

## ROŚLINY MODYFIKOWANE GENETYCZNIE A STRATEGIE OCZYSZCZANIA GLEB Z METALI CIĘŻKICH\*

### GENETICALLY MODIFIED PLANTS AND STRATEGIES OF SOIL REMEDIATION FROM HEAVY METALS

Agnieszka MIEREK-ADAMSKA, Grażyna DĄBROWSKA, Anna GOC

Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej, Zakład Genetyki,  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

*Streszczenie:* Metale ciężkie zarówno te niezbędne do życia mikroelementy, jak i te niepełniące żadnych fizjologicznych funkcji stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Działalności ludzi doprowadziła do pojawienia się ogromnych ilości tych metali w glebach na całym świecie. Ze względu na wysoką toksyczność metali ciężkich istnieje pilna potrzeba rozwinięcia efektywnych i tanich metod remediacji gleb. Konwencjonalne metody remediacji gleb są mało efektywne i drogie oraz często powodują zniszczenie naturalnych siedlisk. Efektem jest rozwój metod alternatywnych, takich jak fitoremediacja, w której rośliny są wykorzystywane jako organizmy oczyszczające gleby z ksenobiotyków, w tym także metali ciężkich. Istnieje wiele różnorodnych technik fitoremediacyjnych. Do remediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi przydatne mogą być następujące techniki: fitoekstrakcja, fitostabilizacja oraz fitoulatnianie. Fitoekstrakcja polega na usuwaniu zanieczyszczeń z gleby, które są następnie magazynowane w pędach roślin. W przeciwieństwie do fitoekstrakcji, fitostabilizacja nie pozwala na usunięcie zanieczyszczeń z gleby, są one tylko stabilizowane i przez to niedostępne dla innych organizmów. Fitoulatnianie umożliwia biologiczną konwersję metali w formę gazową i ich uwolnienie do atmosfery. Chociaż w naturze istnieją gatunki roślin zdolne do fitoremediacji, to ich wydajność oczyszczania terenów zdegradowanych jest ograniczona. Naturalne fitoremediatory stanowią jednak doskonały model badań komórkowych mechanizmów leżących u podstaw naturalnej odporności na wysokie stężenia metali ciężkich. Wskazanie genów zaangażowanych w te procesy umożliwi uzyskiwanie w przyszłości transgenicznych odmian zdolnych do fitoremediacji dużych zdegradowanych terenów. Obecnie najwięcej prób utworzenia takich odmian podejmuje się wykorzystując geny kodujące ligandy wiążące metale ciężkie, białka transportujące jony metali oraz enzymy związane z biologicznym przekształcaniem rtęci w formę gazową. Uzyskiwane wyniki pozostają niejednoznaczne. Jednakże w związku z wzrastającą potrzebą uzyskania taniego i efektywnego sposobu remediacji gleb prace są intensyfikowane i być może w bliskiej przyszłości fitoremediacja stanie się tanim i skutecznym sposobem oczyszczania gleb.

*Słowa kluczowe:* fitoremediacja, metale ciężkie, inżynieria genetyczna, remediacja środowiska.

\*Praca współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego, Działania 2.6 "Regionalne Strategie Innowacyjne i transfer wiedzy" projektu własnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego "Stypendia dla doktorantów 2008/2009 – ZPORR".

*Summary:* Heavy metals these which are essential for life microelements and these which do not fulfil physiological roles, pose a serious threat for health of human and animals. Human activity has entailed that large amounts of these metals are deposited in soils all over the world. Because of the toxicity of heavy metal there is an urgent necessity to develop efficient and inexpensive methods of soil remediation. The conventional methods of remediation are rather ineffective and expensive, and often may destroy natural habitats. As a result some alternative methods have arisen. One of this methodologies is phytoremediation. In this method plants are used as cleaners of soils from heavy metal. Phytoremediation comes into several forms. For metal-contaminated sites may be useful techniques like phytoextraction, phytostabilisation or phytovolatilisation. Phytoextraction refers to the uptake pollutants which are then accumulate within the shoots. In contrast, phytostabilisation do not allow to remove pollutants from soils. They are stabilized and not available for other organisms. Phytovolatilisation allows to biologically convert metals into gaseous form and then release them into the atmosphere. Although there are some plant species able to phytoremediation, their efficiency in remediation of degraded areas is limited. Natural phytoremediators are perfect model for studies of cellular mechanism involved in natural resistance for high concentration of heavy metal ions. Indicating genes involved in heavy metal resistance allows getting in the future transgenic plants which will be able to phytoremediation large desolate sites. At the moment the most popular genes using for creating transgenic phytoremediators are genes encoded metal-binding ligands, transporters of metal ions or enzymes involved in converting mercury into gaseous form. The results remain elusive. However because of the rising need of obtainment effective and inexpensive method of soil remediation works are still intensified. In the nearest future phytoremediation may become inexpensive and effective method of soil remediation.

*Key words:* phytoremediation, heavy metals, genetic engineering, environmental remediation.

## 1. WSTĘP

Jednym z istotnych czynników zanieczyszczających gleby są metale ciężkie – metale o dużej gęstości, takie jak: Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Pb, Cd, Hg, Ag. Wśród metali ciężkich można znaleźć mikroelementy niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Przykładem jest cynk będący kofaktorem wielu enzymów czy miedź, która jest istotnym składnikiem reakcji transportowania elektronów, przy udziale takich enzymów jak dysmutaza ponadtlenkowa, oksydaza cytochromu c czy plastocyanina. Drugą grupę metali ciężkich stanowią metale, takie jak ołów czy kadm, które według obecnej wiedzy nie pełnią żadnych fizjologicznych funkcji. Metale te ze względu na wysoką reaktywność z atomami siarki i azotu w cząsteczkach białek są wysoce toksyczne dla organizmów żywych [5].

Większość metali ciężkich pojawia się w glebie na skutek naturalnie zachodzących procesów, nie są to jednak ilości niebezpieczne dla ludzi, zwierząt czy roślin. Największe ilości metali ciężkich zdeponowanych w glebie są skutkiem działalności człowieka. Antropogenicznym źródłem tych pierwiastków są przede wszystkim: przemysł wydobywczy, metalurgiczny, papierniczy, spalanie węgla i paliw płynnych, a także nawozy sztuczne i organiczne, pestycydy, farby malarskie, ścieki i odpady komunalne czy komunikacja samochodowa [25, 60].

