

1.3. | Mechanizm toksycznego działania metali ciężkich

Ewa M. Przedpeńska-Wąsowicz, Małgorzata Wierzbicka

1.3.1. Mechanizm toksycznego działania metali

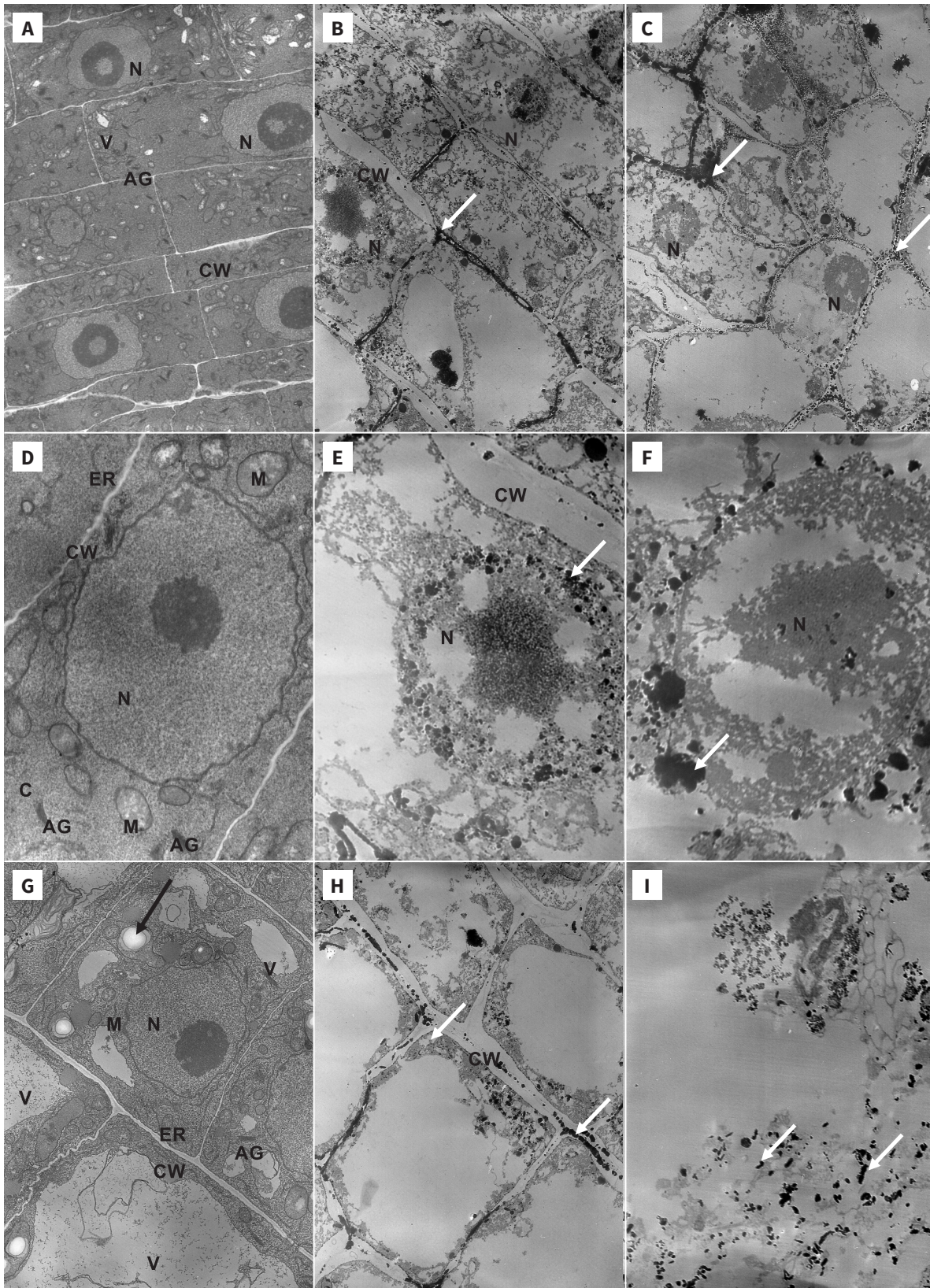
Metale ciężkie i ich związki wykazują działanie toksyczne na wszystkie organizmy żywe (rozdz. 1.2). Podstawową przyczyną toksycznego działania metali jest uszkodzenie struktury błon komórkowych (ryc. 1.3.1). Powoduje to zaburzenie funkcji błon i wzrost ich przepuszczalności. W następnej kolejności w cytoplazmie komórki dochodzi do denaturacji białka. Następuje zniszczenie struktury drugo-, trzecio- i czwartorzędowej białka, a zatem dochodzi do naruszenia wszystkich poziomów budowy przestrzennej cząsteczki białka, z wyjątkiem struktury pierwszorzędowej. Ostatecznie dochodzi do całkowitego zniszczenia aktywności biologicznej białek i do śmierci komórki (Murray i in. 2006). Na rycinie 1.3.2 przedstawiono ultrastrukturę komórek roślinnych zniszczonych przez ołów, w porównaniu z ultrastrukturą komórek normalnych. Widoczna jest (spowodowana ołowiem) dezintegracja cytoplazmy komórek i ich organelli oraz rozpad jądra komórkowego, z równoczesnym dużym nagromadzeniem złogów ołowiu w komórkach. Takie zmiany towarzyszą śmierci organizmu rośliny.

