

Strategije biljaka u borbi protiv fitotoksičnih koncentracija metala kao ključni preduslov uspešne fitoremedijacije: Ekskluderi i hiperakumulatori, deo II

Biljke raspolažu čitavim nizom mehanizama koji se mogu aktivirati u procesima detoksifikacije i tolerancije prema stresu izazvanom teškim metalima. Najuspešnije mehanizme razvile su neke specifične biljne vrste, poznate kao biljke hiperakumulatori, koje mogu da akumuliraju enormno visoke koncentracije ovih opasnih polutanata u svojim nadzemnim organima. Ovo je strategija koja je dalje zgodno iskorišćena u svrhe fitoremedijacije kao relativno nove, ali ekonomski i ekološki krajnje prihvatljive tehnologije za remedijaciju kontaminiranih zemljišta i voda.

Ključne reči: teški metali, ekskluderi, hiperakumulatori, fitoremedijacija

1. UVOD

Fitoremedijacija je definisana kao relativno nova tehnologija zasnovana na primeni određenih biljaka za uklanjanje i sanaciju opasnih materija u cilju poboljšanja kvaliteta životne sredine. Mehanizmi koji mogu biti uključeni u remedijaciju neorganskih polutanata poput teških metala su: fitoekstrakcija, fitostabilizacija, fitoakumulacija, rizofiltracija i fitovolatilizacija [1-5].

Fitoekstrakcija je mehanizam čija se primena ogleda u uklanjanju teških metala iz matriksa životne sredine, pri čemu se visoke koncentracije ovih opasnih zagađivača akumuliraju u nadzemnoj biomasi biljaka [1-3, 5]. Fitostabilizacija podrazumeva mogućnost da korenje biljaka luči ekskudate koji mogu da stabilizuju, demobilišu i vezuju metale iz zemljišta i na taj način redukuju njihovu biodostupnost [1-4]. Fitovolatizacioni procesi se zasnivaju na sposobnostima biljaka da apsorbuju i postepenim isparavanjem izbace zagađujuće materije u atmosferu. Konačno, korenje biljaka može da usvaja metale iz vodenih supstrata na kojima raste putem rizofiltracije, adsorpcije i precipitacije na korenu [4].

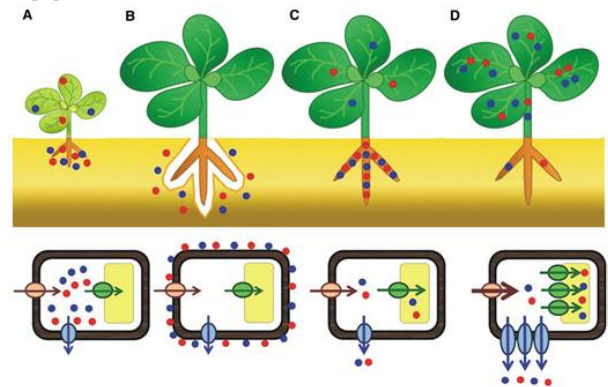
Po autorima [6,7], biljke koje opstaju na zemljištu zasićenom metalima, mogu biti grupisane u tri kategorije:

- 1) Ekskluderi - vrste biljaka koje sprečavaju usvajanje toksičnih metala unutar ćelija korena i u kojima se koncentracija metala u nadzemnim delovima održava ispod kritičnih vrednosti, tj. na niskom nivou u odnosu na koncentracije metala u zemljištu. Ekskluderi mogu biti iskorišćeni za stabilizaciju zemljišta i za izbegavanje daljeg širenja zagađenja, povezanog sa erozijom.
- 2) Akumulatori - vrste biljaka u kojima se metali koncentrišu u nadzemnim delovima. Akumulatori ne sprečavaju ulazak metala u koren, te samim tim dozvoljavaju bioakumulaciju visokih koncentracija metala u svojim tkivima.

- 3) Indikatori - vrste biljaka kod kojih unutrašnje koncentracije proporcionalno odražavaju, tj. Reflektuju eksterne koncentracije.

U odnosu na molekularne mehanizme koje koriste u postizanju svoje rezistentnosti/tolerantnosti prema metalnom stresu, tj. smanjenju negativnih posledica toksičnosti metala, biljke vrste se mogu posmatrati kao:

- 1) Vrste osetljive prema metalima (*metal-sensitive species*),
- 2) Vrste rezistentne prema metalima – ekskluderi (*metal-resistant excluder species*),
- 3) Nehiperakumulatorske vrste tolerantne prema metalima (*metal-tolerant nonhyperaccumulator species*) i
- 4) Vrste hiper-tolerantne prema metalima (*metal-hypertolerant hyperaccumulator species*), slika 1) [8].



