, hydrofilnych i kserofilnych. Spośród roślin o znaczeniu gospodarczym, tylko rośliny reprezentujące rodziny *Brassicaceae* i *Chenopodiaceae* zawierają stosunkowo dużą liczbę gatunków zwykle nie będących w symbiozie z grzybami arbuskularnymi. Ten typ mikoryzy występuje także u paproci, widłaków i plechowatych wątrobowców (tzw. mykoplechy) (Bidartondo, Duckett 2010, Pressel et al. 2010). Mikoryzę tę tworzą grzyby z gromady Glomeromycota (Schüssler et al. 2001). Grzyby te rozmnażają się bezpłciowo przez spory (chlamydospory, azygospory), które wytwarzane są na zewnątrz korzenia lub rzadziej w jego korze pierwotnej.

Cząsteczkami sygnałnymi, które ze strony roślin uczestniczą w zawiązaniu mikoryzy są strigolaktyny zawarte w eksudatach korzeniowych (Besserer et al. 2006, Gomez-Roldan et al. 2008, Legocki 2009, López-Ráez et al. 2011). Związki te uznawane są za nową klasę hormonów roślinnych. Ze strony grzybów w fazie presymbiotycznej biorą udział czynniki *Myc*, których budowa do tej pory nie została poznana (Bucher et al. 2009, Recorbet et al. 2009). Aktywują one zespoły genów roślinnych m.in. kinazy białkowe uczestniczące w oscylacji stężeń jonów wapnia oraz w rozwoju grzybni (Legocki 2009, Bonfante, Genre 2010).

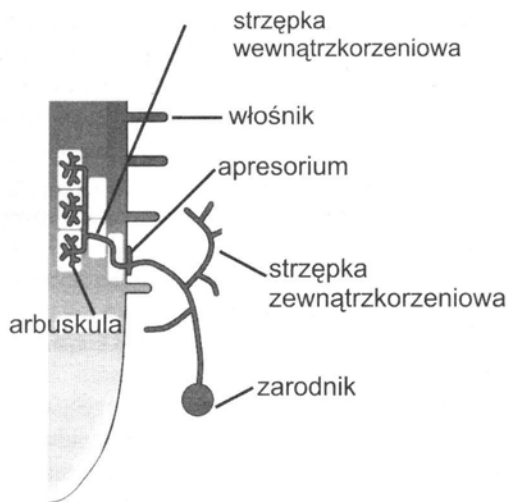
Mikoryza arbuskularna obejmuje struktury umiejscowione wewnątrz i na zewnątrz korzenia (Ryc. 1). Faza zewnątrzkorzeniowa mikoryzy arbuskularnej to głównie strzępki absorpcyjne. Przenikają one podłoże i dostarczają partnerowi roślinnemu wodę, a także takie pierwiastki jak: fosfor, azot, wapń, siarka, potas, cynk, brom, chlor i miedź. Długość strzępek ekstramatrykalnych (zewnątrzkorzeniowych) często wielokrotnie (nawet 100 razy) przekracza długość

korzenia mikoryzowego (Smith, Read 2008, Ruiz-Lozano et al. 2008). Drugą ważną rolą grzybni zewnątrzkorzeniowej jest budowanie połączeń między korzeniami blisko rosnących roślin i tworzenie nowych punktów kolonizacji w obrębie korzenia. Strzępki ekstramatrykalne tworzą w glebie tzw. wspólną sieć mikoryzową, dzięki czemu możliwe jest przekazywanie substancji pomiędzy roślinami nawet należącymi do różnych gatunków. Sprzyja to wzrostowi różnorodności gatunkowej w zbiorowiskach roślinnych (Simard, Durall 2004, Giovanetti 2008). Dodatkowo mikoryza arbuskularna wpływa na procesy glebotwórcze, gdyż dzięki łączeniu cząsteczek gleby przez sieć zewnątrzkorzeniowej grzybni tworzone są agregaty glebowe (Golstapeh et al. 2008).

Wnikanie strzępek grzybni do korzenia może odbywać się w różny sposób: przez ścianę włósnika lub komórki epidermy, przez wnikanie strzępki wyrastającej z apresorium (przylgowate rozszerzenie strzępki) pomiędzy złączającą się komórki zewnętrznej warstwy kory pierwotnej korzenia lub przez wrastanie strzępek pomiędzy komórki epidermy (Ryc. 1). Zewnętrzna warstwa kory korzenia penetrowana jest przez grzybnię charakteryzującą się wzrostem liniowym lub tworzącą pętle, jednak nie rozgałęziającą się. Grzybnia ta często wykształca wewnątrzkomórkowe zwoje (ang. *pelotons*) (Smith, Read 2008). Strzępki mikoryzowe nie penetrują rejonu merystematycznego korzenia a ich rozwój zachodzi głównie w środkowej części kory pierwotnej.

Elementami wewnątrzkorzeniowymi mikoryzy arbuskularnej są strzępki, arbuskule oraz, u większości rodzajów grzybów arbuskularnie mikoryzowych, pęcherzyki (Ryc. 1).

Arbuskule (franc. *arbuscules*) są najistotniejszymi strukturami mikoryzy arbuskularnej (Ryc. 1). Są to drzewkowato rozgałęzione strzępki, które pośredniczą w wymianie metabolitów między symbiontami. Grzyb korzysta głównie z węglowodanów rośliny, podczas gdy roślina wykorzystuje zaabsorbowane przez grzyba z gleby składniki mineralne i wodę. Arbuskule tworzą się w warstwach kory pierwotnej



Ryc. 1. Struktury mikoryzy arbuskularnej w korzeniu i glebie. Z zarodnika rozwija się strzępka grzybni, która następnie tworzy apresorium na powierzchni epidermy korzenia. Strzępki wewnątrzkorzeniowe przebiegają zarówno między- jak i wewnątrzkomórkowo. Wewnątrz komórek kory pierwotnej korzenia na konicach strzępek wewnątrzkorzeniowych powstają drzewkowate rozgałęzienia zwane arbuskulami. Strzępki mikoryzowe nie kolonizują nigdy stożka wzrostu korzenia (Bonfante, Genre 2010, zmodyfikowane).

Fig. 1. Illustration of root colonization structures in arbuscular mycorrhizal interaction. Hyphae develop from a spore and produce an apressorium on the root epidermis. Intraradical colonization proceeds both intra and intercellularly and culminates with the formation of arbuscules, little fungal tree-like structures, inside inner cortical cells. The root tip is usually not colonized, (Bonfante, Genre 2010, modified).

korzenia. Ich powstawaniu towarzyszy wpu-
klenie (inwaginacja) plazmolemy partnera ro-
ślinnego, fragmentacja wodniczek, zanikanie
amyloplastów i zwiększenie liczby niektórych
organelli np. aparatów Golgiego. Zmiany za-
chodzą również w jądrze komórkowym, które
zwiększa swe rozmiary i zajmuje centralną po-
zycję w komórce (Bonfante, Genre 2010). Naj-
ważniejszą cechą wpływającą na skuteczność
funkcjonowania mikoryzy arbuskularnej jest
wyształcanie strefy dwukierunkowej wymiany
związków pomiędzy symbiontami – tzw. *inter-
face*. Zbudowana jest ona z plazmolemy partnera
roślinnego, strefy apoplastu, ściany komórkowej
i błony plazmatycznej najcieńszych rozgałęzień
arbuskul (Bonfante et al. 2009).

U wielu rodzajów grzybów arbuskularnych
(np. *Glomus*, *Acaulospora*) występują kuliste
twory zwane pęcherzykami (ang. *vesicles*).
Ich wielkość waha się od 30 do 100 μm . Po-
wstają one przez interkalarne lub terminalne
nabrzmienie strzępki. Mogą tworzyć się mię-
dzykomórkowo lub wewnątrzkomórkowo. Znaj-
dowane są one zarówno w zewnętrznych jak
i głębszych warstwach kory pierwotnej korzenia.
Pęcherzyki pełnią rolę organów gromadzących
substancje zapasowe, jak również mogą służyć
do rozmnażania i rozprzestrzeniania grzybów
mikoryzowych, kolonizując korzenie kolejnych
roślin (Smith, Read 2008).

