

FIZJOLOGICZNY ASPEKT TOLERANCJI I HIPERAKUMULACJI OŁOWIU W WYBRANYCH GENOTYPACH *Brassica*

Marzena Wińska-Krysiak, Stanisław W. Gawroński

Katedra Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Stosowane skróty: GSH – glutation, OAS-TL – liaza *O*-acetylserynowa, SAT –
transacetylaza serynowa

Wstęp

Fitoremediacja jest procesem usuwania lub detoksykacji zanieczyszczeń (m.in. metali ciężkich) ze środowiska z wykorzystaniem roślin wyższych. Opiera się ona na zdolności roślin do: tolerancji na wysokie stężenie związków toksycznych, pobieraniu i akumulacji ich w dużych ilościach we własnych organach lub na przekształceniu w związki nietoksyczne. Rośliny takie określono mianem hiperakumulatorów. Aby przeżyć w niesprzyjających warunkach rośliny te wykształciły przystosowania obejmujące szereg mechanizmów unikania i tolerancji właściwej. Unikanie stresu polega na wykluczaniu metalu z pobierania lub wydatnym ograniczeniu tego procesu. Może to być osiągnięte w obrębie ryzosfery (przez wytwarzanie oksydoredukcyjnego gradientu w ryzosferze), w ścianie komórkowej (na skutek zmian biochemicznych) lub w błonie komórkowej. Tolerancja na metale ciężkie, które dostały się do wnętrza roślin, polega na: wiązaniu jonów metali przez specyficzne peptydy, polipeptydy, białka na terenie cytoplazmy (są to m.in. metalotionciny roślinne, fitochelatyny, glutation), wiązaniu jonów metali przez kwasy organiczne na terenie cytoplazmy, szybkości transportu jonów metali przez błony komórkowe, wiązaniu jonów metali przez kwasy organiczne w wakuoli [WOŹNY 1995].

Celem pracy było zbadanie ekspresji genów kodujących SAT i OAS-TL, enzymów biorących udział w syntezie prekursorów glutationu (cysteiny), pod wpływem ołowiu w organach badanych gorzyc. W pracy podjęto również próbę zbadania mechanizmu unikania stresu, jakim jest zmniejszenie mobilności jonów metali ciężkich, wywołane zmianą kwasowości roztworu. Wybór gorzycy jako obiektu badań spowodowany był zdolnością pobierania przez tę roślinę dużych ilości metali ciężkich, dobrze poznaną agrotechniką, wytwarzaniem dużej masy zielonej i tanimi nasionami.

Metodyka

Uprawa roślin

Obiektami doświadczalnymi były rośliny: gorczycy białej (*Sinapis alba* L.) odmiany Nakielska oraz gorczycy sarepskiej (*Brassica juncea* (L.) CZERN.) odmiany Małopolska i zakodowana linia uzyskana od firmy Phytotech z USA określana w dalszej części artykułu jako „Phytotech”.

W celu określenia zmian pH pożywek w zależności od wyjściowej kwasowości pożywki oraz odmiany gorczycy pięcioletniowej rośliny uprawiano w hydroponice na zmodyfikowanej pod względem pH i zawartości jonów ołowiu pożywkach podstawowych, w sześciu kombinacjach (1 – pH 4,5; 2 – pH 5,0; 3 – pH 5,5; 4 – pH 4,5 + Pb²⁺; 5 – pH 5,0 + Pb²⁺; 6 – pH 5,5 + Pb²⁺) po 5 powtórzeniach w każdej. Ołów (25 mg Pb²⁺·dm⁻³) podany został w postaci Pb(NO₃)₂. Próbkę pożywek pobierano po 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 godzinach od wymiany pożywki i analizowano przy pomocy pH-metru – ino Lab pH Level 1 (WTW, GmbH).

Rośliny do analiz ekspresji genów rosły w pożywce o pH 5,2. Pięcioletniowe rośliny potraktowano ołowiem odpowiednio: 0; 12,5; 25,0 mg·dm⁻³ w trzech powtórzeniach w formie Pb(NO₃)₂. Rośliny zbierano sukcesywnie po 1,5, 3, 6, 12, 24, 48 godzinach od potraktowania. Korzenie płukano i osuszano. Rośliny ważono, rozdzielono na organy: liście, łodygi, korzenie, a następnie zamrażano i przechowywano do momentu oznaczeń w –80°C.