Slika 1 – A) Biljke osetljive na teške metale, koje ne mogu sprečiti ulazak metala u koren, niti mogu sprečiti transport metala do izdanka, B) Metal-rezistentni ekskluderi, koji su sposobni da drže metale van domašaja korena, ili obezbede brz efluks u slučaju ulaska u ćelije korena, C) Metal-tolerantne nehiperakumulatorske biljke, u kojima metali ulaze u ćelije korena gde se vrši njihova sekvenciracija u vakuole čime se sprečava translokacija kroz stablo, D) Metal-hipertolerantni hiperakumulatori, u kojima se metali aktivno usvajaju kroz koren i u velikim količinama ubacuju u ksilem. U izdanku, metali se bezbedno odlažu (sekvenciraju) u vakuole [8]: Zn-plave sfere; Cd- crvene sfere

Adresa autora: Univerzitet u Beogradu, Tehnički fakultet, Bor, VJ 12

Primljeno za publikovanje: 08. 03. 2014.

Prihvaćeno za publikovanje: 28. 05. 2014.

Biljne vrste koje akumuliraju metale u tkivima svojih nadzemnih organa, najpoželjnije su za primenu u fitoremedijaciji, ili fitorudarenju (metoda uzgajanja biljaka radi dobijanja metala) [1-3]. Pri ovome, treba imati na umu da su mnogi metali koji se mogu akumulirati takođe i esencijalni nutrijenti, tako da se zaštita hrane i fitoremedijacija mogu razmatrati kao dve različite strane jedne iste medalje [9].

Idealna biljka fitoremedijator bi trebala da raste brzo, da razvija veliku biomasu, da bude tolerantna i da akumulira visoke koncentracije toksičnih metala u nadzemnim delovima, kao i da se lako kultivira i na kraju žanje. Marques i sar. (2009) smatraju da bi idealna biljka koja se može iskoristiti za fitoekstrakciju trebalo da ima sledeće karakteristike: tolerantnost na visoke koncentracije metala, razvijen korenski sistem, brz rast i potencijal da proizvodi veliku biomasu, kao i da akumulira visoke nivoe metala u delovima koji se mogu lako sakupiti i dalje uništiti, ili iskoristiti za izlučivanje metala [10].

2. MEHANIZMI BILJNIH STRATEGIJA SA POSEBNIM OSVRTOM NA STRATEGIJU HIPERAKUMULACIJE

Hiperakumulatori su podgrupa akumulatorskih vrsta, koja akumulira ekstremno visoke koncentracije metala u lišću i drugim nadzemnim delovima [1-3, 7]. Najčešće se radi o endemičnim vrstama koje prirodno rastu na zemljištu prezasićenom metalima i to kako u kontinentalnim, tako i u tropskim zonama. Ove vrste biljaka su indentifikovane u vegetaciji regija Južne Afrike, Nove Kaledonije, Latinske Amerike kao i Severne Amerike i Evrope [9]. U početku, termin "hiperakumulator" se odnosio na biljke sposobne da akumuliraju više od 1 mg/g (suve mase) Ni u nadzemne delove, što su izuzetno visoke koncentracije, uzevši u obzir da se u organima većine biljaka toksičnost ovog metala može ispoljiti pri koncentracijama >10 µg/g suve mase kod osetljivih i >50 µg/g suve mase kod umereno osetljivih biljaka [11, 12]. Danas se hiperakumulatori definišu kao one vrste koje su sposobne da akumuliraju metale u koncentracijama koje su i do 100 puta veće od onih koje su normalno prisutne u biljakama [1, 3, 7]. Oni mogu koncentrovati metale i do 0.1% suve mase u svom lišću za Ni, Co, Cr, Cu, Al i Pb, 1% za Zn i Mn i 0.01% za Cd i Se [6].

Vreme koje je potrebno biljkama da umanje količinu teških metala u kontaminiranim zemljištima zavisi od produkcije biomase, kao i od njihove sposobnosti akumulacije, tj. njihovih biokoncentracijskih faktora (BCFs). BCF predstavlja odnos koncentracije metala u tkivima izdanka i koncentracije metala zemljištu, mada se može odnositi i na odnos koncentracije u korenu i zemljištu [1]. On je određen kapacitetom biljnog organa prema usvajanju

metala i njegove sposobnosti da akumulira, skladišti i detoksifikuje metale, dok održava metabolizam, rast i produkciju biomase. Kod hiperakumulatora, BCF je uvek viši od 1, ponekad dostižući vrednosti od 50-100 [6].