Powszechność występowania mikoryzy ar-
buskularnej sugeruje jej istotne znaczenie dla
roślin. Grzyby mikoryzowe stanowią istotny
składnik ryzosfery, a rola mikoryzy polega
głównie na dostarczaniu wody i pokarmów
mineralnych występujących w formach nie-
dostępnych dla systemu korzeniowego roślin.
Ostatnio coraz częściej podkreśla się rolę mi-
koryzy w obniżaniu reakcji stresowych roślin
związanych z zanieczyszczeniem środowiska
metalami ciężkimi (Andrade et al. 2008, Bothe
et al. 2010, Turnau et al. 2010, Orłowska et al.
2011b, Giasson et al. 2008).

MIKORYZA ARBUSKULARNA A METALE CIĘŻKIE

Grzyby arbuskularnie mikoryzowe (Glome-
romycota), podobnie jak inne organizmy żywe,
są wrażliwe na wysokie zawartości metali cięż-
kich w podłożu. Dotyczy to szczególnie ich
fazy zewnątrzkorzeniowej – zarodników i kieł-
kujących strzępek. Szereg gatunków reaguje
nawet całkowitym zahamowaniem kiełkowania
zarodników w obecności metali ciężkich (Göhre,
Paszowski 2006). Kolonizacja mikoryzowa
w korzeniu może się również zmniejszać, a nawet
zanikać, pod wpływem toksycznej zawartości
metali w glebie (Deram et al. 2008). Wysoka
koncentracja metali ciężkich w glebie powoduje
ograniczenie liczby gatunków i szczepów zdol-
nych do przeżycia. Pozostają tylko te spośród
roślin i grzybów, które są zdolne do szybkiej

adaptacji, dzięki wykształceniu odpowiednich mechanizmów tolerancji.

Wpływ grzybów tworzących mikoryzę arbuskularną na pobieranie metali ciężkich przez rośliny nie zawsze jest jasny. Stwierdzono zwiększone pobieranie metali ciężkich (np. cynku i kadmu), jeśli ich zawartość w glebie jest niska (Audet, Charest 2007a). W kilku przypadkach stwierdzono, że mikoryza arbuskularna może wzmacniać pobieranie i akumulację metali ciężkich z podłoża, nawet gdy występują one w nadmiarze (Joner, Leyval 1997, Hovsepian, Greipsson 2004). Jednocześnie szereg publikacji wskazuje na zwiększoną tolerancję roślin z mikoryzą arbuskularną na wysoką zawartość metali ciężkich w podłożu (Chen et al. 2007, Hildenbrandt et al. 2007, Sudová, Vosátka 2007, Andrade et al. 2008, Andrade, Silveira 2008, Bai et al. 2008, Dong et al. 2008). Wydaje się, że mikoryza arbuskularna najlepiej chroni rośliny, gdy obydwaj partnerzy związku symbiotycznego pochodzą z gleby o wysokiej zawartości metali ciężkich (Orłowska et al. 2011a, b).

Do mechanizmów wykorzystywanych przez grzyby arbuskularnie mikoryzowe w celu osłabienia toksycznego oddziaływania metali na rośliny mikoryzowe zalicza się:

- rozwój w mikrosiedliskach o niskiej koncentracji metali – tzw. strategia unikania czynnika stresu (Ferrol et al. 2009, Siwek 2008)

- wytrącanie metali ciężkich na powierzchni strzępek zewnętrznych (Gaur, Adholya 2004)

- wiązanie metali ciężkich w glebie przez glomalinę (Cornejo et al. 2008) lub w grzybni dzięki fitochelatynom i/lub metalotioneinom (Turnau et al. 2010)

- odkładanie metali w takich strukturach grzybni, które nie uczestniczą w głównych procesach metabolicznych czyli w zarodnikach i pęcherzykach – strategia segregacji i izolacji nadmiernych ilości metali ciężkich od cytozolu (Orłowska et al. 2008, Ferrol et al. 2009)

- modyfikacja metabolizmu roślin mikoryzowych m.in. dzięki biosyntezie proliny w warunkach stresu środowiskowego (Rodriguez,

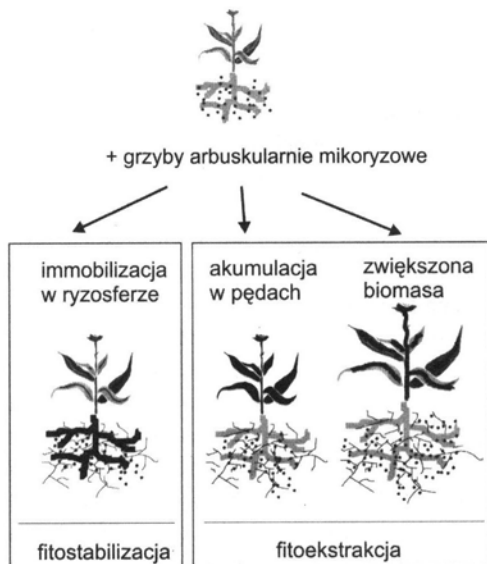
Redman 2005), zwiększona zawartość wolnej proliny jest bowiem uważana za przejaw adaptacji roślin do warunków stresowych

- zwiększanie biomasy roślin mikoryzowych, dzięki czemu zawartość metali ciężkich ulega rozcieńczeniu w roztworze tkankowym partnera roślinnego (Liu et al. 2005).

Żaden z powyższych mechanizmów nie został udowodniony przy użyciu metod molekularnych. Ostatnio wykazano różnice w obrazie profili białkowych, zachodzące pod wpływem kadmu w korzeniach roślin *Medicago truncatula* bez mikoryz oraz inokulowanych wcześniej grzybem *Glomus intraradices* (Aloui et al. 2009). U roślin niemikoryzowych odnotowano zmiany w kumulacji 15 białek indukowane toksyczną zawartością kadmu w podłożu. W przypadku roślin mikoryzowych okazało się, że zawartość 9 ze wspomnianych wyżej 15 białek nie zmieniła się. Ponadto poziom tych białek był identyczny jak w przypadku kontrolnych roślin niemikoryzowych, które rosły na podłożu bez Cd. Wśród tych 9 białek znalazły się m.in. dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) oraz peroksydaza glutationowa (pGPx), pełniące ważną rolę w niwelowaniu stresu oksydacyjnego. Z kolei tylko w mikoryzowych korzeniach *M. truncatula* obserwowano zwiększoną koncentrację białek, których obecność wiązana jest z lepszym wzrostem roślin mikoryzowych na glebie zanieczyszczonej kadmem w porównaniu z roślinami niemikoryzowymi. Zidentyfikowano 7 plam białkowych, których liczba nie zmieniała się pod wpływem toksycznej koncentracji Cd. Były to: cyklofilina, aneksyna, białko wiążące się z nukleotydem guanylowym, hydrolaza końca karboksylowego ubikwityny, enzym odpowiedzialny za biosyntezę tiazolu, białko podobne do transferazy S-glutationowej i syntaza S-adenozylometioniny. Badania te wykazały ponadto, że koncentracja kadmu, która hamowała rozwój fazy zewnętrznej mikoryzy arbuskularnej, nie powstrzymała mechanizmów osłabiających toksyczne oddziaływanie Cd na roślinę mikoryzową (Aloui et al. 2009).

MIKORYZA ARBUSKULARNA W PROCESACH FITOREMEDIACJI

Dla prawidłowego funkcjonowania roślin niezmiernie ważna jest aktywność organizmów ryzosfery, w tym grzybów mikoryzowych



Ryc. 2. Udział grzybów arbuskularnie mikoryzowych w procesach fitoremediacji.

U góry: roślina niemikoryzowa w glebie zanieczyszczonej metalami ciężkimi.

Po lewej: fitostabilizacja – immobilizacja metali ciężkich w ryzosferze pod wpływem kolonizacji mikoryzowej.