Analiza RT-PCR

Roślinne RNA izolowano wykorzystując TRIzol Reagent (GibcoBRL, USA) oraz dostarczony protokół z modyfikacjami. Określenia ilości i czystości RNA dokonano spektrofotometrycznie. Określenie poziomu ekspresji fragmentów genów na podstawie ilości transkryptu RNA przeprowadzono wykorzystując zestaw odczynników Reverse Transcription System, wg protokołu firmowego (Promega, USA). W celu pośredniego określenia poziomu badanych fragmentów genów, zaprojektowano wewnętrzny standard liczby kopii wg metody zaproponowanej przez ZHANG i in. [1997] oraz GATTEI i in. [1997] z modyfikacjami. Przeprowadzono odwrotną transkrypcję całkowitego RNA, a następnie PCR, w którym użyto zarówno uzyskane cDNA (DNA syntetyzowany na matrycy RNA) oraz DNA dla wewnętrznego standardu o znanym stężeniu, ilości genu (1 mol = 6,022045 × 10²³ cząsteczek). Stabilność RNA określono przeprowadzając RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) ze starterami zarówno dla badanych genów, jak i dla rybosomowego RNA (rRNA): 5S rRNA F' 5'AGACCGATAGCGAAC3', 5S rRNA R 5'CTTTCGCCCCIATAC3'.

Powielono odcinki genów kodujących enzymy: acetylotransferazę seryny, O-acetyloseryny liazę. Przetestowano startery: do genu kodującego enzym acetylotransferazę seryny SAT F 5'TGAATCTGGCTTTCGTTACA3', SAT R 5'TCTGGGTTTCCTTGAAGAAC3', do genu kodującego enzym O-acetyloseryno liazę OAS-TL6 F 5'GCCTCTCGIATTGGTATTGC3', OAS-TL 6R 5'CTCAACACCAAAGGCTAAGA3', OAS-TL F 5'CTCCTTCGCTCCGTCTTCT3', OAS-TL R 5'TCTACAGGGCTCCATTGATT3'. Temperatura przyłączania starterów 45°C.

Stężenie wewnętrzznego standardu użyte przy powielaniu fragmentu genu przy użyciu starterów SAT, OAS-TL 6, OAS-TL po przeliczeniu wyniosło $1,2 \times 10^7$ kopii cDNA μg^{-1} RNA.

Produkty RT-PCR rozdzielano w 1,5% żelu agarozowym w obecności bromku etydyny.

Wyniki i dyskusja

U wszystkich odmian w obecności ołowiu, niezależnie od wyjściowej kwasowości, obserwowano w ostatnim pomiarze stabilizację pH na podobnym poziomie, podczas gdy u roślin kontrolnych występowały różnice.

U gorzycy „Phytotech”, niezależnie od pH wyjściowego pożywki, następował generalnie przez 96 godzin spadek kwasowości roztworu, w następnych godzinach utrzymywała się na niezmiennym poziomie. W ostatnim pomiarze roztwory miały kwasowość na poziomie od 5,3 (dla roztworu o pH wyjściowym 4,5) do 5,9 (dla roztworu o pH wyjściowym 5,5). Najsilniejszy spadek kwasowości wystąpił u roślin rosnących w najniższym pH wyjściowym, bo aż o 0,8 (rys. 1A).