Tabela 1. Sadržaji metala u biljkama (mg/kg suve mase) definisani radi kategorizacije statusa akumulatora, ili hiperakumulatora [13]

Element	Prag za akumulatore (mg/kg)	Prag za hiperakumulatore (mg/kg)	Broj hiperakumulatorskih vrsta
As	-	1000	Nije zabeležen
Cd	20	100	1
Co	20	100	28
Cr	50	100	Nepoznat
Cu	100	1000	37
Mn	2000	10000	9
Ni	100	1000	317
Pb	100	1000	14
Se	10	1000	20
Zn	2000	10000	11

Ukupno je detektovano preko 500 vrsta biljaka hiperakumulatora iz oko 101 familije biljaka uključujući članove Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Viola-ceae i Euphobiaceae, što čini oko 0.2% svih angiospermi. Posebno je interesantna familija Brassicaceae, sa rodovima *Alyssum* i *Thlaspi*, kod kojih je primećena akumulacija više vrsta metala [5, 14]. Čak 25% detektovanih hiperakumulatora pripada ovoj familiji [9].

Najpoznatiji hiperakumulator metala je biljka *Thlaspi caerulescens*, koja akumulira velike količine Zn (39 600 mg/kg) i Cd (1800 mg/kg) bez vidljivijih oštećenja [6, 9]. Ova mala, diploidna biljka može lako da raste u laboratorijskim uslovima, čime predstavlja odličan eksperimentalni sistem za ispitivanje mehanizama usvajanja, akumulacije i tolerancije metala povezanih sa fitoekstrakcijom. Osim *T.caerulescens*, *Brassica juncea* je takođe služila kao čest model za ispitivanje fiziologije i biohemije biljaka tokom akumulacije metala [6].

Preko 75% taksona može da akumulira Ni, dok je samo mali broj hiperakumulatora (5 vrsta) do danas pronađeno za Cd. Takođe, Ni je metal koji dostiže najveće koncentracije u biljkama. Hiperakumulatori Zn su manje zastupljeni i uključuju *Arabidopsis halleri* i vrste *Thlaspi*, kao i *Sedum alfredii*. Vrste *A. halleri* i *S. alfredii*, zajedno sa *T. caerulescens* i *T. praecox* su četiri poznate vrste koje pored Zn, hiperakumuliraju i Cd. Od skora je i *Solanum nigrum* (krompir) prepoznat kao peti hiperakumulator kadmijuma. Vrste koje hiperakumuliraju Se su rasprostranjene u rodovima različitih

familija, među kojima su *Fabaceae*, *Asteraceae*, *Rubiaceae*, *Brassicaceae*, *Scrophulariaceae* i *Che-nopodiaceae*. Takođe, neke angiosperme, kao što su *Brassicaceae isatis cappadocica* i *Hesperis persica*, ali i neke vrste paprati koje pripadaju rodu *Pteris* su identifikovane kao hiperakumulatori As [9]. Nedavno je "Environment Canada" objavila bazu podataka "Fitoterm" koja predstavlja svetsku popisnu listu za više od 750 kopnenih i vodenih biljaka sa dobrim potencijalom za fitoremedijaciju [14].

Očigledno je da se terminom "hiperakumulator" može opisati veliki broj biljaka koje pripadaju taksonomski udaljenim familijama, ali da sve one dele jednu istu sposobnost akumulacije izvanredno visokih količina teških metala u nadzemnim delovima, količina mnogo većih nego što su pronađene u većini drugih biljaka i to bez podleganja fitotoksičnim efektima, što je od posebnog značaja za eventualnu primenu u postupku fitoekstrakcije/fitoakumulacije [1, 2].

Tabela 2 - Primeri biljnih vrsta pogodnih za remedijaciju metala [14]

Biljna vrsta	Metal
<i>Alyssum wulfenianum</i>	Ni
<i>Azolla pinnata, lemna minor</i>	Cu,Cr
<i>Brassica Juncea</i>	Cu, Ni
<i>Arabidopsis halleri</i>	Cd
<i>Pteris vittata</i>	Cu, Ni, Zn
<i>Psychotria douarrei</i>	Ni
<i>Pelargonium sp.</i>	Cd
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Zn, Cd i Ni
<i>Amanita muscaria</i>	Hg
<i>Arabis gemmifera</i>	Cd i Zn
<i>Pistia stratiotes</i>	Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb i Zn
<i>Piptathertan miliacetall</i>	Pb
<i>Astragalus bisulcatus, Brassica Juncea</i>	Se
<i>Sedum alfredii</i>	Cd
<i>H. annuus</i>	Pb
<i>H. indicus</i>	Pb
<i>Sesbania drummondii</i>	Pb
<i>Lemna gibba</i>	As
<i>Pteris vittata</i>	As
<i>Sedum alfredii</i>	Pb/Zn
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Zn, Pb, Zn i Cd
<i>Chengiopanax sciadophylloides</i>	Mn
<i>Tamarix smyrnensis</i>	Cd
<i>P. griffithii</i>	Cd/Zn
<i>Brassica napus</i>	Cd
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Zn i Cd
<i>Crotalaria juncea</i>	Ni i Cr
<i>C. dactylon</i>	Ni i Cr
<i>Rorippa globosa</i>	Cd

