

Tartu Ülikool  
Loodus-ja tehnoloogiateaduskond  
Ökoloogia ja Maateaduste Instituut  
Botaanika õppetool

Marili Sell

**RASKMETALLIDE FÜTOAKUMULATSIOON JA  
TAIMEDE KASUTAMINE SAASTUNUD KESKKONNA  
PUHASTAMISEKS**

Bakalaureusetöö

Juhendaja: PhD Anu Sõber

Tartu 2014

## SISUKORD

Lühendid.....	4
Sissejuhatus .....	5
1. Raskmetallid looduskeskkonnas.....	7
2. Hüperakumulatsioon.....	8
3. Raskmetallide liig ja taimede metallitolerantsus .....	9
3.1. Tolerantsuse mehhanismid .....	10
3.1.1. Metallioonide kelaatumine.....	11
3.1.2. Vakuolaarne sekvestreerimine .....	12
3.2. Metalliooni liikumine taimes .....	12
3.2.1. Metalliooni sisenemine taime juurtesse .....	13
3.2.2. Ksüleemi laadimine.....	15
4. Erinevate raskmetallide akumulatsioon ja teadaolevad hüperakumulatsioonid taimeliigid..	16
4.1. Nikli akumulatsioon .....	16
4.2. Tsingi akumulatsioon .....	17
4.3. Kaadmiumi akumulatsioon.....	18
4.4. Teiste metallide akumulatsioon .....	19
4.5. Peamised taimeliigid, mida kasutatakse hüperakumulatsiooni uurimisel .....	21
4.5.1. <i>Thlaspi caerulescens</i> .....	21
4.5.2. <i>Arabidopsis halleri</i> .....	22
4.6. Eestis kasvavad fütoakumulaatorid .....	24
4.7. Hüperakumulatsioonid puud.....	24
4.8. Võimalused kasutada geneetiliselt muundatud organisme .....	25
5. Akumulaatoritaimede kasutamise võimalused .....	27
5.1. Fütoremediatsioon .....	27
5.2. Fütokaevandamine .....	30
5.3. Biofortifikatsioon.....	31
Kokkuvõte .....	33

Heavy metal phytoaccumulation and use of plants to clean up contaminated soils.	
<i>Summary</i> .....	34
Tänuõnad.....	36
Töös kasutatud taimede nimed .....	37
Kasutatud kirjandus .....	39

## LÜHENDID

AHA4	<i>Arabidopsis H<sup>+</sup>-ATPase</i> , <i>Arabidopsis</i> taime plasmamembraani prootonipump
AtNRAMP3	<i>Natural Resistance-Associated Macrophage Protein</i> , resistentsusega seotud proteiin taimeliigis <i>Arabidopsis thaliana</i>
ATP	adenosiintrifosfaat
ATPase	ATPaasid on rühm ensüüme, mis katalüüsivad ATP lagunemist adenosiindifosfaadiks (ADP)
CDF	<i>Cation Diffusion Facilitator</i> , transpordi hõlbustav membraaniproteiin
Cys	<i>Cysteine</i> , aminohape tsüsteiin
DTPA	<i>Diethylene Triamine Penta Acetate</i> ehk dietüleentriamiinpentaatsetaat
EDTA	<i>Ethylene Diamine Tetra Acetate</i> , etüleendiamiintetraatsetaat
His	<i>Histidine</i> , aminohape histidiin
HMA4	<i>Heavy Metal ATPase</i> , raskmetalli ATPaasid
<i>in situ</i>	protsess toimub kohapeal
IRT	<i>Iron Regulated Transporters</i> , rauaiooni transporter
MetSeCys	<i>MethionineSelenoCysteine</i> , metioniinselenotsüsteiin
MTP1	<i>Metal Tolerance Protein</i> , metallitolerantsusega seotud proteiin
NRAMP	<i>Natural Resistance-Associated Macrophage Protein</i> , metalliooni transmembraanne transporter
SeCys	<i>SelenoCysteine</i> , selenotsüsteiin
SMT	<i>Selenocysteine Methyltransferase</i> , selenotsüsteiin metüültransferaas
ZIF1	<i>Zinc Induced Facilitator</i> , tsingi transporter
ZIP	<i>ZRT-, IRT-like Protein</i> , tsingi/rauaiooni transportiv proteiin
ZRT	<i>Zinc Regulated Transporters</i> , tsingi transporter
TcHMA4	<i>Thlaspi caerulescens</i> taimele omane ATPaas
VIT2	<i>Vacuolar Iron Transporter</i> , raua transportproteiin vakuoolis

## SISSEJUHATUS

Raskmetallid on osa looduslikust keskkonnast, kuid inimtegevus on ohtlike saasteainete kontsentratsiooni looduses oluliselt suurendanud. Raskmetallid eralduvad eelkõige söe ja nafta ning neist valmistatud kütuste põlemisel, lisaks veel maavarade kaevandamisel ja jäätmete põletamisel. Samuti suurendavad raskmetallide sisaldust looduslikud allikad nagu vulkaaniline tegevus ja metsapõlengud (Skjelkvåle *et al.*, 2001). Levinumad raskmetallid on arseen (As), kaadmium (Cd), koobalt (Co), kroom (Cr), vask (Cu), elavhõbe (Hg), mangaan (Mn), nikkel (Ni), plii (Pb), tina (Sn) ja tallium (Tl).

Mullast ja ka õhusaastest satuvad raskmetallid taimedesse, seentesse ja bakteritesse ning sealt toiduahelat pidi edasi loomsetesse organismidesse. Mõned raskmetallid nagu vask ja tsink (Zn) on väikestes kogustes taimedele ja ka teistele organismidele vajalikud, kuid suured raskmetallide kontsentratsioonid on organismidele mürgised. Taimede juured on enamasti otseses kontaktis reostusega, mistõttu leidubki raskmetalle kõige rohkem juurtes. Kuid metalliioone transporditakse ka võrsetesse ning mõnedes taimeliikides, mida nimetatakse hüperakumulaatoriteks, võivad raskmetallide kontsentratsioonid olla väga kõrged (Durand *et al.*, 2009). Need taimeliigid, mida on umbes 500, suudavad kohaneda liigse metallisisaldusega keskkonnas ning selleks on neil välja kujunenud erinevad kaitsemehhanismid (Hanikenne & Nouet, 2011).

Selliseid taimi, kus raskmetallid akumulerevad taime maapealsetes osades, on võimalik kasutada metallisaastatusega keskkonna puhastamiseks, mida nimetatakse fütoremediatsiooniks. Enamus hüperakumulaatoritaimi on väga väikese biomassiga ning pole selge, miks see nii on. Seetõttu on väga oluline uurida põhjusi, miks taimed suurtes kogustes metalli akumulerevad, et leida võimalusi hüperakumulatsiooni võimaldavate geenide viimiseks suure biomassiga liikidesse (Macnair *et al.*, 1999).

Käesoleva töö eesmärgiks on anda ülevaade raskmetallide hüperakumulatsiooni alaste uuringute hetkeseisust ja tuua välja potentsiaalselt olulised raskmetalle siduvad taimeliigid. Sellise ülevaate vajadus tulenes TÜ ÖMI Botaanika osakonna ökofüsioloogide koostööst Ouro Preto ülikooliga, mille raames kavandatakse raskmetallide lisamist

metsakooslustele. Välieksperiment saab toimuma ühes Brasiilia kaevanduspiirkonnas, kus raskmetallid on probleemiks ning selles kavatsetakse raskmetallide lisamiseks kasutada FAHM vihmutustehnoloogiat (Kupper *et al.*, 2011).

Eestikeelsed taimenimed on saadud taimenimede andmebaasist (Eestikeelsete taimenimede andmebaas).

# 1. RASKMETALLID LOODUSKESKKONNAS

Raskmetalle leidub nii mullas, vees kui ka õhus, aga ka organismides. Mulda satuvad raskmetallid väetamisega, pestitsiidide kasutamisega, saastega tööstusest ning jäätmete- ja reovee käitlemisega. Mullas jagunevad raskmetallid heterogeenselt, need transformeeruvad ja bioakumuleeruvad bakterites, seentes ning taimedes. Niisketes tingimustes jäävad raskmetallid mulda väga kauaks, määravaks ei ole siis isegi ühendite liikuvus mullas. Kaadmium võib mullas püsida 70–1000 aastat ja arseen isegi 1000–3000 aastat (Salomons *et al.*, 1995). Erinevates muldades on metallide sisaldused erinevad, näiteks serpentiinmullad on nikli- ja tihti ka alumiiniumirikkad, lisaks eristatakse ka seleeni- ning tsingirikkaid muldi. Raskmetallide kontsentratsioon on väga suur piirkondades, kus metalle toodetakse maagist (Sherameti & Varma, 2011). Suured raskmetalliderikkad alad on näiteks raua kaevandamise piirkond *Iron quadrangle* Lõuna-Ameerikas, mis on rikas As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn poolest ja vasevöö *Copper belt* Aafrikas, kus leidub palju Cu, Co, Cr, Ni ja Zn (Brooks, 1998).

Veekeskkonda satuvad raskmetallid peamiselt tööstuste heitvete ja nõrgvee kaudu mullast. Raskmetallid läbivad vees füüsikalise-keemilise muutuse: toimub pikaajaline dispersioon ja sorptsioon, millele järgneb sedimentatsioon. Jõgede lähedal pestakse aeg-ajalt raskmetallid mullast välja (Sherameti & Varma, 2011).

Õhku satuvad raskmetallid tööstuslikest emissioonidest, liiklusest ja jäätmete põletamisest. Iga metalli toksilisus sõltub tema liikuvusest õhus ja keskkonnas.

Raskmetallid akumuleeruvad elusorganismides ja toiduahelas nende kontsentratsioonid üha suurenevad. Raskmetallide kontsentratsioone võetakse proovide abil ja uuritakse aatomi absorptsiooni meetodil (Sukender *et al.*, 2012). Inimeseni jõudes võib raskmetallide sisaldus olla juba kantserogeensete mõjudega. Erinevad organismid võivad keskkonnas leiduvatest raskmetallidest märku anda, st olla bioindikaatoriteks, mille järgi saab hinnata raskmetallide sisaldust keskkonnas. Bioindikaatoriteks on raskmetallide suhtes tundlikud nii taimed kui ka loomad. Erilise tähelepanu alla aga kuuluvad samblikud, kuna nad absorbeerivad mineraalseid toitained kogu oma keha pinnaga sademetest ja lenduvatest osakekestest (Gerdol *et al.*, 1999).

## 2. HÜPERAKUMULATSIOON

Hüperakumulaatoriteks nimetatakse taimi, mis suudavad oma kudedes akumuloida rohkem kui 100 mg Cd, Co, Cr, 1000 mg Cu, Ni, Pb, Se või 10 000 mg Mn või Zn 1 kg taimse kuivmassi kohta (Kowalska *et al.*, 2011). Hüperakumulaatoreid on kokku umbes 500 liiki, 34-st sugukonnast. Neist ligikaudu 25% kuulub sugukonda *Brassicaceae* ehk ristõielised. Hüperakumulaatoritaimi on leitud kõikjal maailmast välja arvatud Antarktikas (Boyd, 2012). Enim hüperakumuloidakse niklit, aga taimedest on leitud ka suuri Zn, As, Se ja Cd kontsentratsioone. Hüperakumulaatoritaimed koguvad kindlaid metalle, vähesed akumuloidavad suures koguses mitut metalli korraga (Sherameti & Varma, 2011).

Välja on pakutud mitmeid põhjuseid, miks taimed hüperakumuloidavad raskmetalle. Enimlevinud seletuseks on passiivne omastamine, aga oletatakse ka, et raskmetallid suurendavad taimede vastupidavust põuale ja on kaitseks herbivooride või patogeenide vastu. Välja on pakutud ka teooria, et lagunenuid hüperakumulaatoritaimed suurendavad metallide sisaldust mullas, see aga vähendab raskmetalle mittetaluvate taimede arvukust lähikonnas ning hüperakumulaatoritaimedel pole enam vaja teiste taimedega konkureerida. (Brooks, 1998)

Kirjanduse andmed näitavad, et hüperakumulatsioon võib tõesti olla kaitsemehhanism herbivooride või parasitismi vastu. Kaadmiumi hüperakumuloidav alpi litterhein (*Thlaspi caerulescens*) kaitseb end näiteks lehtedest toituva kahjuri *Frankinella occidentalis* eest (Jiang *et al.*, 2005). Vase hüperakumulatsioon kaitseb harilikku põisrohtu (*Silene vulgaris*) herbivooride eest ja nikli hüperakumulatsioon kaitseb liiki *Streptanthus polygaloides* (Brooks, 1998). Vähesel metalli sisaldusega mullas selline kaitsemehhanism alati ei toimi, kuna taimes sisalduv metalli kogus ei pruugi herbivoori tappa. Samas võib see olla piisav patogeeni või herbivoori kahjustamiseks. Kaitsemehhanism toimib ka väiksemate kontsentratsioonide juures, kui on defineeritud hüperakumulatsiooni esinemine (1000 mg/kg Ni ja Cu jaoks) (Martens & Boyd, 2002).