Już mniejsza dawka ołowiu (subletalna) powoduje pewne objawy zatrucia, ale jeszcze z zachowaniem funkcji życiowych rośliny. W pierwszej kolejności następuje hamowanie jej wzrostu. Na rycinie 1.3.3 przedstawiono rośliny *Allium cepa* L. (cebula jadalna), które hodowano w pożywce płynnej z dodatkiem ołowiu. W tych warunkach korzenie były krótsze około 10-krotnie od korzeni roślin hodowanych w zwykłej pożywce (ryc. 1.3.3.A, B). Hamowanie wzrostu roślin jest morfologicznym objawem zmian w fizjologii komórek, zachodzących w warunkach stresu spowodowanego nadmierną ilością metali ciężkich. Jony metali po wnikięciu do komórki powodują najczęściej:

- stres oksydacyjny, czyli powstawanie nadmiernych ilości reaktywnych form tlenu i wolnych rodników, szkodliwych dla komórek;

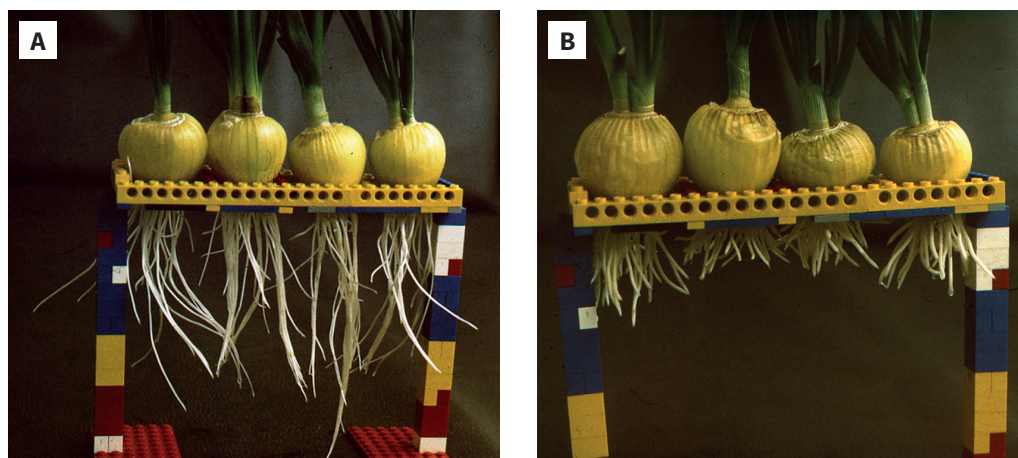


Ryc. 1.3.1. Toksyczne działanie ołowiu (z: Lewandowska 2011)
Siewki grochu (*Pisum sativum*) inkubowano w roztworze z solami ołowiu ($Pb(NO_3)_2$) w dawce letalnej ($10\ \mu M$) przez 24 godz. (roślina z prawej) w porównaniu z kontrolą, czyli siewką grochu (*Pisum sativum*) hodowaną w wodzie bez dodatku soli ołowiu (z lewej). Widoczne zamieranie rośliny traktowanej ołowiem



Ryc. 1.3.2. Toksyczne działanie ołowiu na ultrastrukturę komórek wierzchołków korzeni *Arabidopsis halleri*. Rośliny kontrolne oraz traktowane ołowiem (stężenie letalne) (z: Demczyk 2007)