Povezivanje hiperakumulacije metala sa sposobnošću tolerancije je stalni predmet rasprava. Shvatanja se kreću od stava da ne postoji korelacija između hiperakumulatora i stepena tolerancije prema metalima, do onih koji percipiraju jaku povezanost između ovih karakteristika. Postoje pretpostavke da su biljne vrste razvile pojačanu akumulaciju metala, ne samo radi imobilisanja njihovih preteranih koncentracija, već i radi uspostavljanja odnosa sa susednim biljkama, kao i radi odbrane od brojnih neprijatelja u prirodi, kao što su to neki patogeni i herbivori organizmi (insekti, gastropode, gljive, bakterije, virusi, kao i sitnije životinje koje napadaju lišće i korenje) [9, 13]. Ova poslednja pretpostavka, poznata još i kao "odbrana elementima" je najbolje potpomognuta dokazima, jer se pokazalo da je biljkama jednostavnije da iskoriste toksične metale iz okoline radi odbrane od štetočina, nego da sintetišu sopstvene molekule koji bi poslužili u ove svrhe, slika 2. Postoji i hipoteza da toksični metali mogu da deluju zajedno sa prirodno sintetisanim organskim molekulima sekundarnog metabolizma, u jednoj orkestriranoj akciji, čime se ostvaruje poboljšani, tzv. "udruženi" efekat odbrane [6, 9].

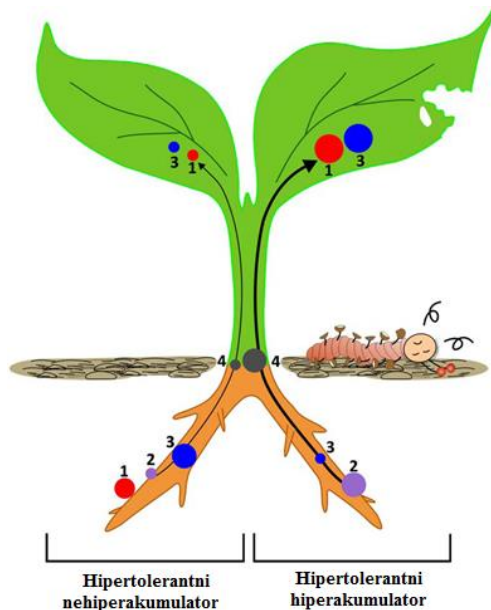
Sarma [14] smatra da hiperakumulatori predstavljaju grupu izvanrednih biljnih vrsta koje poseduju genetički poboljšane načine za tretiranje metala, u smislu njihove tolerancije i hiperakumulacije. Ovi načini ogledaju se pre svega u povećanoj akumulaciji teških metala u nadzemnim delovima biljke i to kroz pojavu povećanog nivoa proteina transportera metala, tzv. MTPs -proteina (*Metal Tolerance Proteins*), ali i u povećanoj produkciji enzima koji učestvuju u metabolizmu sumpora i produkciji helatora detoksifikatora metala, kao što su metalotioneini (MTs) i fitohelatini (PCs).

Rascio i Navari-Izzo [9] razlikuju tri osnovna obeležja koja dele hiperakumulatore od odgovarajućih nehiperakumulatornih taksona:

- izrazito poboljšano usvajanje teških metala,
- brža translokacija od korena do stabla i
- veći kapacitet detoksifikacije i sekvenciranja teških metala u lišću.