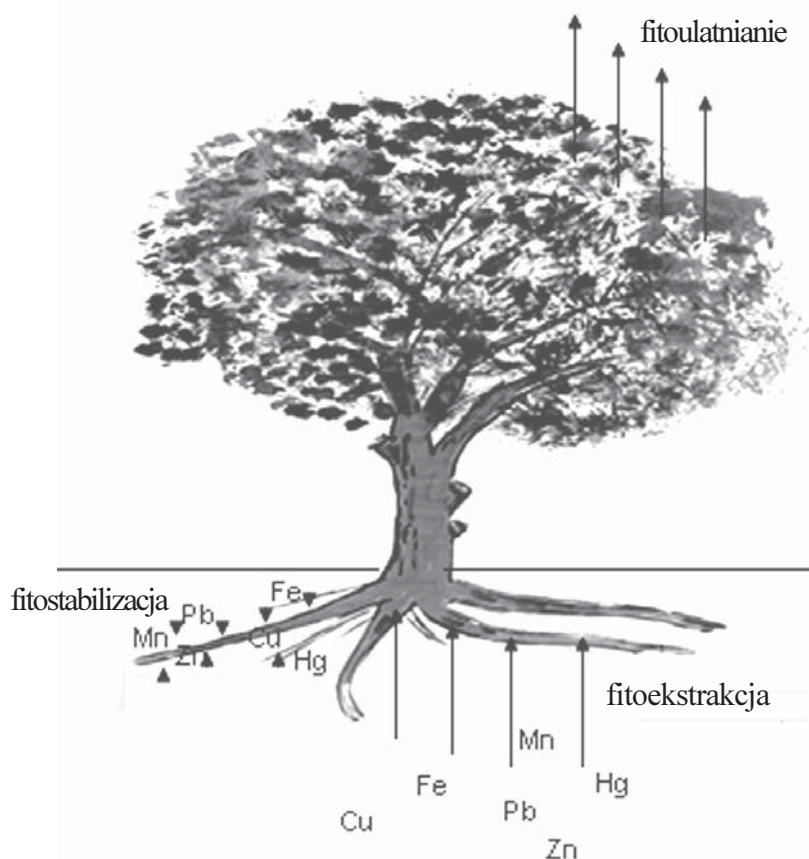
Mimo istnienia wielu fizycznych i chemicznych metod remediacji zanieczyszczonych gleb, obecnie coraz większe zainteresowanie budzą biologiczne metody oczyszczania gleb za pomocą mikroorganizmów (bioremediacja) oraz roślin (fitoremediacja). Mikroorganizmy są wykorzystywane do usuwania, redukcji bądź przekształcania głównie zanieczyszczeń organicznych (np. rozpuszczalników, węglodorów poliaro-

matycznych). W ostatnich latach podjęto próby zastosowania mikroorganizmów do usuwania zanieczyszczeń metalicznych, w tym także radioaktywnych [55].

W niniejszej pracy przeglądowej podjęto próbę podsumowania najnowszych osiągnięć w pracach nad fitoremediacją metali ciężkich z wykorzystaniem transgenicznych fitoremediatorów.

## 2. FITOREMEDIACJA

Fitoremediacja polega na wykorzystaniu roślin, naturalnie występujących lub genetycznie modyfikowanych, do oczyszczania gleb, wód lub osadów z różnego rodzaju zanieczyszczeń zarówno organicznych, jak i nieorganicznych. Termin fitoremediacja dotyczy szeregu różnorodnych procesów: m.in. fitoekstrakcji, fitostabilizacji, fitoulatniania, fitofiltracji, fitodegradacji, fitotransformacji [44]. Niektóre z technik fitoremediacyjnych mają potencjalne zastosowanie w oczyszczaniu gleb z



RYCINA 1. Schematyczne przedstawienie procesów fitoremediacyjnych: fitoekstrakcji, fitostabilizacji, fitoulatniania [58], zmodyfikowane

FIGURE 1. Schematic drawing of phytoremediation techniques: phytoextraction, phytostabilisation, phytovolatilisation [58], modified

metali ciężkich (ryc. 1). Metale ciężkie są szczególnym rodzajem zanieczyszczeń, ponieważ nie mogą być transformowane do mniej toksycznych form.

### 2.1. Fitoekstrakcja

Rośliny pobierają z gleby, wody lub osadów różnorodne zanieczyszczenia, w tym także metale ciężkie, a następnie magazynują je w organach nadziemnych. Proces ten, określany jako fitoekstrakcja, wydaje się być prosty, przyjazny środowisku i stosunkowo tani. Jednak jego wykorzystanie jest ograniczone, ponieważ oczyszczanie podłoża jest długotrwałe, oczyszczać można tylko powierzchniową warstwę gleby i nie wszystkie rodzaje zanieczyszczeń mogą być w ten sposób usuwane. Ponadto zanieczyszczenia mogłyby przedostać się do łańcucha pokarmowego, gdyby rośliny zostały zjedzone przez zwierzęta roślinożerne [59]. Wydajność fitoekstrakcji zależy przede wszystkim od tolerancji tkanek roślinnych na podwyższone stężenie metali

ciężkich oraz możliwość szybkiej produkcji biomasy przez rośliny [27].

TABELA 1. Zestawienie fizjologicznych i toksycznych stężeń metali ciężkich [49], zmodyfikowane

TABLE 1. List of physiological and toxic concentration of heavy metals [49], modified

Metal	Stężenie [ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ]	
	normalne	toksyczne
Ołów	0,5–10	30–300
Kadm	0,05–2	3–10
Miedź	3–30	15–30
Żelazo	30–300	400–500
Cynk	10–150	200–300

W przyrodzie występują rośliny naturalnie tolerujące podwyższone stężenia metali ciężkich, np. *Thlaspi caerulescens* (tobołki alpejskie), *Arabidopsis hallerii* czy *Solanum nigrum* (psianka czarna), określane jako tzw. hiperakumulatory. Mianem hiperakumulatorów określa się rośliny tolerujące w tkankach średnio 100–1000-krotnie wyższe stężenie metali ciężkich w porównaniu z roślinami zasiedlającymi gleby niezanieczyszczone metalami ciężkimi [1]. Większość naturalnie występujących hiperakumulatorów to jednoroczne

rośliny z małym przyrostem biomasy, nienadające się więc do powszechnego zastosowania [43]. Wydaje się, że w fitoekstrakcji na szeroką skalę, większe zastosowanie mają szansę znaleźć drzewa o szybkim przyroście biomasy, np. różne gatunki z rodzaju *Salix* spp. (wierzba). Są to rośliny szybko rozprzestrzeniające się, osiągające wysoką roczną produkcję biomasy oraz mające wysoką tolerancję na metale ciężkie [27, 37]. Nawet rośliny będące hiperakumulatorami mają ograniczoną odporność na ilość metali ciężkich w tkankach. Zbyt wysokie stężenie metali ciężkich w organizmie może być toksyczne i powodować uszkodzenie komórek (tab. 1).

