Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie

Adam Homola

Příjem těžkých kovů – role kořenového systému

Uptake of heavy metals – the role of the root system

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Edita Tylová, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Ondřej Gargoš

Praha, 2023

Poděkování

V první řadě bych rád poděkoval RNDr. Editě Tylové, Ph.D., za její cenné rady a ochotu při psaní této bakalářské práce. V druhé řadě chci poděkovat své rodině a blízkým za jejich obrovskou podporu nejen při psaní bakalářské práce, ale i během mého studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze…… Podpis…….

Abstrakt

Těžké kovy představují významné polutanty půd a pro rostliny za určitých podmínek významné riziko. Patří mezi ně některé esenciální mikroprvky (Fe, Zn, Mn, Mo, Cu, Ni) i toxické kovy (např. Cd, As, Pb, Hg). Esenciální mikroprvky plní v rostlinách důležité funkce, v rostlinném metabolismu jsou zapojeny hlavně jako kofaktory enzymů. Toxické kovy nemají funkci žádnou, přesto se do rostliny v různé míře z prostředí dostávají a způsobují toxicitu. Nadměrná koncentrace esenciálních kovů v rostlině však působí negativně taktéž a rostliny mají různé mechanismy, jak se negativnímu působení bránit. Bakalářská práce se zaměřuje zejména na příjem těžkých kovů z půdy pomocí kořene, čehož se docílí pomocí membránových transportérů. Dále rozebírá několik mechanismů, které se týkají obrany vůči toxicitě těžkých kovů nejen z hlediska regulace příjmu, ale i poté, co se těžké kovy dostanou do rostlinných těl. Tyto mechanismy jsou důležitým aspektem hyperakumulace, která je v této práci zařazena také. Hyperakumulátory využívají těchto mechanismů v úplně jiném měřítku než nehyperakumulátory, což hyperakumulátorům umožňuje žít v prostředích, kde je koncentrace těžkých kovů vysoká, čímž se naprosto od sebe liší. Vlastnosti hyperakumulátorů může lidstvo využít pro své účely, jako je fytoremediace či fytotěžba (anglicky fytomining), které jsou zde také stručně zmíněny.

Klíčová slova

těžké kovy, esenciální mikroprvky, hyperakumulace, apoplastické bariéry, membránové transportéry

Abstract

Heavy metals are important soil pollutants and pose a significant risk to plants under certain conditions. These include some essential microelements (Fe, Zn, Mn, Mo, Cu, Ni) and toxic metals (e.g. Cd, As, Pb, Hg). Essential microelements have important functions in plants, and are mainly involved in plant metabolism as cofactors of enzymes. Toxic metals have no function, yet they enter the plant in varying degrees from the environment and cause toxicity. However, excessive concentrations of essential metals in the plant also have negative effects and plants have different mechanisms to counteract these negative effects. The bachelor thesis focuses mainly on the uptake of heavy metals from the soil by the root, which is achieved by membrane transporters. It also discusses several mechanisms involved in defence against heavy metal toxicity, not only in terms of regulating uptake, but also after heavy metals have entered plant bodies. These mechanisms are an important aspect of hyperaccumulation, which is also included in this thesis. Hyperaccumulators use these mechanisms on a completely different scale than non-hyperaccumulators, which allows hyperaccumulators to live in environments where heavy metal concentrations are high, making them completely different from each other. The properties of hyperaccumulators can be utilized by people for their purposes, such as phytoremediation or phytomining, which are also briefly mentioned.

Keywords

heavy metals, essential microelements, hyperaccumulation, apoplastic barriers, membrane transporters

Seznam zkratek

ABC	superrodina proteinů ABC (ATP-binding cassete)
ACR3	transportér arsenu pro sekvestraci do vakuoly (arsenic compound resistence 3)
APX	askorbátové peroxidázy (ascorbate peroxidase)
ATP	adenosintrifosfát (adenosintriphosphate)
CBP4	kationtový kanál (calmoldulin-binding protein 4)
CBL	vápník vazebný protein (calcineurin B-like protein)
CIPK23	proteinkináza interagující s CBL (calcineurin b-like interacting protein kinase 23)
CNGC1	kationtový kanál řízený cyklickými nukleotidy (cyclic nucleotide gated channel 1)
COPT1	transportér mědi (copper transporter 1)
Ctr	rodina transportérů mědi (copper transporter proteins)
DAPI	4',6-diamidin-2-fenylindol (4',6-diamidino-2-phenylindole)
DMA	2-deoxymuginová kyselina (deoxymugineic acid)
FRD3	transportér železa chelatovaného citrátem (ferric reductase defective 3)
FRDL1	transportér železa chelatovaného citrátem (ferric reductase defective-like 1)
FRO2	reduktáza Fe^{3+} (ferric reduction oxidase-2)
FYVE1	endosomální protein podílející se na třídění proteinů (FYVE domain-containing protein 1), zkratka domény je odvozena z prvních písmen 4 proteinů, které tuto doménu obsahují – **F**ab1p, **Y**OTB, **V**ac1p a **E**EA1
HA	rostliny se schopností hyperakumulace kovů (hyperaccumulators)
HMA2,3,4	ATPázy těžkých kovů (heavy metal ATPase)
IDF1 E3 ligáza	ubiquitinová ligáza regulující degradaci IRT1 (irt1 degradation factor 1)
IRT1,2,3	transportéry železa (iron-regulated transporter)
Lsi1,2	transportéry křemíku (low silicon 1, 2)
MAs	kyselina muginová a její deriváty (mugineic acid family phytosiderophores)
MerC	bakteriální transportér rtuti (mercuric ion resistence C)
MFS	superrodina transportních proteinů zahrnujících transportéry fytosideroforů (major facilitator superfamily)

