

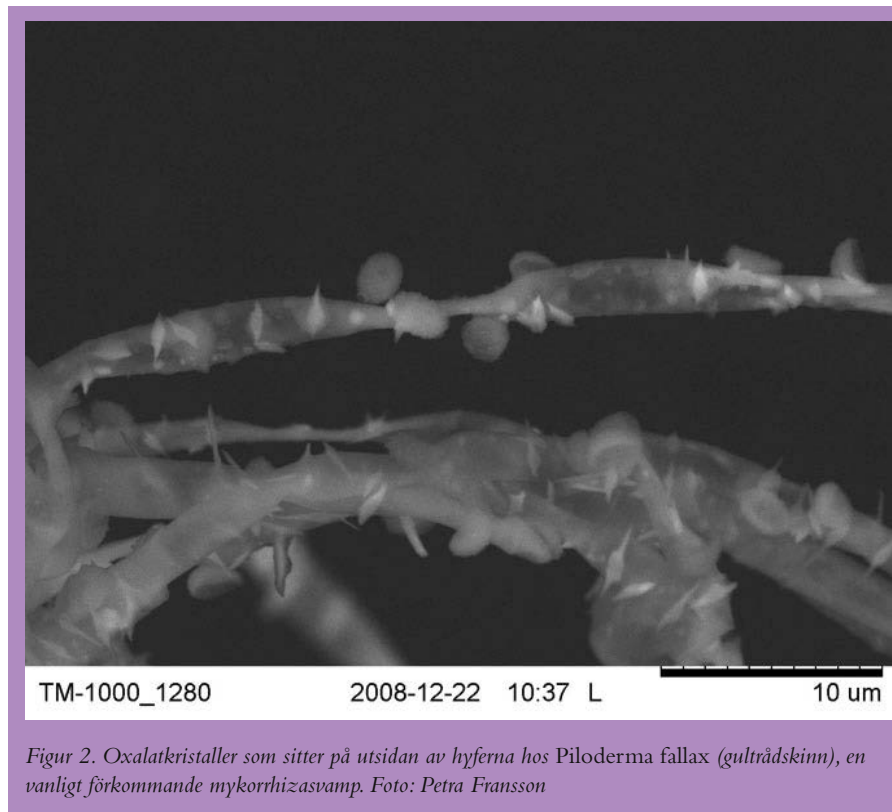
Petra Fransson ▪ Emma Johansson ▪ Roger Finlay ▪ Patrick van Hees



Figur 1. Marklevande svamp i skogen. Foto Petra Fransson.

Marklevande svampar utsöndrar exudat — skydd mot metaller

- Metallkontaminering är ett miljöproblem som förekommer över hela världen, och i kontaminerade jordar dominerar vanligen marklevande svampar det mikrobiella samhället.
- Svamparna utsöndrar t.ex. organiska syror, aminosyror och sockerarter genom så kallad exudation, ämnen som skyddar både svampar och växter mot toxiska metaller. De verkar bland annat genom att binda in metalljonerna så att de får en sämre tillgänglighet.
- I kontrollerade laboratorieförsök utgjordes mer än 90 % av de organiska syror av oxalsyra, och framför allt organiska syror och aminosyror ökade till följd av bly- och kadmiumexponering.
- Svampar spelar därför antagligen en viktig roll för att minska toxiciteten av metaller i marken, framför allt genom exudationen av oxalat, och på så sätt skyddas växter och andra organismer.



Figur 2. Oxalatkristaller som sitter på utsidan av hyferna hos *Piloderma fallax* (gultrådskind), en vanligt förekommande mykorrhizasvamp. Foto: Petra Fransson

na tar även upp mycket av exudaten som de själva har släppt ut. Det här gör att det är svårt att mäta koncentrationen av exudat direkt i marken. Det finns även en stor del mer eller mindre okända ämnen i exudaten, som t.ex. ett antal olika pigment. Vissa av pigmenten kan också binda in metaller.