### 3. RASKMETALLIDE LIIG JA TAIMEDE METALLITOLERANTSUS

Mõningad raskmetallid nagu tsink ja vask, aga ka nikkel on taimedele olulised kasvamiseks ja arenemiseks. Samas võivad vajalikud elemendid olla suurtes kogustes taimele kahjulikud ja isegi toksilised, mõjudes negatiivselt taimede kasvule ja ainevahetusele. Paljud liigid on adapteerunud nii, et neil on võimalik ellu jääda ning paljuneda ka metallirikas keskkonnas. Selliseid liike nimetatakse metallofüütideks ning neil on välja arenenud strateegiad, kuidas teatud metalli liigse kontsentratsiooni puhul toimida. Tolerantsuse puhul on kaks strateegiat: metalli väljutamine tagasi keskkonda või akumulatsioon taimede erinevatesse osadesse. Näiteks üks liik kannikese perekonnast (*Viola calaminaria*) väljutab raskmetallid tagasi juba juurtest, laskmata neid taimede maapealsetesse osadesse. *Thlaspi caerulescens*, liik perekonnast minuartsia (*Minuartia verna*) ja roosa merikann (*Armeria maritima*) akumulatsioonid ning transpordivad raskmetalle just lehtedesse (Sherameti & Varma, 2011). Ka õhus sisalduvad metalliosakesed sadenevad otse lehtedele, mistõttu peavad taimedel olema ka lehtedes sisemised mehhanismid raskmetallide detoksifikatsiooniks (Durand *et al.*, 2009).

Tolerantsus on taimede reageerimine üleliigse raskmetalli olemasolule väliskeskkonnas ning sellega ei kaasne alati suurt metallisisaldust taimede funktsionaalselt olulistel rakuosades. Taimed pigem ennetavad kahjustavaid efekte, kui hakkavad tootma uusi proteiine, mis tagajärgi normaliseeriks. Hüperakumulatsioonil transporditakse raskmetallid enamasti juurtest maapealsetesse osadesse, kus nad seotakse kelaatidesse ning ladestatakse erinevate kudede rakkude vakuoolidesse. Tolerantsus ja hüperakumulatsioon on seega erinevad mõisted. (Hall, 2002)

Perekonnas müürlook liigi (*Arabidopsis halleri*) puhul on taimede Zn tolerantsus suurem, kasvades pigem saastunud kui mittesaastunud mullas. Teisest küljest mittesaastunud pinnasel akumulatsioonid taimed tsinki rohkem ja efektiivsemalt kui taimed, mis kasvavad raskmetalliga saastatud alal (Yang *et al.*, 2003). Leidub taimeliike, mis on ainult tolerantsed, aga leidub ka liike, mis akumulatsioonid vaid raskmetalle. Viimaseid ei esine saastatud mullas, sest nad ei talu seda. Tavalises mullas kasvades nad küll raskmetalle akumulatsioonid, aga

metallide kontsentratsioonid neis toksilisele tasemele ei tõuse. Mõlema tunnuse esinemine ühel liigil esineb väga saastunud pinnasel.

Kohanemisel tekkiv tolerantsus on geneetiliselt determineeritud (Hall, 2002). Metallitolerantsed taimed võivad taluda ka mitut metalli korraga. Kuna Cd, Co, Cu, Ni ja Pb esinevad mullas tihti koos, siis võib mitmekordne hüpertolerantsus olla koosinemise tulemusena evolutsioonis välja kujunenud. Hüpertolerantsuse kujunemisele võivad mõju avaldada ka lähedalasuva piirkonna geenivoolud või seemnete transport erinevaid metalle sisaldavatelt aladelt. Näiteks esineb Zn, Co ja Ni koosakumuleerimine ka Eestis laialdaselt kasvava *Silene vulgaris* taimedes (Broadley *et al.*, 2007).

Raskmetallidega toime tulemiseks on taimedel erinevad strateegiad. Pliid akumulatsioonitaim *Minuartia verna* kasvatab pidevalt raskmetallivabu uusi noori lehti. Vegetatsiooniperioodil täidetakse lehed raskmetallidega ja langetatakse, et järgmisel kevadel raskmetallid idanemist negatiivselt ei mõjutaks (Sherameti & Varma, 2011). Enamus *Thlaspi* perekonna liike on kiire kasvuga aastased taimed ning surevad kiiresti pärast seemnete valmimist. Seemned ise väga palju metalli ei sisalda, seega saab taim järgmisel kevadel seemnest uuesti kasvama hakata (Sherameti & Varma, 2011; Hassan & Aarts, 2011). Tsinki akumulatsioonitaim kollane kannike (*Viola lutea*) kasutab ära arbuskulaarset mükoriisat. Suur osa raskmetallidest transporditakse hoopis taimega sümbioosis elava seene osadesse, mitte taime rakuseintesse ja vakuoolidesse (Sherameti & Varma, 2011).

### **3.1. Tolerantsuse mehhanismid**

Metalli homöostaasiks nimetatakse organismi võimet hoida rakkudes ja organites stabiilset metalli kontsentratsiooni. See aitab taimel üle elada nii metalli defitsiidi kui ka liigsuured metalli sisaldused. Homöostaasi mõjutavad tegurid on kelaatumine (keemiline reaktsioon, mille tagajärjel tekivad metalle sisaldavad kompleksühendid), sekvestreerimine (eraldamine, isoleerimine) ja metalliooni transport (Clemens, 2000). Metallihüperakumulaatoritel on arenenud spetsiaalne mehhanism, et ülemäärane metallikogus siduda ja olulistest biokeemilistest protsessidest eraldada, mis aitab säilitada metalli homöostaasi rakkude tsütoplasmas.

Toksiliste metalliioonide kontsentratsioon hoitakse tsütoplasmas madal, esiteks sellega, et ei transpordita metalle läbi plasmamembraani rakkude tsütoplasmasse. Teine strateegia oleks kohe sisenenud metalliioonide kahjutuks muutmine. Kohe pärast tsütoplasmasse jõudmist, muudetakse toksiline ioon taimetele vähem toksiliseks või kergemini käsitletavaks (Yang *et al.*, 2005). Esimesel juhul paigutatakse metalliosakesed apoplasti ehk rakuseintesse ning teisel juhul toimub metalliiooni kelaatumine tsütoplasmas. Seejärel toimub tekkinud kompleksi sekvestreerimine vakuooli. Umbes 60–70 % Ni ja ka Zn paigutatakse taime apoplasti (Yang *et al.*, 2005).

### 3.1.1. Metallioonide kelaatumine

Metalle seotakse taimetes tavaliselt kelaatidega, mis peaks aitama metalle kahjutuks muuta (Grennan, 2009). Taimest on leitud kolme tüüpi kelaate: fütokelaadid, nikotiinamiin ja metallotioniin (Palmgren *et al.*, 2008).

Madala molekulaarmassiga fütokelaadid (ingl. *phytochelatins*, lühend PC) on ühendid, mis moodustuvad glutatiooni sünteesi ja polümerisatsiooni baasil ning edasi toimub kelaatumine metalliiooni ja orgaanilise ühendi ehk ligandi vahel (Palmgren *et al.*, 2008). Tulemuseks moodustatakse stabiilsed kompleksühendid, mis hiljem eraldatakse vakuooli (Peng & Gong, 2014). PC-sid hakatakse kiiresti tootma, kui taime rakud ja koed on kokkupuutes raskmetalli ionidega nagu Cd, Ni, Cu, Zn, Ag, Hg (Yang *et al.*, 2005). Näiteks üleliigse kaadmiumi esinemisel keskkonnas aktiveeritakse PC süntees, samas juhul kui sünteesi ei toimu, on taimed Cd suhtes väga tundlikud (Palmgren *et al.* 2008).

Nikotiinamiin (ingl. *nicotianamine*, lühend NA) on samuti üks madala molekulaarmassiga ühend, mida leidub laialdaselt taimedes. Ühend on võimeline siduma raua (Fe), tsingi ja ka teiste metallide ioone ning sellega neid kahjutuks muutma. Hüperakumuleerija *Arabidopsis halleri* juurekudedes on leitud suures koguses NA-d, mis aitab kaasa Zn transpordile juurtest võrsetesse, kus toimub metalliioonide akumulatsioon (Palmgren *et al.*, 2008, Peng & Gong 2014).

Metallotioniinid (ingl. *metallothionein*, lühend MT) on spetsiifilisi aminohappeid (tsüsteiini või histidiini) sisaldavad proteiinid, mis seovad raku tsütoplasmas olevaid metallioone (Palmgren *et al.*, 2008). Histidiin (His) töötab nikli kahjutuks muutmisel. Niklit

akumuleeriva *Thlaspi caerulescens* juurest on leitud peaaegu 10 korda rohkem histidiini kui mitteakumuleerija põldlitterheina (*Thlaspi arvense*) juurtest (Peng & Gong, 2014).

Ligandidega ühinemine võib olla ka rakuväline, esinedes näiteks juurte lähedal, kust taim väljutab orgaanilisi happeid (Yang *et al.*, 2005).

### 3.1.2. Vakuolaarne sekvestreerimine

Taime vakuool on suurim vajalike toitainete ja ka toksiliste ionide ajutine hoiukoht. Vakuolaarne sekvestreerimine on oluline taime metallihomöostaasis ja metalli kahjutuks muutmisel. Metalliooni transportimine juure vakuoolidesse vähendab nende edaspidist transporti läbi ksüleemi võrsetesse (Palmgren *et al.*, 2008).

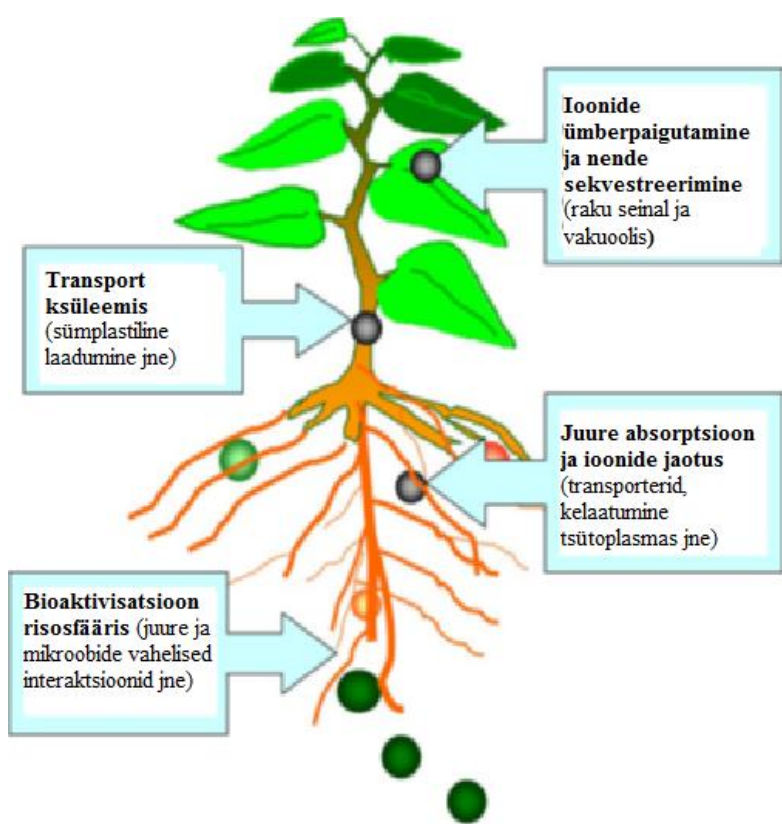
Kui taimes tekib mineraaltoitainete puudus, avalduvad teatud valgud, näiteks NRAMP3 (*Natural Resistance-Associated Macrophage Protein*) ja NRAMP4, mis vähendavad vakuolaarse sidumise võimet ja hoiustatud vajalikud toitained vabastatakse. Kui keskkonnas on aga üleliigselt metalle, suureneb selliste valkude nagu MTP3 (*Metal Tolerance Protein*), ZIF1 (*Zinc Induced Facilitator*) ja VIT2 (*Vacuolar Iron Transporter*) avaldumine ning üleliigne metall akumuleeritakse vakuoolis (Peng & Gong, 2014). CDF (*Cation Diffusion Facilitator*) perekonna mõjul sünteesitud MTP proteiinid on näiteks Zn liikumise piirajad. MTP3 takistab taimes harilik müürlook (*Arabidopsis thaliana*) tsingi liikumist juurtest võrsetesse (Palmgren *et al.*, 2008). MTP1 on samuti seotud tsingi juurdevooluga vakuooli ning seda on leitud nii *Arabidopsis halleri*, *Thlaspi caerulescens* taimedest kui ka ühest perekonna litterhein liigist (*Thlaspi goesingense*) (Ni akumuleerija). MTP1 reageerib Zn puudumisele ning suurendab selle akumulatsiooni (Maestri *et al.*, 2009).