Ovi autori smatraju da se detoksifikacija teških metala kod hiperakumulatora razlikuje od detoksifikacije kod tolerantnih nehiperakumulatornih vrsta, jer se ne zasniva na ligandima velikih molekulskih masa, kao što su fitohelatini, verovatno zato što bi za to bile potrebne prevelike količine sumpora, kao i zbog prevelikih metaboličkih gubitaka koje bi masivne sinteze ovakvih helatora zahtevale. Umesto toga, u hiperakumulatorima se, kao strategija jačanja ćelijskog antioksidativnog sistema i borbe sa rizikom od pojave ROS (*Reactive Oxygen Species*) usled metalnog stresa, javlja overekspresija gena koji su povezani sa antioksidacijom, kao i pove-

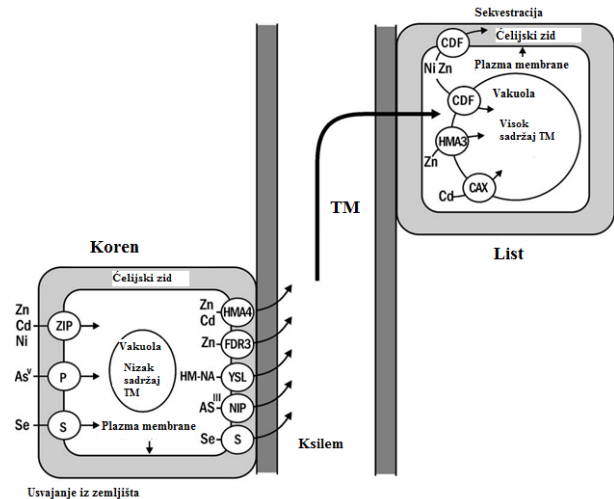
ćanje sinteze glutationa (GSH), kao krucijalnog antioksidativnog molekula [15].



Slika 2 - Mehhanizmi uključeni u hipertoleranciju teških metala i distribuciju teških metala u ekskluderima, tj. nehiperakumulatorima (levo) i hiperakumulatorima (desno). 1) Teški metali se vezuju na ćelijske zidove i/ili ćelijske ekskudate 2) Usvajanje od strane korena, 3) Helatizacija u citosolu i/ili sekvestracija u vakuole 4) Translokacija od korena do stabla. Obojene tačke na slici ukazuju na biljne organe u kojima postoje različiti mehanizmi dok veličine tački ukazuju na nivo svakog od njih. Adaptirano iz Rascio i Navari-Izzo [9]

Kada je u pitanju mehanizam akumulacije, na osnovu upoređivanja fizioloških i molekularnih analiza hiperakumulatora i srodnih nehiperakumulatora, zaključeno je da se većina ključnih koraka hiperakumulacije oslanja na drugačiju regulaciju i ekspresiju gena koji su prisutni kod obe vrste biljaka. Konkretnije, odlučujuća uloga u upravljanju usvajanjem velike količine teških metala, translokaciji u nadzemne delove i sekvestraciji u vakuole, ili ćelijske zidove hiperakumulatora, pripisuje se overekspresiji gena koji kodiraju transmembranske transportere, kao što su familije proteina: ZIP (*Zinc-regulated transporter/iron-regulated transporter Proteins*), HMA (*Heavy Metal transporting ATP-ases*), YSL (*Yellow-Stripe 1-Like*) i MATE (*Multidrug And Toxin Efflux*) [9, 15].

Za razliku od nehiperakumulatornih biljaka, koje u ćelijama korena zadržavaju veći deo teških metala usvojenih iz zemljišta (i to detoksifikovanjem putem helatizacije u citosolu, ili skladištenjem u vakuole), hiperakumulatori brzo i efikasno translociraju ove elemente u izdanak preko ksilema, slika 3. Ovo podrazumeva dostupnost teških metala za prijem u ksilem, koja proističe iz niske sekvestracije unutar i olakšanog efluksa iz vakuola korena, što je verovatno uslovljeno specifičnim karakteristikama ćelija ovog organa [9, 14, 15].



Slika 3 - Sistemi koji su uključeni u usvajanje i translokaciju od korena do izdanka, kao i sekvestraciju teških metala kod biljaka hiperakumulatora. Adaptirano iz [9]: TM- Teški metal; NA- Nikocijanin; CAX- Cation Exchangers; CDF- Cation Diffusion Facilitators; FRD3- feri-reduktaza (član MATE familije); HMA- Heavy Metal transporting ATPases; NIP- Nodulin 26-like Intrinsic Proteins; YSL- Yellow Stripe 1-Like Proteins; ZIP- Zinc-regulated transporter Iron-regulated transporter Proteins exchangers; P- transporteri fosfata; S- transporteri sulfata.