A, D, G – kontrola – prawidłowa ultrastruktura komórek (mikroskop elektr., **A** – $\times 2600$, **D** – $\times 8000$, **G** – $\times 4600$; **B, C, E, F, H, I** – zmiany letalne w komórkach roślin traktowanych ołowiem, silne uszkodzenia ultrastruktury komórek: rozpad błon komórkowych, degradacja cytoplazmy, rozpad jądra komórkowego. Elektronowogęste złoże ołowiu w komórkach (białe strzałki) **B** – $\times 4200$, **C** – $\times 6000$, **E** – $\times 10000$, **F** – $\times 10000$, **H** – $\times 4200$, **I** – $\times 10000$. **N** – jądro komórkowe, **V** – wakuola, **CW** – ściana komórkowa, **AG** – aparat Golgiego, **ER** – reticulum endoplazmatyczne, **M** – mitochondrium, strzałka czarna – ziarno skrobi



Ryc. 1.3.3. Hamowanie wzrostu korzeni na długość przez ołów u *Allium cepa* L. (cebula jadalna) **A** – kontrola – rośliny o długich korzeniach hodowano 5 dni na pożywce płynnej; **B** – rośliny o krótkich korzeniach – 5 dni hodowane na pożywce z dodatkiem soli ołowiu. (W wykonywaniu zdjęć uczestniczył 7-letni syn autorki, który wpadł na pomysł umieszczenia fotografowanych obiektów na stelażach zbudowanych z klocków LEGO)

– uszkodzenie aktywności enzymatycznej białek; metale są przyłączane do grup funkcyjnych, np. do grup tiolowych ($-SH$), co istotnie zmienia stabilność przestrzenną wielu białek, w tym również enzymów;

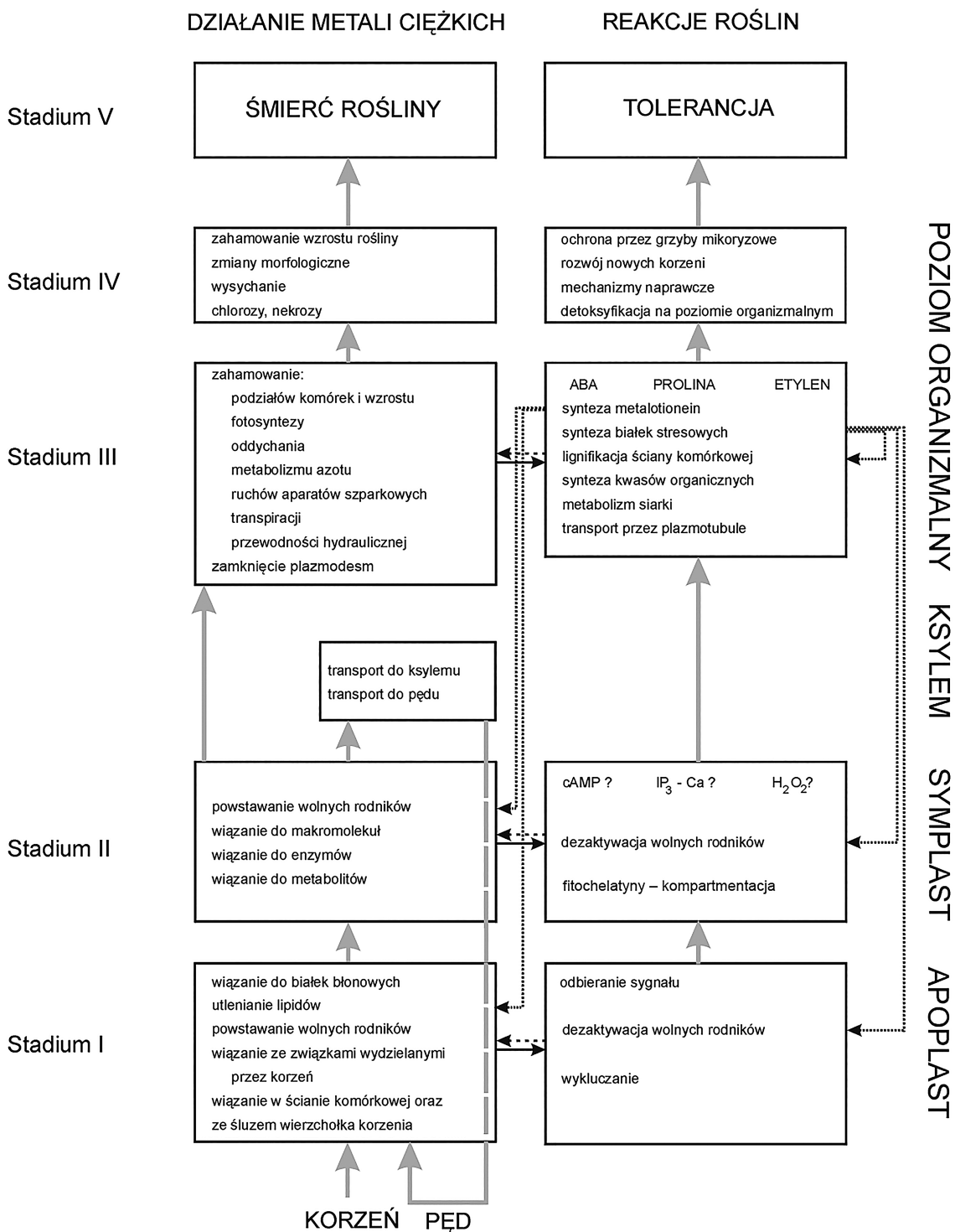
– inaktywację enzymów; w cząsteczkach białek enzymatycznych istotną funkcję pełnią kofaktory, a wśród nich często różne metale, które w warunkach nadmiernej ilości metali ciężkich w komórce mogą być zastępowane przez ich atomy, całkowicie hamując reakcje katalizowane przez enzymy.