MMA	kyselina methylarsonová (methylarsonic acid)
MOT1, 2	transportéry molybdenanu (molybdenum transporter type 1, 2)
MS médium	Murashige a Skoog živné médium (1962)
MT2a	metalothionenin 2a (metallothionenin 2a)
MT2b	metalothionenin 2b (metallothionenin 2b)
MT3	metalothionenin 3 (metallothionenin 3)
MTP	transportér kovů pro sekvestraci do vakuoly (metal tolerance protein)
NA	nikotianamin (nicotianamin)
NAS	nikotianamin syntáza (nicotianamine synthase)
NHA	rostliny bez schopnosti hyperakumulace (non-hyperaccumulators)
NIPs	podrodina akvaporinů (nodulin 26-like intrinsic proteins)
NRAMP	rodina transportérů NRAMP transportující Mn a další kovy (natural resistance-associated macrophage protein)
Nramp1,5	transportéry z rodiny NRAMP (natural resistance-associated macrophage protein 1,5)
PCA	kyselina protokatechová (protocatechuic acid)
PEZ1,2	transportéry fenolických látek (phenolic efflux zero 1,2)
PHT1,7	transportéry fosfátu (phosphate transporter 1,7)
Pht1; 3	transportér fosfátu (phosphate transporter 1; 3)
PI3P	fosfatidylinositol-3-fosfát (phosphatidylinositol-3-phosphate)
POX	peroxidázy III. třídy (class III plant peroxidase)
Sultr1;1	transportér sulfátu (sulphate transporter 1;1)
Sultr1;2	transportér sulfátu (sulphate transporter 1;2)
TIP4; 1	akvaporin TIP4; 1 (tonoplast intrinsic protein 4; 1)
TOM1,2	transportéry muginových kyselin (transport of mugineic acid 1,2)
YS1,5,6,7,12,14,15,17	transportéry komplexu kov-fytosiderofor (yellow stripe 1,5,6…)
YSL	transportér komplexu kov-fytosiderofor (yellow-stripe-like)
ZIP	rodina transportérů železa zinku a dalších kovů (zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like proteins)
ZIP1,2,3,4,7,9	transportéry zinku (zinc-regulated transporter)

Obsah

1 Úvod 1
2 Těžké kovy – esenciální mikroprvky i toxické kovy 4
3 Apoplastické bariéry a selektivní příjem látek kořenovým systémem 5
4 Efektivní příjem esenciálních kovů kořeny 9
4.1 Příjem železa 9
4.2 Příjem zinku 16
4.3 Příjem dalších esenciálních kovů kořeny rostlin 20
5 Kořeny a příjem toxických kovů 22
5.1 Příjem arsenu 23
5.2 Příjem kadmia 25
5.3 Příjem chromu 25
5.4 Příjem olova 26
5.5 Příjem rtuti, zlata a stříbra 26
6 Hyperakumulace těžkých kovů 27
7 Závěr 32
8 Seznam literatury 33

1 Úvod

Rostliny pomocí kořenového systému z půdy přijímají vodu a minerální živiny, mezi které se řadí i některé kovy. Kovy, jež mají hustotu větší než 5 $g \cdot cm^{-3}$ se označují jako tzv. těžké kovy, a tato práce se jimi zabývá. Mezi těžké kovy patří některé esenciální mikroprvky, ale i toxické kovy, které nemají v rostlině žádné funkce (DalCorso et al., 2013). Železo je jednou z nejzákladnějších živin všech organismů včetně člověka, nicméně světová populace z 24,8 % trpí anémii, která je způsobena nedostatečným příjmem železa (McLean et al., 2009). V případě zinku až 17,3 % populace je náchylná k nedostatečnému příjmu zinku (Wessells and Brown, 2012). Nedostatečnému přísunu esenciálních mikroprvků mohou dále napomáhat půdy chudé na dané živiny. Půdy s písčitým či vápenatým charakterem jsou známé pro deficience esenciálních mikroprvků (Schulin et al., 2010). Efektivním příjmem esenciálních mikroprvků rostlinami může lidstvo zvýšit kvalitu svých potravin a tím zlepšit svůj zdravotní stav. Dnešní zemědělství by se mělo této problematice intenzivně věnovat. Na druhou stranu je také potřeba kontrolovat míru kontaminace prostředí. Na Zemi je více než 5 milionů míst, které mají znečištěnou půdu díky toxickým kovům (Khan et al., 2021). Takové množství znečištěných půd jen zvyšuje pravděpodobnost akumulace v rostlinách a vstup do potravního řetězce, což může mít vážné následky na životaschopnost organismů. Je proto důležité zohledňovat i toto hledisko.

Příjem a transport těžkých kovů kořenem může proběhnout dvěma způsoby, a to buď apoplastem, nebo symplastem, většinou však jsou obě cesty do jisté míry kombinovány. Transport apoplastem probíhá mezibuněčným prostorem, je pasivní a neregulovaný. Transport symplastem probíhá kontinuem protoplastů a vyžaduje transportéry, které přenáší ionty těžkých kovů z apoplastu přes cytoplazmatickou membránu do cytosolu. S apoplastem souvisí apoplastické bariéry. Jedná se o endodermis a exodermis. Právě endodermální bariéra je klíčová pro selektivní vstup látek, protože blokuje volný pohyb látek apoplastem a ovlivňuje tak vstup solutů do středního válce kořene. Během diferenciace endodermis i exodermis dochází k postupné modifikaci buněčných stěn, nejprve se tvoří Caspary ho proužky, poté suberinová lamela a nakonec probíhá depozice sekundární buněčné stěny (Enstone et al., 2002).