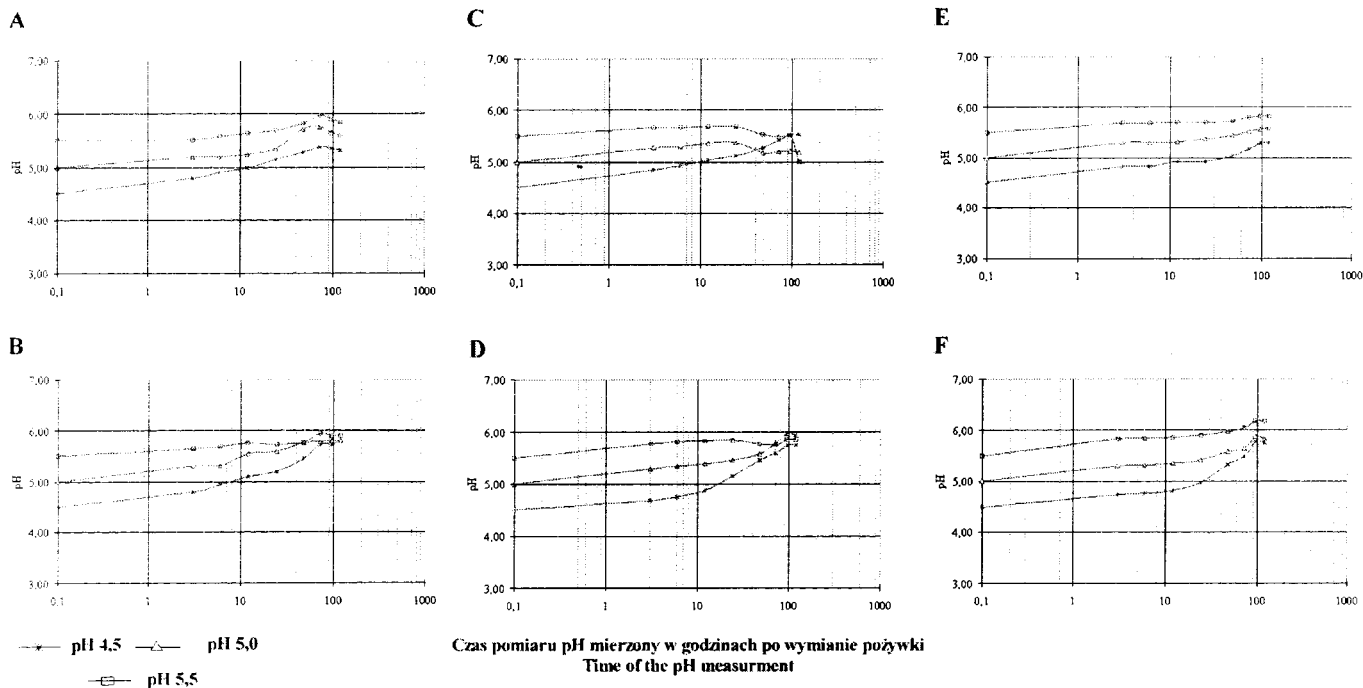
W uprawie hydroponicznej roślin „Phytotech” kwasowość roztworów po podaniu ołowiu malała w czasie (rys. 1B), spadek ten był bardziej wyraźny niż zaobserwowany w uprawie hydroponicznej roślin nietraktowanych Pb. Wyjątek stanowiły rośliny rosnące na pożywce o wyjściowym pH 5,5, u których po 72, 96 i 120 godzinach traktowania czynnikiem stresowym kwasowość roztworu była podobna do tej dla roślin kontrolnych.

U gorzycy odmiany Małopolska w pożywkach zarówno z jonami ołowiu, jak i bez jonów ołowiu odnotowano wzrost pH pożywki w czasie. Najsilniejszy wzrost pH wystąpił u roślin nietraktowanych jonami metalu, których pH wyjściowe pożywki wynosiło 4,5 (rys. 1C). Wolniejszy spadek kwasowości obserwowano w obu pozostałych przypadkach.

Po potraktowaniu gorzycy odmiany Małopolska ołowiem, już po 3 godzinach zaobserwowano spadek kwasowości pożywki o wyjściowym pH 5,0 i 5,5, wyższy niż u roślin niepoddanych stresowi, natomiast po 24 godzinach w pożywce o pH wyjściowym 4,5 (rys. 1D). Niezależnie od wyjściowego pH, wszystkie rośliny traktowane ołowiem po 120 godzinach wykazywały kwasowość roztworu na poziomie 5,9.