### 3.2. Metalliooni liikumine taimes

Käsitatud kaitsemehhanismid saavad toimida rakkudes, milleni metallioon on üldse jõudnud. Eelkõige üritavad taimed raskmetalle tõrjuda, kas siis juureeritistega metallioone kelaatides, takistades juurega omastamist või sidudes metallioone juurerakkude apoplastis. Metallioomastamisega on seotud mitmesugused plasmamembraani transporterid. Kui tunneme

raskmetalli liikumisteid ning transpordi mehhanisme taimes, loob see võimaluse arendada geneetiliselt muundatud taimi, mis oleksid võimelised suurtes kogustes raskmetalle akumulereerima (Yang *et al.*, 2005).

Pärast metalliioonide sisenemist transporditakse need läbi juurerakkude, toimub ksüleemi laadimine ja translokaliseerumine ning lõpuks detoksifikatsioon ja sekvestreerimine (Yang *et al.*, 2005). Peamised metalliiooni akumulatsiooni protsessid on näidatud joonisel 1. Läbi plasmamembraani võivad erinevad raskmetallid ka koos liikuda, sest toksiliste raskmetallide nagu Cd ja Pb jaoks pole teada spetsiifilisi transportereid (Palmgren *et al.*, 2008).



**Joonis 1.** Metalliooni liikumine taimes (Yang *et al.*, 2005)

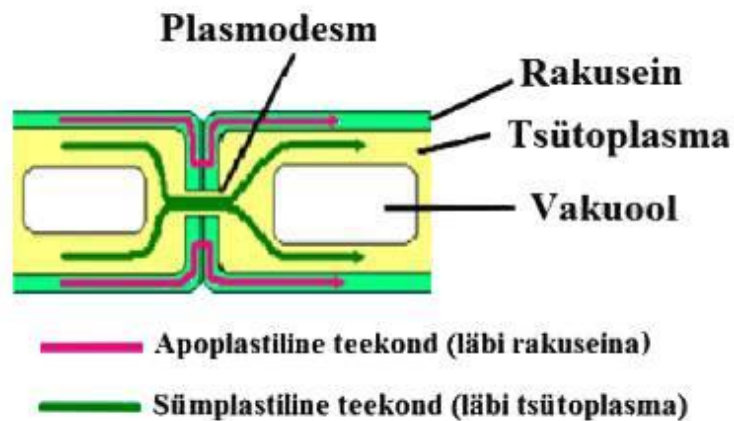
### 3.2.1. Metalliooni sisenemine taimetuurtesse

Risosfääris on väga olulised metalli kättesaadavus ja liikuvus. Olulist rolli mängib ka mullaviljakus, sest mullalämmastiku hulk mõjutab taimet *Thlaspi caerulescens* Cd ja Zn omastamist. Metallide liikuvust ja kättesaadavust suurendavad veel mullabakterid, madal pH,

antibiootikumid, orgaanilised happed ja metall-kelaatumise toimeained. Viimased suurendavad ka taime juurte biomassi. Mikroorganismid suurendavad näiteks makino kukeharjal (*Sedum alfredii*) raskmetallide nagu Cd, Zn ja Pb omastamist (Maestri *et al.*, 2009).

Kindlad metall-transporterid (transportvalgud) suurendavad metalli omastamist ja aitavad metalliioonil rakkudesse siseneda. Transportereid on erinevaid: ZIP (koosneb ZRT-*Zinc Regulated Transporters* ja IRT-*Iron Regulated Transporters*) (Guerinot, 2000), CDF ja NRAMP (Maestri *et al.*, 2009). Tsingi omastamine toimub peamiselt ZIP perekonna transportproteiinide abil. Aga näiteks kaadmium, mis on taimele mittevajalik raskmetall, liigub tsingile sarnase mehhanismi järgi, kuna taimel ei ole vaja spetsiaalset kaadmiumi omastamise mehhanismi (Palmgren *et al.*, 2008).

Transportereid kasutades sisenevad metalliosakesed apoplasti või sümplasti kaudu taime. Sümplasti kaudu transporditakse metalliioonid aktiivselt (ATP energiat kasutades) läbi juure endodermaalsete rakkude plasmamembraani tsütoplasmasse (Maestri *et al.*, 2009). Siseneda võib ka passiivselt difusiooni ja keemilise potentsiaali abil läbi apoplasti (läbi intertsellulaarse ruumi) (Lu *et al.*, 2008). Sisenemisteed on kujutatud joonisel 2. Hüperakumuleerivatel taimedel (näiteks *Thlaspi caerulescens* puhul) on metalli sissevoolu kiirus juurerakkudes mitmeid kordi kõrgem kui mitteakumuleerijal (näiteks *Thlaspi arvense*).



**Joonis 2.** Metalliooni liikumine apoplastiliselt ning sümplastiliselt (Cronodon)

Sümplasti kaudu sisenenud metalliioonid ladestatakse vakuoolides või laaditakse läbi parenhüümirakkude membraanide ksüleemi, mis on osa apoplastist (Grennan, 2009). Normaalkoguses vajalikud toitained nagu kaltsium (Ca) ja tsink sisenevad apoplasti kaudu ning jõuavad samuti ksüleemi (Lu *et al.*, 2008). Enamus hüperakumulaatoreid ei salvesta metalle

juurerakkude vakuoolides, vaid laadivad metalliioonid ksüleemi ning transpordivad need koos ksüleemiveega võrsetesse (Grennan, 2009).

### 3.2.2. Ksüleemi laadimine

Metalliioonide transpordiks taime osade juurte ja võrsete vahel hakkab toimima sümplastiline difusioon juurerakkude vahel ning ioonid liiguvad mööda varre kesksilindrit (steeli). Kõik osakesed, mis võrsetesse transporditakse, peavad läbima juure ksüleemi parenhüümi plasmamembraani ja jõudma ksüleemi juhtkudesse. Vee omastamine juurtega suureneb, tõuseb ka transpiratsiooni kiirus ning seetõttu liiguvad ioonid ksüleemis edasi. Kuna raskmetalli liikumine taimes on energiat vajav protsess, siis madala temperatuuri juures osakeste omastamine aeglustub. Kui mitteakumuleerijas taimes vee transport väheneb, siis ei transpordita toksilisi aineid enam aktiivselt mööda ksüleemi lehtedesse ja võrsetesse edasi.

*Arabidopsis halleri* ja ka *Thlaspi caerulescens* taimede ksüleemi parenhüümi rakud on varustatud plasmamembraani prootonipumbaga AHA4 (*Arabidopsis H<sup>+</sup>-ATPase*), mis võimaldab metallosakeste liikumist juure sümplastist ksüleemi ja edasist akumulereerimist võrsetesse (Palmgren *et al.*, 2008).

Ksüleemtranspordi käigus võib samuti toimuda metallide kelaatumine. Liikuvad madala molekulaarmassiga ligandid ksüleemis seovad metalliioonid vähemtoksilisteks kompleksühenditeks (Palmgren *et al.*, 2008).

Metalliioonide mahalaadimine ksüleemist võib toimuda kõigis taimeosades. Ksüleemi ümbruses olevast apoplastist haaratakse metalliioonid lähedal asuvasse rakkudesse ja transporditakse sümplasti kaudu lehekudedesse. Ioonid liiguvad ühest rakust järgmisesse, kuni jõuavad sihtkohta lehes. Teravilja valmimise perioodil muudetakse varutud mineraalid lehtedes jälle liikuvaks ning laaditakse aktiivselt floemi. Kuna taime seemned on taimest sümplastiliselt isoleeritud, toimub seal membraanne transport ja selleks peavad metalliioonid vahepeal floemist väljuma ja membraani läbima, et siis edasi floemi kaudu viljadesse liikuda. (Palmgren *et al.*, 2008)

## 4. ERINEVATE RASKMETALLIDE AKUMULEERIMINE JA TEADAOLEVAD HÜPERAKUMULEERIVAD TAIMELIIGID

Üks spetsiifiline taimeliik akumuleerib tavaliselt mitut metalli samaaegselt, kuna taim on kohastunud elama keskkonnas, kus esineb tihti mitu metalli korraga. Samas on mullas üks domineeriv metall, mida taim akumuleerib. Kõige rohkem esineb niklit akumuleerivaid taimi, aga erinevatest taimeliikidest on leitud ka tsingi ja kaadmiumi suuri kontsentratsioone. Enim uuritud hüperakumuleerivad taimeliigid on *Thlaspi caerulescens* ja *Arabidopsis halleri*.

### 4.1. Nikli akumuleerimine

Nikkel jõuab keskkonda enamasti antropogeensetest allikatest nagu fossiilsete kütuste põletamine, kaevandustegevus ning tööstustegevus. Nikli ühendid absorbeeruvad setetes ning muutuvad seal liikumatuteks. Kui keskkond on happeline, siis nikli ühendite lahustuvus suureneb, metalliioonid muutuvad liikuvamaks ning imuvad põhjavette. Nikkel tekitab suurtes kontsentratsioonides taimele tõsiseid kahjustusi (kloroosi ehk klorofüllikadu ja nekroosilaike ehk surnud koe täpikesi) ning on ka üheks taime kasvu pidurdajaks ja anatoomiliste ebanormaalsuste põhjustajaks (Whitacre, 2011).

1948. aastal avastati nikli hüperakumuleerija perekonnast kilbirohi (*Alyssum bertolonii*) (Krämer, 2010). Ühtlasi on perekond *Alyssum* ka üks uuritumaid nikli akumuleerijaid sugukonnast *Brassicaceae*. Katteseemnetaimedest on nikli akumuleerijaid rohkem kui 300 liiki, 34-st sugukonnast (Broadley *et al.*, 2007). Nikli hüperakumulaatoreid esineb kõige rohkem, umbes 75% kõigist hüperakumulaatortaimedest. Taimed on kohastunud elama kõrge nikli sisalduse ja aluselise pH-ga serpentiinmuldades. Niklirikkad piirkonnad on Kuuba, Lõuna-Euroopa, Uus-Kaledoonia, Kagu-Aasia ja Brasiilia (Brooks, 1998). Vahemere ja Uus-Kaledoonia piirkonnas esineb kummaski 25% kõigist Ni hüperakumuleerivatest liikidest, enamuse on sugukondadest piimalillelised (*Euphorbiaceae*) ja ristõielised (Krämer, 2010).



Serpentiinmullad on rikkad paljude metallide poolest nagu Ni, Cr, Co, Fe, Mg ning sisaldavad suhteliselt vähe toitaineid nagu kaltsium, lämmastik, fosfor ja kaalium (Brooks, 1998). Üks nimetatud muldade peamisi tunnuseid on suur magneesiumi (Mg) ja väike kaltsiumi sisaldus (molaarne suhe Ca/Mg on sageli väiksem kui 0,1) (Alexander *et al.*, 2006). Taimedel on neis muldades raske vajalikke toitaineid omastada, kuid mõned populatsioonid on suutnud seal kohaneda. *Brassicaceae* sugukonna evolutsiooni ja eriti hüperakumulaatorite teket seostatakse tihti serpentiinmuldadega (Krämer, 2010).

Ni ja ka teiste metallide akumulereimist uuritakse nii kõrge kui ka madala metallide kontsentratsiooniga muldades. Näiteks esineb Ni ja Zn hüperakumuleeriv taimeliik *Thlaspi goesingense* ka mujal kui serpentiinmuldade piirkonnas, kuid hüperakumulatsioonivõime avaldub vaid kõrgete metallioonide kontsentratsioonide korral (Boyd & Martens, 1998).