Po diferenciaci apoplastických bariér má kořen rostlin schopnost selektivně přijímat těžké kovy pomocí membránových transportérů. Pro esenciální kovy, např. železo, zinek, mangan nebo měď (Marschner, 2011), má rostlina specifické transportéry. Mezi rodiny transportérů esenciálních mikroprvků se řadí např. rodiny ZIP (zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like proteins), NRAMP (natural resistance-associated macrophage protein) a HMA (heavy metal ATPase). Transportér IRT1 je jedním z nejznámějších z rodiny ZIP, který je hlavní transportér železa, avšak jeho specifita pro ionty kovů je široká (Korshunova et al., 1999; Vert et al., 2002). Rostlina esenciální mikroprvky potřebuje, ať už pro svůj správný vývoj, nebo je využívá jako komponenty do biochemických procesů (kofaktory enzymů) (Broderick, 2001). Toxické kovy jako kadmium, arsen nebo chrom, nemají na druhou stranu v rostlině žádnou funkci a způsobují rostlině pouze stres a poškození. Rostlina pro toxické kovy nemá specifické transportéry, a tak tyto kovy musí vniknout do buněk pomocí již existujících transportérů. Díky jejich strukturní podobnosti s esenciálními mikroprvky se jim to však daří (AbdElgawad et al., 2020).

Rostliny v závislosti na dostupnosti těchto prvků v rhizosféře volí mechanismy, které odpovídají daným podmínkám v daném čase. Ať už je to zvýšení exprese genů transportérů a jejich specifické rozmístění na membráně pro příjem v podmínkách, kdy je daný prvek deficientní, nebo naopak snížení exprese těchto genů pro příjem v podmínkách nadbytku. Vše záleží na okolních podmínkách. V případě toxických kovů může také docházet k regulaci exprese, sekvestraci do vakuol nebo rychlejší vývoj modifikací apoplastických bariér pro snížení toxických efektů těchto kovů. Hyperakumulátory využívají stejné mechanismy, avšak jejich regulace se značně liší od nehyperakumulátorů, což jim dává speciální vlastnosti.

Z informací uvedených výše lze odvodit, že jsem si v této bakalářské práci zvolil za cíl popsat mechanismy příjmu těžkých kovů, a to napříč modelovými rostlinnými organismy, zejména *Arabidopsis thaliana* a *Oryza sativa*. Zaměřuji se na mechanismy, jakými rostliny efektivně přijímají esenciální kovy, zvyšují jejich příjem při deficienci či naopak snižují při nadbytku kovu v rhizosféře a brání se tak nadměrné akumulaci a toxicitě. Demonstrace mechanismů týkající se esenciálních kovů je popsána především na příkladu železa a zinku. V druhé části práce jsou analyzovány způsoby, jakými dochází ke vstupu toxických kovů do rostliny, s důrazem na příjem arsenu, kadmia a olova. Závěrem popisuji mechanismy hyperakumulace, které jsou demonstrovány na příkladu *Arabidopsis halleri*, která je

hyperakumulátorem zinku. Vedle akumulace zinku je navíc popsána i hyperakumulace arsenu v rostlině *Pteris vittata* a zajímavosti spojené s vybranými akumulátory niklu. Zároveň s fenoménem hyperakumulace je stručně zmíněna fytoremediace a fytotěžba, tedy praktiky využívající rostlin s vlastností hyperakumulace.

Cíle práce:

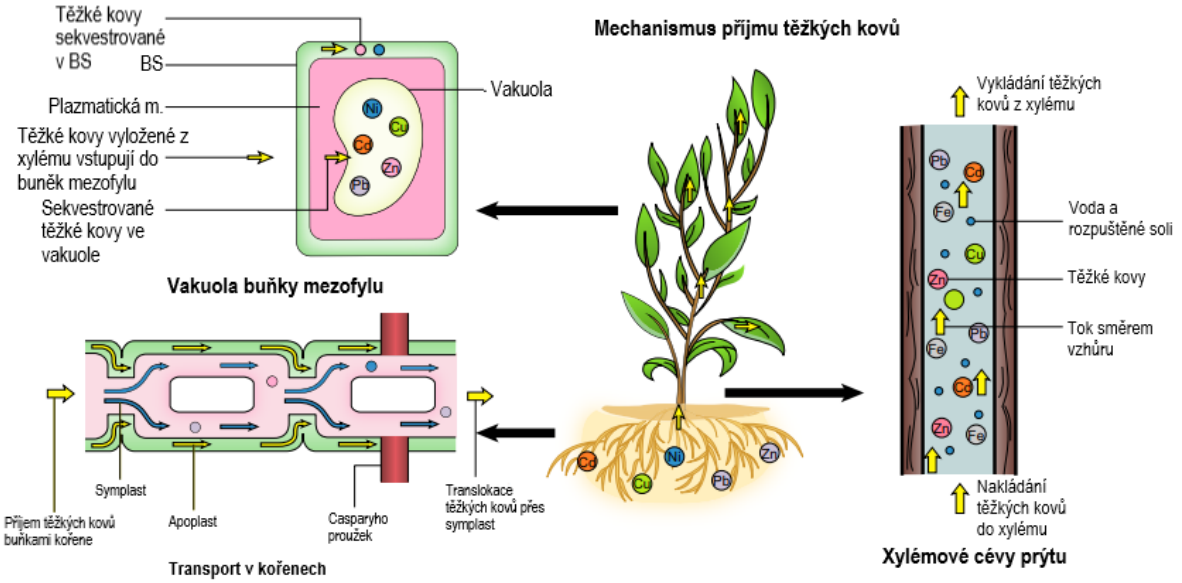
1. Popsat mechanismy, které rostlině umožňují efektivní příjem esenciálních kovů kořenovým systémem
2. Shrnout poznatky o mechanismech vstupu toxických těžkých kovů a představit fenomén hyperkumulace

2 Těžké kovy – esenciální mikroprvky i toxické kovy

Těžké kovy nemají jednoznačnou definici, ale většinou se mezi ně řadí kovy s hustotu větší než 5 $g \cdot cm^{-3}$ (DalCorso et al., 2013). Mezi těžké kovy patří některé esenciální mikroprvky i toxické kovy. Esenciálními mikroprvky ze skupiny těžkých kovů jsou železo (Fe), zinek (Zn), měď (Cu), molybden (Mo), mangan (Mn) a nikl (Ni) (Marschner, 2011). Tyto kovy plní v rostlinném těle fyziologické a biochemické funkce. Především se jako kofaktory různých enzymů podílejí na redoxních reakcích (Broderick, 2001). Např. plastocyanin obsahuje atom mědi, díky němuž může přenášet elektron na fotosystém I (Ramshaw et al., 1973), zinek je součástí karbonanhydrázy a RNA polymerázy (Lindskog, 1997; Markov et al., 1999), mangan je součástí komplexu vyvíjejícího kyslík (Raymond and Blankenship, 2008), molybden se účastní metabolismu dusíku a síry (Ide et al., 2011) a nikl je komponentem enzymu ureázy (Blakeley and Zerner, 1984). Esenciální mikroprvky se nicméně pro rostlinu stávají toxické, jakmile překročí optimální množství v rostlinném těle (Sandeep et al., 2019).