Po prawej: fitoekstrakcja – wzmoczone pobieranie i transport metali do części nadziemnych roślin (roślina z lewej strony) oraz zwiększona biomasa roślin pod wpływem kolonizacji mikoryzowej poprawiającej odżywianie i usuwanie metali ciężkich z gleby (roślina po prawej stronie);

Kropki – metale ciężkie w glebie, ciemniejsze zabarwienie roślin lub grzybni – wysokie koncentracje metali (Göhre, Paszkowski 2006, zmodyfikowane).

Fig. 2. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to phytoremediation.

Top: Non-mycorrhizal plant in heavy metals polluted soil. Left panel: phytostabilization – improved stabilization of heavy metals in rhizosphere upon mycorrhizal colonization. Right panel: phytoextraction – enhanced uptake and transport of heavy metals to the shoot (left plant) and increased biomass resulting from arbuscular mycorrhizal fungi colonization enhanced nutrition leading to increased removal of metals from soil (right plant);

Dots – heavy metals in soil; dark lines on plants or mycelium – high concentrations of heavy metals (Göhre, Paszkowski 2006, modified).

(Turnau 1993, Turnau et al. 2006). Często nie zwraca się jednak uwagi na konieczność uwzględniania mikroorganizmów glebowych w fitoremediacji. Stosuje się natomiast nawozy dla zwiększenia biomasy roślin, jak również podaje substancje wzmagające dostępność związków toksycznych, a tym samym zwiększające akumulację metali w roślinach, co jest ważne w przypadku fitoekstrakcji. Z kolei w procesach fitostabilizacji podaje się dodatki zmniejszające biodostępność metali w glebie. Prowadzi się również selekcję najbardziej wydajnych odmian roślin lub nawet wykorzystuje techniki inżynierii genetycznej w celu poprawy efektywności fitoremediacji (Memon, Schröder 2009, Mierek-Adamska et al. 2009).

Tymczasem prawidłowo wykształcona mikoryza okazuje się niezwykle przydatna w takich metodach fitoremediacji jak fitostabilizacja czy fitoekstrakcja (Ryc. 2). Metaanaliza wyników badań dotyczących mikoryzy arbuskularnej na terenach o podwyższonej zawartości metali w podłożu wykazała, że funkcjonowanie mikoryzy jest skorelowane z zawartością metali w glebie. Stwierdzono, że z podłoża o umiarkowanej zawartości metali rośliny mikoryzowe pobierały nawet 200% więcej metali ciężkich niż rośliny niemikoryzowe tego samego gatunku. Z kolei w przypadku gleb o wysokiej koncentracji metali ciężkich rośliny mikoryzowe pobierały prawie 2 razy mniej metali ciężkich w porównaniu z niemikoryzowymi. Porównano także biomasę roślin z mikoryzą arbuskularną i roślin niemikoryzowych. Odnotowano większą biomasę roślin mikoryzowych, ale tylko w przypadku toksycznej zawartości metali w podłożu. Natomiast w przypadku niskiej i średniej zawartości metali ciężkich w glebie metaanaliza nie wykazała różnic w biomacie roślin mikoryzowych i niemikoryzowych (Audet, Charest 2007a, b).

FITOSTABILIZACJA

Główną zasadą metody fitostabilizacji jest wspomaganie rozwoju szaty roślinnej w celu zmniejszenia dostępności metali ciężkich,

ograniczenia erozji oraz wymywania metali, a także w celu poprawy jakości gleby (głównie zwiększenia zawartości substancji organicznych) (Wenzel et al. 2004).

Rośliny wykorzystywane w metodzie fitostabilizacji powinny unieruchamiać metale ciężkie w korzeniach i nie transportować ich do części nadziemnych, ze względu na możliwość ich dalszej mobilizacji w łańcuchu pokarmowym. Rośliny mikoryzowe mogą doskonale spełniać te wymagania, gdyż w obecności mikoryzy może dochodzić do unieruchamiania lub wiązania metali ciężkich w ryzosferze i ograniczania ich transportu do pędów nadziemnych (Gaur, Adhohleya 2004, Bothe et al. 2010, Turnau et al. 2002, 2010) (Ryc. 2).

Grzyby arbuskularnie mikoryzowe (Glomeromycota) wytwarzają glomalinę – białko efektywnie wiążące metale ciężkie w glebie (Cornejo et al. 2008, Chern et al. 2007, Vodnik et al. 2008). Glomalina początkowo była uznawana za hydrofobinę (nierozpuszczalną glikoproteinę), a obecnie uważa się, że jest to raczej homolog białka szoku cieplnego o m.c. 60-kDa (Gadkar, Rillig 2006, Purin, Rillig 2007). Immunolokalizacja glomaliny w grzybni i zarodnikach wykazała jej obecność głównie w wewnętrznej warstwie ściany komórkowej (Purin, Rillig 2008). Glomalina może być ekstrahowana z gleby wraz ze związanym metalem. Udowodniono, że można uzyskać 4,3 mg Cu, 0,08 mg Cd i 1,12 mg Pb na gram glomaliny z gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi, inokulowanej wcześniej grzybami arbuskularnie mikoryzowymi. Ponadto, stwierdzono pozytywną, statystycznie istotną korelację pomiędzy zawartością glomaliny w glebie a ilością związanych metali (González-Chavez et al. 2004).

Wiązanie metali ciężkich z chitynową ścianą komórkową grzybów mikoryzowych również zmniejsza ich lokalną koncentrację w roztworze glebowym. Bierna adsorpcja może spowodować wiązanie nawet ponad 0,5 mg Cd na mg suchej biomasy. Strzępki stanowią duży rezerwuuar metali związanych na ich powierzchni ze względu na to, że grzybnia mikoryzowa przerasta olbrzymie obszary ryzosfery. Oprócz tego grzyby

oporne na metale ciężkie mają 2–4 krotnie wyższe powinowactwo do metali niż korzenie roślin, co powoduje, że lepiej wiążą je w glebie (Joner et al. 2000).

Porównano rozmieszczenie metali ciężkich w korzeniach mikoryzowych i niemikoryzowych z zastosowaniem tak nowoczesnych metod analizy śladowej pierwiastków jak spektroskopia strat energii elektronów (EELS), spektroskopia rentgenowska (EDAX), spektroskopia mas jonów wtórnych (SIMS), analiza mas z mikrowiązką laserową (LAMMA) czy spektralna analiza rentgenowska ze wzbudzeniem cząstkami naładowanymi (PIXE). Analizy te wykazały, że kora pierwotna korzenia, w której występowały struktury mikoryzowe, zawierała większe ilości takich metali jak Fe, Ni czy Zn w porównaniu z korzeniami niemikoryzowymi (Turnau et al. 2010). Z kolei badania ultrastrukturalne grzybni ekstramatrykalnej i zarodników wykazały, że metale ciężkie lokalizują się głównie w ścianie komórkowej i wodniczkach (González-Guerrero et al. 2008, Ferrol et al. 2009). Kumulacja metali w pęcherzykach oraz w zarodnikach zewnątrzkorzeniowych, co udowodniono w przypadku Cu, może być zatem nowym mechanizmem segregacji i składowania nadmiaru tego pierwiastka w strukturach, które mają ograniczone funkcje metaboliczne. Wodniczki z wysoką zawartością metali ciężkich są odizolowane od cytoplazmy strzępek i gromadzą się w zarodnikach zewnątrzkorzeniowych (González-Guerrero et al. 2008). Podobne rezultaty uzyskano w przypadku badań dotyczących pobierania ołowiu. Sudová i Vosátka (2007) zaobserwowali ograniczenie transportu Pb z korzeni mikoryzowych do części nadziemnych kukurydzy. Wykazano również, że wiązanie Pb w korzeniach jest pozytywnie skorelowane z ilością pęcherzyków w roślin mikoryzowych (Chen et al. 2005). Podobnie jak wodniczki u roślin, tak pęcherzyki grzybów arbuskularnie mikoryzowych mogą odgrywać rolę w magazynowaniu związków toksycznych.