### 2.2. Fitostabilizacja

Proces polegający na unieruchamianiu zanieczyszczeń, w tym także metali ciężkich to fitostabilizacja. Proces ten może polegać na przekształcaniu w mniej rozpuszczalne formy, wiązaniu metali z organicznymi cząsteczkami produkowanymi przez korzenie roślin (składniki tzw. eksudatów korzeniowych), sorpcji metali na powierzchni korzeni lub cząstek glebowych [40]. Fitostabilizacja nie pozwala na usunięcie zanieczyszczeń z gleby, ale zmniejsza ich biodostępność definiowaną jako

frakcję zanieczyszczeń, która może wchodzić w interakcję z organizmami żywymi. Ta stosunkowo tania i nieinwazyjna technologia umożliwia remediację dużych powierzchni zanieczyszczonych gleb [52].

Rośliny, które potencjalnie mogłyby znaleźć zastosowanie w fitostabilizacji, muszą charakteryzować się przede wszystkim niskim współczynnikiem translokacji (stosunek stężenia metali w pędzie do stężenia metali w korzeniu), szybkim wzrostem oraz rozległym systemem korzeniowym. Większość gatunków, które potencjalnie mogłyby być użyte w tej technice, to trawy, krzewy lub drzewa naturalnie występujące na terenach pokopalnianych [39].

### 2.3. Fitoulatnianie

Fitoulatnianie to proces polegający na uwalnianiu do atmosfery w postaci gazowej, pobranych wcześniej z gleby metali ciężkich. Spośród metali ciężkich wyłącznie rtęć może występować w postaci gazowej, natomiast ta technika może dotyczyć również metaloidów, takich jak arsen czy selen. Jest to najmniej poznana i najbardziej kontrowersyjna technologia fitoremediacyjna. Rtęć jest wysoce toksyczna, w związku z tym uwalnianie jej do atmosfery w postaci gazowej jest niebezpieczne, następuje także utrata kontroli nad raz usuniętymi zanieczyszczeniami [44]. Istnieją jednak argumenty przemawiające za tym sposobem oczyszczania gleby. Jednym z nich jest obniżenie kosztów remediacji, ponieważ nie ma konieczność usuwania dużych ilości biomasy bogatej w rtęć, nie potrzeba także dodatkowych związków chemicznych redukujących rtęć do postaci gazowej ( $Hg^0$ ) oraz pierwiastek ten nie jest magazynowany w tkankach roślinnych i nie ma możliwości przedostania się do łańcucha pokarmowego [42].

## 3. NATURALNE FITOREMEDIATORY A INŻYNIERIA GENETYCZNA

W przyrodzie istnieje szereg gatunków, które mają zdolność do wzrostu i rozwoju na glebach zanieczyszczonych bardzo wysokimi stężeniami metali ciężkich. W zależności od właściwości rośliny są przydatne w określonej technice fitoremediacyjnej (tab. 2).

Rośliny przydatne w procesach fitoremediacji powinny charakteryzować się: (i) rozwiniętym systemem korzeniowym, (ii) szybkim wzrostem, (iii) produkcją dużej ilości biomasy, (iv) zdolnością do akumulacji i tolerancji bardzo wysokich stężeń metali ciężkich [13]. Żaden z wielu naturalnych fitoremediatorów nie spełnia wszystkich wymienionych wymagań. Jednak zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw naturalnej fitoremediacji daje możliwość uzyskania odmian transgenicznych będących idealnymi fitoremediatorami. Rośliną, najczęściej wykorzystywaną w badaniach dotyczących naturalnej odporności roślin na wysokie stężenia metali ciężkich, jest *Thlaspi caerulescens*. Porównanie jej mechanizmów detoksyfikacji metali ciężkich z inną rośliną z rodziny kapustowatych *Thlaspi arvense* (tobołki polne) pozwala na wyselekcjonowanie potencjalnych genów użytecznych w tworzeniu rośliny transgenicznej skutecznej w fitoremediacji. Wydaje się, że kandydatów należy poszukiwać

TABELA 2. Przykłady gatunków roślin uznawanych za naturalne fitoremediatory  
 TABLE 2. Examples of plant species recognized as natural phytoremediators

Gatunek rośliny	Rodzina	Technika fitoremediacyjna	Rodzaj zanieczyszczeń	Piśmiennictwo
Tobołki alpejskie	<i>Brassicaceae</i>	fitoekstrakcja	cynk	[2]
Słonecznik ozdobny	<i>Asteraceae</i>		arsen, kadm, nikiel	[24]
Psianka czarna	<i>Solanaceae</i>		kadm	[63]
Kapusta rzepak	<i>Brassicaceae</i>		kadm	[35]
<i>Piptatherum miliaceum</i>	<i>Poaceae</i>	fitostabilizacja	miedź, ołów, cynk	[10]
<i>Atriplex canescens</i>	<i>Chenopodiaceae</i>		arsen, rtęć, mangan, ołów	[51]
Trzęślica modra	<i>Poaceae</i>		ołów, kadm, cynk	[31]
<i>Dalea bicolor</i>	<i>Fabaceae</i>		kadm, miedź, mangan, ołów, cynk	[15]

wśród genów kodujących transportery metali ciężkich lub kodujących ligandy wiążące metale ciężkie [41]. W zależności od techniki fitoremediacyjnej różne szlaki metaboliczne odgrywają istotną rolę (tab. 3) [47].

Tolerancja i zdolności do akumulacji dużych ilości metali ciężkich w komórkach roślinnych są związane między innymi z obecnością białkowych chelatorów jonów metali. Pobieranie jonów metali przez korzenie i ich transport do pędu wymaga udziału specyficznych białek transportujących, a do biotransformacji potrzebne są enzymy umożliwiające zmianę stopnia utlenienia pierwiastków [47].

W komórkach roślinnych istnieją dwa rodzaje białkowych chelatorów metali ciężkich: metalotioneiny (MT) i fitochelatyny (PC). Białka te mają zdolność do wiązania jonów metali ciężkich dzięki zawartości dużych ilości reszt cysteinowych. Roślinne metalotioneiny mają od 9 do 16 reszt cysteinowych zgrupowanych w dwóch domenach na C- i N-końcu białka lub ewentualnie w trzech domenach. Metalotioneiny są kodowane w genomie jądrowym, natomiast fitochelatyny syntetyzowane enzymatycznie przez syntetazę fitochelatynową (PCS, EC 2.3.2.15) z glutationu. Najbardziej efektywnym aktywatorem PCS są jony kadmu, które następnie w kompleksie z fitochelatynami są przenoszone do wakuoli [7, 8, 29].