## 4.2. Tsingi akumulereimine

Tsinki sisaldavad tihti karbonaadirikkad mullad (ingl. *calamine soils*), kus on väga suurtes kontsentratsioonides nii Zn kui ka teisi metalle. Näiteks Belgias võib mullas tsinki olla kuni 100 000 µg/g (Broadley *et al.*, 2007). Selliste suurte kontsentratsioonidega alad võivad küll olla väikesed, kuid vee liikumisel läbi mulla võivad lähedalasuvad alad samuti suurtes kontsentratsioonides tsinki sisaldada. Looduslikult satub tsink keskkonda vulkaanilise tegevusega, metsapõlengutest ning taimede lagunemisest. Antropogeenne panus on võrreldes looduslike allikatega suurem – 20 : 1. Tsingi hüperakumulaatoreid esinebki kõige enam inimtegevusest saastatud piirkondades, eriti töötavate kaevanduste läheduses. Lisaks satub tsinki loodusesse fossiilsete kütuste põlemisel, fosforväetistest, lubjakivist, sõnnikust ja heitveest. Mullas on tsink vees lahustuv, kolloidosakesele adsorbeerunud või mittelahustuva ühendina. Tavalised tsingi toksilisuse sümptomid taimedel on kasvuprobleemid, kloroos ja fosfori omastamise takistus (Broadley *et al.*, 2007). Jõgede lähedal, kus toimub raskmetallide leostumine, võivad akumulereivate taimede populatsioonid väheneda või isegi väljasuremisohu sattuda. Sellised kaks väljasuremise äärel olevat metallofüüti on võsund-litterhein (*Thlaspi cepaeifolium*) ja liik perekonnast kilbirohi (*Alyssum wulfenianum*) (Sherameti & Varma, 2011).

Tsink on taimedele vajalik, aga metalli ülemäärane kontsentratsioon on juba toksiline. Tsingi hüperakumuleerimist täheldati juba 1865. aastal taime *Thlaspi caerulescens* uurimisel. Tsingi hüperakumuleerijaid on umbes 10–20 liiki ning väike osa neist suudab ka kaadmiumit suurtes kontsentratsioonides akumuloida. Tsingi ning ka nikli puhul kuuluvad suur osa akumuloidavatest taimedest sugukonda *Brassicaceae*. Mitmed tsingi akumuloidajad hüperakumuleerivad ka Cd ja/või Pb. Need kolm metalli esinevad koos ka paljudes mineraalides. Zn/Cd hüperakumuleerivaid liike *Arabidopsis halleri* ja *Thlaspi caerulescens* on edukalt kasutatud metalli hüperakumulatsiooni ja hüpertolerantsi uurimisel just molekulaartasandil, sest neil on lähedane fülogeneetiline sugulus taimega *Arabidopsis thaliana* (Krämer, 2010).

Enamasti hüperakumuleerub tsink pigem võrsetes kui juurtes. Lehtedes on tsinki leitud rohkem epidermirakkudest ja vähem mesofüllirakkudest ja rakuseintest. *Thlaspi caerulescens* ja *Arabidopsis halleri* taimede kuni 80% võrsete tsingist on lahustuv kas vees või nõrkades hapetes. Juurtes on suurem osa tsingist aga lahustumatu (Broadley *et al.*, 2007).

### 4.3. Kaadmiumi akumuloidimine

Kaadmium pole taimede oluline element ja on enamasti hoopis kahjulik. Kindlasti on kaadmium väga toksiline inimestele ja teistele organismidele. Cd hulga suurenemine mullas tuleneb fosforväetiste, heitvee, muda ja sõnniku kasutamisest, metallitööstustest, liiklusest ja tsemenditööstusest. Kaadmiumi suured kontsentratsioonid kahjustavad taimerakkude, eriti kloroplastide membraane ning häirivad fotosünteesi protsessi (Ali *et al.*, 2014). Kuna kaadmium on vees hästi lahustuv, võib toksiline element jõuda toiduahela kaudu inimeseni, seega on Cd saastatus ohtlik just inimese tervisele (Yang *et al.*, 2003). 20. sajandi suur kaadmiumisaastatuse puhang, mida nimetatakse ka *Itai-Itai* haiguseks, sai alguse tööstuste heitvetest, mida kasutati joogiveeks ja riisipõldude niisutamiseks (Uraguchi *et al.*, 2006).

Hüperakumuleerijad on ka kaadmiumi puhul *Thlaspi caerulescens* ja *Arabidopsis halleri*. Lõuna-Prantsusmaal akumuloidib *Thlaspi caerulescens* palju rohkem Cd kui teistes piirkondades. Samuti hüperakumuleerib kaadmiumit liik perekonnast kannike (*Viola baoshanensis*), aga väikese taime ja aeglase kasvu tõttu pole see liik fütofarmakoloogilisel eelkõige efektiivne (Wei *et al.*, 2004). Kuigi *Arabidopsis halleri* on põhiliselt Zn hüperakumuleerija,

suudab ta ka kaadmiumit akumuloida (kuni üle 1000 mg/kg taimset kuivmassi), aga kui Cd sisaldus ulatub väärtuseni 230 mg/kg, on edasine taimekasv takistatud (Ueno *et al.*, 2008). Zn tegelikult aeglustab nii lühiajalist kaadmiumi sissevoolu kui ka pikaajalist akumuloidumist, sest mõlemad raskmetalle transporditakse sama(de) transporteri(te) kaudu (Ueno *et al.*, 2008).

Samuti on üheks Zn/Cd akumuloidijaks *Sedum alfredii* Hance, ainuke teadaolev hüperakumuloidija sugukonnast paksulehelised (*Crassulaceae*). Selle taime puhul on kaadmiumi kontsentratsioon võrsetes suurem kui juurtes, kusjuures raskmetalli kontsentratsioonid lehtedes ja vartes võivad olla ebatavaliselt suured. Lisaks akumuloidib *Sedum alfredii* korraga mitut metalli. Kaadmiumi hüperakumuloidijaks peetakse ka liiki perekonnast litterhein (*Thlaspi praecox*) (Hassan & Aarts, 2010).

On uuritud veel ka põllukultuure liivhein (*Avena strigosa*) ja robikaun (*Crotalaria juncea*), mis oleksid sobilikud fütoremediatsiooniks suurtel aladel. Võrreldes mitteakumuloidijatega on need väga head kaadmiumi hüperakumuloidijad (Uraguchi *et al.*, 2006).

Ka ravimtaim perekonnast vähipõõsas (*Pfaffia glomerata*), mida kasutatakse maohaavade ravimisel, on üks Cd hüperakumuloidijaid (Freitas *et al.*, 2008). Kasvades mullas, mille kuivaines sisaldub 90 mg/kg, võivad taimed akumuloidida kaadmiumi rohkem kui 100 mg/kg (Gomes *et al.*, 2013). Kaadmium talletatakse apoplastis või vakuoolides. Vabad kaadmiumi ioonid taimerakkude tsütoplasmas võivad olla toksilised, sest kaadmium tekitab rakkudes oksüdatiivset stressi.

Kaadmiumi hüperakumulatsioon võib olla tingitud selle suurest kontsentratsioonist mullas, aga kaadmium võidakse akumuloidida ka kaitseks herbivooride vastu. Põhja-Ameerikas ja Euroopas levib putukherbivoor *Frankliniella occidentalis*. Eemalepeletajana on kaadmiumi hüperakumuloidimine võrsetes küllaltki efektiivne. (Jiang *et al.*, 2005).

#### **4.4. Teiste metallide akumuloidimine**

Elavhõbedaga saastunud muldadel on taimed aeglasema kasvuga. Erileheline linnurohi (*Polygonum aviculare*) sisaldab suuri Hg kontsentratsioone juurtes, kuid väike bioproduktioon ei võimalda selle liigi kasutamist fütoremediatsioonil (Sherameti & Varma, 2011). Rohkem kui

1 mg elavhõbedat 1 g kuivmassi kohta suudab akumulereida sapepta sinep (*Brassica juncea*), samas kui teised taimed suudavad seda vaid alla 0,2 mg/g (Tangahu *et al.*, 2011).

Pliid akumulereivad taimed on väga haruldased. Plii on väheliikuv element, seepärast akumulereivad taimed seda vähe. Rohkem kui 50 mg/g kuivmassi kohta suudavad akumulereida põld-kapsasrohi (*Brassica campestris*), etioopia sinep (*Brassica carinata*), juba nimetatud sarepta sinep ja must kapsasrohi (*Brassica nigra*). Viimane akumulereib isegi rohkem pliid kui 100 mg/g (Tangahu *et al.*, 2011).

Seleeni hüperakumulereiv liik perekonnast hundihammas (*Astragalus bisulcatus*) avastati aastaid tagasi, kui veised ja lambad haigestusid rohu söömisest. Taim suudab akumulereida kuni 4000 µg Se taimse kuivmassi kohta. Taimed, mis seleeni akumulereivad, suudavad ka ilma metallita elada, kuna on suutelised asendama selle väävliga. Kui taim seleeni väga palju akumulereib, hakkab taim tekkinud lenduvaid seleeniühendeid atmosfääri eraldama ja taimedega puhastatud pinnas võib uuesti saastuda. (Brooks, 1998)

Liigse vase suhtes on taimed väga tundlikud. Cu on vajalik element, kuid suuremas koguses väga toksiline. Optimaalsest tasemest veidi kõrgema Cu kontsentratsiooniga taimel tekivad kiiresti juure kasvu ja morfoloogiaga seonduvad häiringud (Sheldon & Menzies, 2005). Väga vähesed taimed hüperakumulereivad vaske. Akumulereijatest on teada sammal *Scopelophila cataractae* ja kõrgematest taimedest liigid perekondadest lehtertrapp (*Ipomoea alpina*), kummeliin (*Commelia communis*) ning liigid rihumünt (*Elsholtzia splendens*) ja turdleht (*Crassula helmsii*). Viimane akumulereib vaske kuni 9000 µg/g. Erinevalt teistest hüperakumulereijatest, kus enamus raskmetalle akumulereitakse võrsetesse, jääb akumulereitud vask juurtesse. Teatud proteiinide (MT) sünteesi muutes, saab vase taluvuspiiri tõsta ka kõrgemaks kui 300 µg/g, mis on hiljuti määratud taluvuspiir (Rodriguez-Llorente *et al.*, 2012). Et kasutada Cu hüperakumulereijaid fütoremediatsioonil, tuleks suurendada akumulatsioonivõrsetes. Vase puhul sobiks fütoremediatsioonil asemel fütostabilisatsioon, mis muudaks raskmetallid juure lähedal mullas liikumatuks ja mittelahustuvaks (Rodriguez-Llorente *et al.*, 2012).

## 4.5. Peamised taimeliigid, mida kasutatakse hüperakumlatsiooniuurimisel

*Arabidopsis halleri* ja *Thlaspi caerulescens* on enim uuritud hüperakumulatsioonitaimeliigid. Need ristõieliste sugukonnast pärit liigid on küllaltki sarnased füüsiliste, morfoloogiliste ja geneetiliste omaduste poolest, kuid neil on erinevad mehhanismid hüperakumulatsioonikontrollimiseks. Samuti on mõlemad lähedases suguluses *Arabidopsis thaliana* liigiga, mis on taimede universaalseks geneetiliseks mudeliks. Seetõttu saab ära kasutada *Arabidopsis thaliana* sekveneerimisandmeid (Maestri *et al.*, 2009). *Arabidopsis thaliana* on Eestis üsna tavaline, levides peamiselt ranniku läheduses ja Kagu-Eestis (Kukk & Kull, 2005). *Thlaspi caerulescens* on suhteliselt haruldane, aga on leitud taimi Hiiumaalt ning Harjumaalt (Krall, 1999).

### 4.5.1. *Thlaspi caerulescens*

*Thlaspi caerulescens* suudab võrsetes hüperakumulereida Zn, Ni ja Cd vastavalt kuni 30 000 µg/g, 4000 µg/g ja 2700 µg/g (kuivmassi kohta). Taim kasvab tavaliselt tsiingirikastes serpentiinmuldades aga ka mujal. Kesk-, Põhja- ja Lääne-Euroopas võib seda liiki kohata sageli (Broadley *et al.*, 2007). Taim kasvab ka Lõuna-Soomes, aga Põhja-Eestis on leviku piirkond üsna väike (Jalas *et al.*, 1996). Taimeliikidel *Arabidopsis thaliana* ja *Thlaspi caerulescens* on 88,5% ulatuses sarnane DNA ja 87% DNA identidest intergeenselt transkribeeritavates AT-rikastes piirkondades. Enamus *Thlaspi* liikidest on kiire kasvuga üheaastased taimed ning surevad kiiresti pärast seemnete valmimist. Seemned ise väga palju metalli ei sisalda, seega saab taim järgmisel kevadel seemnest uuesti idaneda (Sherameti & Varma, 2011; Hassan & Aarts, 2011).

