

GDK 114.53+181.351:(174.7+176.1)

FITOTOKSIČNOST SVINCA IN EKTOMIKORIZA GOSPODARSKO POMEMBNIH DREVESNIH VRST

Dominik VODNIK*, Nada GOGALA**

Izvleček

V prispevku je opisana problematika fitotoksičnosti svinca, ki je lahko v povezavi z zakisanjem tal eden od pomembnih stresnih dejavnikov tudi v gozdnem ekosistemu. Prikazano je pojavljanje svinca v tleh, učinki njegove toksičnosti na fiziologijo rastlin in gliv, ter mehanizmi tolerance. Nakazana je vloga mikorizne simbioze pri omejevanju privzema svinca v rastlino in omejevanju toksičnega delovanja. Pri tem so pregledno zajeti različni laboratorijski in terenski poskusi predvsem na ekonomsko pomembnih drevesnih vrstah. Poleg vpliva na drevesne vrste in simbiozo je prikazan tudi vpliv svinca na glive s poudarkom na mehanizmih privzema in imobilizacije ter na toleranci ektomikoriznih gliv. S stališča fitotoksičnosti svinca je obravnavan ekološki pomen mikorizne simbioze ter perspektive nadaljnjih raziskav.

Ključne besede: svinec, fitotoksičnost, mikoriza, glive

PHYTOTOXICITY OF LEAD AND ECTOMYCORRHIZA OF ECONOMIC IMPORTANT TREE SPECIES

Abstract

We describe the phytotoxicity of lead which in the presence of soil acidity may play a important stress role in a forest ecosystem. The presence of lead in soil is depicted, effects of lead-toxicity on plant and fungal physiology and mechanisms of tolerance are showed. We suggest the role of mycorrhizal symbiosis in limiting lead uptake and confining its toxicity. This includes a review of various laboratory and field experiments, particularly in economically important tree species. Apart from lead influence on tree species and symbioses, we discuss its influence on the fungi, with stress being placed on mechanisms of uptake and immobilization and on the tolerance of ectomycorrhizal fungi. We consider the ecological importance of mycorrhizal symbioses from the standpoint of the phytotoxicity of lead and discuss future prospects of research in this field.

Key words: lead, phytotoxicity, mycorrhiza, fungi

* dipl. biol., Biotehniška fakulteta oddelek za Biologijo, Večna pot 111, 1111 Ljubljana, SLO

** prof. dr., Biotehniška fakulteta oddelek za Biologijo, Večna pot 111, 1111 Ljubljana, SLO

VSEBINA

1	UVOD.....	7
2	SVINEC.....	9
2.1	Naravno pojavljanje svinca in antropogeni vnosi svinca v tla.....	9
2.2	Svinec v tleh.....	9
3	SVINEC V RASTLINAH.....	11
3.1	Privzem in translokacija.....	12
3.2	Toksičnost svinca.....	13
3.3	Toleranca rastlin na visoke koncentracije svinca.....	17
4	SVINEC IN GLIVE.....	17
4.1	Toksičnost svinca za glive, sorpcija svinca.....	18
5	MIKORIZA IN SVINEC.....	21
5.1	Vpliv svinca na mikorizno infekcijo.....	21
5.2	Mikoriza in omejevanje toksičnosti svinca.....	23
6	PERSPEKTIVE.....	27
	SUMMARY.....	28
	VIRI.....	30

1 UVOD

Zanimanje za težke kovine je poraslo po drugi svetovni vojni, ko so se na nekaterih področjih že začele kazati posledice antropogenega vnosa različnih težkih kovin v tla. Od tega časa beležimo nenehen porast znanstvenih del, ki se ukvarjajo bodisi s problemom preseženih koncentracij kovin v tleh bodisi z zasledovanjem kovin in njihovih učinkov v rastlinah. Porast kaže pripisati razvoju analitskih tehnik, kot tudi dejstvu, da so se okrepili negativni vplivi industrije, kmetijstva in prometa na naravne ekosisteme in se tako s problemom onesnaženosti s težkimi kovinami srečujemo že skoraj na vsakem koraku. Tudi svinec je ena od kovin, ki zaradi specifičnih lastnosti predstavlja pri kopičenju v tleh resen ekološki problem v mnogih državah. V zadnjem času smo začeli spoznavati tudi njegove škodljive vplive na gozdni ekosistem (KAHLE/BRECKLE 1992, GODBOLD 1994). V povezavi z zakisanjem gozdnih tal naj bi bil Pb eden pomembnih stresnih dejavnikov za poškodbe gozdov v srednji in severni Evropi, predvsem pa je toksičnemu delovanju svınca podvržena smreka (GODBOLD 1994).

Večina današnjega razumevanja fitotoksičnosti kovin temelji na laboratorijskih poskusih z agronomsko zanimivimi rastlinskimi vrstami. Gre za študije privzema, fizioloških vplivov in toksičnosti na nemikoriznih rastlinah, ki v svoj kontekst ne vključujejo spremljanja vseh procesov, ki se dogajajo v rizosferi. Prostoživeči in simbiotski mikroorganizmi, ki s svojo aktivnostjo moderirajo mineralno prehrano ter vodni režim rastlin, lahko hkrati pogojujejo tudi dostopnost, privzem in toksičnost težkih kovin. Pri tem ima zaradi svoje razširjenosti in ekološkega pomena najvidnejšo vlogo prav mikorizna simbioza. Ektomikoriza je najpogostejši tip mikorizne asociacije pri drevesnih vrstah v zmernem in borealnem pasu. Morfološko anatomsko značilnost ektomikorize je hifni plašč okoli kratkih korenin gostiteljske rastline, hife se razraščajo tudi v koreninski korteks, kjer med celicami tvorijo preplet hif, imenovan Hartigova mreža. Pri tem gliva ne penetrira v celice gostitelja. Hartigova mreža je mesto izmenjave metabolitov in mineralov med obema partnerjema v simbiozi. Z razvojem mikorize se spremeni tudi arhitektura koreninskega sistema, mikorizne korenine so brez koreninskih laskov, saj njihovo absorpcijsko funkcijo nadomestijo hife. Kot funkcionalni del vsake mikorizne simbioze moramo šteti tudi tisti del micelija, ki se v bolj ali manj obsežni obliki širi od mikoriznih korenin v tla. Imenujemo ga ekstramatrikalni micelij in ima ključno funkcijo pri izboljšani

preskrbi drevesa z vodo in mineralnimi snovmi. Ekstramatrikalni micelij hkrati omogoča povezavo in interakcije z drugimi mikoriznimi drevesi, kar je še posebno pomembno pri gibanju vode in ogljika v gozdnem ekosistemu (HARLEY / SMITH 1983). Različni pozitivni učinki ektomikorize za drevo so poznani že dalj časa, čeprav še vedno niso docela pojasnjeni. Odražajo se v pospešeni rasti, izboljšani preskrbi z minerali, predvsem P, izboljšani preskrbi z vodo, večji odpornosti na stres. Aktivnost glivnega partnerja se odraža v povečani fotosintetski aktivnosti gostiteljske rastline, hkrati pa lahko prihaja tudi do različnih biokemičnih sprememb, npr. pospešena biosinteza klorofilov. Za mnoge od teh efektov so odgovorni rastlinski rastni regulatorji katerih nivo je v mikoriznih rastlinah v primerjavi z nemikoriznimi spremenjen (GOGALA 1991).

Našteti učinki so še posebej pomembni, ko je drevo izpostavljeno stresu. Znano je, da lahko mikoriza z ustreznim glivnim partnerjem premosti določen stres, pri čemer je ustreznost neke glivne vrste največkrat vezana na njeno toleranco na sam stresni dejavnik. Ektomikoriza lahko poveča toleranco na vodni stres, visoke temperature, anorganske in organske toksine v tleh in na nekatere patogene. Našteti učinki so seveda vrstno specifični, pri glivnem partnerju se s specifičnostjo mnogokrat srečujemo na nivoju sevov oz. izolatov. Ob primerni izbiri simbiotov je možno naštete učinke tudi komercialno izkoristiti v gozdarstvu in drevesničarstvu (MARX in sod. 1992, GABROVŠEK / GOGALA 1990). V zadnjem času je vse več zanimanja, da bi mikorizo kot biotehnološko orodje uporabili tudi pri premostitvi fitotoksičnosti težkih kovin na onesnaženih rastiščih. Za to pa je seveda najprej potrebno poznavanje osnovnih interakcij mikorize in težkih kovin v laboratorijskih poskusih.

Da bi ovrednotili vlogo mikorize pri morebitnem omejevanju fitotoksičnega vpliva svinca in drugih težkih kovin, moramo v eksperimente vključiti rastline z vzpostavljeno mikorizo z izbrano glivo. Zaradi številnih dejavnikov, ki pogojujejo obnašanje kovinskih ionov v tleh, je v laboratorijskih pogojih nemogoče ustvariti identične pogoje, kot vladajo v sistemu tla-rastlina v naravi. Z uporabo modificiranih hidroponskih tehnik, ki omogočajo vzpostavitev in ohranjanje funkcionalne mikorize, pa se lahko vseeno za korak približamo k razumevanju dejanskega dogajanja pri privzemu mikroelementov.