Hur skyddar sig svampar mot metaller?

Marksvampar har flera olika sätt att skydda sig mot toxiska metaller. De kan antingen göra metaller mera tillgängliga genom att lösa ut dem (solubilisering), eller binda in dem (immobilisering). Vid utsöndring av t.ex. organiska syror försuras omgivningen och metaller blir tillgängliga och kan tas upp av olika organismer. Immobilisering kan ske på flera sätt. Metallerna kan bindas in i cellväggar, eller så kan de tas upp och sedan inkorporeras inuti cellerna. Ett annat sätt att immobilisera metallerna är genom att svamparna utsöndrar ämnen som bildar stabila komplex i marken. Dessa komplex är otillgängliga och därför inte heller toxiska. I marken är det mycket vanligt förekommande med ett komplex som bildas av den organiska sy-

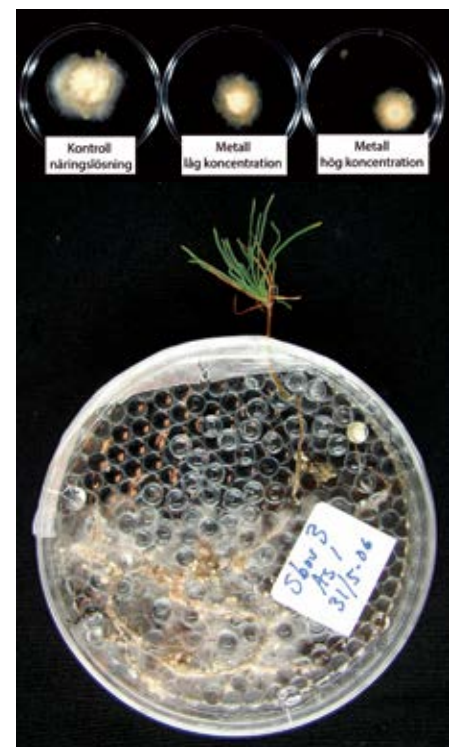
■ Metallkontaminerade jordar är ett miljöproblem som förekommer över hela världen. Naturvårdsverket uppskattar att det finns ungefär 83 000 kontaminerade områden i Sverige. De största utsläppen av metaller sker vid produktion av andra metaller såsom stål och järn, vid förbränning av fossila bränslen, från impregnering av trä och från färgpigment. Metaller frisläpps också vid vittring i marken, en process som även bidrar till att tillföra marken viktiga näringsämnen. Vissa metaller som bly och kadmium, samt halvmetallen arsenik, har ingen känd biologisk funktion och är toxiska även vid väldigt låga koncentrationer, medan andra är helt nödvändiga mikronäringsämnen som alla organismer behöver för tillväxt (t.ex. koppar, mangan och nickel).

I jordar som har blivit kontaminerade av metaller dominerar vanligtvis marklevande svampar det mikrobiella samhället. Bland marklevande svampar hittar vi både nedbrytarsvampar som lever av att bryta ner organiskt material som t.ex. förna, och symbiotiska mykorrhizasvampar. Den senare gruppen lever i samspel med trädens rötter och får kolhydrater från träden i utbyte mot näringsämnen som mykorrhizan tar upp från marken. Trots att kontaminerade jordar normalt sett är en mycket giftig miljö för organismer, så har svamparna hittat en väg att både överleva och växa i kontaminerade jordar – de utsöndrar

olika organiska ämnen som bland annat används som skydd mot metaller. Många av dessa ämnen har dock aldrig blivit studerade eller analyserade, trots att de verkar spela en viktig roll för svamparna vid metallkontaminering.