Činjenica je da je količina Zn sekvestrirana u korenskim vakuolama 2-3 puta manja i da je efluks iz vakuola skoro dva puta brži kod hiperakumulatora *T. caerulescens* i *S. alfredii*, nego kod srodnih nehiperakumulatorskih vrsta. Niska sekvestracija u vakuole korena podrazumeva se i kod poboljšane translokacije As u hiperakumulatoru *Pteris vittata*, u poređenju sa nehiperakumulatorskim *Pteris* vrstama. U poređenju sa neakumulatorskim vrstama paprati, veća translokacija As u izdanak hiperakumulatora *P. vittata*, ispoljava se u transportu u vidu arsenita koji čini preko 90% As iz soka ksilema [7]. Ovo je moguće zbog toga što se u korenu paprati hiperakumulatora veći deo arsenata, As(V), jako brzo redukuje do arsenita, As(III), aktivnošću specijalne glutation-zavisne arsenat-reduktaze. Preostali arsenat može ući u ksilem pomoću transportera fosfata, dok efluks arsenita (u vidu As(III)-S), koji se odnosi na vaskularna tkiva zahteva drugačiji transportni sistem, koji tek treba identifikovati. Ipak, neki dokazi ukazuju na proteine iz NIP podfamilije (*Nodulin 26-like Intrinsic Proteins*) kao najverovatnije kandidate (Slika 3). Ovi proteini, koji funkcionišu kao transporteri arsenita kod sisara, takođe mogu da posreduju u transportu arsenita kod biljaka. Može se smatrati da visoka ekspresija ovih proteina znači dobar transfer arsenita iz citosola ćelija korena do sudova ksilema kod hiperakumulatora As (*P. vittata*, *B. juncea*, *A. thaliana*). Slično, prekomerna ekspresija HMA proteina transportera dvovalentnih katjona na primer, postoji u korenju i izdancima Zn/Cd hiperakumulatora *T.*

caerulescens i *A. halleri*. Postoje dokazi da su u translokaciju teških metala kod hiperakumulatora umešani i članovi YSL familije proteina, koji posreduju u unosu i iznosu helata NA-metal iz ksilema [9].

Posebna familija malih organskih molekula transporterata, tzv. MATE familija, predstavlja posebnu vrstu proteina transporterata koji su aktivni pri translokaciji teških metala u hiperakumulatornim biljkama, Slika 3. Ekspresija gena člana ove familije, FRD3 proteina (feri-reduktaza), prekomerno je izražena u korenu *T.caerulescens* i *A.halleri*. Protein FRD3, koji je lokalizovan na periciklu plazma membrane korena, obično učestvuje u influksu citrata u ksilem, koji je neophodan kao ligand u homeostazi i transportu Fe. Njegova preterana ekspresija kod hiperakumulatora, ukazuje na to da FRD3 može igrati važnu ulogu i za translokaciju drugih metala, kao što je Zn [9].

Uključivanje različitih helatora metala u strategije hiperakumulacije nije još u potpunosti razjašnjeno. Međutim, strukturno (genetski) uslovljene velike količine malih organskih molekula prisutnih u korenu hiperakumulatora, ponašaju se kao uspešne metal-vezujuće vrste kod mnogih hiperakumulatora. Uloga organskih kiselina, uglavnom malata i citrata kao liganada, u ćelijama korena je posebno kontroverzna, zbog njihovih niskih konstanti stabilnosti kompleksa sa metalima, što kompleksaciju na pH koji inače vlada u citosolu, čini praktično zanemarujućom. Ovo može biti od značaja jedino u okviru kisele sredine vakuola. Takvi ligandi mogu biti instrumenti koji sprečavaju opstanak teških metala kao slobodnih jona u citosolu i šta više, omogućavaju njihovo zarobljavanje u vakuole, gde su helati metala sa organskim kiselinama prvenstveno lokalizovani. Citrat je, na primer, glavni ligand za vezivanje Ni u lišću *T. goesingense*, dok citrat i acetat vezuju Cd u lišću *S. nigrum*. Dodatno, najveći deo Zn u *A.halleri* i Cd u *T. caerulescens*, kompleksiran je sa malatom [9].

Kada se dugodometni transport teških metala kroz ksilem može desiti u formi slobodnih jona, a kada kroz kompleksiranje metala sa organskim kiselinama, ostaje i dalje nedefinisano. U soku ksilema *T.caerulescens* i *A. halleri*, najveći deo Zn i Cd prisutan je u vidu slobodnih hidratiziranih katjona, a samo jedna trećina Ni je vezana na citrate u ksilemu hiperakumulatora *Stackhousia tryoni*. Obratno, skoro sav Ni je kompleksiran sa citratima i drugim organskim kiselinama u lateksu ekstremnog hiperakumulatora nikla - *S. acuminata* [9, 15].