Těžké kovy, které v rostlinách neplní esenciální funkce, se dají rozdělit do tří skupin: toxické kovy (Hg, Cr, Pb, Cd, As, Sn a další), ušlechtilé kovy (Pd, Pt, Ag, Au a další) a radioaktivní prvky (U, Th, Ra, Am a další) (Sandeep et al., 2019). Oproti mikroprvkům tyto těžké kovy nemají v rostlině žádné fyziologické funkce a jsou toxické již v malých koncentracích. Typické symptomy způsobené nadbytkem esenciálních mikroprvků i přítomností toxických těžkých kovů jsou chlorózy, zkroucení a nekróza listů, senescence, zpomalený růst, snížená produkce biomasy, případně i úhyn rostliny (DalCorso et al., 2013). Fyzikálně-chemické vlastnosti toxických těžkých kovů jim umožní vstup do rostlinných těl, protože připomínají vlastnosti esenciálních mikroprvků, a proto jsou pomocí transportérů přes cytoplazmatickou membránu do buňky přijímány (AbdElgawad et al., 2020). Rostliny mají několik mechanismů, jakými se brání toxicitě těžkých kovů. Jedná se především o mechanismy selektivity příjmu látek na úrovni kořenů, dále pak o translokaci a sekvestraci v rostlinném těle (schéma viz Obrázek 1). Kromě toho hrají roli v elektivním příjmu látek kořeny i další mechanismy – především morfologické adaptace kořene a kořenové architektury (Maathuis, 2009) nebo schopnost kořenů vylučovat exudáty za účelem chemické modifikace rhizosféry a uvolnění nedostatkových prvků z půdy (Maathuis and Diatloff, 2013).

V následujících kapitolách se zaměřím na kořenový systém a na příkladu některých kovů podrobně představím mechanismy, které rostlině umožňují efektivně přijímat esenciální mikroprvky a zároveň se bránit vstupu nežádoucích toxických kovů. Tyto mechanismy zahrnují především přítomnost apoplastických bariér a selektivní příjem a distribuci kovů transportními proteiny membrán buněk kořenů. Dále také shrnu dostupné informace o způsobech, jakými do kořenů vstupují toxické kovy díky chemické podobnosti s esenciálními prvky.



Obrázek 1 *Zobrazení nejdůležitějších procesů, které probíhají při příjmu a sekvestraci těžkých kovů. Pomocí apoplastu a symplastu se těžké kovy transportují pletivy kořene do vodivých pletiv ve středním válci a dále do prýtu. Těžké kovy jsou do prýtu transportovány xylémem, v prýtu jsou poté skladovány hlavně ve vakuolách. BS = buněčná stěna. (Převzato z Ghori et al.* (2016) *a upraveno)*

3 Apoplastické bariéry a selektivní příjem látek kořenovým systémem

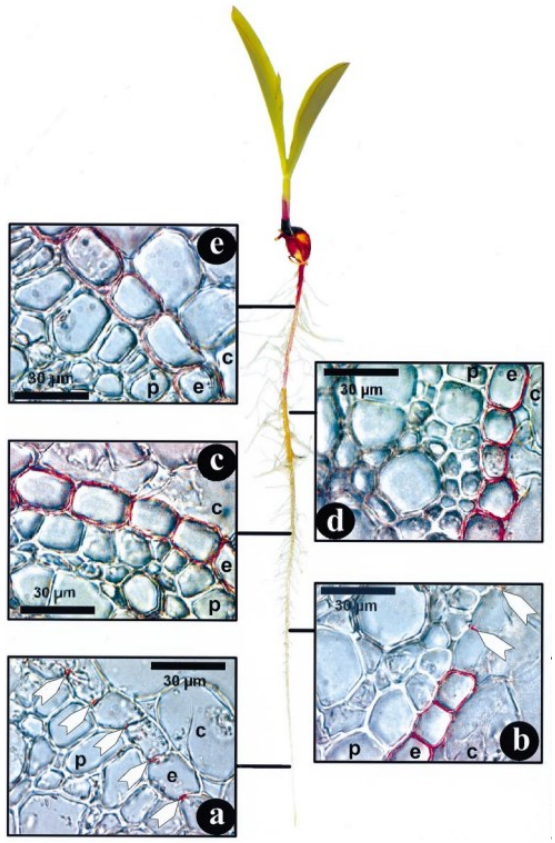
Pomocí kořene rostlina čerpá z půdy hlavně vodu společně s minerálními látkami. Kořeny rostlin zároveň čelí stresovým faktorům půdního prostředí. Mezi takové faktory se řadí i přítomnost látek, které v nadbytečném množství mohou být pro rostlinu toxické, včetně těžkých kovů. Pokud je řeč o mechanismech obrany proti vstupu nežádoucích látek do rostliny a schopnost kořene zajistit selektivní příjem esenciálních prvků, je na prvním místě nezbytné zmínit přítomnost apoplastických bariér. Ty v kořeni představuje vrstva endodermis a

exodermis. Endodermis je klíčová, najdeme ji v kořenech všech cévnatých rostlin. Výjimku představují pouze plavuně, kde mají buňky vnitřní části primární kůry lignifikované celé buněčné stěny a nejsou zde patrné jasně definované Caspary ho proužky (Damus et al., 1997).