2 SVINEC

2.1 Naravno pojavljanje svınca in antropogeni vnosi svınca v tla

Svinec je eden najbolj tipičnih elementov, katerih vsebnost v tleh je močno pogojena z aktivnostjo človeka. Naravne koncentracije svınca v različnih kamninah se gibljejo od 7 ppm (apnenci, dolomiti) do 23 ppm (skrilavci in meljevci). Vsebnost svınca je višja v sedimentnih kamninah z večjim deležem organske snovi in sulfidnih mineralov (ADRIANO 1986). Mnogo višje so koncentracije Pb na mestih geokemičnih depozitov svinčevih rud in seveda na območjih, ki so pod antropogenim vplivom. Najmočnejši je prav gotovo vpliv same metalurgije svınca na okolje. Koncentracije Pb so najbolj povišane v neposredni bližini talilnic (SOUVENT 1992, PILGRIM / HUGHES 1994) in navadno upadajo eksponencialno z oddaljenostjo od vira polucije (HAYGARTH/JONES, 1992). S takšnim primerom polucije se npr. srečujemo tudi v Sloveniji v zgornji Mežiški dolini, kjer predstavljajo glavni vir onesnaženja metalurški obrati v Žerjavu (SOUVENT 1992). Drug problematičen antropogeni izvor Pb je kljub omejitvam uporabe osvinčenega bencina še vedno cestni promet. Različni avtorji ocenjujejo da so povišane koncentracije svınca v tleh prisotne v pasu do 50m ob prometnicah (ALLOWAY 1990).

Do onesnaženja tal prihaja z depozicijo atmosferskih delcev, na katere se svinec veže. Slaba lastnost Pb je, da se zaradi majhne mobilnosti v tleh akumulira, tako da s časom njegova koncentracija narašča (ANGELONE/BINI 1992).

2.2 Svinec v tleh

Povprečne vsebnosti celotnega svınca v zgornjem (0-15 cm) sloju neonesnaženih tal v Evropi variirajo od 10 do 42 ppm¹(ANGELONE / BINI 1992). Vsebnosti Pb lahko zelo variirajo glede na talni tip in lastnosti tal. V tleh, bogatih z organsko snovjo, je povprečje višje. Kjer se srečujemo z antropogenim vnosom Pb v ekosistem ter na geoloških depozitih svinčevih rud, so lahko koncentracije Pb v tleh bistveno povečane. Na različnih točkah v vplivnem območju bivšega Rudnika svınca in cinka Mežica tako znašajo vsebnosti skupnega svınca v zgornjem sloju tal (0-10 cm) (SOUVENT 1992), na nekaterih

¹ vse koncentracije Pb, ki jih navajamo v ppm, so izražene na težo suhega talnega vzorca, oz. suhega rastlinskega vzorca.

mestih v neposredni bližini metalurških obratov pa tudi do cca. 9500 ppm (0-5 cm) oziroma 100 ppm (20-30 cm) (VODNIK in sod. 1996). PILGRIM in HUGHES (1994) priporočata kontrolo tal v oddaljenosti 10 km od talilnice svinčeve rude.

Tla imajo omejeno kapaciteto vezave težkih kovin, kar velja tudi za svinec. Ob prekoračeni kapaciteti prihaja tako do boljše mobilnosti kovinskih ionov v tleh. Geokemično gledano so lahko kovinski ioni v tleh v različnih oblikah (ADRIANO 1986):

- raztopljeni v talni raztopini
- vezani na adsorpcijska mesta talnih delcev - izmenljivi
- vezani na minerale v tleh
- precipitirani z različnimi spojinami v tleh
- inkorporirani v biomaso različnih organizmov

V prvih dveh oblikah je element mobil in zato dostopen rastlinam.

Kot pri večini mikroelementov določanje skupnega svinca v tleh ni pravo merilo za oceno, koliko tega elementa je rastlinam v tleh v resnici na razpolago. Pri določanju dostopnega svinca uporabljamo različna ekstrakcijska sredstva (HCl, HNO₃, NH₄OAc, CaCl₂, EDTA, organske kisline,...) in tako skušamo zajeti v analizo raztopljeni in izmenljivi Pb.

Aktivnost svinčevih ionov v tleh je pogojena z delovanjem različnih dejavnikov in je rezultat njihovega porazdeljevanja med minerali glin, organsko snovjo, Fe-, Mn- in Al-oksidi in topnimi ligandi (DOC dissolved organic complex). Glavni dejavnik, ki uravnava to porazdeljevanje, je reakcija tal (LAMY in sod. 1994).

Kapaciteta vezave kovinskih ionov narašča z rastočim pH in ima maksimum v nevtralnem oz. rahlo bazičnem območju. Mobilnost težkih kovin je boljša v tleh s kisló reakcijo.

Delež glin, organske snovi in Fe-, Mn- in Al- oksidov določa kationsko izmenjalno kapaciteto tal (KIK). V splošnem lahko višja KIK omogoči višjo koncentracijo kovinskih ionov v tleh brez povečanja rastlinam dostopnih oblik in brez pojavnosti fitotoksičnosti (ADRIANO 1986).

Distribucijo svinca v talnem profilu določajo pedogenetski procesi, klimatski in topografski vplivi, in mikrobná aktivnost v tleh. V splošnem se svinec akumulira

v zgornjih centimetrih tal, njegova koncentracija pa z globino močno pada. Vzrok za takšno distribucijo svınca je njegova vezava v organski snovi, poleg tega pa je spiranje svınca v globino in nižje horizonte omejeno tudi zaradi tvorbe netopnega PbS, ki pa je pogojena z redoks potencialom talne raztopine.

Zaradi množice dejavnikov, ki določajo oblike in dostopnost Pb v tleh, nastopajo problemi pri opredelitvi normalnih oz. toksičnih koncentracij tega elementa. Mnogokje se namreč s problemom toksičnosti Pb srečujemo že pri relativno nizkih koncentracijah zaradi talnih dejavnikov, ki pogojujejo njegovo visoko mobilnost. Ob takšnih pogojih je poleg toksičnosti svınca lahko prisotna tudi toksičnost drugih kovin in sinergistične interakcije med različnimi kovinskimi ioni.

Dejstvo je, da je potrebno kritične koncentracije svınca in nenazadnje tudi drugih težkih kovin okarakterizirati glede na vse talne parametre, ki pogojujejo toksičnost. Tako KABATA-PENDIAS (1994) za Poljsko navaja mejne koncentracije Pb in drugih težkih kovin upoštevajoč reakcijo tal, teksturo in delež organske snovi v tleh.

Uredba o ugotavljanju onesnaženosti kmetijskih zemljišč in gozda (UL SRS 6, 1990) določa za Slovenijo mejno koncentracijo Pb v tleh 100 ppm, v pripravi pa je tudi že nova Uredba, v kateri bodo za Pb podane mejne in kritične koncentracije. Po do sedaj opravljenih analizah na Oddelku za agronomijo, BF (Center za pedologijo in varstvo okolja) štejejo za mejno koncentracijo 10 ppm Pb v nadzemnem delu rastlin. Ta vrednost je dobljena po spremljanju koncentracij v ozkolistnem trpotcu (*Plantago lanceolata*) kot indikatorski rastlini (HUDNIK in sod. 1994).

3 SVINEC V RASTLINAH

Kljub nekaterim navedbam pozitivnega učinka različnih svinčevih soli na rast rastlin ječmena, ovsa, pšenice in koruze (BREWER 1966; cit. BERGMANN, 1992) štejejo svinec za neesencialen element. Zaradi tega se pozornost raziskav mineralne prehrane osredotoča le na negativne učinke povišanih koncentracij Pb na rast in razvoj rastlin

3.1 Privzem in translokacija

Za študij odvisnosti privzema nekega elementa od njegove koncentracije v tleh uporabljamo koncentracijski faktor CF:

$$CF = \text{Pb v rastlini (ppm)} / \text{Pb v tleh (ppm)}$$

Za različne kmetijske rastline so določili CF(Pb) od 0.05-0.2 (ADRIANO 1986). Do tako majhne akumulacije svinca v rastlinah prihaja zaradi omejene translokacije tega elementa v nadzemne dele rastlin. Privzem v korenine je relativno dober. Transport je pasiven in poteka po apoplastu. Prvo oviro tako predstavlja endodermis s Casparijevo progo. Transport svinca prek plazmaleme v simplast je aktiven in metabolno pogojen.

Glavni mehanizem imobilizacije svinca je njegova precipitacija v celični steni. Pri tem nastaja svinčev fosfat. Tako prihaja do deponiranja svinca v stenah koreninskih celic, poleg tega pa tudi v stenah celic stebela in listov (BALSBERG-PÁHLSSON 1989). Povečana vsebnost fosforja v tleh lahko omeji sprejem svinca tudi na 50%. Po drugi strani v tleh z visokimi vsebnostmi svinca in mejnimi vsebnosti fosforja precipitacija omejuje preskrbo s fosforjem (KAHLE 1993). Prihaja tudi do interakcij svinca s sulfatnimi ioni, precipitacija zmanjša razpoložljivost in sprejem svinca.

Translokacija Pb v nadzemne dele rastline je močno omejena. GODBOLD (1994) ocenjuje, da ostaja - upoštevajoč biomaso nadzemnega oz. koreninskega dela - v koreninah smreke *Picea abies* 95% privzetega svinca. Ovira pri radialnem transportu svinca v korenini je endodermis, katerega celice imajo poleg kortikalnih največje vsebnosti Pb (JENTSCHKE in sod. 1991). TRÜBY (1988) je spremljal vsebnosti svinca v lesu, skorji in iglicah drevesnih vrst *Pseudotsuga mezesii*, *Abies alba* in *Quercus robur* z različno obremenjenih rastišč. Jedrovina duglazije in jelke je vsebovala tudi več kot 100 ppm svinca pri tistih drevesih, ki so rasla na območju metalurgije svinca. Vsebnosti Pb v beljavi so bile precej manjše. Iglice istih dreves so vsebovale od 1.5 do 6.1 ppm svinca, pri čemer je k tej vrednosti je verjetno prispevala tudi površinska kontaminacija iglic. V primerjavi z drevesi z manj obremenjenih rastišč so bile večje koncentracije svinca tudi v notranji skorji, medtem, ko so si bile vrednosti za zunanjo skorjo podobne za vsa rastišča.