Mikoryza arbuskularna może łagodzić stres wywołany obecnością metali ciężkich poprzez unieruchamianie ich w zmikoryzowanych komórkach korzenia, co udowodniono

w przypadku kukurydzy i koniczyzny (Medina et al. 2005). Z kolei Janoušková et al. (2005) wykazali kumulację Cd w zewnątrzkorzeniowej grzybni mikoryzowej *Glomus intraradices*. Zawartość kadmu w grzybni była 20 razy większa niż w korzeniach mikoryzowych oraz 10 razy większa niż w przypadku korzeni niemikoryzowych tytoniu.

Jednym z typów fitostabilizacji jest fitochemostabilizacja (ang. *phytostabilization*, *chemophytostabilization*). Polega ona na jednoczesnym zastosowaniu chemicznych dodatków doglebowych oraz roślin. Dodatki wiążą metale w glebie i zmniejszają ich bioprzyswajalność, a zastosowane rośliny są w stanie wytworzyć podczas wzrostu na takiej glebie obfity system korzeniowy, ograniczający jej erozję i przenikanie niepożądanych substancji w głąb profilu glebowego (Małkowski 2011). Okazuje się, że ta metoda pozytywnie wpływa na rozwój mikoryzy arbuskularnej, co zademonstrowano na przykładzie *Deschampsia caespitosa*, spontanicznie zasiedlającej tereny silnie zanieczyszczone metalami ciężkimi na Śląsku (Gucwa-Przepióra et al. 2007). Zaobserwowano pozytywny wpływ dodatków fitochemostabilizacyjnych (fosforan wapnia, węgiel brunatny) na rozwój kolonizacji mikoryzowej w tych warstwach gleby, do których zostały dodane. Pozytywny efekt zabiegów fitochemostabilizacji odnotowano również w glebie nawożonej wysokimi dawkami fosforu. Po raz pierwszy stwierdzono, że na terenach silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi poziom kolonizacji mikoryzowej wzrasta wraz z głębokością gleby (odwrotnie niż na siedliskach nieskażonych). Wzrost kolonizacji mikoryzowej wraz z głębokością gleby jest powiązany z malejącym stężeniem biodostępnych form Cd i Zn, co potwierdziła ujemna korelacja pomiędzy tymi czynnikami. Udowodniono, że dodatki fitochemostabilizacyjne (fosforan wapnia i węgiel brunatny) obniżają biodostępność Cd, Zn i Pb w górnych warstwach gleby o wysokiej zawartości metali ciężkich. W konsekwencji powoduje to wzrost kolonizacji mikoryzowej *Deschampsia caespitosa* spowodowany rozwojem lokalnych grzybów tworzących mikoryzę arbuskularną.

Wydaje się więc, że w tym przypadku namnażanie bądź wprowadzanie dodatkowego inokulum nie byłoby konieczne.

Spontaniczne wkraczanie roślin na obszary zdegradowane jest procesem bardzo trudnym i powolnym. Aby przyspieszyć proces tworzenia się pokrywy roślinnej na terenach poprzemysłowych, czasem wprowadza się dodatkowo inokulum grzybów arbuskularnie mikoryzowych. Jak dotąd nie prowadzi się takiej inokulacji na skalę przemysłową, ponieważ grzyby te nie mogą być hodowane bez partnera roślinnego. Istnieją jednak metody produkcji inokulum na potrzeby fitoremediacji, takie jak: kultury wazonowe, kultury aeroponiczne czy namnażanie inokulum na polimerach (Khan 2007, Kapoor et al. 2008). Szereg badań laboratoryjnych i terenowych wykazało, że inokulacja mikoryzowa zmniejsza koncentrację metali ciężkich w pędach roślin, poprawia także wzrost roślin oraz ich kondycję i zadowolenie na stanowiskach o niekorzystnych warunkach, jak np. hałdy cynkowe (Orłowska et al. 2005, Ryszka, Turnau 2007, Turnau et al. 2008, Bothe et al. 2010). Skuteczność inokulacji zależy zarówno od prawidłowego doboru obu partnerów mikoryzowych jak i warunków siedliskowych. Szczególnie w przypadku słabo zwartego podłoża (luźne piaski, pyły) ważne jest stosowanie hydrożeli, aby zapobiec usuwaniu inokulum grzybów mikoryzowych przez wiatr (Turnau et al. 2010). Trawy komercyjnie wysiewane w tradycyjnej rekultywacji rosną w trudnych warunkach panujących na hałdach dopiero po wprowadzeniu warstwy czystej gleby lub gdy są wspomagane nawadnianiem. Po inokulacji mikoryzowej ich kondycja poprawia się, ale wskutek erozji podłoża ich dalszy rozwój jest zahamowany. Dopiero wykorzystanie gatunków roślin mikoryzowych, które spontanicznie kolonizują teren hałdy, przynosi oczekiwane efekty czyli widoczną stabilizację pokrywy roślinnej na miejscach odsłoniętych (Ryszka, Turnau 2007). Efektywność inokulacji zależy w dużym stopniu od szczepu wprowadzonego grzyba mikoryzowego. Stwierdzono, iż szczepy izolowane z terenów zanieczyszczonych są znacznie bardziej

przydatne niż szczepy pochodzące z miejsc niezanieczyszczonych. Różnice w efektywności detoksyfikacji i akumulacji metali istnieją także pomiędzy szczepami i gatunkami występującymi na terenach skażonych (Lingua et al. 2008, Redon et al. 2008, Sudova et al. 2008, Turnau et al. 2008, Turnau et al. 2010). Dlatego ważne są prace nad identyfikacją odpowiednich szczepów oraz ich charakterystyka, prowadzone pod kątem selekcji szczepów najbardziej efektywnych w bioremediacji. Wyselekcjonowane szczepy muszą być także efektywne w konkurencji z innymi grzybami, które mogą pojawić się na danym terenie.

FITOEKSTRAKCJA

Fitoekstrakcja (ang. *phytoextraction*) jest metodą polegającą na wykorzystaniu roślin wyższych do oczyszczania gleb z metali ciężkich, pierwiastków promieniotwórczych lub związków organicznych poprzez pobieranie ich z gleby i akumulację w tkankach, które następnie są usuwane wraz z zanieczyszczeniami. Odkładanie toksycznych pierwiastków lub związków powinno zachodzić przede wszystkim w pędach, a więc częściach łatwo dających się usunąć w całości z pola, w odróżnieniu od korzeni. Fitoekstrakcja ciągła polega na wysianiu na zanieczyszczonej glebie gatunków roślin charakteryzujących się odpornością na toksyczne działanie wysokich zawartości metali oraz zdolnością do ich akumulacji, przede wszystkim w pędach. W trakcie wzrostu i przyrostu biomasy, ilość akumulowanych metali w częściach nadziemnych zwiększa się w sposób ciągły. Rośliny takie uprawia się do uzyskania jak największej biomasy pędów, a następnie są one usuwane wraz z zanieczyszczeniami. Takimi właściwościami charakteryzują się gatunki roślin określone terminem „hiperakumulatory”. Aktualnie funkcjonują dwie definicje hiperakumulatorów. Według pierwszej z nich, do hiperakumulatorów zalicza się gatunki roślin, w których stężenia metali w dowolnym organie lub tkance części nadziemnych przekraczają określone wartości. Definicja ta dotyczy tylko okazów zebranych

w ich naturalnych środowiskach. Zawartości akumulowanych metali muszą być przynajmniej o jeden rząd wielkości wyższe od spotykanych u roślin nie będących hiperakumulatorami i rosnących na tym samym terenie (Reeves, Baker 2000, Regvar, Vogel-Mikuš 2008). Określono minimalne poziomy pierwiastków, które decydują o zaliczeniu danego gatunku do hiperakumulatorów. Dla Pb i Cu przyjęto 1000 mg, dla Cd 100 mg a dla Zn 10 000 mg/kg suchej masy organów nadziemnych (Baker et al. 2000). Według drugiej definicji roślinę uznaje się za hiperakumulator, jeśli stosunek zawartości danego metalu w pędzie do jego stężenia w korzeniu jest równy lub większy od 1 (Salt, Krämer, 2000). Ta definicja uwzględnia właściwości fizjologiczne rośliny, w szczególności zdolność do bardzo sprawnego transportu metali z korzeni do pędów i wysoką odporność na metale komórek w częściach nadziemnych. Równocześnie, nie określa ona w sposób arbitralny zawartości metali w pędach, decydujących o zaliczeniu gatunku do hiperakumulatorów (Małkowski 2011).