Ipak, Rascio i Navari-Izzo [9], su saglasni sa većinom istraživača da ključnu ulogu u hiperakumulaciji teških metala igraju slobodne amino kiseline, kao što su histidin (His) i NA, koji formiraju stabilne komplekse sa dvovalentnim katjonima. Tako se slobodni His smatra najvažnijim ligandom uključenim u hiperakumulaciju Ni. Visoke koncentracije His u korenu različitih Ni hiperakumulatornih *Thlaspi* vrsta, sugerišu da amino kiseline mogu

delovati na isti način i u drugim hiperakumulatorima. Čak šta više, u hiperakumulatorima, ali ne i u nehiperakumulatorima, kompleks Ni-His, pored umešanosti u oslobađanje Ni u ksilem, igra esencijalnu ulogu i u sprečavanju zarobljavanja metala u vakuole korena. Na taj način, metali ostaju zadržani u citosolu, u detoksifikovanom obliku pogodnom za translokaciju.

Mehanizmi detoksifikacije/sekvestracije u nadzemnim delovima hiperakumulatora sastoje se uglavnom od kompleksiranja teških metala sa ligandima i njihovim uklanjanjem iz metabolički aktivnog citosola i to prebacivanjem u neaktivne kompartmente, uglavnom vakuole i ćelijske zidove, slika 3. Sekvestracija se zasniva, bar delimično, na urođenoj overekspresiji gena, koji u ovom slučaju, kodiraju proteine koji funkcionišu u transferu teških metala kroz tonoplast i/ili plazma membranu i učestvuju u njihovom uklanjanju iz citosola. Članovi familije CDF proteina (*Cation Diffusion Facilitators*), takođe poznatih kao MTPs (*Metal Transporter Proteins*), koji omogućavaju efluks dvovalentnih katjona iz citosola, posebno su važni u ovom pogledu [9, 15].

Sagledavajući ove posebne mogućnosti biljaka hiperakumulatora, izgleda da je velika efikasnost u detoksifikaciji i sekvestraciji metala ona ključna osobina koja im dozvoljava da koncentruju velike količine teških metala u nadzemnim organima, bez doživljavanja bilo kakvog fitotoksičnog efekta. Ova izuzetno visoka akumulacija postaje još više zadržavajuća ako se ima u vidu da ona pre svega postoji u lišću, gde se odvija fotosinteza koja je esencijalna za opstanak biljaka i da je fotosintetički aparat glavno mesto napada za većinu teških metala. Biljka zato "bira" da se procesi detoksifikacije/sekvestracije teških metala pre svega odigravaju na mestima kao što su epidermis, trihome i kutikula gde je šteta po fotosintetički aparat minimalna. U mnogim slučajevima, teški metali se izlučuju iz ćelija stoma, što čuva funkcionalnost od fitotoksičnih efekata [9].

3. ZAKLJUČAK

Mehanizmi koje više biljke mogu da iskoriste kako bi izbegle toksično dejstvo teških metala mogu se generalno podvesti pod dve osnovne strategije i to: strategiju ekskludera i strategiju tolerancije.

Strategija ekskludera je da biljke pokušavaju da izbegnu ulazak teških metala u koren, na primer, smanjujući biodostupnost zemljišnih metala, ili pak kontrolišući influks metala (smanjuju ekspresiju proteina transporterata odgovornih za usvajanje metala), ili čak promovišući efluks metala. Zato se može reći da strategija ekskludera podrazumeva da biljke njome pokušavaju da koncentracije metala u korenu održe niskim, uprkos povišenim koncentracijama u okruženju, tj. zemljištu. Biljke ekskluderi mogu biti interesantne za primenu u delu fitoremedijacije poznatom kao fitostabilizacija.

Međutim, u regionima koji su visoko kontaminirani teškim metalima, često je previše zahtevno izbacivati metale iz korena, upravo zbog previsokih koncentracija u zemljištu. Kako bi se izborile sa ovom situacijom, biljke su razvile drugačiji vid akcije koji podrazumeva smanjivanje štete taktikom usvajanja metala. Ova druga taktika je poznata kao strategija tolerancije, koja se odnosi na usvajanje i detoksifikaciju metala na jedan kontrolisani način. Ovo dozvoljava biljkama ne samo da podnesu izloženost visokim koncentracijama metala, već i da ih akumuliraju u jednom visokom stepenu. Kao i u slučaju prethodne strategije i ovde se moraju napraviti razlike - ova druga puta između biljaka koje imaju visoko usvajanje metala, ali ograničavaju njihovu akumulaciju na koren i biljaka koje akumuliraju metale, ali ih pre svega transportuju u nadzemne delove. Ovi poslednji tipovi biljaka prepoznati su kao hiperakumulatori metala. Oba tipa biljaka kombinuju visoku toleranciju tkiva prema toksičnim metalima sa visokom sposobnošću da ih akumuliraju. Kod hiperakumulatora, metali se detoksifikuju helatizacijom u citosolu, sekvestracijom u vakuole, ili konfiskacijom u apoplastu. Ukoliko se metali translociraju iz korena do nadzemnih delova, putem ksilema i distribuiraju preko tkiva spoljašnjih organa, oni najčešće bivaju kompartmentalizovani, ili sekvestrirani u tkivima koja su fotosintetički neaktivna, kao što su epidermis, ili tkiva-depoi: trihome i ostarelo lišće.