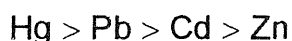
Obseg transporta svinca v zelene dele je lahko različen pri različnih rastlinskih vrstah, razlikuje pa se tudi v posameznih obdobjih rastle sezone (ALLOWAY 1990).

Odvisnost vsebnosti svinca v rastlini od koncentracije svinca v tleh se razlikuje pri različnih rastlinskih vrstah. Nekatere vrste so sposobne omejevati privzem in transport tudi pri zelo visokih koncentracijah svinca v tleh. Pri vrstah, ki svinec akumulirajo, je privzem sprva linearno odvisen, pri višjih koncentracijah v tleh pa se vsebnost svinca v rastlini ne spreminja več.

3.2 Toksičnost svinca

Zaradi omenjenega omejenega privzema in transporta v poganjek je toksičnost svinca v primerjavi z drugimi težkimi kovinami relativno nizka. Različne vrste so različno tolerantne na Pb. Do sedaj je bila toksičnost največkrat testirana na nekaterih agronomsko zanimivih vrstah, pri čemer svinec med različnimi težkimi kovinami pogosto uvrščajo na konec fitotoksične lestvice ADRIANO (1986). V povezavi s problematiko zakisanja tal pa se je v zadnjem času v terenskih poskusih poleg aluminija pokazal svinec kot eden ključnih toksičnih dejavnikov (KAHLE 1993, GODBOLD, 1994).

GODBOLD s sod. (cit. KAHLE, 1993) postavlja Pb na drugo mesto v fitotoksični vrsti za smreko (*Picea abies*):



Primerjave med rezultati laboratorijskih hidroponskih poskusov in med meritvami koncentracij Pb v talnih raztopinah nakazujejo, da lahko koncentracije razpoložljivega svinca v tleh predstavljajo enega od stresnih dejavnikov za smreko.

Študije toksičnosti otežuje dejstvo, da so razpoložljivost, privzem in toksičnost svinca močno odvisni od dejavnikov okolja, predvsem pa nanje vplivajo fizikalno kemijske lastnosti tal. Odgovor rastlin na povečane koncentracije svinca se razlikuje tudi glede na fiziološko stanje, ontogenijo, rastno sezono in je močno vrstno specifičen (BERGMANN 1992).

Zaradi večje vsebnosti svinca v koreninah vidne simptome toksičnosti svinca večkrat zaznamo na koreninskem sistemu kot na stebelu, poganjkih in listih. Kažejo se kot retardacija rasti in rjavenje ter črnenje koreninskih vršičkov (GODBOLD/ ETTNER 1991a). Posledično se pri takšnih rastlinah močno manjša razmerje biomas korenine : nadzemni del (BERGMAN 1992). V nekaterih poskusih, npr. za bukev (KAHLE 1993) takšnega učinka Pb niso potrdili. KAHLE (1993) navaja naslednje negativne učinke Pb na korenine:

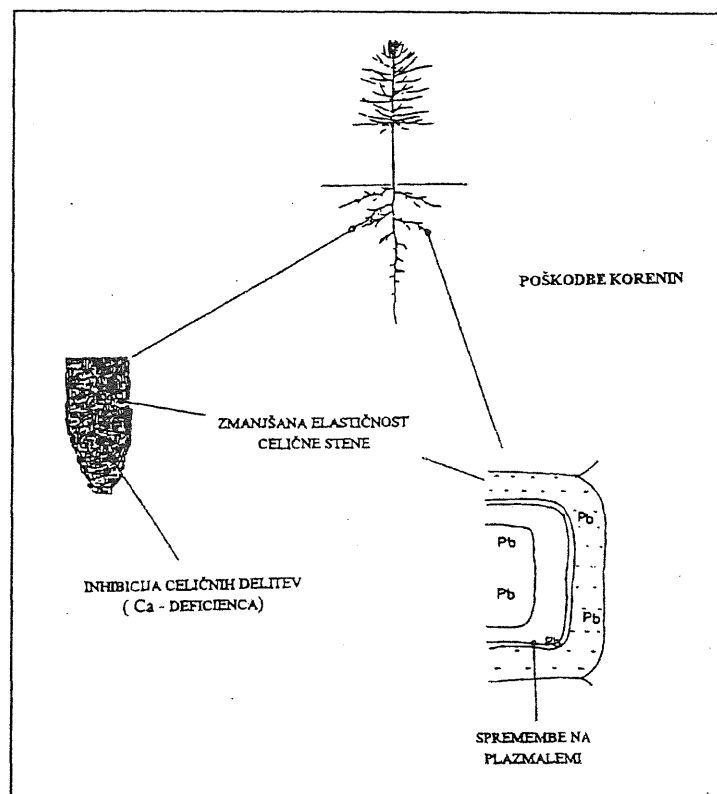
- inhibicija elongacije - zmanjšanje biomase koreninskega sistema
- spremembe v arhitekturi koreninskega sistema (zmanjšana je predvsem rast primarnih korenin), te morfološke spremembe so lahko povezane tudi s spremenjenim hormonalnim statusom.
- inhibicija tvorbe koreninskih laskov
- reducirana iniciacija lateralnih korenin

Vzroki za takšne spremembe so lahko v inhibiciji celičnih delitev v koreninskih meristemih ali pa v inhibiciji celične rasti. V segmentih koleoptil pšenice *Triticum vulgare*, svinec zmanjša plastičnost in elastičnost celične stene (BURZYNSKI/JAKOB, cit. GODBOLD 1994). Svinec zmanjša nivo Ca v koreninskih vršičkih, kar 40% tega kalcija pa se pri smreki (*Picea abies*) porablja za rast vršičkov. Oba mehanizma naj bi bila poleg sprememb na plazmalemi po GODBOLD-ovem modelu glavni vzrok fitotoksičnosti svinca (GODBOLD 1994) (slika 1).

Možen je neposreden vpliv Pb na iniciacijo stranskih korenin, ki poteka z aktivnostjo pericikla, saj so iz poskusov lokalizacije Pb v koreninah znane visoke koncentracije tega elementa v endodermisu (JENTSCHKE s sod. 1991).

Simptomi toksičnosti Pb se lahko pokažejo tudi na nadzemnem delu, in sicer v obliki kloroz, listi postanejo tudi rdečkasti, prisotne so nekroze (BERGMANN 1992).

Na fiziološki ravni se toksičnost svinca kaže v znižani fotosintetski aktivnosti in transpiraciji. Neposreden vpliv svinca so opazili po tretiranju rastlin *Medicago sativa* in *Trifolium pratense* z 1 mM Pb (BECERRIL in sod. 1988), ko sta bila inhibirana oba fotosistema. Inhibicijo s Pb dobimo tudi na izoliranih kloroplastih ali encimih.



Slika 1: Model fitotoksičnosti Pb za smreko *Picea abies* (po GODBOLD - u 1994).

Figure 1: A model of phytotoxicity of Pb on the spruce *Picea abies* (according to GODBOLD 1994)

Posredni učinki so lahko rezultat spremenjene fiziologije rež in s tem sprememb v difuziji CO₂ in vode. GODBOLD (1994) opaža zmanjšano asimilacijo CO₂ po tretiranju sadik smreke s 5 μM Pb in hkrati ugotavlja, da se z inhibitornimi koncentracijami Pb v poganjkih zaradi omejenega transporta srečujemo redko.

Posreden vpliv na fotosintetsko aktivnost imajo tudi spremembe v mineralni prehrani rastlin. Vpliv Pb na privzem in vsebnost drugih kationov v rastlino je različen pri različnem pH. Največkrat prihaja do zniževanja koncentracij K⁺, Ca²⁺ in Mg²⁺, ki sovpada z povečanim privzemom Pb²⁺ v rastlino, kar kaže, da gre za kompeticijo kationov pri transportu čez membrano (GODBOLD 1994). Pri smreki Pb (0.1-2 μM) zniža vsebnosti Ca, Fe in Zn v koreninskih vršičkih, na druge elemente v koreninah pa nima večjega vpliva. Prav tako se zniža vsebnost Ca in Mn v iglicah smrekovih kalic (GODBOLD / KETTNER 1991b). ANTOSIEWICZ (1993) ugotavlja pri tolerantnem kultivarju paradižnika pri tretiranju s svincem visoke koncentracije Ca v rastlini. Hkrati je na Pb toleranten paradižnik tudi manj občutljiv ob pomanjkanju kalcija.

Pomembne so tudi interakcije Pb in fosforja. ROLFE (1973) je proučeval vpliv fosfata na privzem Pb pri osmih drevesnih vrstah. Po 60 dneh tretiranja sadik s Pb, so sadike kazale vidno pomanjkanje fosforja zaradi tvorbe netopnih Pb fosfatnih precipitativ v tleh in v koreninah. Precipitacija s P lahko predstavlja enega ključnih dejavnikov pri omejevanju privzema in fitotoksičnosti svinca, hkrati pa lahko v tleh, ki so s fosforjem slabo založena, pomeni tudi njegovo pomanjkanje. To močno vpliva na fotosintetsko aktivnost in preostala fiziološka dogajanja v rastlini.

Membrana rastlinske celice naj bi bila glavno mesto poškodb, ko gre za toksično delovanje svinca in drugih kovin. Najpogostejši učinek kovin je povečana prepustnost membrane za K^+ in H^+ , prihaja pa lahko tudi do vpliva na prenašalce in ionske kanale, spremeni se lahko tudi prepustnost za vodo. Vodni deficit, ki se izrazi po tretiranju bukve (*Fagus sylvatica*) s Pb, je lahko neposreden odraz inhibirane rasti koreninskega sistema, možno pa je tudi, da prihaja do sprememb v sami prevodnosti za vodo (KAHLE 1993). Glavni simptom toksičnosti Pb na koreninah je rjavenje korenin, ki je posledica suberizacije celične stene. Znano je, da suberin močno zmanjša prepustnost za vodo. Poleg tega je lahko posledica tretiranja s Pb tudi pospešena lignifikacija (KAHLE 1993).