Svampar utsöndrar organiska ämnen

Båda grupperna av marklevande svampar, nedbrytare och mykorrhizasvampar, använder kol för tillväxt och energi samt för att producera ämnen de behöver för skydd och näringsupptag. Svamp typerna skiljer sig åt i var kolet kommer från; antingen genom enzymatisk nedbrytning av makromolekyler eller direkt från de värdträd vars rötter de koloniserar. Oavsett kolets ursprung så kommer svamparna att släppa ut en del av det i form av så kallade exudat. Exudaten består ofta av lågmolekylära ämnen som organiska syror, aminosyror och sockerarter. Dessa ämnen är inte polymerer och har en molekylärvikt som inte överskrider ca. 700 Dalton (atommassenheter). I tidigare studier har man främst undersökt organiska syror, medan de andra lågmolekylära ämnena inte har blivit analyserade. Detta beror delvis på att de små och lättillgängliga ämnena fungerar som näring för andra mikroorganismer i marken, t.ex. bakterier, som snabbt åter upp dem. Svampar-



Figur 3. Förenklade odlingsystem för att undersöka exudation hos svampar. Figur 3a (överst) visar renkulturer av isolerade marksvampar som växer i näringslösning med olika metallkoncentrationer. Figur 3b (nederst) visar en mykorrhiza-koloniserad tallplanta som växer i en arseniklösning. När försöken är klara samlas vätskan in och exudaten analyseras kemiskt. Foto Petra Fransson.

FAKTARUTA

Exudat i marken

Organiska syror består av karboxylgrupper. De bildar anjoner och protoner i lösning och är därför försurande. De bildar ofta komplex med metaller eller metallkationer (t.ex. Ca-oxalat och Al-oxalat). Organiska syror finns inte enbart i exudat som släpps ut utan hittas i alla levande organismer, och de bildas vid mikrobiell nedbrytning av växtförna. De är en viktig kolkälla för mikroorganismer i marken, och används främst till att producera energi via cellrespirationen. Trots att koncentrationerna ligger från nära noll till 100 μM , tros de ha stor betydelse för flödet av kol i marken. Vanliga organiska syror är t.ex. acetat, citrat, oxalat och format, medan malat, laktat, fumarat och propionat är mindre vanliga.

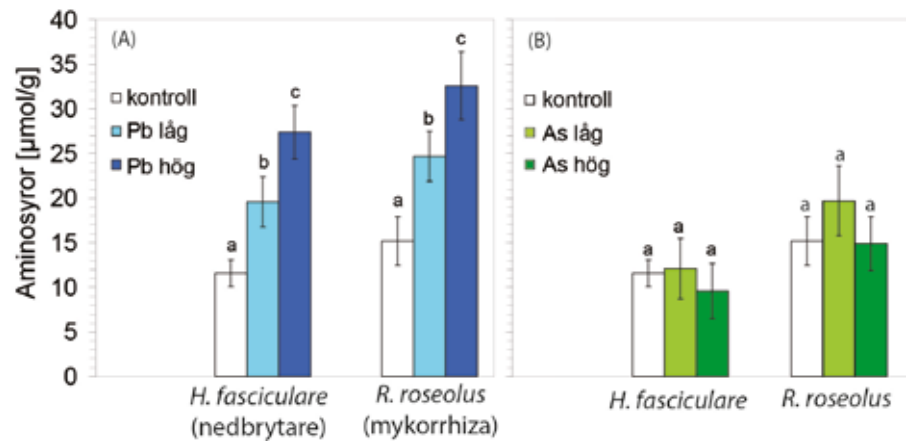
Aminosyror innehåller en aminogrupp och karboxylgrupp, är antingen hydrofila eller hydrofoba, och bygger upp proteiner. De kan både avge och ta upp en proton. Koncentrationen av fria aminosyror i marken ligger mellan 1 och 100 μM , och de kommer från deposition, exudation och mikrobiell nedbrytning av döda rötter och förna. Aminosyrorna binds oftast inte in i starka komplex i marken och är därför mera lättillgängliga. Svampar kan använda aminosyror både som kol- och kvävekälla.