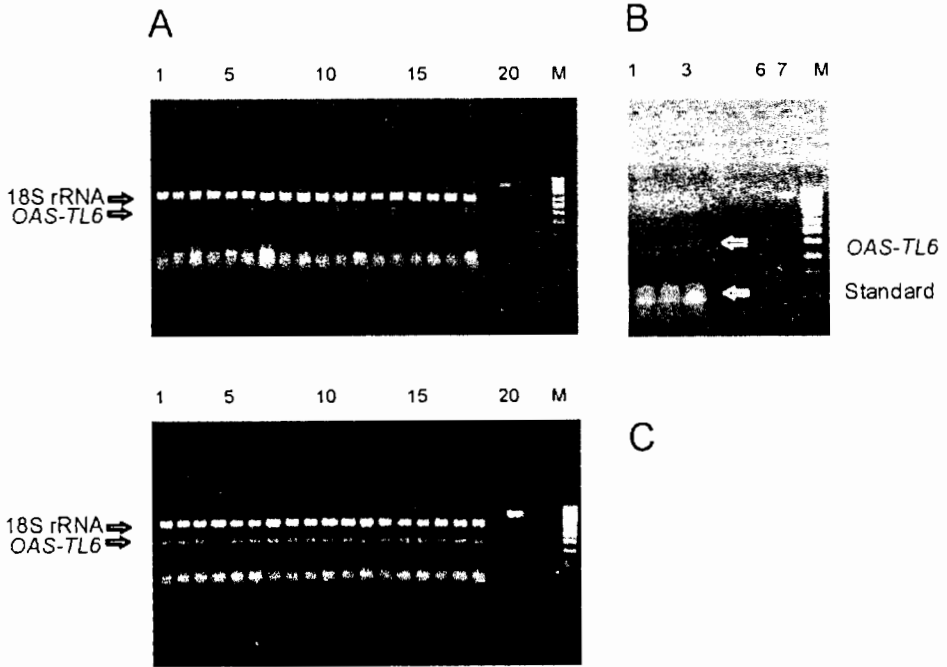
U gorzycy odmiany Nakielska, we wszystkich kombinacjach pożywek, obserwowany był spadek kwasowości roztworu w czasie (rys. 1E). Istotny spadek wystąpił już po 3 godzinach, po czym kwasowość utrzymywała się na podobnym poziomie aż do 24 godziny, aby ponownie wzrastać do 120 godziny prowadzenia uprawy hydroponicznej. Różnica w pH wyjściowym między pożywkami (0,5) występowała niezależnie od czasu pomiaru, przy czym zmniejszała się w kolejnych godzinach.

Po potraktowaniu uprawianej w hydroponice gorzycy odmiany Nakielska ołowiem w kombinacjach o wyjściowym pH pożywki 5,0 i 5,5, już po 3 godzinach zaobserwowano spadek kwasowości roztworu w stosunku do występującego u roślin kontrolnych, który utrzymał się aż do ostatniego pomiaru. U roślin uprawianych na pożywce o pH wyjściowym 4,5 miała miejsce sytuacja analogiczna, jak u odmiany Małopolska. Po 120 godzinach traktowania ołowiem, w kombinacjach o wyjściowym pH pożywki 4,5 i 5,0 odnotowano pH 5,9, a w kombinacji o pH 5,5 kwasowość roztworu spadła do 6,2 (rys. 1F).



Rys. 1. Zmiany kwasowości w uprawie hydroponicznej gorczycy zakodowanej linii firmy Phytotech (A), odmiany Małopolska (C), odmiany Nakielska (E) w zależności od pH wyjściowego pożywki bez ołowiu oraz po traktowaniu $25 \text{ mg Pb}^{2+} \cdot \text{dm}^{-3}$ – zakodowanej linii firmy Phytotech (B), odmiany Małopolska (D), odmiany Nakielska (F)

Fig. 1. Changes of pH of the nutrient solution due to growth of mustard plants with regard to initial pH value with (B, D, F) or without Pb treatment (A, C, E). Mustard varieties tested: (A, B) Phytotech-provided genotype, (C, D) Małopolska, (E, F) Nakielska



Rys. 2. Elektroforegram rozdziálu cDNA genu *OAS-TL6* wraz z 5S rRNA po reakcji RT-PCR z wykorzystaniem totalnego RNA z lióci gorczyki sarepskiej zakodowanej linii firmy Phytotech (A) oraz odmiany Małopolska (C) w zależności od czasu i dawki traktowania ołowiem. 1 – 1,5 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 2 – 1,5 h, 12,5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 3 – 1,5 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 4 – 3 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 5 – 3 h, 12,5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 6 – 3 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 7 – 6 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 8 – 6 h, 12,5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 9 – 6 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 10 – 12 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 11 – 12 h, 12,5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 12 – 12 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 13 – 24 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 14 – 24 h, 12,5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 15 – 24 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 16 – 48 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 17 – 48 h, 12,5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 18 – 48 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 20 – kontrola pozytywna – poliadenylowany fragment genu kodującego kanamycynę; 21 – kontrola negatywna; M – Gene Ruler 100bp DNA Ladder