*Thlaspi caerulescens* suudab tsinki akumulereida ning taluda võrsete kuivmassis kuni 30 000 mg/kg ning kaadmiumi rohkem kui 100 mg/kg (Zhao *et al.*, 2001). Tsink paikneb epidermirakkude vakuoolides ja on lahustuv, enamus kaadmiumi jääb pidama taime karvaste juurte rakuseintes. Kaadmium akumulereub ka vakuoolis ja apoplastis ning vanema taime korral on Cd kontsentratsioon suurem nooremates lehtedes (Cosio *et al.*, 2004). Zn ja Cd akumulereuvad tavaliselt kindlates proportsioonides, aga erinevate populatsioonide puhul võivad sidumismehhanismid vahel ka erineda ja Zn võib mõnel juhul kaadmiumi neelamist

hoopis vähendada (Cosio *et al.*, 2004). Taimel on kaks väga erinevat ökotüüpi: Lõuna-Prantsusmaal kasvav *Thlaspi caerulescens* Ganges, mis võib Cd akumuloida kuni 10 000 mg/kg ja Belgiast leitud Prayon tüüp, mis on samuti tolerantne kaadmiumile, kuid akumuloidab seda palju vähem. Huvitaval kombel erinevad neis ökotüüpides Cd kontsentratsioonid, tsiingi akumulatsioon on aga samasugune (Zhao *et al.*, 2001).

Samas on täheldatud, et väikesema tsiingi kontsentratsiooniga mullas kasvavad populatsioonid on suurema produktiooniga kui populatsioonid, mis kasvavad suure metallisisaldusega muldades. Kontrollitud tingimustega eksperimendis on taimed üldiselt tsiingile tolerantsemad kui looduslikult kasvades (Broadley *et al.*, 2007).

Kaadmiumi parimaks omastamiseks on sobivaim pH vahemik 5 kuni 6, aga see sõltub ka süsiniku ja saviosakeste hulgast mullas (Yanai *et al.*, 2006).



**Joonis 3.** *Thlaspi caerulescens* (NatureGate)

#### 4.5.2. *Arabidopsis halleri*

*Arabidopsis halleri* kasvab kõrgete Zn, Cd ja Pb kontsentratsioonidega muldades, aga pliid see taim ei akumuloida. Taimedel *Arabidopsis halleri* ja *Arabidopsis thaliana* on kodeerivates piirkondades DNA järjestused sarnased 94% ulatuses. Taimel *Arabidopsis halleri* on leitud nii Lääne- kui Ida-Euroopast, viimasel juhul ka saastumata pinnaselt. (Macnair *et al.*, 1999; Hassan & Aarts, 2010).

Mõlemad *Arabidopsis halleri* alaliigid *gemmaifera* ja *halleri* suudavad hüperakumuloida Zn, viimane akumuloidab metalli 3000–22 000 µg 1g taimse kuivmassi

kohta (Talke *et al.*, 2006). Tsink akumulereub lehtedes mesofüllirakkudes (Cosio *et al.*, 2004). Mõnede üksikute taimede lehekudedest on leitud ka kaadmiumit (100 µg/g). Veel üks liik perekonnast müürlook (*Arabidopsis lyrata*) ja harilik müürlook akumulereivad samuti tsinki (vahemikus 40–80 µg/g), kusjuures kõrgemate kontsentratsioonide puhul hakkab juba tekkima kloroos. Vesikultuuris kasvatatud *Arabidopsis halleri* juured taluvad kuni 30 korda tsingi ja 10 korda kõrgemaid kaadmiumi kontsentratsioone kui *Arabidopsis thaliana* juured. Kuigi *Arabidopsis lyrata*, *Arabidopsis thaliana* ja *Arabidopsis halleri* on väga lähedases fülogeneetilises suguluses, on neil suured erinevused metallhomöostaasis (Roosens *et al.*, 2008; Talke *et al.*, 2006).



**Joonis 4.** *Arabidopsis halleri* (Altervista)

*Arabidopsis halleri* populatsioonid, mis kasvavad vähese Zn sisaldusega muldades, akumulereivad rohkem tsinki kui need, mis kasvavad kõrge Zn sisaldusega aladel (Broadley *et al.*, 2007). Erinevalt liigist *Thlaspi caerulescens*, mis akumulereib tsinki epidermises, akumulereib *Arabidopsis halleri* tsinki mesofüllirakkudes (Cosio *et al.*, 2004).

*Thlaspi caerulescens* suudab siiski summaarselt rohkem Cd ja Zn kätte saada, kuna *Arabidopsis halleri* puhul on biomass väiksem.

#### 4.6. Eestis kasvavad fütoakumulaatorid

Peamised raskmetallide emissioonide tekitajad on Põhja-Eestis paiknevad elektrijaamad, tsemendi- ja keemiatööstused ning põlevkivitööstus. Kontsentratsioonide suurendamist soodustab ka üha suurenev liiklussaastatus. Raskmetalle nagu Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, ja Zn on Eestis uuritud alates aastast 1989, kasutades samblaid bioindikaatoritena. Raskmetallide kontsentratsioonid on aastate jooksul vähenenud ning Euroopa seisukohalt on Eesti pigem madalate kontsentratsioonide nimekirjas, kuid ära võiks mainida suuremate tsingi kontsentratsioonide esinemise (Kösta & Liiv, 2011).

Eestis pole raskmetalle akumulereivaid taimi seni spetsiaalselt uuritud. Üha laieneva külvipinnaga raps (*Brassica napus*) on üks potentsiaalsetest hüperakumuleerijatest. Taim on kiirekasvuline, suhteliselt suure biomassiga ning tolerantne Zn, Cd ja Pb suhtes. *Brassica* liikidest on just raps oluline, kuna taime kasutatakse üle maailma söögiõli ja biokütuse valmistamisel ning kasvatatakse üsna suurteil pindaladel (Ali *et al.*, 2014; Grispen *et al.*, 2006). Lisaks on raps lähedases suguluses liikidega *Arabidopsis thaliana* ja *Thlaspi caerulescens*, millest oli eespool juttu ning mille akumulereimismehhanismide kohta on kogutud juba üsna palju informatsiooni (Grispen *et al.*, 2006). Kirjandusest on teada, et raps on tolerantsem, kui pinnas sisaldab mitut raskmetalli korruga ning taim sobib pigem madala saastatusega piirkonna puhastamiseks. Fütoekstraktsiooni meetodit kasutades on võimalik kogutud taimedest edasi toota biokütust (Anjum *et al.*, 2012).

#### 4.7. Hüperakumuleerijad puud

Enamus hüperakumuleerijad on lühikese elueaga ning aeglase kasvuga taimed, mis akumulereivad küll raskmetallide kõrgeid kontsentratsioone, kuid on oma väikese biomassi tõttu remediatsiooniks ebaefektiivsed. Kiiresti kasvavad puud suudaksid rohkem raskmetalle akumulereida (Franchina *et al.*, 2007). Samas puittaimed tavaliselt raskmetallidega saastunud pinnasel ei kasva ja lühiealised taimed suudavad seal paremini hakkama saada.

Kesk-Euroopas on leitud raskmetallirikastel muldadel kasvavaid mände (*Pinus sylvestris*) või arukaski (*Betula pendula*). Mõnede puude tolerantsus võib olla seotud ka ektomükoriisiga, sest näiteks vase-tolerantne seen *Suillus luteus* saab mändi vase toksilisuse



eest kaitsta (Sherameti & Varma, 2011). Hüperakumulaatoritena tuntakse ka männiliiki *Pinus radiata*, samuti mitmeid liike perekondadest paju (*Salix*) ja pappel (*Populus*) (Maestri *et al.*, 2009). Ka paljud perekonna *Salix* liigid kasvavad kiiresti, toodavad suurt biomassi ning levivad laialdaselt. Kaevanduse juures kasvavatest paplitest on leitud kaadmiumi kontsentratsioonis 15 mg/kg ja tsinki kontsentratsioonis 1312 mg/kg, mis on tavalisele taimel juba toksilised kogused (Mackova *et al.*, 2006). Saastatud pinnasel kasvav pajuliik (*Salix caprea*) võib lehtedes akumulierida kuni 4680 mg/kg tsinki ning 116 mg/kg kaadmiumi kuivmassi kohta (Konlecher *et al.*, 2013). Teoreetiliselt võiksid perekonna *Salix* mõned liigid 25 aasta jooksul koguda kuni kuni 413 g kaadmiumi hektari kohta (Lens *et al.*, 2005).

Mõõduka Zn kontsentratsiooni juures on võimalik ka papli liike fütoekstraktsioonil kasutada. Metallide kontsentratsioon neis võib olla küll väiksem kui väiketaimedel, kuid biomass on vastukaaluks tunduvalt suurem (Durand *et al.*, 2009). Lisaks on paplil metallide transporti soodustav kõrge transpiratsioon ja laialdane juurestik. Biomass tuleks koguda kord kahe või kolme aasta jooksul ja silmas pidada, et kogumine toimuks enne sügisest lehtede langemist. Lisaks võiks lehti ka iga-aastaselt koguda (Mackova *et al.*, 2006).

#### **4.8. Võimalused kasutada geneetiliselt muundatud organisme**

Fütokaevandamiseks, ka fütoremediatsiooniks oleksid kasulikud taimed, mis akumulierivad suurtes kogustes raskmetalle, toodavad kiiresti biomassi ja kasvavad suureks. Selleks katsetatakse hüperakumulierijad ja suure biomassiga taimede ristamist ja taimede geneetilist muundamist eesmärgiga hüperakumulierija geenid suure biomassiga mitte-akumulierijatesse üle kanda (Brooks, 1998).

GMO ehk geneetiliselt muundatud organism on saadud ühe liigi genoomiosa kunstliku ülekandmisega teisele liigile. Kasutatakse rekombinantse DNA tehnoloogiat, kus laborimeetodite abil kogutakse mitmelt liigilt vajalik geneetiline materjal või valmistatakse täiesti uus sünteetiline geen. DNA molekuli kandja ehk vektor viiakse taimerakku kas füüsikaliselt või bioloogiliselt (Fulekar *et al.*, 2008). Viimase üks võimalustest on *Agrobacterium*-vahendatud geneetiline transformatsioon, mis on üks enim kasutatavaid meetodeid transgeensete taimede saamiseks. Näiteks on võimalik geneetilist materjali bakteri abil sisse viia läbi õietolmutoru (Guan *et al.*, 2008). Seejärel kombineerub sisestatud DNA

taime DNA-ga ning selle geneetilise koodi lugemisel toimub antud geeniga kodeeritud proteiini süntees.

Vajaliku akumulereerimise võime saavutamiseks on vaja muuta gene, mis kodeerivad metalltolerantsust mõjutavaid ensüüme, proteiine, peptiide või metallkelaatoreid. Viimaste sünteesi modifitseerimisega on näiteks saavutataud, et mitmed metalltundlikud taimed on olnud suutelised taluma 10–1000 korda suuremaid raskmetallide (näiteks kaadmiumi) kontsentratsioone (Fulekar *et al.*, 2008).

Proteiinide sünteesi muutmise abil on samuti võimalik suurendada raskmetallide akumulereerimist. Näiteks *Thlaspi* üks geen TcHMA4 sisaldab samu metalle siduvaid His ja Cys korduste jääke, mis katsetes pärmseentega tagasid tolerantsuse kaadmiumile. Ilmselt saaks sel viisil ka taimede metalltolerantsust suurendada (Fulekar *et al.*, 2008).

Ensüümi SMT (selenocysteine methyltransferase) abil toimub üleminek aminohappelt SeCys mitteproteiinseks MetSeCys aminohappeks. Kui ühendada SMT seleeni hüperakumulereeriva *Astragalus bisulcatus* taime genoomiga, on tulemuseks Se liikumisteedkonna muutus taimes. Transgeensete taimedele SMT lisamine suurendas Se tolerantsust ja akumulatsiooni kuni 4 korda, võrreldes metsikult kasvavate taimedega. Suurenes ka biomass (3–7 korda) ja juure pikkus kasvas kolm korda. (Fulekar *et al.*, 2008)

Lisaks on võimalik muundada metalltransportereid, mille abil metall taime siseneb. NRAMP perekonna geeni AtNRAMP3 muutmine on suurendanud kaadmiumi tolerantsust, samas geeni üleliigsel avaldumisel võib taime muutuda hoopis kaadmiumi suhtes hüpertundlikuks (Fulekar *et al.*, 2008).