W genomach roślinnych geny kodujące transportery metali ciężkich stanowią duże rodziny genowe. W ostatnich latach zidentyfikowano szereg transporterów metali ciężkich należących przede wszystkim do następujących rodzin: ATPazy typu P podrodzina P<sub>1B</sub>, CDF (ang. *Cation Diffusion Facilitator*), Nramp (ang. *Natural*

TABELA 3. Procesy istotne dla poszczególnych technik fitoremediacyjnych  
 TABLE 3. Processes important for each phytoremediation techniques

	Tolerancja	Pobieranie przez korzenie	Akumulacja w korzeniach	Transport do pędów	Biotransformacja
fitoekstrakcja	+	+		+	
fitostabilizacja	+		+		
fitoulatnianie	+	+		+	+



*resistance associated macrophage protein*), ZIP (ang. *Zinc-regulated transporter Iron-regulated transporter-like Protein*), YSL (ang. *Yellow Stripe1-Like*) czy rodzina ABC (ang. *ATP-Binding Cassette*). Poszczególne rodziny różnią się specyficznością substratową, przy czym możliwy jest transport nie tylko niezbędnych mikroelementów, ale także metali, takich jak kadm czy ołów. Transportery metali ciężkich są zlokalizowane nie tylko w błonie komórkowej, ale także w wewnętrznych błonach: wakuoli, aparatu Golgiego, siateczki śródplazmatycznej czy plastydów. To zróżnicowanie wydaje się być odzwierciedleniem różnych funkcji fizjologicznych poszczególnych typów transporterów [9, 17, 19, 30].

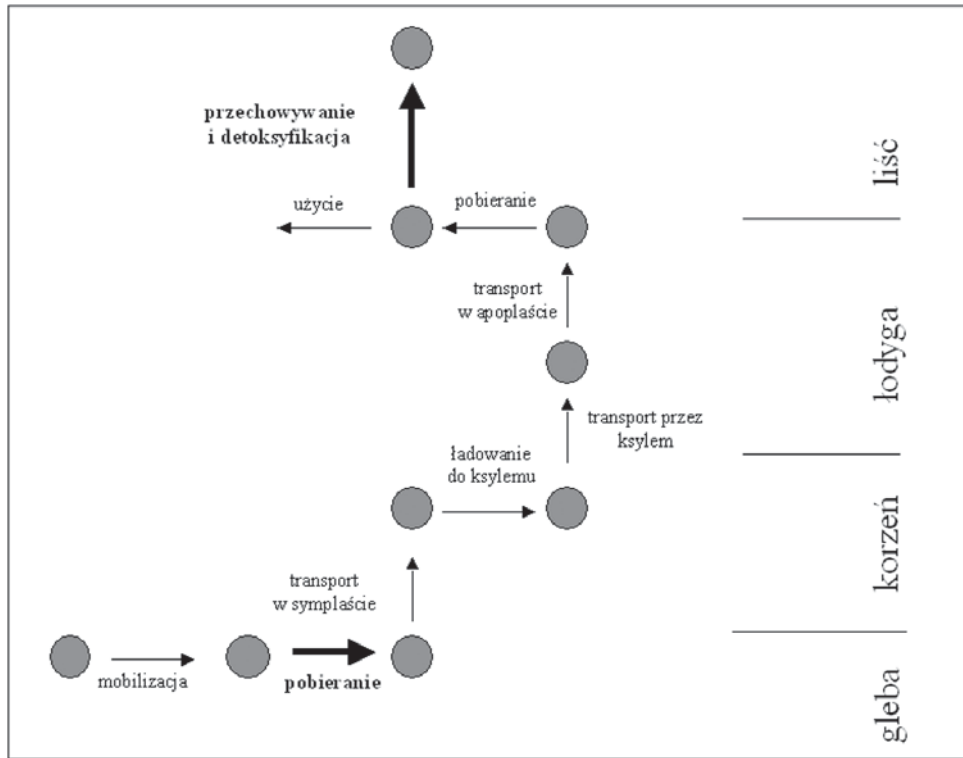
Rośliny nie mają enzymów umożliwiających redukcję jonów rtęci do postaci gazowej [22]. Możliwe jest jednak stworzenie roślin transgenicznych z genami bakteryjnymi, ponieważ niektóre bakterie mają geny odporności na rtęć zwykle zorganizowane w operon *mer*. W skład tego operonu wchodzi: *merA* kodujący reduktazę jonów rtęci, *merB* – liazę organicznych pochodnych rtęci, *merP*, *merT*, *merC*, *merE*, *merG*, których produkty są zaangażowane w transport jonów rtęci [3].

### 3.1. Dotychczasowe osiągnięcia w tworzeniu idealnego fitoremediatora

Inżynierię genetyczną można wykorzystać w celu uzyskania idealnego fito-remediatora przez: (i) przekształcenie naturalnych hiperakumulatorów w rośliny o szybkim wzroście z dużą produkcją biomasy lub (ii) nadanie cech oporności na wysokie stężenia metali ciężkich roślinom o szybkim wzroście i dużą produkcją biomasy [1].

Szlaki zaangażowane w homeostazę metali ciężkich w komórce roślinnej są złożone, a ich poznanie jest niezbędne do tworzenia transgenicznych fitoremediatorów (ryc. 2). Obecne badania skupiają się szczególnie na poznaniu mechanizmów pobierania metali z gleby oraz sposobach ich przechowywania i detoksyfikacji w organach nadziemnych roślin [6].

Jedną z najpowszechniejszych dróg uzyskiwania roślin o zwiększonej tolerancji na metale ciężkie są modyfikacje genów metalotionein i/lub genów zaangażowanych w syntezę fitochelatyn lub glutationu. Wielokrotnie wykazano zwiększoną tolerancję transformowanych komórek lub transgenicznych roślin z nadekspresją genów metalotionein na podwyższone stężenia metali ciężkich. Efektem wprowadzenia genu MT z *Arabidopsis thaliana* (rzodkiewnik pospolity) do komórek szparkowych *Vicia faba* (wyka bób) była zwiększona odporność tych komórek na kadm. W przeciwieństwie do fitochelatyn nie wykazano transportu metalotionein i jonów metali ciężkich do wakuoli [33]. Transgeniczny tytoń z nadekspresją drożdżowej metalotioneiny CUP1 miał zwiększoną oporność na kadm [45]. Podobnie rośliny transgeniczne *A. thaliana* z nadekspresją MT uzyskaną z *Brassica juncea* (kapusta sitowata) wykazywały zwiększoną odporność na kadm i miedź. Jednakże korzenie roślin transgenicznych były krótsze w porównaniu z korzeniami roślin typu dzikiego, kiedy w podłożu hodowlanym brakowało jonów miedzi. Prawdopodobnie było to spowodowane zaburzeniami w homeostazie tych jonów [66]. Transgeniczny tytoń z nadekspresją MT z *Silene vulgaris* L. (lepnica rozdęta) wykazywał większe możliwości akumulacji jonów kadmu w korzeniach i pędach w porównaniu z roślinami