Fitoekstrakcja indukowana, w odróżnieniu od fitoekstrakcji ciągłej, polega na radykalnym uruchomieniu metali w glebie i wymuszeniu ich intensywnego pobierania przez rośliny nie będące hiperakumulatorami. Są to zwykle rośliny uprawne wytwarzające dużą biomasa, takie jak gorczyca sarepska (*Brassica juncea*), słonecznik zwyczajny (*Helianthus annuus*) lub kukurydza zwyczajna (*Zea mays*). Mobilizację metali uzyskuje się przez zakwaszenie gleby lub zastosowanie związków chelatujących (Małkowski 2011).

Wydajność fitoekstrakcji zależy od tolerancji tkanek roślin na wysoką zawartość metali ciężkich oraz od możliwości szybkiej produkcji biomasy przez rośliny (Van Nevel et al. 2007). Efektywność fitoekstrakcji można zwiększyć poprzez zastosowanie roślin modyfikowanych genetycznie, wytwarzających dużą biomasa a równocześnie wykazujących odporność na metale oraz zdolność do wysokiej akumulacji metali w pędach. Ujemną stroną fitoekstrakcji jest możliwość przedostania się pobranych zanieczyszczeń do łańcucha pokarmowego, gdyby

rośliny te zostały zjedzone przez zwierzęta roślinożerne.

Do niedawna uważano, że mikoryza arbuskularna nie odgrywa znaczącej roli w procesie fitoekstrakcji, ze względu na to, że dziko rosnące rośliny, naturalnie kumulujące duże ilości metali ciężkich, jak np. *Cardaminopsis halleri*, *Silene vulgaris* czy *Minuartia verna* nie wchodzi w symbiozę mikoryzową. Ostatnio stwierdzono jednak występowanie mikoryzy u niektórych gatunków z rodzin uznawanych dotąd za niemikoryzowe jak np. *Brassicaceae*. Szczegółowo przebadano rodzaj *Thlaspi* (tobołki), który obejmuje kilka gatunków hiperakumulatorów. Korzenie roślin tych gatunków charakteryzowały się słabą kolonizacją mikoryzową, ale posiadały wszystkie struktury charakterystyczne dla mikoryzy arbuskularnej tj. strzępki wewnątrzkorzeniowe, arbuskule i pęcherzyki (Regvar et al. 2003, Vogel-Mikus et al. 2005). Arbuskule obserwowano głównie w stadium kwitnienia roślin (Pongrac et al. 2007). Podobną tendencję zauważono również u innego przedstawiciela rodziny *Brassicaceae* – *Biscutella laevigata* (Orłowska et al. 2002). Z kolei wysoki stopień kolonizacji mikoryzowej odnotowano u innych roślin naturalnie kumulujących metale ciężkie, szczególnie u hiperakumulatora niklu z Afryki Południowej *Berkheya coddii* (*Asteraceae*) i u paproci *Pteris vittata* (Turnau, Mesjasz-Przybyłowicz 2003, Orłowska et al. 2008, Leung et al. 2006). Odnotowano wzmożony efekt fitoekstrakcji w obecności grzybów arbuskularnie mikoryzowych w przypadku kumulacji arsenu przez *Pteris vittata*. W przypadku wysokiej zawartości arsenu w glebie (100 mg/kg gleby), rośliny mikoryzowe kumulowały aż 88,1 mg/kg, podczas gdy niemikoryzowa kontrola tylko 60,4 mg/kg. Dodatkowo rośliny mikoryzowe charakteryzowały się większą biomasą (Leung et al. 2006). Podobny efekt odnotowano w przypadku *Berkheya coddii* – w obecności grzybów mikoryzowych obserwowano aż o 30% większą kumulację niklu. W dodatku rośliny mikoryzowe były prawie dwa razy wyższe od niemikoryzowej kontroli (Turnau, Mesjasz-Przybyłowicz 2003).

Prowadzono również badania nad rolą mikoryzy arbuskularnej w kumulacji metali przez rośliny uprawne stosowane w fitoekstrakcji. W przypadku słonecznika (*Helianthus annuus*) odnotowano wzmożoną kumulację niklu w roślin inokulowanych grzybem mikoryzowym *Glomus intraradices*. Rośliny mikoryzowe pobierały dwa razy więcej tego pierwiastka w porównaniu z niemikoryzową kontrolą. Zawartość Ni w częściach nadziemnych była aż o 35% wyższa w przypadku roślin z mikoryzą arbuskularną, a ponadto kolonizacja mikoryzowa pozytywnie wpłynęła na przyrost biomasy roślin (Ker, Charest 2010). Tendencja ta nie potwierdziła się jednak w przypadku cynku. W badaniach dotyczących wpływu mikoryzosfery na pobieranie Zn przez słonecznik, hodowany na glebie znacznie zanieczyszczonej cynkiem, zaobserwowano lepszą kondycję zdrowotną roślin mikoryzowych oraz niższą kumulację Zn w tkankach w porównaniu z roślinami niemikoryzowymi (Audet, Charest 2010).

Znaczny wzrost ilości pobieranych jonów metali uzyskuje się przez dodawanie do podłoża związków chelatujących. Znalazły one zastosowanie w tzw. fitoekstrakcji indukowanej. Udowodniono, że spośród różnych związków chelatujących, kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) jest najbardziej efektywny w uruchamianiu Pb w glebie (Blaylock et al. 1997), ale także zwiększa ruchliwość takich metali jak Cd, Cu, Ni czy Zn. Niektóre badania wykazały jednak negatywny wpływ EDTA na środowisko glebowe w tym na mikroorganizmy glebowe. Wrażliwe na EDTA okazały się grzyby glebowe, których biomasa obniżała się już po wprowadzeniu do podłoża chelatora w ilości 5 mmoli/kg. W badaniach tych nie stwierdzono negatywnego wpływu chelatora na biomasę bakterii i promieniowców oraz indukowane glukozą oddychanie mikroorganizmów (Grčman et al. 2001, 2003, Kos, Leštan 2003, 2004). W przypadku grzybów z gromady Glomeromycota (tworzących z korzeniami roślin mikoryzę arbuskularną) uzyskano niejednoznaczne wyniki. Niektórzy badacze odnotowali całkowity brak mikoryzy po jednorazowym potraktowaniu gleby EDTA w ilości

5 lub 10 mmoli/kg (Grčman et al. 2001), inni z kolei nie zaobserwowali istotnego wpływu tego chelatora na wielkość kolonizacji mikoryzowej nawet po zastosowaniu 10 mmoli/kg (Chen et al. 2004). Brak negatywnego wpływu EDTA na kolonizację mikoryzową potwierdzają również badania przeprowadzone na 15 polskich odmianach kukurydzy, które rosły w warunkach laboratoryjnych na glebie o wysokiej zawartości metali ciężkich z dodatkiem EDTA. Wykazały one, że w przypadku inokulacji grzybami arbuskularnie mikoryzowymi większość odmian charakteryzowała się większą biomasa, a u 6 odmian kumulacja Pb w częściach nadziemnych była większa u roślin mikoryzowych niż w przypadku niemikoryzowych. Ponadto analiza odcieku wody z doniczek wykazała niższą zawartość metali ciężkich w przypadku roślin mikoryzowych (Jurkiewicz et al. 2004). Eksperyment ten potwierdził zatem pozytywny wpływ mikoryzy arbuskularnej na proces fitoekstrakcji, pomimo różnic pomiędzy odmianami.