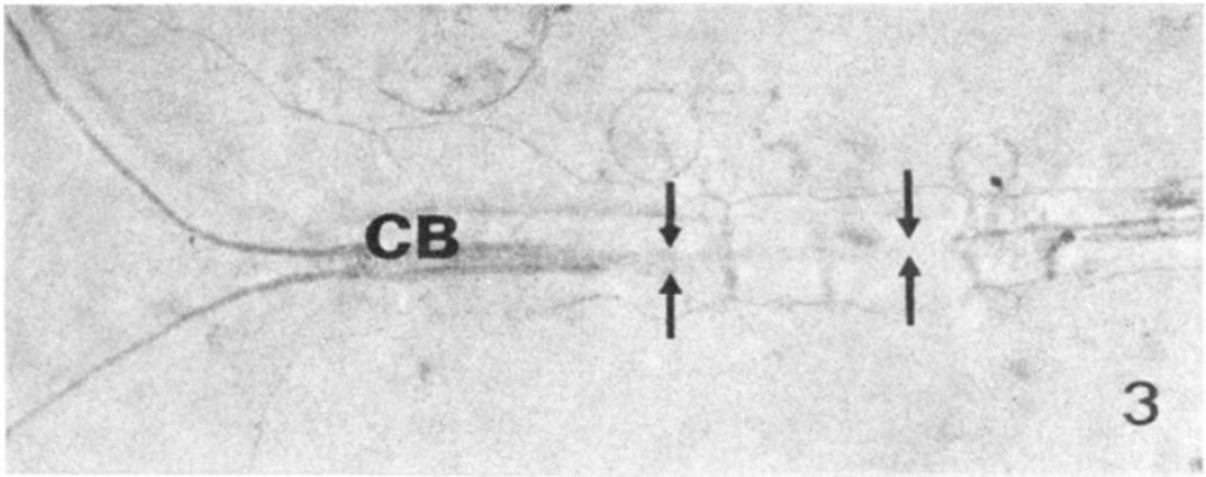
Endodermis může mít tři různé modifikace buněčné stěny, které se vyvíjí v přesném pořadí. Prvním stádiem vývoje endodermis jsou Caspary ho proužky, druhým stádiem je tvorba suberinové lamely a třetí stádium je depozice sekundární buněčné stěny – vznik tzv. U-ztlustliny (viz Obrázek 2) (Enstone et al., 2002). Stejný způsob vývoje, který probíhá v endodermis, se může odehrát i v hypodermis (podpokožkové vrstvy buněk primární kůry) a tuto vrstvu buněk pak označujeme jako exodermis. Vrstva exodermis se považuje za exodermis tehdy, když má tato vrstva vytvořeny Caspary ho proužky (Schreiber et al., 1999), ne všechny rostliny však exodermis tvoří (Perumalla et al., 1990).

Caspary ho proužky se nachází v primární buněčné stěně v antiklinální poloze. Jedná se o oblasti buněčné stěny, které jsou lignifikovány (Naseer et al., 2012), případně u některých rostlin také částečně impregnovány suberinem (Zeier and Schreiber, 1997). Hlavní funkcí těchto struktur je zabránění volného, neselektivního prostupu různých iontů z apoplastu primární kůry do apoplastu středního válce kořene. Dále je rostliny používají zároveň jako bariéru proti zpětnému toku iontů apoplastem ze středního válce zpět do primární kůry. V rámci exodermis pak brání volnému vstupu iontů z rhizosféry do primární kůry (Enstone et al., 2002).

Poté, co jsou diferencovány Caspary ho proužky, dochází k vytváření suberinové lamely. Hlavní složkou suberinové lamely je suberin a v menším množství i lignin (oproti Caspary ho proužkům). Vyvinutím suberinové lamely si buňka vytvoří po svém obvodu hydrofobní štít, který omezuje přístup k plazmalemě a brání příjmu iontů z apoplastu do endodermálních či exodermálních buněk (Andersen et al., 2015). Průchod plasmodesmy není suberinem omezen, protože v jejich místě se suberin neukládá (viz Obrázek 3). To dokládá i fakt, že průchod vody i solutů z jedné buňky do druhé byl pozorován, i když byla suberinová lamela již vytvořena (Robards and Clarkson, 1976). Během suchých podmínek může dojít k odumření rhizodermis a někdy i vnějších vrstev primární kůry, poté endodermis funguje jako vnější vrstva kořene. Suberinová lamela pak v endodermis zabraňuje ztrátám vody, díky její hydrofobicitě. Fakt, že všechny buňky netvoří suberinovou lamelu vypovídá o tom, že není pro rostliny nezbytně důležitá, ale pouze poskytuje určité výhody (Enstone et al., 2002).



Obrázek 2 *Stádia vývoje endodermis kukuřice (Zea mays). A) Caspary ho proužky v endodermis (bílé šipky označují jejich umístění). B) Sekundární stádium vývoje endodermis – suberinová lamela se začíná vytvářet v některých buňkách endodermis. C) Kompletní suberinizace endodermis – suberinové lamely vytvořené ve všech buňkách endodermální vrstvy. D) Počátek terciárního vývoje endodermis – lze vidět U-ztlustliny. E) Sekundární buněčná stěna je téměř všude deponovaná – U-ztlustliny jsou výraznější. (Převzato z Schreiber et al. 1999)*



Obrázek 3 *Fotografie z elektronového mikroskopu (zvětšení 13 000x) - několik plasmodesmů v blízkosti Caspary ho proužku (CB) po depozici suberinové lamely. Lze vidět absenci suberinové lamely v této oblasti buněčné stěny (absence suberinové lamely je označena šipkami). (Převzato z Klasová* (1975)

Depozice sekundární buněčné stěny je posledním stádiem vývoje apoplastických bariér. Sekundární buněčná stěna obsahuje větší podíl celulózy a může být impregnovaná ligninem. Suberin se téměř nevyskytuje. Tato struktura má pravděpodobně mechanickou funkci, avšak toto nebylo zatím dostatečně experimentálně ověřeno (Enstone et al., 2002). Plazmodesmy nejsou opět touto strukturou ovlivněny, tudíž vstup iontů symplastem je možný (Robards and Clarkson, 1976).