RYCINA 2. Schematyczna droga metali od gleby do miejsc zużycia i/lub przechowywania w liściach. Pogrubione strzałki wskazują etapy największego zainteresowania w dziedzinie tworzenia transgenicznych fitoremediatorów [6], zmodyfikowane

FIGURE 2. Diagram of trace of metal ions from soil to the place of using and/or storage within leaves. Bold arrows indicate stages which are the most interesting for creating transgenic phytoremediators [6], modified

kontrolnymi [16]. Podobne niejednoznaczne wyniki uzyskuje się transformując rośliny genem syntetazy fitochelatynowej. Wykazano zwiększoną tolerancję na jony kadmu transgenicznych roślin tytoniu z nadekspresją *PCS*. U badanych roślin stwierdzono również zwiększoną akumulację kadmu w pędach i korzeniach, szczególnie przy podawaniu glutationu, ale współczynnik translokacji nie zmienił się [48]. *Nicotiana glauca* (tytoń szary) z nadekspresją genu *PCS*, uzyskanego z rośliny będącej hiperakumulatorem *Thlaspi caerulescens*, akumulował w swoich tkankach 24-krotnie więcej kadmu i ponad 36-krotnie więcej ołowiu. Transformowane rośliny tytoniu miały też zdolność przeżycia na bardziej zanieczyszczonych glebach niż *T. caerulescens* [36]. Jednakże, w późniejszych pracach innej grupy badawczej transgeniczny tytoń z nadekspresją genu *PCS* rzodkiewnika (*AtPCS*) wykazywał zwiększoną tolerancję na kadm, jednakże nie stwierdzono wyższego poziomu akumulacji tego pierwiastka w pędach i korzeniach transgenicznych roślin [14]. Ostatnie doniesienia wskazują, że potencjalnie użyteczne w fitoremediacji będą geny *PCS*, ale jedynie wybranych gatunków. Paradoksalnie w tytoniu nadekspresja *AtPCS* spowodowała nadwrażliwość transgenicznych roślin na kadm, a użycie genu z *Caenorhabditis elegans* dało rośliny



o zwiększonej tolerancji na kadm [64]. Powody uzyskiwania tak różnych wyników pozostają niejasne. W tym aspekcie bardzo ciekawych obserwacji dostarcza doświadczenie, w którym genem *AtPCS* transformowano wczesne zarodki *Danio rerio* (danio pręgowane). Takie zarodki były odporniejsze na kadm niż kontrolne. Doświadczenie to potwierdza istotną rolę syntetazy fitochelatynowej w uzyskiwaniu fenotypu odpornego na jony metali ciężkich [28].

Transgeniczny tytoń z nadekspresją trzech genów, zaangażowanych w syntezę glutationu i fitochelatyn: acetylotransferazy seryny (EC 2.3.1.30),  $\gamma$ -glutamylcysteiny ( $\gamma$ -ECS; EC 6.3.2.2) i PCS, nie wykazywał zwiększonej tolerancji na kadm w porównaniu z roślinami kontrolnymi [62]. Późniejsze prace, w których rzodkiewnik transformowano genami kodującymi  $\gamma$ -ECS i PCS, wykazały, iż transgeniczne rośliny cechowały się zwiększoną odpornością na kadm i arsen, przy jednoczesnym podwyższeniu akumulacji tych jonów w tkankach. Strategia ta wydaje się być obiecującym narzędziem fitoremediacji [18].

Szereg interesujących rezultatów uzyskano analizując transgeniczne rośliny z nadekspresją genów kodujących transportery metali ciężkich. Rodzina transporterów ABC jest jedną z największych rodzin białek w organizmach żywych. U rzodkiewnika jest około 130 białek z tej rodziny. Transgeniczne rośliny *A. thaliana* z nadekspresją drożdżowego genu kodującego transporter YCF1 z rodziny ABC wykazywały cechy roślin przydatnych do fitoremediacji: (i) zwiększoną odporność na ołów i kadm, (ii) zwiększoną akumulację kadmu w wakuoli, (iii) zwiększoną zawartość ołowiu i kadmu w pędzie. Rośliny transgeniczne rosnące na pożywce zawierającej jony ołowiu miały bardziej zielone liście, dłuższe korzenie oraz większą biomasa w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Rośliny te były bardziej odporne na jony metali ciężkich dzięki transportowi tych jonów do organellum o niskiej aktywności metabolicznej, jakim jest wakuola, wykazywały więc cechę niezbędną w fitoremediacji [54]. Podobne wyniki otrzymano dla rzodkiewnika transformowanego genem *AtATM3* (ang. *A. thaliana ABC Transporter of the Mitochondrion homolog*). Transgeniczne rośliny wykazywały zwiększoną tolerancję na kadm i ołów oraz zwiększoną zawartość kadmu i ołowiu w tkankach. Mutanty *atm3* były bardziej wrażliwe na kadm, ale nie na ołów [26]. Podobną zwiększoną odporność na kadm wykazywał transgeniczny tytoń z nadekspresją ludzkiego genu *hmrp1* (ang. *human multidrug resistance-associated protein*) kodującego transporter z rodziny ABC. W tym przypadku nie stwierdzono zwiększonej akumulacji jonów Cd(II) w tkankach transgenicznych roślin [65].

Transgeniczny rzodkiewnik z nadekspresją *AtNramp4* wykazywał niewielką nadwrażliwość na jony kadmu w porównaniu z roślinami typu dzikiego. Nie stwierdzono również zwiększonej akumulacji jonów kadmu w tkankach transgenicznych roślin [32]. Transgeniczny *A. thaliana* z nadekspresją *AtNramp3* na pożywce zawierającej kadm miał wyraźnie skrócone korzenie w porównaniu z roślinami kontrolnymi [56]. Natomiast transgeniczne rośliny rzodkiewnika z nadekspresją *AtNramp1* wykazywały zwiększoną odporność na toksyczne stężenie jonów żelaza w porównaniu z roślinami kontrolnymi [11].

Gen *AtHMA4*, należący do podrodziny ATPaz typu P<sub>1B</sub>, może mieć potencjalne zastosowanie w fitoremediacji. Transgeniczne rośliny z nadekspresją tego trans-

portera wykazywały zwiększoną odporność na cynk, kadm czy kobalt, a także zwiększony współczynnik translokacji zanieczyszczeń z korzeni do pędu, co jest istotnym aspektem procesu fitoremediacji. Być może transformowanie roślin genem *AtHMA2* przyniesie podobne obiecujące wyniki [61].