Na biokemični ravni prihaja do zmanjšane aktivnosti nekaterih encimov. Inhibirani so encimi, ki sodelujejo v fotosintezi (PEP karboksilaza pri C_4 rastlinah), metabolizmu dušika (nitrogenaza, nitrat reduktaza) in encimi, udeleženi pri sintezi klorofilov (aminolevulininske kisline dehidrataza). Povečana je aktivnost nekaterih encimov, ki so značilni za pospešeno senescenco (hidrolitični encimi in peroksidaze). Višji nivo topnih proteinov in prostih amino kislin v rastlinskih celicah kaže, da prihaja ob toksičnih koncentracijah svinca tudi do povečane degradacije proteinov (BALSBERG-PÁHLSSON 1989).

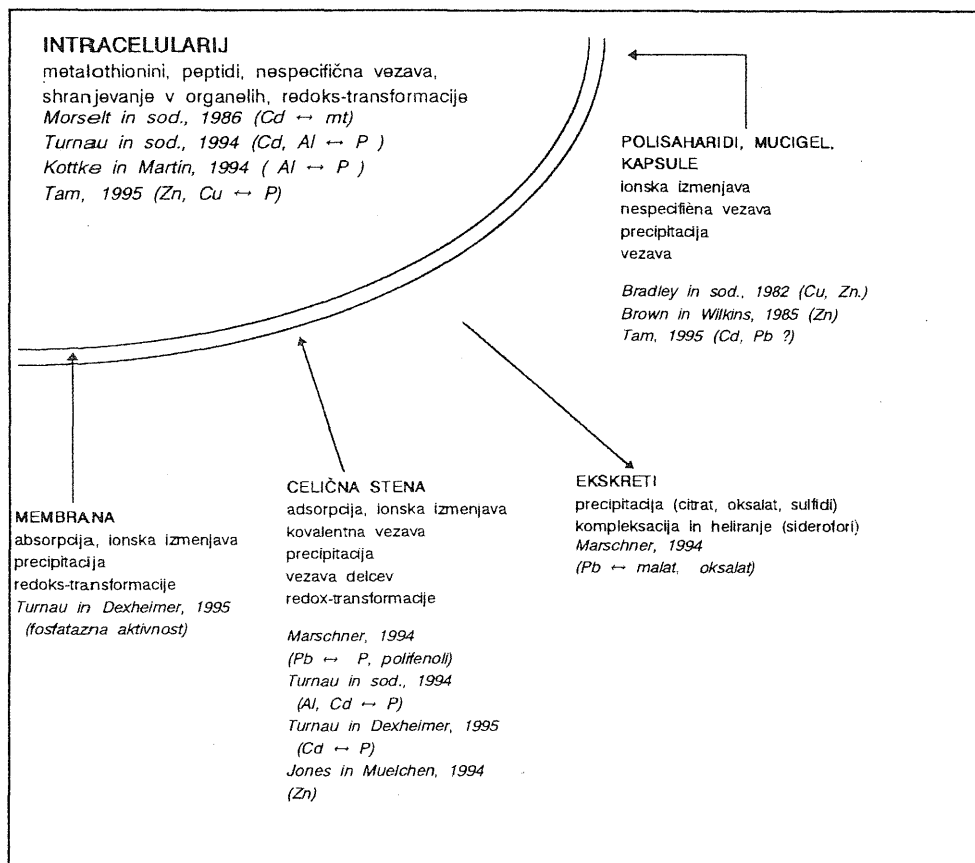
Toksičnost svinca se izraža tudi na citološki in genetski ravni. Nekatere oblike svinca, predvsem njegove spojine s tri- oziroma tetrametil-om, povzročajo anomalije v celičnih delitvah in kromosomske aberacije (LIU in sod. 1994, WIERZBICKA 1994, WOZNY / KRZESLOWSKA 1993). Prihaja tudi do interakcij z DNA in RNA (BALSBERG-PÁHLSSON 1989).

3.3 Toleranca rastlin na visoke koncentracije svınca

Na svinec tolerantne rastline so sposobne omejiti toksičnost svınca na različne načine. Najpogosteje gre za imobilizacijo Pb ionov na različnih celičnih komponentah (npr. celični steni), kompartmentizacijo (vakuola), posebej pomembna pa je vezava na peptide - fitohelatine (STEFFENS 1990), katerih sinteza je inducirana s težkimi kovinami. Rastlina lahko tudi zmanjša privzem Pb s spremembami kationske izmenjalne kapacitete celice (spremembe v aktivnosti ATP-aze, spremembe v encimski aktivnosti na površini korenin). Gre za izogib in ne za mehanizem tolerance. Slednji so opisani v več preglednih člankih (npr. BAKER 1987, BAKER/WALKER 1989, ANTOSIEWICZ 1992)

4 SVINEC IN GLIVE

Interakcije gliv s težkimi kovinami so relativno dobro znane. Splošni pregledni članki (GADD 1993, LEPP 1992) dajejo največ poudarka študijam privzema, vezave in toksičnosti pri nižjih glivah. Nekatere izmed njih se že uporabljajo v biotehnoloških postopkih za čiščenje odpadkov s težkimi kovinami (GADD, 1990). Pregled raziskav interakcij težkih kovin z mikoriznimi glivami podaja GALLI s sodelavci (1994), Interakcije privzema in imobilizacije nam na nivoju glivne celice prikazuje slika 2., na kateri je dodatno prikazano tudi poznavanje teh mehanizmov pri mikoriznih glivah in v simbiozi.



Slika 2: Interakcije glivne celice s težkimi kovinami pri privzemu in imobilizaciji (po GADD-u 1990) ter prikaz poznavanja teh mehanizmov pri različnih kovinah za mikorizne glive (poševni tisk; P = vezava na fosfat, mt = vezava na peptide).

Figure 2: Interactions of a fungal cell with heavy metals during uptake and immobilization (according to GADD 1990). Italics denote the mechanism in mycorrhizal fungi and the various elements. P=phosphate bond, mt=peptide bond.

4.1 Toksičnost svinca za glive, sorpcija svinca

Vpliv svinca na rast ektomikoriznih gliv in vitro je bil proučevan v več poskusih, ki se razlikujejo glede na tip gojišča (trdno, tekoče), pH ali koncentracije polivalentnih anionov (posebno fosfati) in možnih organskih ligandov. Našteti dejavniki prek mehanizmov polimerizacije, precipitacije (fosfati, pH), heliranja in vezave na nabite površine (agar) vplivajo na aktivnost prostih kovinskih ionov v gojišču. Zaradi tega ni čudno, da so podatki o občutljivosti gliv na svinec glede na posamezne poskuse zelo variabilni. Poleg tega lahko toksičen vpliv Pb zmanjša tudi prisotnost divalentnih ionov Ca^{2+} in Mg^{2+} , odvisen pa je tudi od oblike dušika v gojišču (JENTSCHKE/RAPP 1994). Za določevanje absolutnih kritičnih koncentracij svinca je torej potrebna uporaba tekočih gojišč z nizkim pH,

nizko vsebnostjo hranil in brez helatorjev. Ob uporabi polnega MNM gojišča TAM (1995) sploh ni mogel okarakterizirati razlik v toleranci na Pb pri petih različnih ektomikoriznih glivah. Verjetno je prišlo do precipitacije Pb s fosfatom v gojišču. S testi na trdnih gojiščih lahko ugotovimo razlike v toleranci različnih gliv, ne moremo pa z njimi napovedati absolutnih kritičnih koncentracij.

Raziskave na glivah lahko razdelimo na več sklopov:

- raziskave toksičnosti težkih kovin oz. tolerance gliv nanje
- raziskave vpliva težkih kovin na fiziologijo gliv
- raziskave privzema težkih kovin in njihove akumulacije (mehanizmi transporta in vezave kovinskih ionov)
- ekološke raziskave (glive kot bioindikator)

Zanimiva je tudi kombinacija trdnih in tekočih gojišč v sistemu triprekatnih petrijev (MARSCHNER 1994), katerega slabost pa je oteženo manipuliranje s petrijevami ob spremljanju rasti. S takšnim sistemom je MARSCHNER-jeva testirala 7 različnih izolatov ektomikoriznih gliv in ugotovila kritično koncentracijsko območje - rast gliv je 25% inhibirana - med 10 in 100 μM Pb, kar je za faktor 10 več, kot je toksični prag za smreko *Picea abies* - potencialnega gostitelja mikorizni simbiozi.

Toleranca gliv na težke kovine temelji na njihovi imobilizaciji. Ta lahko poteka na različnih nivojih, ki jih prikazuje slika 2. Za različne kovine in različne glive so bili že dokazani naštetih mehanizmi, največkrat pri toleranci na Cd in Al (KOTTKE in MARTIN 1994, MARTIN in sod. 1994, TAM 1995, TURNAU in sod. 1994, TURNAU/DEXHEIMER 1995), za svinec je neposrednih dokazov manj (MARSCHNER 1994, ROOMANS 1980 - za nižje glive). Toleranca lahko temelji na prisotnosti metalothioninom podobnih proteinov, ki vežejo kovinske ione na -SH skupine. Indukcijo takšnih proteinov so dokazali v miceliju *Pisolithus tinctorius* po tretiranju gliv z Cd, Cu ali Zn, do nje pa ni prišlo pri netolerantni vrsti *Cenococcum geophilum* (MORSELT in sod. 1986).