Jakmile v kořenech dojde k diferenciaci apoplastických bariér, přijímané látky musí tyto vrstvy překonat symplastem. Symplast oproti apoplastu je transport cytosolem-kontinuem protoplastů z buňky do buňky, které jsou navzájem propojeny plasmodesmy. Pro vstup do symplastu je potřeba překonat cytoplazmatickou membránu, která právě funguje jako hlavní místo selekce látek. Nabité částice (tedy i ionty minerálních živin nebo nežádoucích toxických těžkých kovů) přes ni nemohou volně prostupovat. V cytoplazmatické membráně se proto vyskytují specifické transportní proteiny, díky kterým je zajištěn dostatečný příjem potřebných prvků a zároveň sníženo riziko příjmu v množství, které by bylo pro buňku toxické (Claus et al., 2013). Přítomnost těžkých kovů v rhizosféře zároveň urychluje diferenciaci apoplastických bariér kořene, což představuje jeden z mechanismů obrany proti toxicitě. Při expozici kořenů vůči těžkým kovům, jako je Zn nebo Cd dochází k rychlejší diferenciaci apoplastických bariér, a to ve smyslu diferenciace už v blízkosti kořenové špičky (Redjala et al., 2011; Stoláriková et al., 2012; Vaculík et al., 2012, 2009). Tato rychlejší diferenciace apoplastických bariér umožní rostlinám přijímat menší množství těžkých kovů, protože se zmenšuje oblast kořene, kde nejsou bariéry vyvinuty, a kde je možný volný průchod látek apoplastem až do středního válce. Stoláriková et al. (2012) pozorovali při experimentech na modelové rostlině *Populus x euramericana*, že zvýšená koncentrace Zn v médiu způsobí dřívější diferenciaci apoplastických bariér endodermis (Caspary ho proužky i suberinové lamely) v blízkosti kořenové špičky, což dále vedlo k poklesu koncentrace Zn směrem od primární kůry ke střednímu válci kořene. Redjala et al. (2011) porovnávali kořeny *Zea mays* kultivované v hydroponii a aeroponii. Podmínky aeroponie připomínají více podmínky půdy než hydroponie a apoplastické bariéry jsou v kořenech aeroponicky pěstovaných rostlin rychleji diferencovány. Podobně jako u předešlého experimentu, Caspary ho proužky a suberinové lamely byly diferencovány v menší vzdálenosti za kořenovou špičkou oproti kořenům z hydroponie. V kořenech z hydroponie byla

vyšší akumulace Cd než u kořenů z aeroponie, což potvrzuje funkci apoplastických bariér v obraně proti příjmu nežádoucích látek do rostlinných těl (Redjala et al., 2011).

4 Efektivní příjem esenciálních kovů kořeny

Jak již bylo zmíněno výše, řada kovů patří mezi esenciální mikroprvky, které rostlina nezbytně potřebuje pro svůj růst, a proto musí být v dostatečném množství z půdy přijímány i při jejich nízké dostupnosti. Podle aktuální koncentrace určitého prvku v prostředí dochází k aktivaci vysokoafinitních nebo nízkoafinitních transportérů – při nižších koncentracích fungují hlavně vysokoafinitní transportéry a při vyšších koncentracích naopak fungují především nízkoafinitní (Maathuis and Sanders, 1994). Neméně důležité jsou v tomto směru i transportéry podílející se na nakládání přijímaných látek do xylému, protože ovlivňují translokaci do nadzemní části rostliny (Olsen and Palmgren, 2014). V této kapitole bude představeno, jak jsou esenciální kovy kořenovým systémem efektivně přijímány.

4.1 Příjem železa

Železo (Fe) je jedním z nejdůležitějších esenciálních mikroprvků. Fe je důležitou součástí různých biochemických procesů, jako je buněčné dýchání, fotosyntéza, syntéza chlorofylu. Slouží jako kofaktor enzymů zodpovědných za přenos elektronů a kyslíku. Jedním z nejtypičtějších symptomů nedostatku Fe je chloróza. Naopak nadměrné množství Fe způsobuje tvorbu reaktivních forem kyslíku, které ničí buněčné struktury (Kobayashi et al., 2019; Kobayashi and Nishizawa, 2012).

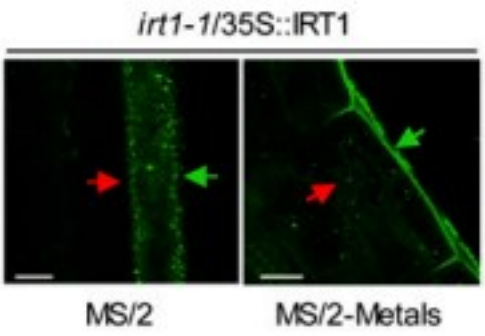
Fe se v půdách převážně vyskytuje ve formě Fe(III) komplexů , což má za následek jeho sníženou rozpustnost, a tak je pro rostliny obtížně dostupné (Kobayashi and Nishizawa, 2012). Rostliny si proto vytvořily dvě odlišné strategie, pomocí nichž takto nedostupné Fe získávají (Römheld and Marschner, 1986). Strategie I je typická pro dvouděložné rostliny a některé jednoděložné. Princip strategie I je ve vypouštění H^+ ATPázami (adenosintrifosfatázy) do okolí rhizosféry, což umožní mobilizaci Fe(III) chelátů. Dále pomocí reduktázy lokalizované na cytoplazmatické membráně rhizodermis dojde k odštěpení Fe z chelátu a jeho redukci na Fe^{2+}, který je poté transportéry přijímán (Römheld and Marschner, 1986). U *A. thalliana* redukci zajišťuje reduktáza FRO2 (ferric reduction oxidase-2) (Robinson et al., 1999). Fe^{2+} je poté pomocí transportéru IRT1 (iron-regulated transporter 1), který slouží jako hlavní přenašeč