Badania dotyczące genów kodujących białka z rodziny ZIP doprowadziły do otrzymania transgenicznego ryżu z nadekspresją *OsZIP4*, który akumulował w swoich tkankach większe ilości cynku. Rośliny nie miały zwiększonego współczynnika translokacji tego pierwiastka z korzeni do pędu [23]. Podobnie transgeniczny jęczmień z nadekspresją *AtZIP1* wykazywał zwiększoną akumulację cynku [50].

Mimo że fitoulatnianie jest techniką fitoremediacyjną, budzącą najwięcej kontrowersji, podejmuje się próby uzyskania transgenicznych roślin zdolnych do fitoulatniania rtęci. W przypadku genu *merA* niemożliwe jest transformowanie roślin genem bakteryjnym ze względu na wysoką zawartość par GC, co uniemożliwia stabilną i wysoką ekspresję w tkankach roślinnych. Jednakże ukierunkowana mutageneza tej sekwencji pozwoliła na utworzenie wielu transgenicznych gatunków roślin zdolnych do fitoulatniania rtęci. Transgeniczny tytoń był bardziej odporny na jony rtęci. Przy wysokim stężeniu jonów Hg w podłożu hodowlanym rośliny transgeniczne kiełkowały i rosły bez żadnych widocznych uszkodzeń tkanek, podczas gdy część roślin kontrolnych nie kiełkowała na takim podłożu [20]. Podobnie odporne rośliny uzyskano po transformacji genomu chloroplastowego tytoniu genami *merA* i *merB*. Rośliny te były zdolne do akumulacji znacznie większych ilości rtęci niż rośliny kontrolne [22]. Transgeniczny rzodkiewnik z nadekspresją *merC* jest nadwrażliwy na rtęć, a nie wykazuje wrażliwości na kadm, co wskazuje, że u tych roślin MerC jest funkcjonalnym i specyficznym transporterem jonów rtęci [53]. Natomiast rzodkiewnik z ekspresją *merP* wykazywał zwiększoną tolerancję na wysokie stężenie jonów rtęci oraz kadmu i ołowiu. Rośliny te wykazywały również zwiększoną akumulację tych metali w tkankach w porównaniu z roślinami kontrolnymi [21]. Wydaje się, że geny *MerC* i *MerP* mogą być istotnymi elementami w uzyskiwaniu transgenicznych roślin zdolnych do fitoulatniania rtęci.

#### 4. PODSUMOWANIE/PERSPEKTYWY

W ostatnich latach gwałtownie wzrasta liczba publikacji dotyczących różnych technik fitoremediacyjnych, a w związku z tym został dokonany ogromny postęp w zwiększeniu efektywności i jakości fitoremediacji. Jednakże, metoda ta, oprócz wielu wspomnianych już zalet, ma wiele niedoskonałości: (i) jej wykorzystanie ogranicza się do powierzchniowych zanieczyszczeń gleby i jest wolniejsza niż metody mechaniczno-fizyczne, (ii) stwarza możliwość wejścia zanieczyszczeń do łańcucha pokarmowego, (iii) możliwy jest także fitotoksyczny efekt zanieczyszczeń [12]. Mimo wad w połączeniu ze spalaniem powstałej biomasy do produkcji ciepła lub elektryczności fitoremediacja może stać się jedną z najważniejszych technik oczyszczania środowiska [46]. Nie ulega wątpliwości, że dalszy postęp w dziedzinie fitoremediacji

wymaga badań z udziałem ekspertów z wielu dziedzin nauki, takich jak: botanika, fizjologia roślin, biochemia, geochemia, inżynieria rolnictwa, mikrobiologia czy inżynieria genetyczna [4]. W świetle istniejących danych literaturowych oczywiste jest, że kluczem do sukcesu w tworzeniu roślin transgenicznych będących dobrymi fitoremediatorami, jest zrozumienie mechanizmów naturalnej fitoremediacji. Niestety mimo licznych badań mechanizmy te pozostają w dużej mierze nieznane. Do czasu ich wyjaśnienia jedynym narzędziem wydaje się metoda prób i błędów [57]. Obecny stan wiedzy sugeruje, że oczyszczanie gleb na skalę przemysłową będzie możliwe dzięki organizmom modyfikowanym genetycznie. Jednakże problemem jest nie tylko uzyskanie takich roślin, ale także konieczność zmian w istniejącym prawodawstwie oraz przełamania niechęci opinii publicznej do organizmów transgenicznych [34].

Przytoczeniu kilku danych liczbowych pozwala na uzmysłwienie sobie powągi sytuacji: powierzchnia Unii Europejskiej to około 52 mln hektarów, z czego 16% to tereny zanieczyszczone. Najbardziej zanieczyszczona jest północno-zachodnia część Europy, a także tereny wokół aglomeracji miejskich. Szacuje się, że przez następnych 20–25 lat UE wyda nawet około 100 bilionów euro na oczyszczanie najbardziej zdegradowanych terenów. Dowodzi to konieczności wzmoczenia intensywności badań nad fitoremediacją jako tanim i alternatywnym sposobem oczyszczania zdewastowanych terenów oraz ochrony terenów zagrożonych zanieczyszczeniami w najbliższej przyszłości [38].

## LITERATURA

- [1] ALKORTA I, HERNÁNDEZ-ALLICA J, BECERRIL JM, AMEZAGA I, ALBIZU I, GARBISU C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Rev Environ Sci Bio/Technol* 2004; **3**: 71–90.
- [2] BAKER AJM, WALKER PL. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. W: Shaw AJ [red.] *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects*. CRC Press, Boca Raton 1990: 155–177.
- [3] BARKAY T, MILLER SM, SUMMERS AO. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiol Rev* 2003; **27**: 355–384.
- [4] CHERIAN S, OLIVEIRA MM. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environ Sci Technol* 2005; **39**: 9377–9390.
- [5] CLEMENS S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 2001; **212**: 475–486.
- [6] CLEMENS S, PALMGREN MG, KRÄMER U. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci* 2002; **7**: 309–315.
- [7] COBBETT CS. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol* 2000; **123**: 825–832.
- [8] COBBETT C, GOLDSBROUGH P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu Rev Plant Biol* 2002; **53**: 159–182.
- [9] COLANGELO EP, GUERINOT ML. Put metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Curr Opin Plant Biol* 2006; **9**: 322–330.
- [10] CONESA HM, FAZ Á, ARNALDOS R. Heavy metal accumulation and tolerance in plants from mine tailings of the semiarid Cartagena-La Union mining district (SE Spain). *Sci Total Environ* 2006; **366**: 1–11.
- [11] CURIE C, ALONSO JM, LE JEAN M, ECKER JR, BRIAT J-F. Involvement of NRAMP1 from *Arabidopsis thaliana* in iron transport. *Biochem J* 2000; **347**: 749–755.
- [12] DOTY SL. Enhancing phytoremediation through the use of transgenic and endophytes. *New Phytol* 2008; **179**: 318–333.