Za svinec MARSCHNER-jeva izpostavlja naslednje interakcije gliv s Pb - ionom:

- vezava na celično steno je povečana, če micelij vsebuje veliko melanina
- intracelularna in površinska vezava na fosfat
- vezava na organske kisline (glivi lahko omogoči toleranco, lahko pa tudi poveča razpoložljivost Pb ionov v tleh; odvisnost od prehrane z N)

Poleg tega pa navaja tudi velik pomen fizikalno-kemijskih lastnosti micelija različnih gliv. Micelij glive *Paxillus involutus* (sev 533) je gost in hidrofoben, zaradi česar je zmanjšan njegov stik s hranilno raztopino, privzem Pb pa je s tem omejen. V primerjavi z glivo *Laccaria laccata* je manjša tudi njegova kationska izmenjevalna kapaciteta, pri tem pa je zanimivo, da rentgenska mikroanaliza pokaže manjše vsebnosti Pb v intracelulariju in tudi celični steni glive *L.laccata* v primerjavi z *P.involutus*. Toleranca glive *P.involutus* lahko temelji na povečanem izločanju malata ob tretiranju s Pb, če je vir dušika v gojišču NH_4 . Za manj tolerantno glivo *L.laccata* pa je značilna tudi nižja produkcija malata in oksalata. Pri primerjavi tolerance gliv so odločujoči tisti mehanizmi, ki so ključni oz. najpogostejši pri posameznih glivah. Tako naj bi bile prednosti, ki jih ima *L.laccata* zaradi večje adsorpcijske sposobnosti in KIK izničene zaradi hidrofilne narave micelija, ki omogoča visoko izmenjavo svinca (MARSCHNER 1994).

Toleranca je specifična tudi na nivoju glivnih sevov, kar kaže tudi naslednja tolerančna vrsta gliv (dodane so oznake posameznih sevov):

P.involutus 533 > *P.involutus* COU, *P.involutus* MAI > *P.tinctorius* 956,
P.tinctorius Marx > *P.involutus* 031, *P.involutus* NAU, *L.laccata*, *A.muscaria*
(MARSCHNER 1994)

Čeprav ni nujno, da imajo naštetih mehanizmi sorpcije in imobilizacije kovin ter tolerance gliv na kovine fiziološki učinek tudi v mikorizni simbiozi, je za študij mikorize vseeno potrebno njihovo poznavanje. V primerjavi testov tolerance gliv na Cd, ter učinkov tega elementa na mikorizni rdeči bor (*Pinus sylvestris*) COLPAERT in VAN ASCHE (1993) ugotavljata, da je bila v testih najbolj tolerantna gliva *Thelephora terrestris* najbolj občutljiva v simbiozi. Po drugi strani JONES in MUELCHEN (1994) pozitivne učinke, ki jih ima ista gliva pri omejevanju toksičnosti Zn na rdeči bor, razlagata ravno z visoko toleranco *T.terrestris* na cink v gojišču. Z rentgensko mikroanalizo sta dokazala Zn vezan

na fosfatna granula na površini hif. Tudi drugi mehanizmi, ki jih prikazuje slika 2, so lahko vključeni v procese privzema in imobilizacije kovinskih ionov na nivoju mikorizne korenine.

Razlike v toleranci *in vitro* se lažje aplicirajo na toleranco mikorize, kadar gre za primerjavo učinka kovine na različne izolate ene glivne vrste. Upoštevati moramo, da lahko toleranco mikorize pogojuje tudi vrstna specifičnost na nivoju gostiteljske rastline oz. razlike v kompatibilnosti med simbiontoma.

Ključnega pomena, za toleranco in preživetje v tleh z visokimi kovinami naj bi bila gostota micelija, oz. njegova regeneracijska sposobnost (COLPAERT / VAN ASCHE 1993).

5 MIKORIZA IN SVINEC

5.1 Vpliv svınca na mikorizno infekcijo

Vloga mikorize pri mineralni prehrani z mikronutrienti je odvisna tudi od sposobnosti glive, da kolonizira koreninski sistem gostitelja. Na infekcijo lahko poleg drugih dejavnikov vpliva prav koncentracija mikroelementov v tleh. Pri pomanjkanju esencielnih mikroelementov (Zn, Cu) je mikorizna infekcija slabša (GEORGE in sod. 1994).

Tudi presežek mikroelementov, predvsem težkih kovin, lahko drastično zavre mikorizacijo in tudi rast micelija. Takšni učinki različnih kovin so znani tako za ektomikorizo (DIXON 1988, COLPAERT/VAN ASCHE 1992; JENTSCHKE/RAPP 1994) kot tudi za arbuskularno mikorizo (GILDON/TINKER 1983, CHAO/WANG 1990) (preglednica 1).

Preglednica 1.: Vpliv Pb na mikorizno infekcijo
Table 1.: Influence of lead on the mycorrhizal infection

Pb	% zmanjšanja infekcije	Objekt	Referenca
100 ppm ^a	58	<i>Quercus rubra</i> - <i>Suillus luteus</i>	Dixon 1988
5 ppm ^a	do 50	<i>Pinus banksiana</i> - <i>Suillus luteus</i>	Dixon in Buschena 1988
1 μ M ^b	0	<i>Picea abies</i> - <i>Paxillus involutus</i> - <i>Lactarius rufus</i>	Jentschke in sod. 1991
100 mg/L	30	<i>Zea mays</i> - <i>Glomus</i>	Chao in Wang 1990
240 ppm ^a	do 50	<i>Pinus taeda</i> - razl. tipi	Chappelka 1991
5 μ M ^b	34	<i>Picea abies</i> - <i>Paxillus involutus</i>	Marschner 1994
5 μ M ^b	3	<i>Picea abies</i> - <i>Pisolithus tinctorius</i>	Marschner 1994

^a sadike so bile tretirane v lončnem poskusu (peščena ilovica, pH6, OS 1.5%). 100 ppm dodanega svinca da 48 ppm razpoložljivega, 5 ppm pa 1ppm razpoložljivega Pb.

^b rastline so bile tretirane v hidroponiki s kremenčevim peskom.

Dodatek 240 ppm Pb nesteriliziranim tlem je v lončnem poskusu zmanjšal število mikoriznih koreninskih vršičkov pri boru (*Pinus taeda*) za 50% (CHAPPELKA in sod. 1991). Po tretiranju sadik smreke s 5 μ M PbCl₂ je bila mikorizacija z dvema ektomikoriznima glivama od 3-34 % manjša, veliko bolj občutljiv na Pb pa se je pokazal ektramatrikalni micelij, pri katerem je bila inhibicija rasti tudi do 83% (JENTSCHKE/RAPP 1994) (preglednica 2).

Infekcija korenin koruze (*Zea mays*) z AM glivami je bila po tretiranju s 100 mgPb/l manjša za približno 30% v primerjavi s kontrolnimi, netretiranimi rastlinami (CHAO / WANG 1990).

Omeniti moramo še posredne učinke, ki jih ima Pb na mikorizno infekcijo. V tleh s povečano koncentracijo Pb je zmanjšana mikrobna raznovrstnost in aktivnost (LANDMEYER in sod. 1993). Ker določene vrste bakterij sodelujejo tudi pri vzpostavljanju mikorizne simbioze (mycorrhization helping bacteria - MHB), se negativni učinek svinca izraža tudi na intenziteti mikorize.

Preglednica 2: Primerjava zmanjšanja (%) mikorizne infekcije, rasti ekstramatrikalnega micelija in rasti gliv v kulturi po tretiranju s svincem^a (po JENTSCHKE in RAPP 1994)

Table 2: A comparison of the decrease (in %) of mycorrhizal infections, the growth of extramatrical mycelia, and fungal growth all on lead.

Gliva	Mikorizna infekcija ^b	Dožina ekstramatrikalnega micelija	Biomasa micelija <i>in vitro</i>
<i>Paxillus involutus</i>	- 34	- 83	- 8
<i>Pisolithus tinctorius</i>	- 3	- 48	- 7

^a mikorizirane sadike smreke (*Picea abies*) so bile tretirane v peščeni hidroponiki s $5\mu\text{M PbCl}_2$, glive so bile v poskusu *in vitro* tretirane z $10\mu\text{M PbCl}_2$ v tekočem gojišču. Inhibicija je podana v odstotkih glede na kontrolo.

^b izraženo v deležu mikoriznih korenin na koreninskem sistemu.

5.2 Mikoriza in omejevanje toksičnosti svınca

Mikoriza lahko rastlinam omogoči povečan privzem esencialnih mikroelementov, kadar so ti v deficitu (GEORGE in sod. 1994), pri visokih koncentracijah težkih kovin pa lahko v nekaterih primerih omeji njihovo toksičnost za gostiteljsko rastlino. Tako je BRADLEY s sodelavci (1981, 1982) v svojih poskusih dokazal, da je normalna rast jesenske vrese (*Calluna vulgaris*) ob povišanih koncentracijah Cu ali Zn mogoča le pri mikoriziranih rastlinah. Pomen **erikoidne mikorize** za toleranco vresnic na težke kovine potrjujejo tudi drugi poskusi. HASHEM (1990) v svoji raziskavi ugotavlja, da gliva *Hymenoscyphus ericae* v mikorizi z *Vaccinium macrocarpon* gostiteljski rastlini omogoča povečano toleranco na svinec z omejevanjem transporta v poganjke. Podobni učinki so poznani tudi za **arbuskularno mikorizo** pri privzemu Cd in Zn (SCHÜEPP in sod. 1987) in tudi Pb (CHAO / WANG 1990).

Raziskave možnega vpliva **ektomikorize** pri omejevanju toksičnosti težkih kovin so postale zanimive zaradi dveh razlogov. Prvi je dejstvo, da predstavljajo težke kovine in aluminij v povezavi z zakisanim tal enega ključnih stresnih dejavnikov pri propadanju gozdov. Drugi razlog je možnost uporabe inokuliranih sadik pri zasajanju onesnaženih območij - predvsem tistih, ki so prizadeta zaradi rudarjenja in metalurgije.