Elektroforegram rozdziálu cDNA genu *OAS-TL6* oraz wewnętrznego standardu (B) 1 – *OAS-TL6* w lióciach odmiany Małopolska 3 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$ wew. standard 0,01 fmoli; 2 – *OAS-TL6* w lióciach odmiany Małopolska 3 h, 12,5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$ wew. standard 0,01 fmoli; 3 – *OAS-TL6* w lióciach odmiany Małopolska 6 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$ wew. standard 0,01 fmoli; 6 – kontrola negatywna, 7 – kontrola pozytywna – poliadenylowany fragment genu kodującego kanamycynę; M – Gene Ruler 100bp DNA Ladder

Fig. 2 Products of the RT-PCR amplification of the *OAS-TL6* and 5S rRNA. A total RNAs isolated from fully expanded leaves of Pb-treated and non-treated plants were used as templates. Lead intoxication was applied for 1.5 up to 48 hours, with 12.5 and 25 mg Pb, as follows: 1 – 1.5 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 2 – 1.5 h, 12.5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 3 – 1.5 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 4 – 3 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 5 – 3 h, 12.5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 6 – 3 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 7 – 6 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 8 – 6 h, 12.5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 9 – 6 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 10 – 12 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 11 – 12 h, 12.5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 12 – 12 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 13 – 24 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 14 – 24 h, 12.5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 15 – 24 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 16 – 48 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 17 – 48 h, 12.5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 18 – 48 h, 25 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$; 20 – Positive control – polyA; 21 – Negative control; M – Gene Ruler 100bp DNA Ladder

Quantitative evaluation of *OAS-TL6* expression in leaves of Pb-treated and non-treated mustard var. Małopolska plants, in the presence of internal standard: (B) 1 – *OAS-TL6* 3 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$, internal standard 0.01 fmoles; 2 – *OAS-TL6* 3 h, 12.5 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$, internal standard 0.01 fmoles; 3 – *OAS-TL6* 6 h, 0 mg $Pb^{2+}\cdot dm^{-3}$, internal standard 0.01 fmoles; 6 – Negative control; 7 – Positive control – polyA; M – Gene Ruler 100bp DNA Ladder

Stwierdzone zmiany pH pożywki w warunkach uprawy hydroponicznej gorczy traktowanych ołowiem wskazują, że w warunkach stresu rośliny wyraźnie

sprawniej zmieniają pH niż w przypadku roślin nietraktowanych. Wyniki te można tłumaczyć tym, że korzenie gorzyc mogą wytwarzać związki, które obniżają kwasowość roztworu. Najsilniejszy wzrost pH roztworu zaobserwowany był w przypadku odmiany Małopolska. Wzrost z pH 4,5 (5,0, 5,5) do około pH 6,0 lub powyżej może powodować zwolnienie pobierania ołowiu przez korzenie. Ołów najłatwiej pobierany jest przez rośliny z roztworu glebowego przy pH poniżej 4,0–5,0 lub powyżej 6,0–7,0 [GAMBUŚ 1994]. Dlatego też zaleceniem Komisji Toksykologicznej Rady Sanitarno-Epidemiologicznej przy Głównym Inspektorze Sanitarnym, w celu zmniejszenia skażenia żywności (materiału roślinnego) było utrzymanie kwasowości gleby w przedziale, w którym następuje maksymalne blokowanie ołowiu w glebie (pH 6,5–7,2) [DUTKIEWICZ, ŚWIĄT CZAK 1993]. Obniżenie kwasowości roztworu przez badane rośliny może stanowić jeden z mechanizmów obronnych, który nie dopuszcza do pobierania nadmiernej ilości jonów ołowiu [WOŹNY, KRZESŁOWSKA 1993].