- [13] EAPEN S, D'SOUZA SF. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metal. *Biotechnol Adv* 2005; **23**: 97–114.
- [14] GASIC K, KORBAN SS. Expression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase in Indian mustard (*Brassica juncea*) plants enhances tolerance for Cd and Zn. *Planta* 2007; **225**: 1277–1285.
- [15] GONZALEZ RC, GONZALEZ-CHAVEZ MCA. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes: soil and sediment remediation (SSR). *Environ Pollut* 2006; **144**: 84–92.
- [16] GORINOVAN, NEDKOVSKA M, TODOROVSKA E, SIMOVA-STOILOVA L, STOYANOVA Z, GEORGIEVA K, DEMIREVSKA-KEPOVA K, ATANASSOV A, HERZIG R. Improved phytoaccumulation of cadmium by genetically modified tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.). Physiological and biochemical response of the transformants to cadmium toxicity. *Environ Pollut* 2007; **145**: 161–170.
- [17] GROTZ N, GUERINOT ML. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochim Biophys Acta* 2006; **1763**: 595–608.
- [18] GUO J, DAI X, XU W, MA M. Overexpressing *GSH1* and *AcPCS1* simultaneously increases the tolerance and accumulation of cadmium and arsenic in *Arabidopsis thaliana*. *Chemosphere* 2008; **72**: 1020–1026.
- [19] HALL JL, WILLIAMS LE. Transition metal transporters in plants. *J Exp Bot* 2003; **54**: 2601–2613.
- [20] HEATON ACP, RUGH CL, WANG N-J, MEAGHER RB. Physiological responses of transgenic *merA*-tobacco (*Nicotiana tabacum*) to foliar and root mercury exposure. *Water Air Soil Pollut* 2005; **161**: 137–155.
- [21] HSIEH J-L, CHEN C-Y, CHIU M-H, CHEIN M-F, CHENG J-S, ENDO G, HUANG C-C. Expressing a bacterial mercuric ion binding protein in plant for phytoremediation of heavy metal. *J Hazard Mater* 2009; **161**: 920–925.
- [22] HUSSEIN HS, RUIZ ON, TERRY N, DANIELL H. Phytoremediation of mercury and organomercurials in chloroplast transgenic plants: enhanced root uptake, translocation to shoot, and volatilization. *Environ Sci Technol* 2007; **41**: 8439–8446.
- [23] ISHIMARU Y, MASUDA H, SUZUKI M, BASHIR K, TAKAHASHI M, NAKANISHI H, MORI S, NISHIZAWA NK. Overexpression of the OsZIP4 zinc transporter confers disarrangement of zinc distribution in rice plants. *J Exp Bot* 2007; **58**: 2909–2915.
- [24] JANUARY MC, CUTRIGHT TJ, VAN KEULEN H, WEI R. Hydroponic phytoremediation of Cd, Cr, Ni, As, and Fe: can *Helianthus annuus* hyperaccumulate multiple heavy metals? *Chemosphere* 2008; **70**: 531–537.
- [25] KABATA-PENDIAS A, PENDIAS H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton, USA, CRC Press 2001.
- [26] KIM D-Y, BOVEN L, KUSHNIR S, NOH EW, MARTINOIA E, LEE Y. *AtHMA3* is involved in heavy metal resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2006; **140**: 922–932.
- [27] KOMÁREK M, TLUSTOŠ P, SZÁKOVÁ J, CHRASTNÝ V. The use of poplar during a two-year induced phytoextraction of metals from contaminated agricultural soils. *Environ Pollut* 2008; **151**: 27–38.
- [28] KONISHI T, MATSUMOTO S, TSURUWAKA Y, SHIRAKI K, HIRATA K, TAMARU Y, TAKAGI M. Enhancing the tolerance of zebrafish (*Danio rerio*) to heavy metal toxicity by the expression of plant phytochelatin synthase. *J Biotechnol* 2006; **122**: 316–325.
- [29] KOSZUCKA AM, DĄBROWSKA G. Roślinne metalotioneiny. *Post Biol Kom* 2006; **33**: 285–302.
- [30] KRÄMER U, TALKE IN, HANIKENNE M, TANIKENE M. Transition metal transport. *FEBS Lett* 2007; **581**: 2263–2272.
- [31] KRZAKLEWSKI W, PIETRZYKOWSKI M. Selected physico-chemical properties of zinc and lead ore tailings and their biological stabilization. *Water Air Soil Pollut* 2002; **141**: 125–142.
- [32] LANQUAR V, LELIEVRE F, BARBIER-BRYGOO H, THOMINE S. Regulation and function of AtNRAMP4 metal transporter protein. *Soil Sci Plant Nutr* 2004; **50**: 477–484.
- [33] LEE J, SHIM D, SONG W-Y, HWANG I, LEE Y. *Arabidopsis* metallothioneins 2a and 3 enhance resistance to cadmium when expressed in *Vicia faba* guard cells. *Plant Mol Biol* 2004; **54**: 805–815.
- [34] MACEK T, KOTRBAP, SVATOS A, NOVAKOVA M, DEMNEROVA K, MACKOVA M. Novel roles for genetically modified plants in environmental protection. *Trends Biotechnol* 2008; **26**: 146–152.
- [35] MARCHIOL L, ASSOLARI S, SACCO P, ZERBI G. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environ Pollut* 2004; **132**: 21–27.
- [36] MARTÍNEZ M, BERNAL P, ALMELA C, VÉLEZ D, GRACÍA-AGUSTÍN P, SERRANO R, NAVARRO AVIÑÓ J. An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metal than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils. *Chemosphere* 2006; **64**: 478–485.
- [37] MEERS E, VANDECASTEELE B, RUTTENS A, VANGRONSVELD J, TACK FMG. Potential of five willow species (*Salix* spp.) for phytoextraction of heavy metal. *Environ Exp Bot* 2007; **60**: 57–68.