Rezultati nekaterih raziskav, ki navajajo zmanjšan privzem oz. transport kovine v poganjke, so lahko posledica dejstva, da so mikorizne rastline v primerjavi s kontrolnimi bolje uspevale. Izboljšana, pospešena rast ima za posledico manjšo koncentracijo kovinskega elementa zaradi tako imenovanega efekta

razredčevanja. Obstajajo pa tudi neposredni dokazi, da gliva res omejuje toksičnost.

COLPAERT in VAN ASCHE (1992) poročata, da pri visoki koncentraciji Zn v tleh mikoriza z glivo *Paxillus involutus* omejuje transport Zn v poganjke rdečega bora (*Pinus sylvestris*). Zmanjšana je tako vsebnost Zn na enoto suhe teže, kot tudi celotna vsebnost tega elementa v poganjku. O podobnih učinkih poročata tudi DENNY in WILKINS (1987) v poskusih z brezo. Gliva naj bi omejevala dostopnost cinka z njegovo vezavo na celične stene in glivne ekskrate. Z rentgensko mikroanalizo sta JONES in MUEHLCHEN (1994) pri mikorizi rdečega bora (*Pinus sylvestris*) z glivo *Thelephora terrestris* ugotovila vezavo Zn na plašč ektomikoriznih korenin, ki naj bi predstavljal oviro za vstop Zn v korenine.

Pozitivni učinki mikorize so znani tudi pri omejevanju toksičnosti kadmija za smreko (*P. abies* - *Laccaria laccata*) (GALLI in sod. 1993) in bor (*P. sylvestris* - različne glive) (COLPAERT/VAN ASCHE 1993), ter pri omejevanju toksičnosti Al (*P. abies* - *Paxillus involutus*) (HENTSCHEL in sod. 1993). Največji pomen pri slednji dajejo vezavi Al na polifosfatne granule na glivni celični steni (KOTTKE / MARTIN 1994).

Opravljenih je bilo že tudi več raziskav interakcij ektomikorize in toksičnega delovanja svinca.

DIXON (1988) je tretiral sadike hrasta *Quercus rubra* v lončnem poskusu (peščena ilovica, pH 6, organska snov 1,5 %) s 5, 10, 20, 50 in 100 ppm Pb. Največja koncentracija je omejila delež mikoriznih vršičkov z glivo *Suillus luteus* za cca. 50 %. Mikorizirane rastline so imele v vseh tretmajih večjo biomaso, večja pa je bila tudi listna površina pri teh rastlinah. Tretma s svincem in mikorizacija s *S. luteus* signifikantno vplivata na vsebnost Pb, Zn, Fe, Mg in P v sadikah. Vsebnost P, Mg in Fe v iglicah je večja pri inokuliranih sadikah kot pri neinokuliranih. Koncentracije Pb, P in Mg v koreninah ter koncentracije Zn v iglicah ektomikoriznih sadik presegajo vsebnosti pri neinokuliranih sadikah, če sadike tretiramo z najvišjo koncentracijo Pb. Kot možne mehanizme za omejen privzem svinca pri tretiranju sadik z nizkimi in srednjimi koncentracijami DIXON (1988) navaja hifni plašč kot bariero, vezavo kovin na glivne strukture in interakcije z anioni makroelementov. Visoke koncentracije, ki omejujejo

mikorizacijo, rezultirajo tudi v podobnih koncentracijah Pb v inokuliranih in neinokuliranih rastlinah.

Možnost, da se svinec zadržuje na hifnem plašču v ektomikorizi smreke z glivami *Lactarius rufus* in *Paxillus involutus* je v svojih raziskavah proučil JENTSCHKE s sodelavci (1991, 1995). Z rentgensko mikroanalizo je primerjal porazdelitev Pb v koreninskem tkivu mikoriznih in nemikoriznih koreninskih vršičkov po 19 tedenskem tretiranju sadik smreke z $1\mu\text{M}$ Pb. Nalaganje Pb v hifnem plašču gliv ali v celičnih stenah hif Hartigove mreže ni bilo signifikantno. Pb se veže na celične stene koreninskega korteksa in endodermisa, ki predstavlja bariero za prenos Pb naprej v rastlino. Podobne rezultate so za svinec dobili tudi DONNER in HEYSER (1989) in MARSCNER-jeva (1994). Drugi poskusi (JONES / MUEHLCHEN, 1994) nakazujejo filtrsko vlogo glivnega plašča pri privzemu Zn. Dodatni poskusi bodo pokazali, ali so omenjeni rezultati vezani na vrstno specifičnost simbioze.

MARSCNER-jeva (1994) je tretirala sadike smreke v peščeni kulturi z $5\mu\text{M}$ Pb. Ugotovila je, da kolonizacija korenin z glivo *Laccaria laccata* poveča akumulacijo svınca v apoplastu koreninskega korteksa. V istem poskusu mikoriza z glivama *Paxillus involutus* in *Pisolithus tinctorius* ni imela vpliva na koncentriranje Pb v koreninski skorji. Pb lahko prehaja skozi glivni plašč v korenino, če je prisoten v tleh kot lahko topna sol. Potrjeni so bili tudi nekateri rezultati JENTSCHKE-ja in sodelavcev (1991). Iz poskusov je razvidno, da imajo lahko različne interakcije gliv s Pb, znane iz *in vitro* poskusov, različen pomen v simbiozi. Za dve ektomikorizni glivi, ki sta bili vključeni v raziskave, predlaga različni strategiji omejevanja toksičnosti svınca. Gliva *Paxillus involutus* je ob tretiranju smrekovih sadik s $5\mu\text{M}$ Pb še vedno tvorila intenziven ekstramatrikalni micelij. Ta po eni strani omogoča neposredno sorpcijo svinčevih ionov na glivne celične stene, po drugi strani pa aktivnost ekstramatrikalnega micelija vpliva tudi na povečan privzem fosforja, ki lahko veže Pb tudi po tem, ko se je bil ta že privzet. Ekstramatrikalni micelij glive *Laccaria laccata* je v istih pogojih manj obsežen, zaradi tega tudi omenjena mehanizma imobilizacije svınca ne igrata posebne vloge pri transportu v mikorizno sadiko smreke. Za moderiranje tega transporta je pomembnejša produkcija in izločanje organskih kislin iz glive *Laccaria laccata*. Te kisline Pb kompleksirajo, s tem zmanjšajo njegovo toksičnost, hkrati pa lahko povečajo njegovo mobilnost (MARSCNER, 1994).

Večja občutljivost ekstramatrikalnega micelija na povišane vsebnosti Pb v primerjavi z mikoriznimi koreninskimi vršički je zelo pomemben izsledek dosedanjih raziskav. Visoke koncentracije Pb lahko omejijo infekcijo korenin, rezultirajo lahko tudi v morfoloških anomalijah prisotne mikorize, kot je na primer tanjšanje hifnega plašča in njegova dezintegracija (WONG in sod. 1987), vendar je veliko bolj pomembno inhibitorno delovanje Pb na ekstramatrikalni micelij, do katerega lahko pride že pri nižjih koncentracijah (glej preglednico 2). Intenziven ekstramatrikalni micelij naj bi bil ključen za omejevanje toksičnosti težkih kovin (COLPAERT / VAN ASCHE 1993) z različnimi, že omenjenimi mehanizmi vezave. Zelo pomembne pa so tudi fizikalne lastnosti micelija, ki lahko te mehanizme omogočajo ali omejijo.

Več poskusov (preglednica 3) kaže, da mikoriza ne zmanjšuje dostopnosti in transporta Pb v poganjke, ima pa druge pozitivne fiziološke učinke. Ti so pogosti predvsem pri mineralni prehrani rastlin. Izboljšana preskrba s fosforjem pri mikoriznih sadikah smreke v primerjavi z nemikoriznimi je bila opažena tako v terenskem poskusu na s svincem onesnaženem območju (Žerjav, zgornja Mežiška dolina) (VODNIK in sod., 1996) kot tudi v laboratorijskem poskusu (preglednica 3). Povečan privzem nekaterih makroelementov je posebej pomemben v tleh, kjer se hkrati srečujemo z njihovo deficienco in toksičnimi koncentracijami Pb.

Preglednica 3: Vpliv mikorize na omejevanje toksičnosti Pb - omejevanje privzema in transporta pri mikoriziranih rastlinah

+ = vsebnost Pb je manjša, kot pri kontrolnih, neinokuliranih rastlinah

- = vsebnost Pb je večja, kot pri kontrolnih, neinokuliranih rastlinah

P, Ca, Mg = povečan privzem fosforja, kalcija in magnezija

NF = stimulirana fotosinteza, Chl = stimulirana biosinteza klorofilov.

Table 3: The influence of mycorrhizae in limiting lead toxicity, the decrease of uptake and transport in mycorrhized plants.

+ = lead content is lower than in control, noninoculated plants

- = lead content is greater than in control, noninoculated plants

P, Ca, Mg = increased uptake

NF = stimulated photosynthesis, Chl = stimulated synthesis of chlorophyll.

Učinek na privzem Pb	Drugi fiziološki učinki	Tretiranje s Pb	Simbioza	Referenca
+		5 in 10 ppm ^a	<i>P. banksiana</i> - <i>S. luteus</i>	Dixon in Buschena 1988
+	+ (P)	10 ppm	<i>P. glauca</i> - <i>S. luteus</i>	Dixon, 1988
	+ (P, Mg)	20-100 ppm ^a	<i>Q. rubra</i> - <i>S. luteus</i>	Dixon, 1988
+		0.1-100 mg/L ^b	<i>Zea mays</i> - <i>Glomus</i>	Chao in Wang 1990
+ (poganjki) - (korenine)		200-400 mg/L ^c	<i>V. macrocarpon</i> - <i>H. ericae</i>	Hashem, 1990
0	+	1 μM Pb ^b	<i>P. abies</i> - <i>L. rufus</i>	Jentschke in sod. 1991
	+		<i>P. abies</i> - <i>P. involutus</i>	
- (korenine) 0 (+) 0	+ (P, Ca)	5 μM Pb ^b	<i>P. abies</i> - <i>L. laccata</i>	Marschner 1994
			<i>P. abies</i> - <i>P. involutus</i>	
			<i>P. abies</i> - <i>P. tinctorius</i>	
?	+ (P, K)	9000 ppm ^d	<i>P. abies</i> - <i>P. tinctorius</i>	Vodnik in sod. 1996
0	+ (NF, chl)	5 μM Pb ^b	<i>P. abies</i> - <i>P. tinctorius</i>	Vodnik (neobjavljeno)

^a sadike so bile tretirane v lončnem poskusu (peščena ilovica, pH6, OS 1.5%). 100 ppm dodanega svinca da 48 ppm razpoložljivega, 5 ppm pa 1 ppm razpoložljivega Pb.