Sackarider inkluderar enkla sockerarter som glukos och fruktos, men även aminosocker. De utgör den största delen av exudatresursen i marken, och kommer från svampar och bakteriers döda cellväggar samt nedbrytning av markkol (s.k. *soil organic matter*). Ett exempel på aminosockerarter, vilka är derivat av lösliga monosackarider, är glukosamin, som bygger upp svamparnas cellväggar.

Sideroforer är en grupp av s.k. kelaterande, eller inbindande molekyler, som komplexbinder in t.ex. järn så att det kan tas upp från marken av växter och mikroorganismer.

Även andra ämnen släpps ut i form av exudat, t.ex. fettsyror, polymera kolhydrater och pigment.

ran oxalsyra tillsammans med kalcium, och dessa komplex faller ut som kristaller vilka kan sitta på svampernas hyfer (Figur 2). Vid sidan av de lågmolekylära exudaten (organiska syror, aminosyror och sockerarter) utsöndras även större molekyler, t.ex. sideroforer eller en sorts protein (s.k. metallothioniner) vilka kan binda in både mikronäringsämnen och giftiga tungmetaller. Dessa ämnen fungerar därför både som en hjälp vid näringsupptag och som skyddsmekanism.



Figur 4. Aminosyrahalter för två olika marksvampar (*Hypholoma fasciculare* och *Rhizopogon roseolus*) som odlades i renkultur. Figur 4a visar hur halterna förändrades när svamparna växte tillsammans med bly (Pb) i låg (b) och hög (c) koncentration. Figur 4b visar hur de påverkades av arsenik (As) i låg (a) och hög (a) koncentration. Olika bokstäver på staplarna betyder att skillnaderna var statistiskt signifikanta.

Hur kan vi studera exudation?

Eftersom svampar och bakterier snabbt tar upp lågmolekylära föreningar som släppts ut är det svårt att studera exudation. Vid odlingsförsök kan vi lösa det genom att odla svamparna utan att andra organismer finns närvarande. Vi kan använda oss av förenklade försökssystem där enbart svampen och (eventuell) värdplanta växer (Figur 3), och utan att använda jord. Allt arbete måste därför utföras sterilt för att förhindra att exudaten bryts ner av andra mikroorganismer. För att simulera metallstress och undersöka hur detta påverkar svamparnas exudation använde vi oss både av enkla försökssystem med svampkulturer (Figur 3a) och lite mer komplexa försökssystem där mykorrhizasvamparna koloniserade tallplantor (Figur 3b). Svamparna fick växa till i näringslösning och sedan tillsattes olika metaller (bly, kadmium och arsenik) varefter exudaten som utsöndrats i lösningarna analyserades. Analysmetoder utvecklades så att vi kunde mäta 12 lågmolekylära organiska syror, 20 aminosyror, och ett antal monosackarider. På det sättet kunde vi få en mera komplett bild av hur utsöndringen förändras när svamparna utsätts för metaller.

Metaller ökar produktionen av exudat

Totalt sex olika mykorrhizasvampar och två nedbrytarsvampar testades. Utsöndringen av exudat skilde sig åt mellan olika svamparter. När svamparna odlades i renkultur gick det inte att se någon signifikant skillnad beroende på om de var nedbrytare eller mykorrhizasvampar, men mykorrhizasvamparna utsöndrade oftast mera exudat. Oxalsyra

var den vanligaste förekommande organiska syran som producerades, och halten ökade signifikant både för bly, kadmium och låga halter av arsenik. Även halten av aminosyror ökade markant för bly (Figur 4a) och kadmium, men inte för arsenik (Figur 4b). Däremot påverkades inte utsöndringen av sockerarter alls av metallerna. Det spelade också roll hur mycket näringsämnen som var tillgängliga när svamparna odlades för sig själva – ju mera kol som fanns, desto mera exudat producerades och desto större blev responsen på metaller. Ökningen för näringsrika förhållanden jämfört med näringsfattiga var 10–250 % och varierade avsevärt mellan de olika metallbehandlingarna.