Proponowane w ostatnim czasie przez naukowców [RASKIN i in. 1994] zakwaszenie środowiska glebowego w celu zwiększenia dostępności Pb^{2+} dla metalofitów, mogących go pobrać i zakumulować w swoich tkankach, nasuwa pewne wątpliwości z punktu widzenia uzyskanych przez nas wyników. W przeprowadzonych badaniach obserwowano, że korzenie gorzyc bardzo sprawnie zmieniały pH w swoim otoczeniu. Proponowane obniżenie pH roztworu glebowego będzie powodować większą mobilność jonów ołowiu, rośliny przeciwdziałając temu mogą zmienić w swoim otoczeniu kwasowość, a zatem nie pobiorą zakładanej większej ilości jonów, to z kolei zwiększy prawdopodobieństwo wymycia Pb^{2+} do głębszych warstw gleby.

W przeprowadzonych doświadczeniach nie odnotowano ekspresji genu kodującego SAT, podczas gdy ekspresja *OAS-TL6* wystąpiła w obu genotypach *B. juncea*, ale tylko w liściach. W roślinach gorzycy sarepskiej zakodowanej linii firmy Phytotech ekspresja była na granicy detekcji. Zauważalny jest niewielki wzrost tego transkryptu w roślinach traktowanych czynnikiem stresowym w porównaniu do roślin kontrolnych, gdzie jego ekspresji nie zaobserwowano (rys. 2A). W liściach gorzycy sarepskiej odmiany Małopolska *OAS-TL6* miał stosunkowo wyrównaną ekspresję (rys. 2B). Nieznaczny wzrost poziomu transkryptu u roślin traktowanych ołowiem w porównaniu do roślin kontrolnych miał miejsce po 3 godzinach. Poziom ekspresji fragmentu genu *OAS-TL6* w liściach omawianej gorzycy kształtował się poniżej $1,2 \times 10^7$ kopii cDNA μg^{-1} RNA w porównaniu z wewnętrznym standardem (rys. 2B).

W korzeniach *B. juncea* traktowanych trzy dni $25 \mu mol Cd^{2+} \cdot dm^{-3}$ SCHÄFER i in. [1998] obserwowali w korzeniach nieznaczny wzrost genu kodującego OAS-TL. Natomiast w liściach tych roślin obserwowali brak ekspresji genu kodującego OAS-TL zarówno w przypadku roślin traktowanych, jak i kontrolnych. W przeprowadzonych doświadczeniach obserwowano ekspresję fragmentu genu *OAS-TL6* nie w korzeniach, jak to miało miejsce w badaniach prowadzonych przez SCHÄFER i in. [1998], lecz w liściach obu gorzyc sarepskich.

Poziom cysteiny limituje ilość GSH w roślinach, o czym świadczy fakt, że nadmiar egzogennej cysteiny dostarczanej liściom powoduje wzrost zawartości GSH [NOCTOR i in. 1996; STROHM i in. 1995]. Dodatkowo rezultaty innych eksperymentów wskazują, że dostępność OAS reguluje biosyntezę cysteiny [NEUENSCHWANDER i in. 1991; NOCTOR i in. 1996]. Wyniki akumulacji ołowiu i zawartości glutationu (dane nieprezentowane) w badanych przez nas gorzycach wskazywałyby

również, że dostępność OAS może regulować biosyntezę cysteiny, a zatem i glutationu.

Przedstawione wyniki wskazują, że tolerancja komórek roślinnych na ołów nie jest wynikiem działania jednego mechanizmu, ale wypadkową działania wielu procesów fizjologicznych decydujących łącznie o zwiększonej odporności komórek na ten pierwiastek.

Wnioski

1. Zmiany kwasowości w uprawie hydroponicznej gorzycy po potraktowaniu ołowiem w zależności od pH wyjściowego pożywki wskazują, że w warunkach zagrożenia stresem, rośliny wyraźnie sprawniej zmieniają pH niż w przypadku roślin nietraktowanych.
2. Jony ołowiu indukują ekspresję genu kodującego enzym liazę *O*-acetylserynową, biorącą udział w syntezie cysteiny.
3. Ekspresja genu *OAS-TL6* zależy od odmiany gorzycy, organu i czasu traktowania ołowiem. Ekspresja *OAS-TL6* miała miejsce tylko w liściach dwóch genotypów *B. juncea*.