Procesy te są dokładnie omówione w książce *Reakcja komórek roślinnych na czynniki stresowe* (Woźny, Goździcka-Józefiak 2010).

Należy też pamiętać, że roślina jest układem bardzo złożonym, w którym czynnik stresowy uruchamia kaskadę złożonych procesów metabolicznych, prowadzących często do uaktywnienia mechanizmów obronnych.

1.3.2. Kaskada reakcji na metale ciężkie

Skutki działania metali ciężkich zależą od dwóch głównych czynników: stężenia jonów metalu oraz wrażliwości (tolerancji) roślin. W literaturze szeroko dyskutowane są zarówno zagadnienia negatywnych efektów wywołanych działaniem metali, jak i mechanizmów obronnych roślin (Fodor 2002). Konsekwencją negatywnego działania metali jest powstanie kaskady reakcji rozpoczynających się w apopleksie komórek, przechodzących przez symplast, następnie ksylem, a kończących się fizjologicznymi zmianami całej rośliny (ryc. 1.3.4). Jednocześnie wiadomo, że są gatunki roślin, które aklimatyzują się do negatywnych skutków działania metali ciężkich, dzięki wielu specyficznym i niespecyficznym reakcjom obronnym, prowadzącym do wytworzenia odpowiedniej odporności, w tym przypadku (dla ułatwienia) rozumianej jako tolerancja. Na rycinie 1.3.4. przedstawiono ogólny model zaproponowany przez Fodora (2002), pokazujący związki pomiędzy mechanizmami występującymi w roślinach oraz fizjologiczne konsekwencje działania metali ciężkich. Zintegrowany model obrazuje dwie możliwe drogi reakcji roślin na te metale. Z jednej strony, prezentuje rozwój toksycznego efektu metali ciężkich, który wskutek ostrego stresu lub braków mechanizmów ochronnych (np. u wrażliwych genotypów) prowadzi do śmierci rośliny. Z drugiej zaś przedstawia reakcje roślin na stres, na różnych poziomach organizacji, prowadzące ostatecznie do tolerancji metali ciężkich. Reakcje roślin zawarte w modelu są opisane z podziałem na pięć



Ryc. 1.3.4. Zintegrowany model sekwencji zdarzeń prezentujący miejsca i sposoby działania metali ciężkich oraz mechanizmy ich tolerancji w roślinach wyższych (wg: Fodor 2002, zmien.).

Kolumna lewa przedstawia rozwój toksycznego efektu metali ciężkich, który wskutek ostrego stresu lub braku mechanizmów ochronnych (np. u wrażliwych genotypów) prowadzi w konsekwencji do śmierci rośliny (stadium V). Kolumna prawa przedstawia reakcje roślin na stres na różnych poziomach organizacji, prowadzące ostatecznie do tolerancji metali ciężkich (stadium V). Strzałkami szarymi zaznaczono kierunek zmian; strzałkami czarnymi – efekty działania metali, które wywołują reakcję roślin; strzałkami przerywanymi – reakcję roślin na stres na różnych poziomach organizacji, które są wywołane drogami transdukcji sygnału oraz sprzężeń zwrotnych zmian w metabolizmie. Szczegółowy opis stadiów I-V patrz s. 56