När mykorrhizasvamparna växte i symbios med tallplantor ökade exudationen jämfört med hos tallplantor som växte utan svampar. Det visar att svamparna förstärker växtens försvar, och leder till att plantorna som utsätts för metaller klarar sig bättre. Mykorrhizasvamparna har alltså en viktig roll vid etablering av växtlighet i metallkontaminerade områden, vilket även annan forskning stödjer. Även för plantförsöket påverkade bly och kadmium exudationen mest, medan arsenik inte hade någon effekt oavsett koncentration. Exudationen ökade 15–45 % för plantorna till följd av metallexponering, vilket motsvarar ungefär en femtedel av ökningen som skedde i renkultur.

Experimenten visade att både tillgången på kol, och metallkoncentrationen som svamparna utsattes för, påverkade exudationen. Mera kol och högre metallhalter ledde till ökad exudation för vissa metaller. Mer än 90 % av de organiska syrorna utgjordes av oxalsyra. Det var också skillnader mellan

Marklevande svampar utsöndrar exudat – skydd mot metaller

olika arter. Det tyder på att skyddet mot metaller kan påverkas av vilket svamp-samhälle som finns i marken, och vissa arter kan ge ett bättre skydd än andra. Detta är de första studierna där både aminosyror, organiska syror och monosackarider analyserades. Vi har inriktat oss på att mäta lågmolekylära organiska ämnen som utsöndras, men vi vet att många flera typer av ämnen släpps ut av både svampar och träd. För att bättre förstå svamparnas roll i att skydda växter mot metallförgiftning kommer vi att behöva studera även dessa andra ämnen i detalj för att förstå sambanden. Vi behöver även använda oss av fältförsök för att öka förståelsen av det som sker ute i skogen. Svampar, speciellt mykorrhiza som lever på trädens rötter, har därmed en potential att reducera metalltoxiciteten i marken genom att de producerar kraftfulla organiska komplexbildare. Framför allt gäller det oxalsyran. Därför spelar marksvamparna antagligen en viktig roll för att skydda växter och andra organismer i metallkontaminerade jordar.

Ämnesord

Mykorrhiza, nedbrytarsvampar, marklevande svampar, tungmetaller, bly, kadmium, arsenik, toxicitet.

Läs mer

Johansson, E.M., Fransson, P.M.A., Finlay, R.D. & van Hees, P.A.W. 2008a. Quantitative analysis of root and ectomycorrhizal exudates as a response to Pb, Cd and As stress. *Plant & Soil* 313: 39–54.

Johansson, E.M., Fransson, P.M.A., Finlay, R.D. & van Hees, P.A.W. 2008b. Quantitative analysis of exudates from soil-living basidiomycetes in pure culture as a response to heavy metal (Pb, Cd and As) stress. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2225–2236.

Johansson, E. 2009. Impact of root and mycorrhizal exudation on soil carbon fluxes – influence of elevated CO₂ and metals. Doctoral thesis, Örebro Studies in Environmental Science 14, Örebro University, Sweden.

Författare



PETRA FRANSSON

Forskare
Institutionen för skoglig mykologi och patologi, SLU
Box 7026, 75007 Uppsala.
Petra.Fransson@slu.se



EMMA JOHANSSON

F.d. doktorand vid
Institutionen för naturvetenskap och teknik,
Örebro universitet



ROGER FINLAY

Professor
Institutionen för skoglig mykologi och patologi, SLU
Box 7026, 75007 Uppsala
Roger.Finlay@slu.se



PATRICK VAN HEES

Eurofins Environment
Testing Sweden AB
Sjöhagsgatan 3,
531 17 Lidköping
Patrickvanhees@eurofins.se
Patrick@Vanhees.se