železnatých iontů, transportován přes membránu do buňky rhizodermis (Vert et al., 2002). Strategie II využívají jednoděložné rostliny – z nich však jen trávy. Oproti strategii I tato strategie využívá sekreci fytosideroforů, jako je kyselina muginová a její deriváty. Kyselina muginová v rhizosféře tvoří komplex přímo s Fe(III) a celý komplex je pak rostlinou přijímán (Römheld and Marschner, 1986). Příjem tohoto komplexu je závislý na např. na transportéru ZmYS1 (yellow stripe 1), který byl popsán u *Zea mays* (von Wirén et al., 1994). FRO2, IRT1, sekrece fytosideroforů a ZmYS1 jsou indukovány při nedostatku Fe, což vede ke zvýšení jeho příjmu do rostliny (Robinson et al., 1999; Takagi et al., 1984; Vert et al., 2002; von Wirén et al., 1994). Navíc Takagi et al. (1984) při svých experimentech pozoroval, že *Hordeum vulgare* pěstovaný v Fe-deficientním médiu každé ráno v určitém čase sekretoval fytosiderofory, což naznačuje možný diurnální rytmus sekrece muginových kyselin a jejích derivátů. Tato diurnální sekrece i exprese *HvYS1* byla u ječmene pozorována i v práci Ueno et al. (2009) a popsána i u dalších trav např. u *Brachypodium* (Yordem et al., 2011). Diurnální sekrece fytosideroforů je zajímavý fenomén, který byl pozorován v několika experimentech, avšak není pro něj úplné vysvětlení. Možné vysvětlení poskytuje hypotéza autorů Wada et al. (1987), která říká, že díky pravidelné vysoké sekreci lze odolávat rozkladu bakteriemi. Fytosiderofory jsou totiž náchylné vůči rychlému rozkladu bakteriemi. Právě pomocí nadprodukce fytosideroforů ve specifickou dobu do rhizosféry mohou rostliny stále mobilizovat ionty kovů, bez rizika nízké mobilizace kvůli nedostatku fytosideroforů způsobené rychlým rozkladem bakterií. (Wada et al., 1987).

Nejdůležitějším kořenovým transportérem Fe^{2+} zapojeným ve strategii I je IRT1. IRT1 patří mezi transportéry rodiny ZIP (zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like proteins). V *A. thaliana* IRT1 funguje jako hlavní přenašeč pro příjem železa (Vert et al., 2002). Není však specifický pouze pro Fe. Dovnitř buněk transportuje též Zn, Cd, Mn a Co (Korshunova et al., 1999). Je lokalizovaný především v cytoplazmatické membráně buněk rhizodermis. Gen *IRT1* je exprimován hlavně v kořenech, a to v buňkách rhizodermis, včetně kořenových vlásků a v menším množství i v primární kůře kořene. Hladina exprese *IRT1* v kořenech je navýšena při nedostatku Fe (Connolly et al., 2002; Vert et al., 2002). Při dostatku Fe nebyla exprese *IRT1* v experimentech Vert et al. (2002) zaznamenána, což naznačuje, že se jedná o vysokoafinitní transportér, a proto je jeho aktivita při dostatku Fe utlumena, aby nebylo přijato takové množství Fe, které by mohlo způsobit toxicitu. Zajímavý fenomén pozorovaný u IRT1 je jeho polarizovaná lokalizace. Ta spočívá v přednostní lokalizaci IRT1 na

distální části (směrem k rhizosféře, jak ukazuje Obrázek 4) cytoplazmatické membrány buněk rhizodermis, aby rostlina zvýšila příjem Fe a dalších kovových iontů, při jejich nedostatku.

Jakmile se dostupnost iontů kovů zvýší, polarizovaná lokalizace mizí (Barberon et al., 2014). Barberon et al. (2014) usoudili, že Fe a další kovové ionty přijímané pomocí IRT1 do buněk rhizodermis jsou dále transportovány do buněk primární kůry pomocí jiných transportérů zprostředkovávajících přenos ven z buňky. Autoři to argumentují faktem, že rhizodermis a primární kůra nejsou dostatečně symplasticky propojené, a tak je polarizovaná lokalizace nezbytná pro správné fungování a směrování této transportní dráhy – náhodná lokalizace IRT1 by snižovala efektivitu průchodu iontů směrem dovnitř kořene. Barberon et al. (2014) také popsali protein FYVE1 (FYVE domain-containing protein 1; zkratka domény je odvozena z prvních písmen 4 proteinů, které tuto doménu obsahují – **F**ab1p, **Y**OTB, **V**ac1p a **E**EA1) (Gaullier et al., 1999), se kterým IRT1 interaguje a je s jeho pomocí recyklován z pozdního endozómu do cytoplazmatické membrány a také je díky němu IRT1 polárně lokalizován v její distální části. Protein FYVE1 obsahuje doménu FYVE, která interaguje s PI3P (fosfatidylinositol-3-fosfát), a pomocí této domény asociuje s endozomální membránou. Autoři popsali fenomén, kdy u jimi vytvořené linie *A. thalliana* s navýšenou expresí *FYVE1*, dochází k narušení polární lokalizace IRT1 tak, že je IRT1 rozmístěn různě po obvodu cytoplazmatické membrány, nejen na distální části. Po analýze množství Fe v pletivech rostlin divokého typu a *FYVE1* overexprimujících rostlin bylo odhaleno, že transformované rostliny obsahují menší množství Fe. Nepolarizované rozmístění tedy způsobuje méně efektivní příjem Fe. IRT1 má navíc kromě transportní funkce i funkci senzorickou a zároveň seberegulační (Dubeaux et al., 2018). IRT1 má v určitém úseku jeho aminokyselinové sekvence několik histidinů, na které se mohou navázat ionty kovů. Tímto navázáním je spuštěna fosforylace kinázou CIPK23 (calcineurin b-like interacting protein kinase 23), což dále vede k polyubikvitinaci lysinu 36, v sekvenci IRT1 pomocí IDF1 (irt1 degradation factor 1) E3 ligázy. Oba dva procesy jsou nutné pro přesun IRT1 do vakuoly a jeho degradaci. Pomocí sebe řízené degradace IRT1 předejde nadměrnému příjmu iontů kovů z rhizosféry (Dubeaux et al., 2018).