kolejnych stadiów, zależnych od miejsca reakcji i poziomu organizacji rośliny. Stadium I dotyczy procesów związanych ze stresem na metale ciężkie w apoplasmie i obejmuje: wysycenie wydajności wymiany kationowej, zmiany przepuszczalności błony komórkowej oraz zachwianie procesów transportu przez błony komórkowe. Na tym poziomie reakcje roślin są niespecyficzne i być może prowadzą do aktywacji procesów transdukcji sygnałów. Stadium II dotyczy reakcji metabolicznych, hamowanych w symplasmie, a także wzbudzenia ochronnych reakcji metabolicznych oraz pobudzenia procesów detoksykacyjnych w roślinie. Stadia I i II występują również w komórkach liści narażonych na działanie metali transportowanych przez ksylem. W stadium III zachodzi hamowanie przez metale ciężkie procesów związanych z metabolizmem i homeostazą lub też następuje indukcja tych procesów jako odpowiedź roślin na stres. W stadium IV albo pojawiają się wyraźne symptomy toksycznego efektu działania metali ciężkich, albo też obserwowane są efektywne strategie i mechanizmy tolerancji. Stadia III–V są charakterystyczne dla poziomu całej rośliny (Fodor 2002).

Zgodnie z tym modelem metale ciężkie powodują w roślinach dwa rodzaje objawów: zmiany „widoczne gołym okiem” i takie, które można zmierzyć za pomocą aparatury. W odniesieniu do fenologii, najbardziej popularnym, ale jednocześnie najmniej specyficznym objawem toksycznego działania metali jest ograniczenie wzrostu rośliny (Fodor 2002). Innym i jednocześnie jednym z najbardziej charakterystycznych są chlorozy liści wywołane zmniejszeniem stężenia chlorofilu (Zornoza i in. 1999). Czynnikiem ten ma ogromne znaczenie dla oceny wpływu metali ciężkich, ponieważ stężenie chlorofilu jest podstawowym czynnikiem funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego, co przekłada się na metabolizm całej rośliny.

Objawy stresu metali ciężkich na poziomie ultrastrukturalnym to np.: wzrost grubości ścian komórek merystematycznych wierzchołka wzrostu korzeni, zmiany konfiguracji retikulum endoplazmatycznego, zwiększona wakuolizacja komórek, wzrost rozmiarów jądra komórkowego oraz jego płatowatość, zwiększenie zawartości chromatyny zwartej, zwiększenie liczby jąder, zmiany kształtu aparatu Golgiego itp. (Wierzbicka 1984, 1987).

Objawy fizjologiczne toksyczności metali ciężkich dotyczą wszystkich procesów, w tym m.in. zmian: w przepuszczalności błon, pobierania, transportu i translokacji jonów oraz wody, transpiracji, aktywności enzymów, metabolizmu azotowego, procesów fotosyntezy i oddychania, podziałów komórkowych oraz procesów związanych z utrzymaniem homeostazy w komórkach (Fodor 2002; Romanowska 2002; Kacperska 2002).

Z kolei odporność roślin na toksyczne działanie metali ciężkich zależy od rozwoju i skuteczności mechanizmów unikania, czyli wykluczenia lub wydawnego zmniejszenia pobierania metalu, lub od rozwoju strategii i mechanizmów tolerancji metali ciężkich (Woźny 1995).

Pobieranie metali może być także modyfikowane przez właściwości ryzosfery, m.in. wskutek ich wiązania przez galakturoniany, wchodzące w skład śluzu wytwarzanego przez cząpeczkę (Morel i in. 1983) lub różne inne ligandy wydzielane przez komórki korzeni (np. kwasy organiczne, aminokwasy). Ograniczenie pobierania metali wiąże się także ze zmianami gradientu oksydoredukcyjnego lub/i gradientu pH w ryzosferze, a także jest wynikiem akumulacji metali w ścianach komórkowych (Woźny 1995; Fodor 2002). Unikanie stresu metali ciężkich wiąże się również ze zmianami w obrębie błony komórkowej (zmianami w składzie fosfolipidów, stopnia nasycenia kwasów tłuszczowych, zawartości steroli, w transplazmatycznym, elektrycznym potencjale membranowym), co prowadzi do zmian przepuszczalności i tym samym pobierania metali (Woźny 1995).

Strategie tolerancji wiążą się z chelatacją (np. fitochelatyny, metalotioneiny) i kompartmentacją metali w strukturach komórkowych (np. w wakuolach). Inne mechanizmy związane z tolerancją metali to m.in.: dezaktywacja wolnych rodników