Literatura

- DUTKIEWICZ T., ŚWIĄT CZAK J. 1993. *Ołów w środowisku w Polsce*. Medycyna Pracy 6: 53–75.
- GAMBUŚ F. 1994. *Fitoprzyzwajalność metali ciężkich zawartych w glebie*. Biuletyn Regionalny Zakładu Doradztwa Rolniczego AR w Krakowie 305: 173–176.
- GATTEI V., DEGAN M., DE IULIIS A., ROSSI EM., ALDINUCCI D., PINTO A. 1997. *Competitive reverse – transcriptase PCR: a useful alternative to Northern blotting for quantitative estimation of relative abundances of specific mRNAs in precious samples*. Biochem. J. 325: 565–567.
- NEUENSCHWANDER U., SUTER M., BRUNOLD C. 1991. *Regulation of sulfate assimilation by light and O – acetyl – L – serine in Lemna minor L.* Plant Physiol. 106: 1241–1255.
- NOCTOR G., STROHM M., JOUANIN L., KUNERT K.J., FOYER CH.H., RENNENBERG H. 1996. *Synthesis of glutathione in leavel of transgenic poplar overexpressing γ - glutamylcysteine synthetase*. Plant Physiol. 112: 1071–1078.
- RASKIN I., KUMAR P.B.A., DUSIENKOV V.S. 1994. US Patent 252234. Phytoremediation of metals.
- SCHÄFER H. J., HAAAG-KERWER A., RAUSCH T. 1998. *cDNA cloning and expression analysis of genes encoding GSH synthesis in roots of the heavy metal accumulator Brassica juncea L.: evidence for Cd-induction of putative mitochondrial γ -glutamylcysteine synthetase isoform*. Plant Mol. Biol. 37: 87–97.
- STROHM M., JOUANIN L., KUNERT K.J., PRUVOST C., POLLE A., FOYER C.H., RENNENBERG

H. 1995. Regulation of glutathione synthesis in leavel of transgenic poplar (*Populus tremula* x *P. alba*). Plant J. 7: 141–145.

WOŹNY A. 1995. Ołów w komórkach roślinnych: pobieranie, reakcje, odporność. So-rus, Poznań: 93–117.

WOŹNY A., KRZESŁOWSKA M. 1993. Plant cell responses to lead. Acta Soc. Bot. Pol. 62: 101–106.

ZHANG J., DESAI M., OZANNE S. E., DOHERTY C., HALES C. N., BYRNE CH. D. 1997. Two variants of quantitative reverse transcriptase PCR used to show differential expression of α -, β -, γ -fibrynogen genes in rat liver lobes. Biochem. J. 321: 769–775.

Słowa kluczowe: gorczyca, ołów, mechanizmy tolerancji i unikania stresu, eks-presja genów kodujących liażę O-acetylserynową i transacety-lażę serynową (SAT)

Streszczenie

Cysteina jest jednym z prekursorów glutationu. Powstaje z siarczku i O-ace-tylo-L-seryny (OAS) przy udziale liaży O-acetylserynowej (OAS-TL). OAS jest syntetyzowane przez serynową transacetylazę (SAT) z acetylo-CoA i seryny.

Celem pracy była ocena strategii tolerancji na ołów u gorczyz (odmian: Na-kielska, Małopolska i zakodowanej linii firmy Phytotech) poprzez określenie eks-presji genów kodujących OAS-TL i SAT.

PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF LEAD TOLERANCE AND HYPERACCUMULATION IN *Brassica* SPECIES

Marzena Wińska-Krysiak, Stanisław W. Gawroński

Department of Pomology and Basic Research in Horticulture,
Warsaw Agricultural University, Warszawa

Key words: mustard, lead, mechanisms of tolerance and stress avoidance, ex-pression of genes encoded O-acetylserine lyase (OAS-TL) and serine acetyltransferase (SAT)

Summary

Cysteine, a glutathione precursor, is synthetised from sulphide and O-acc-tyl-L-serine (OAS) in the reaction catalysed by O-acetylserine lyase (OAS-TL). Involved in this pathway OAS is synthetised by serine acetyltransferase (SAT) from acetyl-CoA and serine.

The aim of this work was to study the influence of lead intoxication on the expression of genes encoding OAS-TL and SAT in three varieties of mustard

(Nakielska, Małopolska, and a variety provided by the former Phytotech company). Also, the mechanisms of stress avoidance, caused by the decrease of Pb ions mobility due to changes of nutrient solution pH were investigated.

Dr Marzena **Wińska-Krysiak**
Katedra Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 166
02-787 WARSZAWA
e-mail: winska@alpha.sggw.waw.pl