Velika efikasnost u detoksifikaciji i sekvestraciji su ključne osobine hiperakumulatora koje im dozvoljavaju da koncentruju velike količine teških metala u nadzemnim organima, bez doživljavanja bilo kakvog fitotoksičnog efekta, što ih upravo čini idealnim rešenjem za primenu u fitoekstrakciji/fitoakumulaciji, kao najznačajnijem i najefikasnijem vidu fitoremedijacije.

LITERATURA

- [1] Alagić SČ, Šerbula SS, Tošić SB, Pavlović AN, Petrović JV. (2013) Bioaccumulation of Arsenic and Cadmium in Birch and Lime from the Bor Region, Arch Environ Contam Toxicol 65(4), 671-682.
- [2] Antonijević MM, Dimitrijević MD, Milic SM, Nujkic MM (2012) Metal concentrations in the soils and native plants surrounding the old flotation tailings pond of the Copper Mining and Smelting Complex Bor (Serbia). J Environ Monit 14, 866-877.
- [3] Maric M, Antonijević M, Alagic S. (2013) The investigation of the possibility for using some wild and cultivated plants as hyperaccumulators of heavy metals from contaminated soil, Environ Sci Poll Res 20(2), 1181-1188.
- [4] Tangahu BV, Abdullah SRS, Basri H, Idris M, Anuar N, Mukhlisin M. (2011) A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation. Int J Chem Eng doi: 10.1155/2011/939161
- [5] Vameralli T, Bandiera M, Mosca G. (2010) Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. Environ Chem Lett 8, 1-17.
- [6] Bhargava A, Carmona FF, Bhargava M, Srivastava S. (2012) Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals, Review. J Environ Manage 105, 103-120.
- [7] Peralta-Videa JR, Lopez ML, Narayan M, Saupé G, Gardea-Torresdey J. (2009) The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. Int J Biochem Cell B 41, 1665-1677.
- [8] Lin Y-F, Aarts MGM. (2012) The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. Cell Mol Life Sci 69, 3187-3206.
- [9] Rascio N, Navari-Izzo F. (2011) Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? Plant Sci 180, 169-181.
- [10] Marques APGC, Rangel AOSS, Castro PML. (2009) Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up Technology. Crit Rev Env Sci Tec 39, 622-654.
- [11] Gonnelli C, Renella G (2012) Chromium and Nickel. In Alloway BJ (ed) Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. Environmental Pollution (22). Third Edition, Springer Dordrecht Heidelberg New York London, pp 313-334
- [12] Yusuf M, Fariduddin Q, Hayat S, Ahmad A. (2011) Nickel: An Overview of Uptake, Essentiality and Toxicity in Plants. Bull Environ Contam Toxicol 86 (1), 1-17.
- [13] Boyd RS. (2011) The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: status, challenges and new directions. Plant Soil 293, 153-176.
- [14] Sarma H, Metal Hyperaccumulation in Plants: A Review Focusing on Phytoremediation Technology. J Environ Sci Technol 4(2), 118-138.
- [15] Verbruggen N, Hermans C, Schat H. (2009) Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. New Phytol 181, 759-776.

ABSTRACT

PLANTS STRATEGIES AGAINST METAL PHYTOTOXICITY AS A KEY PREREQUISITE FOR AN EFFECTIVE PHYTOREMEDIATION: EXCLUDERS AND HYPERACCUMULATORS, PART II

Plants have a wide range of mechanisms which can be activated in the processes of heavy metal detoxification and tolerance. The most successful mechanisms have been developed by specific plant species, known as hyperaccumulators, which may accumulate enormous concentrations of these dangerous pollutants in their above ground parts. This is a strategy which was efficiently exploited for phytoremediation purposes, as a relatively new, but economically and environmentally highly sufficient technology for the soil and water remediation.

Key words: heavy metals, excluders, hyperaccumulators, phytoremediation.

Scientific paper

Received for Publication: 08.03.2014.

Accepted for Publication: 28.05.2014.