Obecność mikoryzy arbuskularnej w korzeniach roślin stosowanych w fitoekstrakcji może zatem zwiększyć wydajność tego procesu (Ryc. 2). Wynika to prawdopodobnie z większej powierzchni zajmowanej przez mikoryzosferę w porównaniu z powierzchnią ryzosfery roślin niemikoryzowych. Mikoryzosfera obejmuje bowiem nie tylko glebę otaczającą korzeń i jego powierzchnię, ale również strzępki ekstramatrykalne oraz komórki kory korzenia, skolonizowane przez grzyby mikoryzowe (Regvar, Vogel-Mikus 2008, Audet, Charest 2007a, 2010). Rola mikoryzy w fitoekstrakcji niekoniecznie musi jednak polegać na wzmożeniu tego procesu, ale na zwiększeniu biomasy plonu, poprawie warunków glebowych oraz na ochronie roślin przed patogenami (Turnau et al. 2002).

PODSUMOWANIE

Udział mikroorganizmów glebowych, w tym grzybów mikoryzowych, jest często pomijany w procesach fitoremediacji. Rezultaty szeregu badań przemawiają jednak za istotną rolą mikoryzy arbuskularnej zarówno w procesach

fitostabilizacji jak i fitoekstrakcji. Dla wyjaśnienia mechanizmów funkcjonowania mikoryzy arbuskularnej w procesach fitoremediacji zostały przedstawione dwie przeciwstawne hipotezy. Według jednej z nich kolonizacja mikoryzowa może zwiększać pobieranie metali z gleby i/lub przyrost biomasy roślin, co powoduje efektywniejszą fitoekstrakcję. Druga hipoteza podkreśla szczególną przydatność mikoryzy arbuskularnej w fitostabilizacji dzięki zdolności do immobilizacji i detoksyfikacji metali ciężkich obecnych w toksycznych ilościach w ryzosferze.

Bardzo ważne jest, aby zarówno rośliny jak i grzyby mikoryzowe stosowane w rewegetacji terenów przemysłowych zanieczyszczonych metalami ciężkimi, były gatunkami lokalnymi, a zatem lepiej przystosowanymi do panujących warunków środowiskowych. Udowodniły to badania przeprowadzone zarówno na łądzie cynkowej ZG „Trzebieńka” koło Chrzanowa, jak i na zwałowiskach po kopalni złota w Afryce Południowej (Ryszka, Turnau 2007, Orłowska et al. 2011a). Propagule grzybów mikoryzowych występują także w glebach o wysokiej koncentracji metali ciężkich, wówczas lokalne szczepy mogą odegrać ważną rolę w zwiększeniu wydajności procesu fitoremediacji na takich terenach. Możliwa jest inokulacja sadzonek namnożonymi rodzimymi szczepami lub ewentualnie innym inokulum pochodzącym z terenów o wysokiej zawartości metali ciężkich.

LITERATURA

- ALLOUI A., RECORBET G., GOLLOTTE A., ROBERT F., VALOT B., GIANINAZZI-PEARSON V., ASCHI-SMITI S., DUMAS-GAUDOT E. 2009. On the mechanisms of cadmium stress alleviation in *Medicago truncatula* by arbuscular mycorrhizal symbiosis: a root proteomic study. *Proteomics* 9: 420–433.
- ANDRADE S., SILVEIRA A. P. D. 2008. Mycorrhiza influence on maize development under Cd stress and P supply. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20: 39–50.
- ANDRADE S., SILVEIRA A. P. D., JORGE R. A., ABREU M. F. 2008. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *International Journal of Phytoremediation* 10: 1–13.
- APPENROTH K. 2010. Definition of „Heavy Metals” and their

- role in biological systems. W: I. SHERAMETI, A. VARMA (red.), Soil heavy metals. Soil Biology, 19. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, s. 19–29.
- AUDET P., CHAREST C. 2007a. Dynamics of AM symbiosis in heavy metal phytoremediation: meta analytical and conceptual perspectives. *Environmental Pollution* **147**: 609–614.
- AUDET P., CHAREST C. 2007b. Heavy metal phytoremediation from a meta analytical perspective. *Environmental Pollution* **147**: 231–237.
- AUDET P., CHAREST C. 2010. Determining the impact of the AM mycorrhizosphere on 'dwarf' sunflower Zn uptake and soil Zn bioavailability. *Journal of Botany* 2010: 1–11.
- BAI J., LIN X., YIN R., ZHANG H., JUNUA W., XUEMING C., YONGMING L. 2008. The influence of arbuscular mycorrhizal fungi on As and P uptake by maize (*Zea mays* L.) from As-contaminated soils. *Applied Soil Ecology* **38**: 137–145.
- BAKER A. J. M., MCGRATH S. P., REEVES R. D., SMITH J. A. C. 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. W: N. TERRY, G. BAÑUELOS (red.), Phytoremediation of contaminated soil and water. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, s. 85–107.
- BESSERER A., PUECH-PAGES V., KIEFER P., GOMEZ-ROLDAN V., JAUNEAU A., ROY S., PORTAIS J. C., ROUX C., BÉCARD G., SÉJALON-DELMAS N. 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biology* **4**: 1239–1247.
- BIDARTONDO M. I., DUCKET J. G. 2010. Conservative ecological and evolutionary patterns in liverwort-fungal symbioses. *Proceedings of the Royal Society B* **277**: 485–492.
- BLAYLOCK M. J., SALT D. E., DUSHENKOV S., ZAKHAROVA O., GUSSMAN C., KAPULNIK Y., ENSLEY B. D., RASKIN I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science & Technology* **31**: 860–965.
- BONFANTE P., BALESTRINI R., GENRE A., LANFRANCO L. 2009. Establishment and functioning of arbuscular mycorrhizas. W: H. DEISING (red.), Plant relationships, The Mycota, V. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, s. 259–274.
- BONFANTE P., GENRE A. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant – fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications* **27**(1): 1–11.
- BOTHE H., REGVAR M., TURNAU K. 2010. Arbuscular mycorrhiza, heavy metal, and salt tolerance. W: I. SHERAMETI, A. VARMA (red.), Soil heavy metals. Soil Biology, 19. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, s. 87–111.
- BUCHER M., WEGMÜLLER S., DRISSNER D. 2009. Chasing the structures of small molecules in arbuscular mycorrhizal signaling. *Current Opinion in Plant Biology* **12**: 500–507.
- CHEN B., SHEN H., LI X., FENG G., CHRISTIE P. 2004. Effects of EDTA application and arbuscular mycorrhizal colonization on growth and zinc uptake by maize (*Zea mays* L.) in soil experimentally contaminated with zinc. *Plant and Soil* **261**: 219–229.
- CHEN B. D., ZHU Y. G., DUAN J., XIAO X. Y., SMITH S. E. 2007. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* on metal uptake by four plant species in copper mine tailings. *Environmental Pollution* **147**: 374–380.
- CHEN X., WU C., TANG J., HU S. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. *Chemosphere* **60**: 665–671.
- CHERN E. C., TSAI D. W., OGUNSEITAN O. A. 2007. Deposition of glomalin-related soil protein and sequestered toxic metals into watersheds. *Environmental Science & Technology* **41**(10): 3566–3572.
- CORNEJO P., MEIERA S., BORIE G., RILLIG M. C., BORIE F. 2008. Glomalin-related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration. *Science of the Total Environment* **406**(1–2): 154–160.
- DERAM A., LANGUEREAU-LEMAN F., HOWSAM M., PETIT D., HALUWYN C. V. 2008. Seasonal patterns of cadmium accumulation in *Arrhenatherum elatius* (Poaceae): Influence of mycorrhizal and endophytic fungal colonisation. *Soil Biology and Biochemistry* **40**: 845–848.
- DONG Y., ZHU J. G., SMITH F. A., WANG Y., CHEN B. 2008. Arbuscular mycorrhiza enhanced arsenic resistance of both white clover (*Trifolium repens* Linn.) and ryegrass (*Lolium perenne* L.) plants in an arsenic-contaminated soil. *Environmental Pollution* **155**: 174–181.
- FERROL N., GONZALEZ-GUERRERO M., VALDERAS A., BENABDELLAH K., AZCON-AGUILAR C. 2009. Survival strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. *Phytochemistry Reviews* **8**: 551–559.
- GADKAR V., RILLIG M. C. 2006. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shock protein 60. *FEMS Microbiology Letters* **263**: 93–101.
- GAUR A., ADHOLEYA A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science* **86**: 528–534.
- GIASSON P., JAOUICH A., GAGNE' S., MASSICOTTE L., CAYER P., MOUTOGLIS P. 2006. Enhanced phytoremediation: a study of mycorrhizoremediation of heavy metal contaminated soil. *Remediation Journal* **17**: 97–110.
- GIASSON P., KARAM A., JAOUICH A. 2008. Arbuscular mycorrhiza and alleviation of soil stresses on plant growth.. W: Z. A. SIDDIQUI, M. S. AKHTAR, K. FUTAI (red.), My-