^b rastline so bile tretirane v hidroponiki s kremenčevim peskom.

^c rastline so bile gojene v akseničnih pogojih (perlit, 1/2 Melinovo tekoče gojišče).

^d rastline so bile tretirane na terenu (rendzina na dolomitu, pH 6.9, OS 23.7%, CEC >30).

Nefunkcionalna mikoriza oz. njena odsotnost zaradi toksičnosti svinca ima posledice v moteni mineralni prehrani, asimilaciji CO₂ in vodnemu režimu. Prednost rastlin, ki tvorijo mikorizo s tolerantnimi glivnimi vrstami, v primerjavi z nemikoriznimi rastlinami, lahko glede na fitotoksičnost Pb temelji tudi na dolgo poznanih osnovnih pozitivnih učinkih simbioze.

6 PERSPEKTIVE

V bodoče bi bilo potrebno raziskave osnovnih mehanizmov privzema in translokacije Pb (ter drugih mikroelementov) v mikorizne rastline osredotočiti na:

- vlogo mineralne prehrane pri privzemu, translokaciji in mehanizmih tolerance
- vlogo različnih hormonov pri fitotoksičnosti svinca za nemikorizne in mikorizne rastlinah ter za glive *in vitro*.
- biološko raznolikost mikoriznih simbioz pri interakcijah s Pb
- časovno dinamiko privzema in transporta Pb
- primerjavo rezultatov laboratorijskih in terenskih poskusov na glivah, nemikoriznih in mikoriznih rastlinah
- opredelitev ekološkega pomena mikorize glede na druge biotske in abiotske dejavnike, ki pogojujejo toksičnost svinca na različnih rastiščih.

Dobro poznavanje osnovnih dogajanj v kontroliranih poskusih nam bo pomagalo bolje razumeti vlogo mikorize pri toksičnosti svinca in drugih težkih kovin v naravi.

SUMMARY

In many countries lead is becoming a serious economic problem because of its properties when it accumulates in the soil. Recently we have also begun to recognize its harmful effect on the forest ecosystem (KAHLE/BRECKLE 1992, GODBOLD 1994). Combined with acidification of forest soils, lead is said to be one of the stressed factors causing forest damage in Central and Northern Europe. The spruce is particularly susceptible to its toxicity (Godbold 1994). Because of the small motility of lead and thus its limited transport into above ground plant parts, its toxicity is mainly seen in the roots as a browning of the root tips and arrest of their growth. When lead is taken up, it interacts with other cations and this may interfere with phosphorus, calcium, and potassium uptake (GODBOLD/KETTNER 1991b). Growth arrest may be due to a calcium deficit (GODBOLD 1994), but in this effect the state of plant hormones should also be taken into account. A direct influence of lead on the initiation of side roots (JENTSCHKE et al. 1991) is a possibility. The phytotoxic lead influences may be seen on the biochemical, cellular, and genetic levels (BALSBERG-PÁHLSSON 1989, BERGMANN 1992, LIU et al. 1994, WIERBICKA 1994, WOZNY/KRZESLOWSKA 1993).

The ectomycorrhiza plays a key role in the tree's provision of different nutrients and water. There are practically no plants without mycorrhizae in a natural forest

ecosystem. In studying the role of mycorrhizae in lead toxicity, apart from lead's phytotoxic influence, one must also know its phytotoxicity to the fungus. We may study this using firm and liquid substrates *in vitro*. In determining tolerance we have to consider the composition of the nutrient medium (JENTSCHKE/RAPP 1994). Tolerance is often tied to several immobilization mechanisms such as phosphate, chitin or metalothionine bonds (MARSCHNER 1994, TAM 1995) and may be specific at the level of fungal strains or isolates.

Lead hinders the development of the mycorrhizal symbiosis (DIXON 1988, DIXON/BUSCHENA 1988, CHAPPELKA and coworkers 1991) but the sensitivity to lead is even greater in the extramatrical mycelium than in the root tips (JENTSCHKE/RAPP 1994). Of key importance for fungal tolerance and survival in high lead soil there are the mycelial density and its regenerational capabilities (COLPAERT/VAN ASCHE 1993).

According to some authors the phytotoxic effects of metals may be overcome by limitation of their transport by mycorrhizae. Immobilization mechanisms in fungi may also be present in mycorrhizal plants and these appear as an effect on the uptake. To date the hypothesis that the hyphal mantle of mycorrhizal roots acts as a barrier to lead transport has not been confirmed (JENTSCHKE 1991, MARSCHNER 1994); probably the filter function of the extramatrical mycelium known from tests with other metals is of greater importance (COLPAERT/VAN ASCHE 1993).

Authors report that different combinations of mycorrhizal partners also show as a physiologic effect of the mycorrhiza a decrease in the lead uptake into the above ground plant parts (DIXON/BUSCHENA 1988). Several other experiments (DIXON 1988, JENTSCHKE 1991, MARSCHNER 1994) demonstrate that a mycorrhiza does not decrease lead uptake but has other positive physiologic effects that may give the edge to mycorrhized plants in stressful conditions.

VIRI

- ADRIANO, D.C., 1986. Trace elements in the terrestrial environment.- Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo, 533 s.
- ALLOWAY, B.J., 1990. Heavy Metals in Soils.- Blackie and Son Ltd, Glasgow, London, 331 s.
- ANGELONE, M. / BINI, C., 1992. Trace elements concentrations in soils and plants of western Europe.- In: Adriano, D.C. (ed.) Biogeochemistry of trace metals, Lewis Publishers, Boca Raton, s 19-61.
- ANTOSIEWICZ, D.M., 1992. Adaptation of plants to an environment polluted with heavy metals.- Acta Soc. Bot. Pol., 61, 2, s 281-299.
- ANTOSIEWICZ, D. M., 1993. Mineral status of dicotyledonous crop plants in relation to their constitutional tolerance to lead.- Environmental and Experimental Botany, 33, 4, s 575-589.
- BAKER, A.J.M., 1987. Metal tolerance.- New Phytol., 106, s 93-111.
- BAKER, A.J.M. / WALKER, P.L., 1989. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity.- Bioavailability, 1, 1, s 7-17.
- BALSBERG-PÁHLSSON, A.M., 1989. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants.- Water, Air and Soil Pollution 47, s 287-319.
- BECERRIL, J.M. / MUNOZ-RUEDA, A. / APARICIO-TEJO, P. / GONZALEZ-MURUA, C., 1988. The effects of cadmium and lead on photosynthetic electron transport in clover and lucerne.- Plant Physiol Biochem, 26, s 357-363.
- BERGMANN, W., 1992. Nutritional disorders of plants. Development, Visual and Analytical Diagnosis.- Jenna, Stuttgart, New York, s 326-331.
- BRADLEY, R. / BURT, A.J. / READ, D.J., 1981. The biology of mycorrhiza in Ericaceae. VIII. The role of mycorrhizal infection in heavy metal resistance.- New Phytol., 91, s 197-209.
- BRADLEY, R. / BURT, A.J. / READ, D.J., 1982. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*.- Nature 292, s 335-337.
- BROWN, M.T. / WILKINS, D.A., 1985. Zinc tolerance in mycorrhizal *Betula*.- New Phytol, 99, s 101-106.
- CHAO, C.C. / WANG, Y.P., 1990. Effects of heavy metals on the infection of vesicular-arbuscular mycorrhizae and the growth of maize.- J. Agri. Ass. Chi., 152, s 34-45.

- CHAPPELKA, A.H. / KUSH, J.S. / RUNION, G.B. / MEIER, S. / KELLEY, W.D., 1991. Effects of soil-applied lead on seedling growth and ectomycorrhizal colonization of loblolly pine.- *Environmental Pollution*, 72, s 307-316.
- COLPAERT, J.V. / VAN ASCHE, J.A., 1992. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L.- *Plant and Soil*, 143, s 201-211.
- COLPAERT, J.V. / VAN ASCHE, J.A., 1993. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L.- *New Phytol.*, 123, s 325-333.
- DENNY, H.J. / WILKINS, D.A., 1987. Zinc tolerance in *Betula* spp. IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity.- *New Phytol.*, 106, s 545-553.
- DIXON, R.K. 1988. Response of ectomycorrhizal *Quercus rubra* to soil cadmium, nickel and lead.- *Soil Biol. Biochem.*, 20, 4, s 555-559.
- DIXON, R.K. / BUSCHENA, C.A., 1988. Response of ectomycorrhizal *Pinus banksiana* and *Picea glauca* to heavy metals in soil.- *Plant and Soil*, 105, s 265-271.
- DONNER, B. / HEYSER, W., 1989. Buchenmykorrhizen. Möglichkeiten der Elementselektion unter besonderer Berücksichtigung einiger Schwermetalle.- *Forst -wissenschaftliches Centralblatt*, 108, 3, s 150 -164.
- GABROVŠEK, K. / GOGALA, N., 1990. Vpliv nekaterih ektomikoriznih gliv na rast smreke (*Picea abies* /L./ Karsten).- *Biol. Vestn.*, 38, 3, s 47-56.
- GADD, G.M., 1990. Fungi and Yeasts for Metal Accumulation.- In: Ehrlich, H.L, Brierley, C.L. (eds.) *Microbial Mineral Recovery*, McGraw-Hill Publishing Comp., New York, s 249-275.
- GADD, G.M., 1993. Tansley Review No.47. Interaction of fungi with toxic metals.- *New Phytol.* 124, s 25-60.
- GALLI, U. / SCHÜEPP, H. / BRUNOLD, C., 1994. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi.- *Physiologia Plantarum*, s 364-368.
- GEORGE, E. / RÖMHELD, V. / MARSCHNER, H., 1994. Contribution of mycorrhizal fungi to micronutrient uptake by plants.- In: Manthey, J.A.; Crowley, D.E., Luster, D.G. (eds.) *Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere*, Lewis Publishers, Boca Raton, s 93-109.
- GODBOLD, D. L., 1994. Aluminium and heavy metal stress: From the rhizosphere to the whole plant.- In: Godbold, D.L., Hüttermann A. (eds.) *Effects of acid rain on forest processes*. Wiley-Liss, New York, s 231-264.
- GODBOLD, D.L. / KETTNER, C. 1991a. Use of root elongation studies to determine aluminium and lead toxicity in *Picea abies* seedlings.- *J.Plant Physiol.*, 138, s 231-235.