Transgeensete taimede kasvatamisel on ka negatiivseid külgi. Geneetiliselt muundatud taimed võivad lähedalasuvatele põldudel kasvavate mahepõllunduse taimedele uusi omadusi edasi kanda. Lisaks hävitatakse nii bioloogilist mitmekesisust ning ökoloogilist tasakaalu. Selliste probleemide puhul võib abi olla uutest muundamistehnoloogiatest (näiteks kloroplasti transformeerimine). Nimetatud tehnika kasutamisel ei välju transgeenid läbi tolmutoru tagasi keskkonda (Fulekar *et al.*, 2008).

## 5. AKUMULAATORTAIMEDE KASUTAMISE VÕIMALUSED

Raskmetalle akumulereivaid ning tolereerivaid taimi on võimalik kasutada pinnase puhastamiseks (füto-remediatsioon), fütokaevandamiseks ehk metallide tootmiseks (nõuab siiski küllalt suurt pinnase metallisisaldust) ja ka biofortifikatsiooniks (mineraalainetega rikastatud taimede kasvatamine).

### 5.1. Füto-remediatsioon

Füto-remediatsiooni võimalusi on mitmeid, kuid kõiki neid ei saa raskmetallide eraldamiseks kasutada.

Füto-remediatsiooni üldine klassifikatsioon on järgmine (Glick, 2003):

- 1) fütоекstraktsioon ehk fütOakumulatsioon, kus metallosakesed akumulereitakse taimeosadesse;
- 2) fütOimmobilisatsioon ehk fütostabilisatsioon, kus taimed takistavad saasteaine levimise keskkonnas;
- 3) fütodegradatsioon ja fütotransformatsioon, mis on saasteaine osaline lagunemine taimerakkudes;
- 4) fütostimulatsioon ehk risodegradatsioon, kus taimed soodustavad risosfääris mikroobset biodegradatsiooni;
- 5) fütovolatilisatsioon ehk fütolendumine, kus taimed akumulereivad mullast saasteaine ning eraldavad lenduvad mürgised ühendid atmosfääri;
- 6) risofiltratsioon, kus taimejuured absorbeerivad kahjulikud osakesed saastekeskkonnast.

Raskmetallide puhul on kasutatav fütоекstraktsioon mullast ja veest. Sellisel juhul akumulereub saasteaine taimeosadesse, ilma et kõrged kontsentratsioonid taimetele toksilised oleksid. Protsessi juures on olulised kolm peamist aspekti: taimed eemaldavad juurte kaudu suurtes kogustes raskmetalle, suudavad viia raskmetallid maapealsetesse taimeosadesse ning sealjuures kasvatada piisavalt suure koguse biomassi, mida saab kergesti eemaldada

(Padmavathiamma & Li, 2004). Üks võimalus on kasvatada saastunud pinnasel väga häid hüperakumuleerijaid nagu *Thlaspi caerulescens*, kuid see taim ei tooda piisavalt suurt biomassi. Teine võimalus oleks kasutada suure biomassiga mitteakumuleerijaid nagu *Brassica juncea* või kiiresti kasvavaid puid. Sellisel juhul tuleb suurendada taime võimet akumulereida raskmetalle. Keskkonda happelisemaks muutvate ainete lisamisel on võimalik muuta metalliioonid mullas liikuvamaks, mistõttu on taimel seda kergem omastada (Zhuang *et al.*, 2007). Kuigi *Brassica juncea* taimes on tsingisisaldus vaid 1/3 *Thlaspi caerulescens* taime tsingisisaldusest, on ta efektiivsem akumulereija, kuna *Brassica* toodab 10 korda rohkem biomassi kui *Thlaspi* (Prasad, 2003).

Pärast akumulereimist eemaldatakse taimed keskkonnast ning üheks võimaluseks on need ladustada prügimäele või kompostida. Võimalikeks negatiivseteks tagajärjedeks on metallide imbumine ümbritsevasse keskkonda, piirkonna saastatus ja pinna- või põhjavee reostus, mis seab ohtu nii inimesed kui ka loomad. Biomassi on võimalik ka kuivatada, pressida ning tuhastada. Biomassi saab kasutada ka energiaallikana (Yang *et al.*, 2009). Fütoremediatsiooni perioodi pikkus võib olla väga erinev (1–20 aastat), olulised on piirkonna suurus ja saastatuse tase, taimekasvu perioodid ning taimede metallide eemaldamise suutlikkus (Prasad, 2003).

Kuivades tingimustes sobib fütoremediatsiooniks põuakindel liik *Sedum alfredii*, mille juured hüperakumuleerivad kaadmiumi. Kuna kastmisel võib toimuda sekundaarne saastamine, on vajalik, et taimed suudaksid ariidses piirkonnas endas vett hoiustada, et fütoremediatsiooni periood ei pikeneks (Lu *et al.*, 2008).

Harilik päevalill (*Helianthus annuus*) suudab akumulereida raskmetalle vaid mõõdukate kontsentratsioonideni, aga olles kiirekasvuline, sobib taim küllalt hästi tsingiga saastatud pinnase puhastamiseks. Taime õli on kasutatav nii tehniliselt kui ka energeetiliselt, sest seemnetesse koguneb üsna väikesel hulgal potentsiaalselt toksilisi elemente (Lens *et al.*, 2005). Teravilja- või õlikultuurid sobivad ka põhimõtteliselt saastatud pinnast puhutama, aga nende praktiline kasutamine nõuab lisauuringuid.

**Tabel 1.** Fütoremediatsiooni eelised ja puudused muude puhastusmeetoditega võrreldes (Szczygłowska *et al.*, 2011)

<b>Eelised</b>	<b>Puudused</b>
Rakendatav nii anorgaaniliste kui ka orgaaniliste saasteainete puhul	Akumuleerumine toimub enamasti ainult juurelähedases piirkonnas
Ei rikuta mulla struktuuri, kvaliteeti ega viljakust	Vajadus kasutada vahendeid, et suurendada metallide liikuvust mullas ning taimede akumulereerimisvõimet
Protsessi on võimalik teostada <i>in situ</i>	Pärast fütoremediatsiooni tuleb taimed ladustada või neid edasi töödelda
Vähendab prügilareostuse hulka	Akumuleerijataimede vähene arv ja levik
Protsess ei nõua kallist tehnikat ega kõrget erialast personali	Madal saasteainete biosaadavus
Odavam kui tavalised taastamismeetodid	Kasutatav enamasti vaid madala või keskmise saastatuse piirkonna puhastamiseks
Piirkond muutub looduslikumaks	Pole optimaalset taime (hüperakumuleerimine, suur biomass, kiirekasvuline)
Taimed on odavad ning kergesti kättesaadavad ressursid	GMO taimed võivad häirida bioloogilist mitmekesisust
Keskkonnasõbralik ning ühiskondlikult heakskiidetud	Väga saastatud piirkond võib taimedele olla toksiline
Müravaba protsess	Saasteainete võimalik sattumine toiduahelatesse, kui loomad juhtuvad fütoremediatsioonitaimi sööma

## 5.2. Fütokaevandamine

Kaevandamine on keskkonda häiriv ja kahjustav tegevus, millest tekib omakorda saastatus ja jäätmeid. 1983. aastal pakuti välja, et hüperakumuleerijaid taimi võiks kasutada madala metallisisaldusega alade kaevandamisel (Brooks, 1998). Suurel maa-alal kultiveeritavad hüperakumuleerivad taimed seovad vajaliku raskmetalli ning biomassi tuhastamisel on võimalik metall kätte saada. Biomassi põletamisel on saadav energia võimalik ära kasutada elektri tootmiseks.

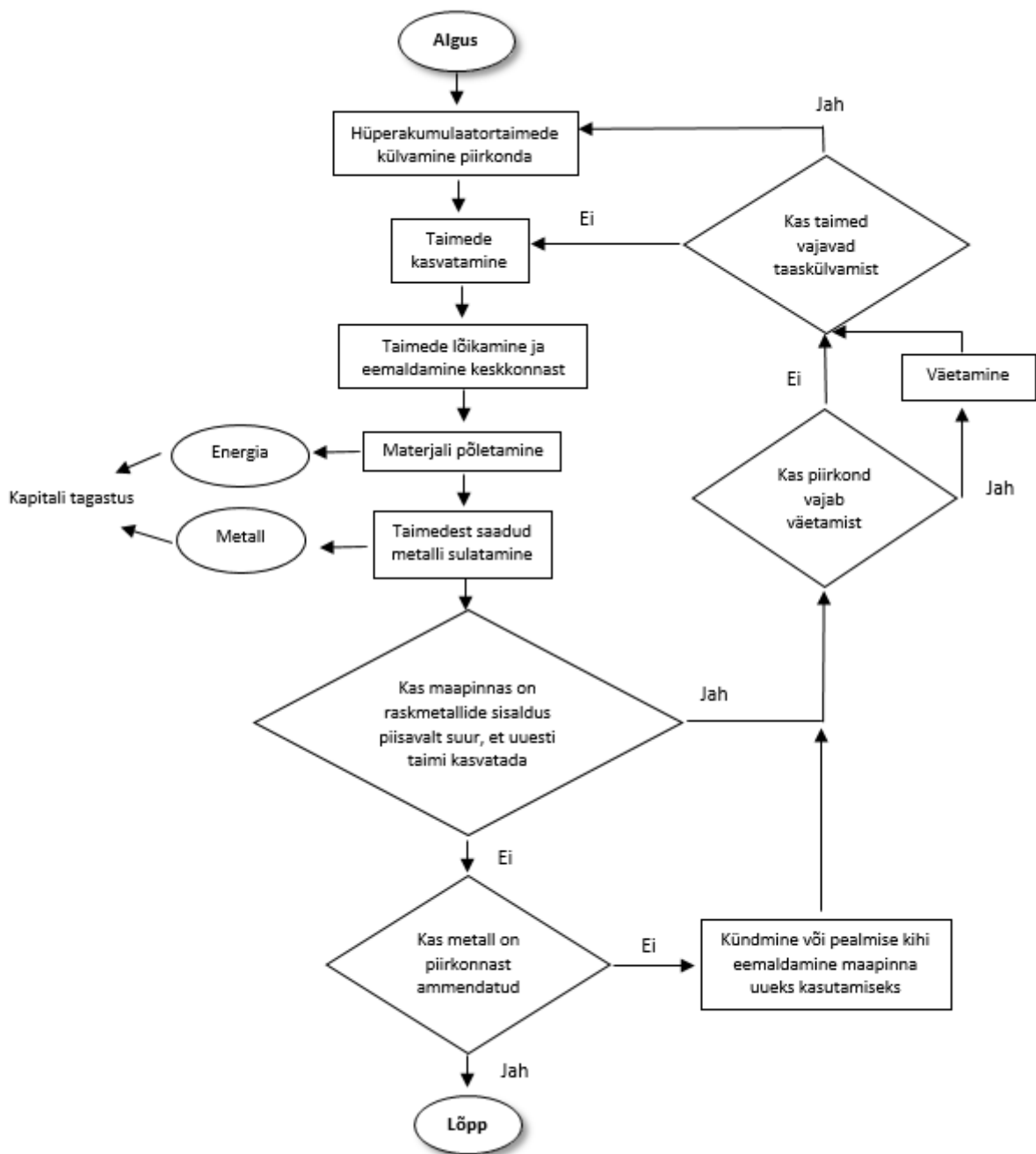
*Alyssum bertolonii* on efektiivne fütokaevandamisel niklirikastest muldades, kus on ka kõrged Cr, Ni ja Mg kontsentratsioonid. Suurema biomassi kasvatamiseks on vajalik väetiste lisamine (lämmasik, fosfor või kaalium) (Brooks, 1998).

Indutseeritud hüperakumulatsioon, kus substraadile lisatakse aineid, mis taime kasvu ja metallide akumulereerimist tõhustavad, sobib vaid kulla, hõbeda või sarnaste metallide puhul (Sheoran, 2009).

Liik perekonnast keeliklill (*Berkheya coddii*) on üks Lõuna-Aafrika nikli hüperakumulaatoritest, mis on suure bioproduktiooniga ja paljuneb kiiresti seemnetest, mistõttu pole teda vaja järgmisel aastal enam uuesti külvata. Esimesel aastal sisaldavad taimed oma kudedes vähem raskmetalli kui järgnevad põlvkonnad, sest hiljem on vähem metalli pinnases ning taimed on juba kohanenud ning resistentsamad mullas olevate patogeenide ja putukate vastu (tänu oma suurele raskmetalli sisaldusele).