- corrhizae: sustainable agriculture and forestry. Springer Science Business Media B. V., Dordrecht, The Netherlands, s. 99–134.
- GIOVANETTI M. 2008. Structure, extent and functional significance of belowground arbuscular mycorrhizal networks. W: A. VARMA (red.), *Mycorrhiza: Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics*. Springer Verlag, Heidelberg, s. 59–72.
- GÖHRE V., PASZKOWSKI U. 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* **223**(6): 1115–1122.
- GOLTAPEH M. E., DANESH Y. R., PRASAD R., VARMA A. 2008. Mycorrhizal fungi: what we know and what should we know? W: A. VARMA (red.), *Mycorrhiza: Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics*. Springer Verlag, Heidelberg, s. 3–28.
- GOMEZ-ROLDAN V., FERMAS. S., BREWER P. B., PUECH-PAGÈS V., DUN E. A., PILLOT J. P., LETISSE F., MATUSOVA R., DANOUN S., PORTAIS J. C., BOUWMEESTER H., BÉCARD G., BEVERIDGE C. A., RAMEAU C., ROCHANGE S. F. 2008. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* **455**: 180–194.
- GONZÁLEZ-CHÁVEZ M. C., CARRILLO-GONZÁLEZ R., WRIGHT S. F., NICHOLS K. A. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* **130**(3): 317–323.
- GONZÁLEZ-GUERRERO M., MELVILLE L. H., FERROL N., LOTT J. N. A., AZCÓN-AGUILAR C., PETERSON R. L. 2008. Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Microbiology* **54**: 103–110.
- GRČMAN H., VELIKONJA-BOLTA Š., VODNIK D., KOS B., LEŠTAN D. 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. *Plant and Soil* **235**: 105–114.
- GRČMAN H., VODNIK D., VELIKONJA-BOLTA Š., LEŠTAN D. 2003. Ethylenediaminedisuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *Journal of Environmental Quality* **32**: 500–506.
- GUCWA-PRZEPIÓRA E., MAŁKOWSKI E., SAS-NOWOSIELSKA A., KUCHARSKI R., KRZYŻAK J., KITA A., RÖMKENS P. F. M. 2007. Effect of chemophytostabilization practices on arbuscular mycorrhiza colonization of *Deschampsia cespitosa* ecotype Waryński at different soil depths. *Environmental Pollution* **150**: 338–346.
- GUCWA-PRZEPIÓRA E., TURNAU K. 2001. Arbuscular mycorrhiza and plant succession on zinc smelter spoil heap in Katowice-Wełnowiec. *Acta Soc. Bot. Poloniae* **70**: 153–158.
- HILDENBRANDT U., REGVAR M., BOTHE H. 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* **68**: 139–146.
- HOVSEPYAN A., GREIPSSON S. 2004. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on phytoextraction by corn (*Zea mays*) of lead-contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation* **6**: 305–321.
- JANOŠKOVÁ M., PAVLIKOVA D., MACEK T., VOSATKA M. 2005. Arbuscular mycorrhiza decreases cadmium phytoextraction by transgenic tobacco with inserted metallothionein. *Plant and Soil* **272**: 29–40.
- JONER E. J., BRIONES R., LEYVAL C. 2000. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant and Soil* **226**: 227–234.
- JONER E. J., LEYVAL C. 1997. Uptake of ¹⁰⁹Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist* **135**: 353–360.
- JURKIEWICZ A., ORLOWSKA E., ANIELSKA T., GODZIK B., TURNAU K. 2004. The influence of mycorrhiza and EDTA application on heavy metal uptake by different maize varieties. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* **46**: 7–18.
- KABATA-PENDIAS A., MUKHERJEE A. B. 2007. Trace elements from soil to human. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- KAPOOR R., SHARMA D., BHATNAGAR A. K. 2008. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulturae* **116**: 227–239.
- KARCZEWSKA A., BOGDA A., GAŁKA B., SZULC A., CZWARKIEL D., DUSZYŃSKA D. 2006. Natural and anthropogenic soil enrichment in heavy metals in areas of former metallic ore mining in the Sudety Mts. *Polish Journal of Soil Science* **39**: 131–142.
- KER K., CHAREST C. 2010. Nickel remediation by AM-colonized sunflower. *Mycorrhiza* **20**: 399–406.
- KHAN A. G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **18**: 355–364.
- KHAN A. G. 2006. Mycorrhizoremediation – an enhanced form of phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science B* **7**: 503–514.
- KHAN A. G. 2007. Producing mycorrhizal inoculum for phytoremediation. *Phytoremediation: methods and reviews. Methods in Biotechnology* **23**: 89–97.
- KOS B., LEŠTAN D. 2003. Influence of a biodegradable ([S,S]-EDDS) and nondegradable (EDTA) chelate and hydrogel modified soil water sorption capacity on Pb phytoextraction and leaching. *Plant and Soil* **253**: 403–411.