- GODBOLD, D.L. / KETTNER, C., 1991b. Lead influences root growth and mineral nutrition of *Picea abies* seedlings.- J. Plant Physiol. 139, s 95-99.
- GOGALA, N., 1991. Regulation of mycorrhizal infection by hormonal factors produced by hosts and fungi.- Experientia, 47, 4, s 331-339.
- GILDON, A. / TINKER, P.B., 1983. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas.- New Phytol., 106, s 247-.
- HARLEY, J.L. / SMITH, S.E., 1983. Mycorrhizal Symbiosis.- Academic Press, London, 483 s.
- HASHEM, A.R., 1990. *Hymenoscyphus ericae* and the resistance of *Vaccinium macrocarpon* to lead.- Trans.Mycol.Soc., 31, s 345-353.
- HAYGARTH, P.M. / JONES, K.C., 1995. Atmospheric deposition of metals to agricultural surfaces.- In: Adriano, D.C. (ed.): Biogeochemistry of trace metals, Lewis Publishers, Boca Raton, s 249-276.
- HENTSCHEL, E. / GODBOLD, D.L. / MARSCHNER, P. / SCHLEGEL, H. / JENTSCHKE, G., 1993. The effect of *Paxillus involutus* Fr. on aluminium sensitivity of Norway spruce seedlings.- Tree Physiology, 12, s 379-390.
- HUDNIK, V. / ZUPAN, M. / LOBNIK, F. / KOZAK-LEGIŠA, Š., 1994. Bioavailability assessments of Cd, Zn and Pb in polluted soils with the indicator plant *Plantago lanceolata* L.- In: Adriano, D.C., Zueng-Shang C., Shang-Shuyg Y. (eds.) Biogeochemistry of trace metals. Science and Technology Letters, Northwood, s 1-16.
- JENTSCHKE, G. / FRITZ, E. / GODBOLD, D.L., 1991. Distribution of lead in mycorrhizal and non-mycorrhizal Norway spruce seedlings.- Physiologia Plantarum, 81, s 417-422.
- JENTSCHKE, G. / FRITZ, E. / MARSCHNER, P. / RAPP, C. / WOLTERS, V. / GODBOLD, D.L., 1995. Mycorrhizal colonization and lead uptake. An X-ray microanalytical study on roots of Norway spruce seedlings grown in natural forest humus.- (poslano v tisk).
- JENTSCHKE, G. / RAPP C., 1994. Acid deposition and ectomycorrhizal symbiosis: Field investigations and causal relationships.- In: Godbold, D.L., Hüttermann A. (eds.) Effects of acid rain on forest processes. Wiley-Liss, New York, s 183-231.
- JONES, D. / MUEHLCHEN, A., 1994. Effects of the potentially toxic metals aluminium, zinc and copper on ectomycorrhizal fungi.- J. Environ.Sci. Health, A29, 5, s 949-966.

- KABATA-PENDIAS, A., 1995. Agricultural problems related to excessive trace metal contents in soil.- In: Heavy metals (Eds. Salomons, W., Forstner, U., Mader, P.), Springer, Berlin, s 3-18.
- KAHLE, H., 1993. Response of roots of trees to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany*, 33, 1, s 99-119.
- KAHLE, H. / BRECKLE S.W., 1992. Blei und Cadmium - Zeit-bombe in unseren Waldböden.- *Biologie in unserer Zeit*, 1, s 21-27.
- KOTTKE, I. / MARTIN, F., 1994. Demonstration of aluminium in polyphosphate of *Laccaria amethystea* (Bolt. ex Hooker) Murr. by means of electron energy-loss spectroscopy.- *Journal of Microscopy*, 174, 3, s 225-232.
- LAMY, I. / CAMBIER, P. / BOURGEOIS, S., 1994. Pb and Cd complexation with soluble organic carbon and speciation in alkaline soil leachates.- In: Adriano, D.C., Zueng-Shang C., Shang-Shuyg Y. (eds.) *Biogeochemistry of trace metals*. Science and Technology Letters, Northwood, s 1-16.
- LANDMEYER, J.E. / BRADLEY, P.M. / CHAPPELLE, F.H., 1993. Influence of Pb on microbial activity in Pb-contaminated soils.- *Soil Biol. Biochem.*, 25, 10, s 1465-1466.
- LEPP, N.W., 1992. Uptake and accumulation of metals in bacteria and fungi.- In: Adriano, D.C. (ed.) *Biogeochemistry of trace metals*, Lewis Publishers, Boca Raton, s 277-299.
- LIU, D. / JIANG, W. / WANG, W. / ZHAO, F. / LU, C. 1994. Effects of lead on root growth, cell division and nucleolus of *Allium cepa*.- *Environmental Pollution*, 86, s 1-4.
- MARSCHNER, P., 1994. Einfluss der Mykorrhizierung auf die Aufnahme von Blei bei Fichtenkeimlingen.- Ph.D. Thesis Universität Göttingen, Germany, 145 s.
- MARTIN, F. / RUBINI, P. / COTE, R. / KOTTKE, I., 1994. Aluminium polyphosphate complexes in the mycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor*. A ²⁷Al-nuclear magnetic resonance study.- *Planta*, 194, s 241-246.
- MARX, D.H. / STEPHEN, B.M. / CORDELL, C.E., 1992. Application of specific ectomycorrhizal fungi in world forestry.- In: Leatham, G.F.: *Frontiers in Industrial Mycology*, Chapman & Hall, London, New York, 222 s.
- MORSELT, A.F.W. / SMITS, W.T.M. / LIMONARD, T., 1986. Histochemical demonstration of heavy metal tolerance in ectomycorrhizal fungi.- *Plant and Soil*, 96, s 417-420.
- PILGRIM, W. / HUGHES, R.N., 1994. Lead, cadmium, arsenic and zinc in the ecosystem surrounding a lead smelter.- *Environmental Monitoring and Assessment* 32, s 1-20.

- ROLFE, G.L., 1973. Lead uptake by selected tree seedlings.- J. envir. Qual. 2, s 153-157.
- ROOMANS, G.M., 1980. Localization of divalent cations in phosphate-rich cytoplasmic granules in yeast.- Physiologia Plantarum, 48, s 47-50.
- SCHÜEPP, H. / DEHN, B. / STICHER, H., 1987. Interaktionen zwischen VA-Mykorrhizen un Schwermetallbelastungen.- Angew. Botanik 61, s 85-96.
- SOUVENT, P., 1992. Svinec, metalurgija svinca, okolje.- Rudarsko metalurški zbornik, 39, 3-4, s 447-469.
- STEFFENS, J.C., 1990. The heavy metal-binding peptides of plants.- Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 41, s 553-575.
- TAM, P.C.F., 1995. Heavy metal tolerance by ectomycorrhizal fungi and metal amelioration by *Pisolithus tinctorius*.- Mycorrhiza, 5, s 181-187.
- TRÜBY, P., 1988. Bleivertailungen in Waldbäumen unterschiedlich belasteter Sandorte.- Angew. Botanik 62, s 93-104.
- TURNAU, K. / DEXHEIMER, J., 1995. Acid phosphatase activity in *Pisolithus arrhizus* mycelium treated with cadmium dust.- Mycorrhiza, 5, s 205-211.
- TURNAU, K. / KOTTKE, I. / DEXHEIMER, J. / BOTTON, B., 1994. Element distribution in mycelium of *Pisolithus arrhizus* treated with cadmium dust.- Annals of Botany, 74, s 137-142.
- UREDBA o ugotavljanju onesnaženosti kmetijskih zemljišč in gozda. Uradni list SRS, leto XLVII, 6, 1990, s 355-357.
- VODNIK, D. / BOŽIČ, M. / GOGALA, N. / GABROVŠEK, K (1996). Growth response of ectomycorrhizal spruce seedlings transplanted onto Pb-polluted soil.- Phytion, Ann. Rei Botanicae (sprejeto v tisk).
- WIERZBICKA, M., 1994. Resumption of mitotic activity in *Allium cepa* L. root tips during treatment with lead salts.- Environmental and Experimental Botany, 34, 2, s 173-180.
- WONG, B.L. / MELHUIH, J.H. / MCQUATTIE, C.J., 1987. Response of mycorrhizal and non mycorrhizal loblolly pine seedlings to different pH and Pb concentrations.- Mycorrhizae in the next Decade, Proceedings of the 7th NACOM, Gainesville, 110 s.
- WOZNY, A. / KRZESLOWSKA, M., 1993. Plant cell responses to lead.- Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 66, 2, s 101-105.