Keemiliste ainete EDTA (*ethylenediaminetetra-acetic acid*) või DTPA (*Diethylene Triamine Penta Acetate*) lisamine suurendab raskmetallide liikumist mullas ning suurendab akumulereerimist, kuid nende lisandite ostmise kulu ületab saadava metalli hinna. Võimalikuks probleemiks on ka põhjavee reostus, sest need ained on halvasti biolagunevad (Brooks, 1998; Zhuang *et al.*, 2007). Uuritud on ka mullas elavate mikroorganismide ja akumulereerijate taimede risosfääris elutsevate mikroobide mõju. Bakterid soodustavad taime kasvu ning soodustavad taimede vastupidavust ariidses piirkonnas. Mikroobide võime suurendada taime toitainete kogust ning vähendada saasteainete omastamist võib muuta nii fütokaevandamist kui metalli saagist fütokaevandamisel (Brunetti *et al.*, 2010).

Kõige ökonoomsem oleks, kui fütoremediatsioonist saab fütokaevandamine. Toimub pinnase puhastamine ning samal ajal oleks võimalik metalli eest ka kasumit saada. Joonisel 5 on toodud fütokaevandamise tegevuste skeem:



**Joonis 5.** Fütokaevandamise skeem (Brooks, *et al.* 1998).

### 5.3. Biofortifikatsioon

Biofortifikatsiooni all mõeldakse selliste taimede kasutamist, mis transpordivad vajalikud mikroelemendid juurtest taime söödavatesse osadesse (näiteks teravilja teradesse), aga jätavad toksilised metallid juurtesse (Palmgren *et al.*, 2008). Vajalike toitainete transpordi

parandamisega on võimalik kasvatada suure toiteväärtusega taimi toiduks nii inimestele kui ka loomadele.

Hüperakumuleerivate taimede abil on võimalik suurendada mikroelementide kontsentratsiooni söödavates taimedes. Näiteks on välja pakutud metalltransporterite nagu HMA4 geneetiline modifitseerimine, mis suurendab Zn transporti juurtest võrsetesse (Palmgren *et al.*, 2008). Rohkemade vajalike mikroelementide olemasolu seemnetes oleks suureks plussiks arengumaades, kus taimedel on tihti Fe ja Zn defitsiit. Ka fütfortifikatsioonil on probleemiks jällegi vajalike metallide akumulereerimise võime üleviimine suure biomassiga taimedesse, sest lühiealiste väikeste taimede kasvatamine on liiga kulukas (Guerinot & Salt, 2001).



## KOKKUVÕTE

Käesolevas bakalaureusetöös antakse kirjanduse põhjal ülevaade raskmetallide akumulatsioonist taimedes, akumulatsiooni teadaolevatest mehhanismidest ja praktilise kasutamise võimalustest.

Raskmetallide hulk muldades sõltub aluspõhjakivimitest, aga on ka inimtegevusest mõjutatud (kaevandustegevus, tööstusettevõtete tegevus, transport). Mõned raskmetallid nagu tsink ja vask võivad väikestes kogustes olla organismidele vajalikud, kuid enamik raskmetalle on elusorganismidele toksilised. Taimedel põhjustavad raskmetallid eelkõige kloroosi ja pidurdavad kasvu. Taimed on suutelised raskmetallidega saastatud keskkonnas kohanema ja suudavad ennast kahjustamata akumuleerida suuri metallikoguseid. Hüperakumulaatoriteks nimetatakse taimi, mis suudavad 1 kg taimse biomassi kohta akumuleerida rohkem kui 100 mg Cd, Co või Cr, 1000 mg Cu, Ni, Pb, Se või 10 000 mg Mn või Zn.

Raskmetallid sisenevad rakkudesse erinevate transportvalkude abil, enamlevinud on ZIP perekonna transporterid. Hüperakumulaatoritaimedes laaditakse raskmetallid enamasti ksüleemi, kust nad liiguvad koos veega taime maapealsetesse osadesse. Metallioonid muudetakse taimetele kahjutuks kelaatumisega. See on protsess, kus erinevad ligandid seovad metalliioonid vähemtoksilisteks kompleksühenditeks, mis ladestatakse kas vakuoolides või rakuseintes.

Enamus hüperakumuleerijaid liike on sugukonnast *Brassicaceae* ning akumulatsioonivõime on kõrge, tsinki või kaadmiumi. Kõige rohkem on uuritud liike *Thlaspi caerulescens* ning *Arabidopsis halleri*. Need kaks liiki on head uurimisobjektid, kuna nad on lähedases suguluses geneetilise mudel-taimega *Arabidopsis thaliana*. Kuna Eestis on raskmetallide saastatus suhteliselt madal, pole siin hüperakumulaatoreid eriti uuritud. Küll aga on mõned potentsiaalsed akumulatsioonitaimed nagu raps Eestis laialdaselt levinud.

Raskmetallide liikumisteid ning mehhanisme tundes on võimalik aretada geneetiliselt muundatud organisme, mille abil saab efektiivsemalt puhastada saastatud keskkonda raskmetallidest (füto-remediatsioon), toota väikestes kogustes metalle (füto-kaevandamine) või suurendada põllukultuurides mikroelementide sisadust (biofortifikatsioon).

# HEAVY METAL PHYTOACCUMULATION AND USE OF PLANTS TO CLEAN UP CONTAMINATED SOILS

Marili Sell

## Summary

Hyperaccumulation of heavy metals in plants and its practical applications are reviewed in current bachelor thesis.

Heavy metals are a part of the natural environment. Due to anthropogenic activity such as mining, industrial growth and general waste management, heavy metal contamination has increased rapidly. Few heavy metals like zinc or copper are essential nutrient ingredients to plants and other organisms, but all metals are toxic at higher concentrations. Main problems for plants are necrosis and chlorosis and plants growth or function disruption. Metals may be transferred and accumulated in animals and humans through food chain, which will cause hazardous or even carcinogenic effects.

Plant roots are usually in contact with contamination in soils and when exposed to excess metals, they are stored in root cells (cell walls or vacuoles). In contrast, some species (around 500, most of them from the plant family *Brassicaceae*) possess the ability to hyperaccumulate and tolerate high metal concentrations in above-ground tissues. Hyperaccumulators are defined as plants that can accumulate 100 mg Cd, Co, Cr, 1000 mg Cu, Ni, Pb, Se or 10 000 mg Mn, Zn in 1 kg dry leaf biomass.

Enhanced metal uptake from roots and translocation to the shoots are generated by specific metal transporters. In plants heavy metals are binded to molecules such as phytochelatins or metallothioneins and transported to vacuoles to limit their negative effects in cytoplasm.

Two most investigated Cd and Zn hyperaccumulating plants are *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*, what are also related to an universal genetic model plant *Arabidopsis thaliana*. Possible accumulators like rapeseed (*Brassica napus*) are also common in Estonia, where metal contamination is not yet a great concern.

Plants that take up high concentrations of heavy metals can be used to clean up contaminated soil (phytoremediation), to produce metals (phytomining) or to increase content of essential nutrients in plant edible parts (biofortification).

## **TÄNUSÕNAD**

Sooviksin tänada oma juhendajat, Anu Sõber, lõputöö juhendamise ja mõistva suhtumise eest.

## TÖÖS KASUTATUD TAIMEDE NIMED

- Alyssum bertolonii* Desv. – liik perekonnast kilbirohi (lk. 16, 30)
- Alyssum wulfenianum* Benth. ex Willd. – liik perekonnast kilbirohi (lk. 17)
- Arabidopsis halleri* (L.) O'Kane & Al-Shehbaz – liik perekonnast müürlook (lk. 9, 11–12, 15–16, 18, 21–23)
- Arabidopsis lyrata* (L.) O'Kane & Al-Shehbaz - liik perekonnast müürlook (lk. 23)
- Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. – harilik müürlook (lk. 12, 18, 21–24)
- Armeria maritima* (Mill.) Willd. – roosa merikann (lk. 9)
- Astragalus bisulcatus* (Hook.) A.Gray – liik perekonnast hundihammas (lk. 20, 26)
- Avena strigosa* Schreb. – liivkaer (lk. 19)
- Berkheya coddii* Roessler – liik perekonnast keeliklill (lk. 30)
- Betula pendula* Roth – arukask (lk. 24)
- Brassica napus* L. – raps (lk. 24)
- Brassica campestris* L. – põld-kapsasrohi (lk. 20)
- Brassica carinata* A. Braun – etioopa sinep (lk. 20)
- Brassica juncea* (L.) Czern – sarepta sinep (lk. 20, 28)
- Brassica nigra* (L.) K. Koch – must kapsasrohi (lk. 20)
- Commelia communis* L. – liik perekonnast kommeliin (lk. 20)
- Crassula helmsii* (Kirk) Cockayne – turdleht (lk. 20)
- Crotalaria juncea* L. – robikaun (lk. 19)
- Elsholtzia splendens* Nakai ex F.Maek. – rihumünt (lk. 20)
- Helianthus annuus* L. – harilik päevalill (lk. 28)
- Ipomoea alpina* Rendle – liik perekonnast lehtertapp (lk. 20)
- Minuartia verna* (L.) Hiern – liik perekonnast minuartsia (lk. 9–10)
- Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen – liik perekonnast vähipõõsas (lk. 19)
- Pinus radiata* D. Don – kiirjas mänd (lk. 25)
- Pinus sylvestris* L. – harilik mänd (lk. 24)
- Polygonum aviculare* L. – erileheline linnurohi (lk. 19)

*Salix caprea* L. – liik perekonnast paju (lk. 25)  
*Sedum alfredii* Hance – makino kukehari (lk. 14, 19, 28)  
*Silene vulgaris* (Moench) Garcke – harilik põisrohi (lk. 8, 10)  
*Streptanthus polygaloides* A. Gray – ingl. *Milkwort Jewelflower* (lk. 8)  
*Thlaspi caerulescens* J.Presl & C.Presl – alpi litterhein (lk. 8–9, 11–16, 18, 21–24, 28)  
*Thlaspi arvense* L. – põldlitterhein (lk. 11, 14)  
*Thlaspi cepaeifolium* (Wulfen) W.D.J.Koch – võsund-litterhein (lk. 17)  
*Thlaspi goesingense* Halácsy – liik perekonnast litterhein (lk. 12, 17)  
*Thlaspi praecox* Wulfen – liik perekonnast litterhein (lk. 19)  
*Viola baoshanensis* – liik perekonnast kannike (lk. 18)  
*Viola calaminaria* (Ging.) Lej. – liik perekonnast kannike (lk. 9)  
*Viola lutea* Huds. – kollane kannike (lk. 10)

## KASUTATUD KIRJANDUS

1. Alexander, E. B., Coleman, R. G., Keeler-Wolf, T. and Harrison, S. 2006. *Serpentine geocology of western north america : geology, soils, and vegetation*. – Oxford University Press, New York.
2. Ali, B., Qian, P., Jin, R., Ali, S., Khan, M., Aziz, R., Tian, T. and Zhou, W. 2014. Physiological and ultra-structural shanges in *Brassica napus* seedlings induced by cadmium stress. – *Biologia Plantarium* 58(1): 131–138.
3. Anjum, N. A., Pereira, M. E., Ahmad, I., Duarte, A. C., Umar, S. and Khan, N. A. 2012. *Phytotechnologies: remedation of environmental contaminants*. – CRC Press, Boca Raton.
4. Boyd, R. 2012. Elemental Defenses of Plants by Metals. – *Nature Education Knowledge* 3(10): 57.
5. Boyd, R. S. and Martens, S. N. 1998. Nickel hyperaccumulation by *Thlaspi montanum* var. *Montanum* (Brassicaceae): A constitutive trait. – *American Journal of Botany* 85(2): 259–265.
6. Broadley, M. B., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I. and Lux, A. 2007. Zinc in plants. – *New Phytologist* 173: 677–702.
7. Brooks, R. R. 1998. *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. – CAB International, Oxon.
8. Brooks, R. R., Chambers, M. F., Nicks, L. J. and Robinson, B. H. 1998. *Phytomining*. - Elsevier Science Ltd. 3(9): 359–361.
9. Brunetti, G., Farrag, K., Rovira, P. S., Nigro, F. and Senesi, N. 2010. Greenhouse and field studies on Cr, Cu, Pb and Zn phytoextraction by *Brassica napus* from contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy. – *Geoderma* 160: 517–523.
10. Clemens, S. 2000. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. - *Planta* 212: 475–486.