- KOS B., LEŠTAN D. 2004. Chelator induced phytoextraction and in situ soil washing of Cu. *Environmental Pollution* **132**: 333–339.
- LEGOCKI A. B. 2009. Ewolucja układów symbiotycznych. *Postępy Biologii Komórki* **36**: 9–17.
- LEUNG H. M., YE Z. H., WONG M. H. 2006. Interactions of mycorrhizal fungi with *Pteris vittata* (As hyperaccumulator) in As-contaminated soils. *Environmental Pollution* **139**: 1–8.
- LINGUA G., FRANCHIN C., TODESCHINI V., CASTIGLIONE S., BIONDI S., BURLANDO B., PARRAVICINI V., TORRIGIANI P., BERTA G. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi differentially affect the response to high zinc concentrations of two registered poplar clones. *Environmental Pollution* **153**(1): 137–147.
- LIU Y., ZHU Y. G., CHEN B. D., CHRISTIE P., LI X. L. 2005. Yield and arsenate uptake of arbuscular mycorrhizal tomato colonized by *Glomus mosseae* BEG167 in As spiked soil under glasshouse conditions. *Environmental International* **31**: 867–873.
- LÓPEZ-RÁEZ J. A., POZO M. J., GARCÍA-GARRIDO J. M. 2011. Strigolactones: a cry for help in the rhizosphere. *Botany* **89**: 513–522.
- MALKOWSKI E. 2011. Modyfikacja procesu transpiracji a efektywność indukowanej fitekstrakcji ołowiu i kadmu w wybranych gatunkach roślin. Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego, Katowice.
- MARECIK R., KRÓLICZAK P., CYPLIK P. 2006. Fitoremediacja – alternatywa dla tradycyjnych metod oczyszczania środowiska. *Biotechnologia* **3**(74): 88–97.
- MEDINA A., VASSILEV N., BAREA J. M., AZCON R. 2005. Application of *Aspergillus niger*-treated agrowaste residue and *Glomus mosseae* for improving growth and nutrition of *Trifolium repens* in a Cd-contaminated soil. *Journal of Biotechnology* **116**: 369–378.
- MEMON A. R., SCHRÖDER P. 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* **16**(2): 162–175.
- MIEREK-ADAMSKA A., DĄBROWSKA G., GOC A. 2009. Rośliny modyfikowane genetycznie a strategię oczyszczania gleb z metali ciężkich. *Postępy Biologii Komórki* **36**: 649–662.
- ORŁOWSKA E., MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ J., PRZYBYŁOWICZ W., TURNAU K. 2008. Nuclear microprobe studies of elemental distribution in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of Ni-hyperaccumulator *Berkheya coddii*. *X-Ray Spectrometry* **37** (2): 129–132.
- ORŁOWSKA E., ORŁOWSKI D., MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ J., TURNAU K. 2011a. Role of mycorrhizal colonization in plant establishment on an alkaline gold mine tailing. *International Journal of Phytoremediation* **13**: 185–205.
- ORŁOWSKA E., PRZYBYŁOWICZ W., MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ J., ORŁOWSKI D., TURNAU K. 2011b. The effect of mycorrhiza on the growth and elemental composition of Ni-hyperaccumulating plant *Berkheya coddii* Roessler. *Environmental Pollution* **159**(12): 3730–3738.
- ORŁOWSKA E., RYSZKA P., JURKIEWICZ A., TURNAU K. 2005. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) strains in colonisation of plants involved in phytostabilisation of zinc wastes. *Geoderma* **129**(1–2): 92–98.
- ORŁOWSKA E., ZUBEK S., JURKIEWICZ A., SZAREK-ŁUKASZEWSKA G., TURNAU K. 2002. Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of *Biscutella laevigata* L. (*Brassicaceae*) and *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*) from calamine spoil mounds. *Mycorrhiza* **12**: 153–60.
- PONGRAC P., VOGEL-MIKUS K., KUMP P., POSCHENRIEDER C., BARCELO J., REGVAR M. 2007. Changes in elemental uptake and arbuscular mycorrhizal colonisation during the life cycle of *Thlaspi praecox* Wulfen. *Chemosphere* **69**(10): 1602–609.
- PRESSEL S., BIDARTONDO M. I., LIGRONE R., DUCKETT J. G. 2010. Fungal symbioses in bryophytes: new insights in the twenty first century. *Phytotaxa* **9**: 238–253.
- PURIN S., RILLIG M. C. 2007. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalinalin: limitations, progress, and a new hypothesis for its function. *Pedobiologia* **51**: 123–130.
- PURIN S., RILLIG M. C. 2008. Immuno-cyto-localization of glomalinalin in the mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Soil Biology and Biochemistry* **40**(4): 1000–1003.
- RABĘDA I., WOŹNY A., KRZESŁOWSKA M. 2011. Bakterie i grzyby mikoryzowe zwiększają wydajność roślin w fitoremediacji metali śladowych. *Kosmos* **60**(3–4): 423–433.
- RASHID A., AYUB N., AHMAD T., GUL J., KHAN A. G. 2009. Phytoaccumulation prospects of cadmium and zinc by mycorrhizal plant species growing in industrially polluted soils. *Environmental Geochemistry and Health* **31**(1): 91–98.
- RECORBET G., ROGNIAUX H., GIANINAZZI-PEARSON V., DUMAS-GAUDOT E. 2009. Fungal proteins in the extraradical phase of arbuscular mycorrhiza: a shotgun proteomic picture. *New Phytol.* **181**: 248–260.
- REDON P. O., BEGUIRISTAIN T., LEYVAL C. 2008. Influence of *Glomus intraradices* on Cd partitioning in a pot experiment with *Medicago truncatula* in four contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry* **40**(10): 2710–2712.
- REEVES R. D., BAKER A. J. M. 2000. Metal-accumulating plants. W: I. RASKIN, B. D. ENSLEY (red.), Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up

- the environment. John Wiley & Sons, Inc., New York, s. 193–229.
- REGVAR M., VOGEL K., IRGEL N., WRABER T., HILDEBRANDT U., WILDE P., BOTHE H. 2003. Colonisation of pennycresses (*Thlaspi* sp.) of the *Brassicaceae* by arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology* **160**: 615–626.
- REGVAR M., VOGEL-MIKUŠ K. 2008. Arbuscular mycorrhiza in metal hyperaccumulating plants. W: A. VARMA (red.), *Mycorrhiza: Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics*. Springer Verlag, Heidelberg, s. 261–280.
- RODRIGUEZ R., REDMAN R. 2005. Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **120**: 3175–3176.
- RUIZ-LOZANO J. M., PORCEL R., AROCA R. 2008. Evaluation of the possible participation of drought-induced genes in the enhanced tolerance of arbuscular mycorrhizal plants to water deficit. W: A. VARMA (red.), *Mycorrhiza: Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics*. Springer Verlag, Heidelberg, s. 185–208.
- RYSZKA P., TURNAU K. 2007. Arbuscular mycorrhiza of introduced and native grasses colonizing zinc wastes: implications for restoration practices. *Plant and Soil* **298** (1–2): 219–229.
- SALT D. E., KRÄMER U. 2000. Mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. W: I. RASKIN, B. D. ENSLEY (red.), *Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., New York, s. 231–246.
- SCHÜSSLER A., SCHWARZOTT D., WALKER C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* **105**: 1413–1421.
- SIMARD S. W., DURALL D. M. 2004. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function and importance. *Canadian Journal of Botany* **82**(8): 1140–1165.
- SIWEK M. 2008. Rośliny w skażonym metalami ciężkimi środowisku przemysłowym. Cz. II. *Wiadom. Bot.* **52**(3/4): 7–23.
- SMITH S. E., READ D. J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. London. Academic Press.
- SUDOVA R., DOUBKOVA P., VOSATKA M. 2008. Mycorrhizal association of *Agrostis capillaris* and *Glomus intraradices* under heavy metal stress: Combination of plant clones and fungal isolates from contaminated and uncontaminated substrates. *Applied Soil Ecology* **40**(1): 19–29.
- SUDOVA R., VOSÁTKA M. 2007. Differences in the effects of three arbuscular mycorrhizal fungal strains on P and Pb accumulation by maize plants. *Plant and Soil* **296**(1–2): 77–83.
- TURNAU K. 1993. Mikoryza w siedliskach skażonych metalami toksycznymi. *Wiadom. Bot.* **37**(1–2): 43–58.
- TURNAU K., JURKIEWICZ A., GRZYBOWSKA B. 2002. Rola mikoryzy w bioremediacji terenów zanieczyszczonych. *Kosmos* **51**: 185–194.
- TURNAU K., ANIELSKA T., RYSZKA P., GAWROŃSKI S., OSTACHOWICZ B., JURKIEWICZ A. 2008. Establishment of arbuscular mycorrhizal plants originating from xerothermic grasslands on heavy metal rich industrial wastes—new solution for waste revegetation. *Plant and Soil* **305**(1–2): 267–280.
- TURNAU K., JURKIEWICZ A., LINGUA G., BAREA J. M., GIANINAZZI-PEARSON V. 2006. Role of arbuscular mycorrhiza and associated microorganisms in phytoremediation of heavy metal-polluted sites. W: M. N. V. PRASAD, K. S. SAJWAN, R. NAIDU (red.), *Trace elements in the environment. Biogeochemistry, biotechnology, and bioremediation*. CRC Taylor & Francis, Boca Raton, London, New York, s. 235–252.
- TURNAU K., MESJASZ-PRZYBYLOWICZ J. 2003. Arbuscular mycorrhizal of *Berkheya codii* and other Ni-hyperaccumulating members of *Asteraceae* from ultramafic soils in South Africa. *Mycorrhiza* **13**: 185–190.
- TURNAU K., RYSZKA P., WOJTCZAK G. 2010. Metal tolerant mycorrhizal plants: a review from the perspective on industrial waste in temperate region. W: H. KOLTAI, Y. KAPULNIK (red.), *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, s. 257–276.
- VAN NEVEL L., MERTENS J., OORTS K., VERHEYEN K. 2007. Phytoextraction of metals from soils: how far from practice? *Environmental Pollution* **150**: 34–40.
- VODNIK D., GRČMAN H., MACEK I., VAN ELTEREN J. T., KOVACEVIC M. 2008. The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. *Science of the Total Environment* **392**(1): 130–136.
- VOGEL-MIKUS K., DROBNE D., REGVAR M. 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (*Brassicaceae*) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution* **133**: 233–242.
- WENZEL W. W., LOMBI E., ADRIANO D. C. 2004. Root and rhizosphere process in metal hyperaccumulation and phytoremediation technology. W: M. N. V. PRASAD (red.), *Heavy metal stress in plant: from biomolecules to ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, s. 313–345.