- [38] MEMON AR, SCHRÖDER P. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environ Sci Pollut Res Int* 2009; **16**: 162–175.
- [39] MENDEZ MO, MAIER RM. Phytoremediation of mine tailings in temperate and arid environments. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2008; **7**: 47–59.
- [40] MENDEZ MO, MAIER RM. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments – an emerging remediation technology. *Environ Health Perspect* 2008; **116**: 278–283.
- [41] MILNER MJ, KOCHIAN LV. Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system. *Ann Bot* 2008; **102**: 3–13.
- [42] MORENO FN, ANDERSON CWN, STEWART RB, ROBINSON BH. Mercury volatilization and phytoextraction from base-metal mine tailings. *Environ Pollut* 2005; **136**: 341–352.
- [43] MURAKAMI M, AE N, ISHIKAWA S. Phytoextraction of cadmium by rice (*Oryza sativa* L.), soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), and maize (*Zea mays* L.). *Environ Pollut* 2007; **145**: 96–103.
- [44] PADMAVATHIAMMA PK, LI LY. Phytoremediation technology: hyper-accumulation metals in plants. *Water Air Soil Pollut* 2007; **184**: 105–126.
- [45] PAVLÍKOVÁ D, MACEK T, MACKOVÁ M, SZÁKOVÁ J, BALÍK J. Cadmium tolerance and accumulation in transgenic tobacco plants with a yeast metallothionein combined with polyhistidine tail. *Int Biodeterior Biodegradation* 2004; **54**: 233–237.
- [46] PEUKE AD, RENNENBERG H. Phytoremediation. Molecular biology, requirements for application, environmental protection, public attention and feasibility. *EMBO Rep* 2005; **6**: 497–501.
- [47] PILON-SMITS EAH, PILON M. Phytoremediation of metals using transgenic plants. *Crit Rev Plant Sci* 2002; **21**: 439–456.
- [48] POMPONI M, CENSI V, DI GIROLAMO V, DE PAOLIS A, DI TOPPI LS, ARAMOLO R, COSTANTINO P, CARDARELLI M. Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthetase in tobacco plants enhances Cd<sup>2+</sup> tolerance and accumulation but not translocation to the shoot. *Planta* 2006; **223**: 180–190.
- [49] PUGH RE, DICK DG, FREDEEN AL. Heavy Metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) Contents of Plant Foliage near the Anvil Range Lead/Zinc Mine, Faro, Yukon Territory. *Ecotoxicol Environ Saf* 2002; **52**: 273–279.
- [50] RAMESH SA, CHOIMES S, SCHACHTMAN DP. Over-expression of an *Arabidopsis* zinc transporter in *Hordeum vulgare* increases short term zinc uptake after zinc deprivation and seed zinc content. *Plant Mol Biol* 2004; **54**: 373–385.
- [51] ROSARIO K, IVERSON SL, HENDERSON DA, CHARTRAND S, MCKEON C, GLENN EP. Bacterial community changes during plant establishment at the San Pedro River mine tailings site. *J Environ Qual* 2007; **36**: 1249–1259.
- [52] RUTTENS A, COLPAERT JV, MENCH M, BOISSON J, CARLEER R, VANGRONSVELD J. Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. II: influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on metal leaching. *Environ Pollut* 2006; **144**: 533–539.
- [53] SASAKI Y, HAYAKAWA T, INOUE C, MIYAZAKI A, SILVER S, KUSANO T. Generation of mercury-hyperaccumulating plants through transgenic expression of the bacterial mercury membrane transport protein MerC. *Transgenic Res* 2006; **15**: 615–625.
- [54] SONG W-Y, SOHN EJ, MARTINOIA E, LEE YJ, YANG Y-Y, JASINSKI M, FORESTIER C, HWANG I, LEE Y. Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants. *Nat Biotechnol* 2003; **21**: 914–919.
- [55] TABAK HH, LENS P, VAN HULLEBUSCH ED, DEJONGHE W. Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides – 1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Rev Environ Sci Bio/Technol* 2005; **4**: 115–156.
- [56] THOMINE S, WANG R, WARD JM, CRAWFORD NM, SCHROEDER JI. Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in *Arabidopsis* with homology to *Nramp* genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 4991–4996.
- [57] TONG Y-P, KNEER R, ZHU Y-G. Vacuolar compartmentalization: a second-generation approach to engineering plants for phytoremediation. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 7–9.
- [58] VAN AKEN B. Transgenic plants for phytoremediation: helping nature to clean up environmental pollution. *Trends Biotechnol* 2008; **26**: 225–227.
- [59] VAN NEVEL L, MERTENS J, OORTS K, VERHEYEN K. Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environ Pollut* 2007; **150**: 34–40.



- [60] VEEKEN A, HAMELERS B. Sources of Cd, Cu, Pb and Zn in biowaste. *Sci Total Environ* 2002; **300**: 87–98.
- [61] VERRET F, GRAVOT A, AUROY P, LEONHARDT N, DAVID P, NUSSAUME L, VAVASSEUR A, RICHAUD P. Overexpression of AtHMA4 enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance. *FEBS Lett* 2004; **576**: 306–312.
- [62] WAWRZYŃSKI A, KOPERA E, WAWRZYŃSKA A, KAMIŃSKA J, BAL W, SIRKO A. Effects of simultaneous expression of heterologous genes involved in phytochelatin biosynthesis on thiol content and cadmium accumulation in tobacco plants. *J Exp Bot* 2006; **57**: 2173–2182.
- [63] WEI SH, ZHOU QX, WANG X, ZHANG KS, GUO GL, MALQ. A newly discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Chin Sci Bull* 2005; **50**: 33–38.
- [64] WOJAS S, CLEMENS S, HENNING J, SKŁODOWSKAA, KOPERA E, SCHAT H, BAL W, ANTOSIEWICZ DM. Overexpression of phytochelatin synthase in tobacco: distinctive effects of *AtPCS1* and *CePCS* genes on plant response to cadmium. *J Exp Bot* 2008; **59**: 2205–2219.
- [65] YAZAKI K, YAMANAKA N, MASUNO T, KONAGAI S, KANEKO S, UEDA K, SATO F. Heterologous expression of a mammalian ABC transporter in plant and its application to phytoremediation. *Plant Mol Biol* 2006; **61**: 491–503.
- [66] ZHIGANGA, CUIJIE L, YUANGANG Z, YEJIE D, WACHTERA, GROMES R, RAUSCH T. Expression of BjMT2, a metallothionein 2 from *Brassica juncea*, increases copper and cadmium tolerance in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana*, but inhibits root elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *J Exp Bot* 2006; **57**: 3575–3582.

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 08.06. 2009 r.*

*Przyjęto: 02.09. 2009 r.*

*Mgr Agnieszka Mierek-Adamska*

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Zakład Genetyki*

*ul. Gagarina 9, 87-100 Toruń*

*E-mail: agamon@doktorant.umk.pl*