11. Cosio, C., Martinoia, E. and Keller, C. 2004. Hyperaccumulation of cadmium and zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the leaf cellular level. – *Plant Physiology* 134: 716–725.
12. Durand, T. C., Hausman, J. F., Carpin, S., Alberic, P., Baillif, P., Label, P. and Morabito, D. 2009. Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula* × *Populus alba*. – *Biologia Plantarum* 54(1): 191–194.
13. Franchina, C., Fossatib, T., Pasquinia, E., Linguac, G., Castiglioneb, S., Torrigiania, P. and Biondi, S. 2007. High concentrations of zinc and copper induce differential polyamine responses in micropropagated white poplar (*Populus alba*). – *Physiologia Plantarum* 130: 77–90.
14. Freitas, C. S., Baggio, C. H., Araújo, S. L. and Marques, M. C. A. 2008. Effects of *Pfaffia glomerata* (Spreng) pedersen aqueous extract on healing acetic acid-induced ulcers. – *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51(4): 679–683.
15. Fulekar, M. H., Singh, A. and Bhaduri, A. M. 2008. Genetic engineering strategies for enhancing phytoremediation of heavy metals. – *African Journal of Biotechnology* 8(4): 529–535.
16. Gerdol, R., Bragazza, L. and Marchesini, R. 1999. Monitoring of heavy metal deposition in northern Italy by moss analysis. – *Environmental Pollution* 108: 201–208.
17. Glick, B. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. – *New Phytologist* 174: 580–590.
18. Gomes, M. P., Marques, M. and Soares, A. M. 2013. Cadmium Effects on Mineral Nutrition of the Cd-Hyperaccumulator *Pfaffia glomerata*. – *Biologia* 68(2): 223–230.
19. Grennan, A. K. 2009. Identification of genes involved in metal transport in plants. – *Plant Physiology* 149: 1623–1624.
20. Grispen, V. M. J., Neilssen, H. J. M. and Verkeij, J. A. C. 2006. Phytoextraction with *Brassica napus* L.: A tool for sustainable management of heavy metal contaminated soils. – *Environmental Pollution* 144: 77–83.
21. Guan, Z. Q., Chai, T. Y., Zhang, Y. X., Xu, J., Wei, W., Han, L. and Cong, L. 2008. Gene manipulation of a heavy metal hyperaccumulator species *Thlaspi caerulescens* L. via *Agrobacterium*-mediated transformation. – *Molecular Biotechnology* 40: 77–86.



22. Guerinot, M. L. 2000. The ZIP family of metal transporters. – *Biochimica et Biophysica Acta* 1465: 190–198.
23. Guerinot, M. L. and Salt, D. E. 2001. Fortified foods and phytoremediation. – *Plant Physiology* 125(1): 164–167.
24. Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. – *Journal of Experimental Botany* 53: 1–11.
25. Hanikenne, M. and Nouet, C. 2011. Metal Hyperaccumulation and Hypertolerance: a Model for Plant Evolutionary Genomics. – *Plant Biology* 14: 252–259.
26. Hassan, Z. and Aarts, M. G. M. 2011. Opportunities and Feasibilities for Biotechnological Improvement of Zn, Cd or Ni Tolerance and Accumulation in Plants. – *Environmental and Experimental Botany* 72: 53–63.
27. Jalas, J., Souminen, J. and Lampinen, R. 1996. Atlas florae Europaeae. Distribution of vascular plants in Europe. – The committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki.
28. Jiang R. F., Ma, D. Y., Zhao, F. J. and McGrath, S. P. 2005. Cadmium Hyperaccumulation Protects *Thlaspi carulescens* from Leaf Feeding Damage by Thrips. – *New Phytologist* 167(3): 805–814.
29. Konlechner, C., Türктаş, M., Langer, I., Vaculík, M., Wenzel, W. W., Puschenreiter, M. and Hausera, M. 2013. Expression of zinc and cadmium responsive genes in leaves of willow (*Salix caprea L.*) genotypes with different accumulation characteristics. – *Environmental Pollution* 178(100): 121–127.
30. Kowalska, J., Stryewska, E., Bystrzejewska-Piotrowska, G., Lewandowski, K., Tobiasz, M., Paldyna, J. and Golimowski, J. 2011. Studies of plants useful in the re-cultivation of heavy metals-contaminated wasteland – a new hyperaccumulator of barium? – *Journal of Environmental Studies* 21(2): 401–405.
31. Krall, H. 1999. Eesti taimede määraja. – Eesti Loodusfoto, Tartu.
32. Krämer, U. 2010. Metal Hyperaccumulation in Plants. – *Plant Biology* 61: 517–534.
33. Kukk, T. and Kull, T. 2005. Eesti taimede atlas. – EMÜ põllumajandus- ja keskkonnainstituut, Tartu.
34. Kupper, P., Sõber, J., Sellin, A., Lõhmus, K., Tullus, A., Räim, O., Lubenets, K., Tulva, I., Uri, V., Zobel, M., Kull, O. and Sõber, A. 2011. An experimental facility for

- free air humidity manipulation (FAHM) can alter water flux through deciduous tree canopy. – *Environmental and Experimental Botany* 72: 432–438.
35. Kõsta, H. and Liiv, S. 2011. Spatial and temporal trends of heavy metal accumulation in mosses in Estonia. – *WIT Transactions on Ecology and the Environment* 144: 133–142.
  36. Lens, P., Grotenhuis, T., Malina, G. and Tabak, H. 2005. Soil and sediment remediation: mechanisms, technologies and applications. – In: Schwitzguebel, J. P., Nehnevajova, E., Federer, G. and Herzig, R., *Metal accumulation and metabolism in higher plants: potential for phytoremediation*, IWA Publishing, London, pp. 289–307.
  37. Lu, L., Tian, S., Yang, X., Li, T. and He, Z. 2008. Cadmium uptake and xylem loading are active processes in the hyperaccumulator *Sedum alfredii*. – *Journal of Plant Physiology* 166: 579–587.
  38. Mackova, M., Dowling, D. N., Macek, T. 2006. Phytoremediation and rhizoremediation. – In: Tlustoš, P., Pavlikova, D., Szakova, J., Fischerove, Z. and Blik, J., *Exploitation of fast growing trees in metal remediation*, Springer, The Netherlands, pp. 90–91.
  39. Macnair, M. R., Bert, V., Huitson, S. B., Saumitou-Laprade, P. and Petit, D. 1999. Zinc Tolerance and Hyperaccumulation is a Genetically Independent Character. – *The Royal Society* 266: 2175–2179.
  40. Maestri, E., Marmiroli, M., Visioli, G. and Marmiroli, N. 2009. Metal Tolerance and Hyperaccumulation: Costs and Trade-Offs. – *Environmental and Experimental Botany* 68: 1–13.
  41. Martens, S. N. and Boyd, R. S. 2002. The defensive role of Ni hyperaccumulation by plants: A field experiment. – *American Journal of Botany* 86(6): 998–1003.
  42. Padmavathiamma, P. K. and Li, L. Y. 2004. Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants. – *Water Air Soil Pollution* 184: 105–126.
  43. Palmgren, M. G., Clemens, S., Williams, L. E., Krämer, U., Borg, S., Schjørring, J. K. and Sanders, D. 2008. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. – *Trends in Plant Science* 13(9): 464–473.
  44. Peng, J. and Gong, J. 2014. Vacuolar sequestration capacity and long-distance metal transport in plants. – *Frontiers in Plant Science* 5(19): 1–5.

45. Prasad, M. N. V. 2003. Metal hyperaccumulation in plants – Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. – *Electronic Journal of Biotechnology* 6(3): 285–321.
46. Rodríguez-Llorente, I. D., Lafurente, A., Doukkali, B., Caviedes, M. A. and Pajuelo, E. 2012. Engineering copper hyperaccumulation in plants by expressing a prokaryotic *copC* gene. – *Environmental Science and Technology* 46: 12088–12097.
47. Roosens, N. H., Willems, G., Saumitou-Laprade, P. 2008. Using *Arabidopsis* to explore zinc tolerance and hyperaccumulation. – *Trends in Plant Science* 13(5) : 208–215.
48. Salomons, W., Forstner, U. and Mader, P. 1995. Heavy metals: problems and solutions. Springer-Verlag, Berlin.
49. Sheldon, A. R. and Menzies, N. W. 2005. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. – *Plant and Soil* 278: 341–349.
50. Sheoran, V., Sheoran, A. S. and Poonia, P. 2009. Phytomining: A review. – *Minerals Engineering* 22(12): 1007-1019.
51. Sherameti, I. and Varma, A. 2011. Detoxification of heavy metals. Springer, Berlin.
52. Skjelkvåle, B., Andersen, T., Fjeld, E., Mannio, J., Wilander, A., Johansson, K., Jensen, J. and Moiseenko, T. 2001. Heavy metal surveys in Nordic lakes; concentrations, geographic patterns and relation to critical limits. – *A Journal of the Human Environment* 30(1): 2–10.
53. Sukender, K., Jaspreet, S., Sneha, D. and Munish, G. 2012. AAS estimation of heavy metals and trace elements in Indian herbal cosmetic preparations. – *Research Journal of Chemical Sciences* 2(3): 46–51.
54. Szczygłowska, M., Piekarska, A., Konieczka, P. and Namieśnik, J. 2011. Use of Brassica plants in the phytoremediation and biofumigation processes. – *International Journal of Molecular Science* 12(11): 7760–7771.
55. Zhao, F.-J., Hamon, R. E., Lombi, E. and McLaughlin, M. J. 2001. Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. – *Journal of Experimental Botany* 53: 535–543.
56. Zhuang, P., Yang, Q. W., Wang, H. B. and Shu, W. S. 2007. Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. – *Water Air Soil Pollution* 184: 235–236.

57. Talke, I. N., Hanikenne, M. and Krämer, U. 2006. Zinc-dependent global transcriptional control, transcriptional deregulation, and higher gene copy number for genes in metal homeostasis of the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. – *Plant Physiology* 142: 148–167.
58. Tangahu, B. V., Abdullah, S. R.S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N. and Mukhlisin, M. 2011. A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. – *International Journal of Chemical Engineering* 1–31.
59. Ueno, D., Iwashita, T., Zhao, F. and Ma, J. F. 2008. Characterization of Cd Translocation and Identification of the Cd Form in Xylem Sap of the Cd-Hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. – *Plant Cell Physiology* 49(4): 540–548.
60. Uruguchi, S., Watanabe, I., Yoshitomi, A., Kiyono, M. and Kuno, K. 2006. Characteristics of cadmium accumulation and tolerance in novel Cd-accumulating crops, *Avena strigosa* and *Crotalaria juncea*. – *Journal of Experimental Botany* 57(12): 2955–2965.
61. Wei, L., Wensheng, S. and Chongyu, L. 2004. *Viola baoshanensis*, a plant that hyperaccumulates cadmium. – *Chinese Science Bulletin* 49(1): 29–32.
62. Whitacre, D. M. 2011. Reviews of environmental contamination and toxicology. In: Ahmad, M. S. A. and Ashraf, M., *Essential Roles and Hazardous Effects of Nickel in Plants*. Springer, New York, pp. 126–128.
63. Yanai, J., Zhao, F., cGrath, S. P. and Kosaki, T. 2006. Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. – *Environmental Pollution* 139: 167–175.
64. Yang, J., Peng, C., Tang, C., Tang, M. and Zhou, K. 2009. Zinc removal from hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance biomass. – *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 19: 1353–1359.
65. Yang, X. E., Long, X. X., Ye, H. B., He, Z. L., Calvert, D. V. and Stoffella, P. J. 2003. Cadmium Tolerance and Hyperaccumulation in a New Zn-Hyperaccumulating Plant Species (*Sedum alfredii* Hance). – *Plant and Soil* 259: 181–189.
66. Yang, X., Feng, Y., He, Z. and Stoffella, P. J. 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. – *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 339–353.

**Internetileheküljed:**

1. Altvista [<http://luirig.altervista.org/flora/taxa/index1.php?scientific-name=arabidopsis+halleri>]. 22. mai 2014.
2. Cronodon [[http://cronodon.com/BioTech/Plant\\_Transport.html](http://cronodon.com/BioTech/Plant_Transport.html)]. 21. mai 2014.
3. Eestikeelsete taimenimede andmebaas [<http://www.ut.ee/taimenimed/>]. 24. mai 2014.
4. NatureGate [<http://www.luontoportti.com/suomi/en/kukkakasvit/alpine-pennycress>]. 22. mai 2014.

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Marili Sell

annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Raskmetallide fütoakumulatsioon ja taimede kasutamine saastunud keskkonna puhastamiseks, mille juhendaja on Anu Sõber.

reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni; üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 21.05.2014