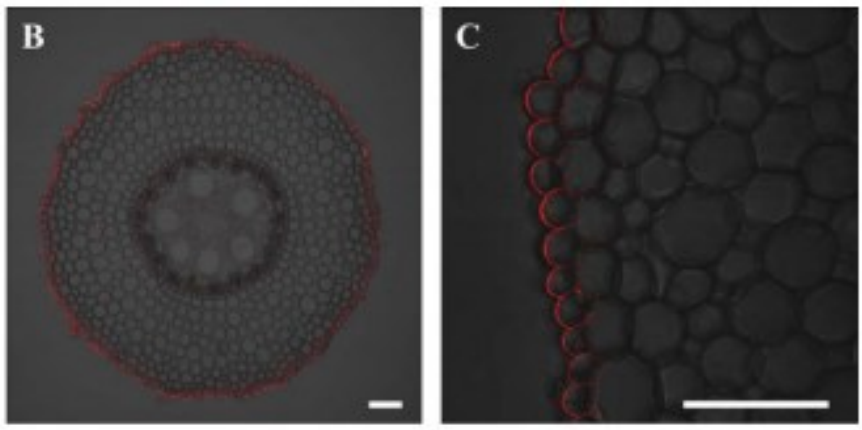
Obrázek 4 *Lokalizace proteinu* IRT1 *(iron-regulated transporter 1) v rhizodermis kořene při různé dostupnosti kovů. Na pravé fotografii lze vidět polární lokalizaci na distální straně cytoplazmatické membrány. Červená šipka ukazuje proximální membránu, zelená distální, orientovanou směrem k rhizosféře. Vizualizace pomocí imunolokalizace (zelená barva). MS/2 – 0,5x MS médium s Fe, MS/2-Metals – 0,5xMs médium bez Fe. (Převzato z Barberon et al. 2014)*

Mezi další transportní proteiny Fe se řadí u *A. thalliana* také IRT2. Kromě transportu Fe transportuje také Zn (Vert et al., 2001). Jedná se o blízký homolog IRT1. Jako u *IRT1*, je exprese *IRT2* indukována v buňkách rhizodermis při nedostatku Fe, avšak jen mírně oproti *IRT1* (Vert et al., 2001). Přesto však IRT2 zřejmě neplní funkci příjmu Fe z rhizosféry jako IRT1 (Vert et al., 2009). Oba proteiny však spolu úzce spolupracují a podílí se na homeostázi Fe. IRT2 se nachází uvnitř buněk na membránách váčků. Funkce IRT2 bohužel není úplně vysvětlena. Díky lokalizaci IRT2 se předpokládá, že funguje jako regulátor množství Fe v cytosolu. Při nadbytku Fe v cytosolu by mohlo být Fe pomocí IRT2 odebíráno do váčků, a tím tak zabráněno toxicitě (Vert et al., 2009). Do příjmu Fe je do jisté míry zapojen také transportér IRT3, který se nachází na cytoplazmatické membráně a umožňuje příjem Zn a Fe z rhizosféry (Lin et al., 2009). Rostliny s navýšenou expresí *IRT3* vykazují zvýšený obsah Fe v kořenech. *IRT3* je však exprimován ve většině buněk kořene i prýtu a jeho exprese není omezená na specifický buněčný typ, jak lze vidět v experimentech Lin et al. (2009). To naznačuje širší funkci IRT3 v rostlině.

Jak již bylo zmíněno výše, příjem Fe u trav funguje jinak než u dvouděložných rostlin. Namísto železnatých iontů přijímají železité ionty, které jsou chelatované fytosiderofory (kyselinou muginovou a jejími deriváty - MAs) (Takagi et al., 1984). MAs jsou do rhizosféry transportovány pomocí transportního proteinu OsTOM1 (*Oryza sativa* transport of mugineic acid 1) z proteinové superrodiny MFS (major facilitator superfamily) (Nozoye et al., 2011). Během podmínek, kdy byla dostupnost Fe v prostředí dostatečná, byla exprese

OsTOM1 detekována pouze v exodermis. Při nedostatku Fe byla exprese pozorována nejen ve všech buňkách kořene, ale i v listech a listových pochvách, tudíž se zřejmě podílí na sekreci 2-deoxymuginové kyseliny (DMA) i do xylému a floému. OsTOM1 se nachází na cytoplazmatické membráně (Nozoye et al., 2011). Jeho blízký homolog OsTOM2 (*Oryza sativa* transport of mugineic acid 2) je exprimován v xylému kořenů, prýtu a také semenech. V kořeni byla exprese *OsTOM2* vysoká při Fe deficientních podmínkách, zatímco v prýtu a semenech v Fe deficientních i Fe dostatečných podmínkách. Díky těmto charakteristikám exprese lze usoudit, že funkcí OsTOM2 je zajištění mobilizace Fe v xylému/floému a tak umožnit translokaci uvnitř rostlinného těla (Nozoye et al., 2015).

Tyto chelatované komplexy jsou poté přijímány přes transportér YS1 (Curie et al., 2001) a dalšími z rodiny YSL (yellow stripe-like), jak již bylo dříve zmíněno. YS1 je transportér *Zea mays i Hordeum vulgare* (Ueno et al., 2009). Exprese *ZmYS1* je zvýšena jak v kořenech, tak prýtu při nedostatku Fe, což značí, že se podílí i na transportu uvnitř. V kořenech byla exprese nalezena v rhizodermis laterálních kořenů i adventivních kořenů. ZmYS1 je lokalizován na cytoplazmatické membráně a zároveň byla pozorována polarizovaná lokalizace na distální části cytoplazmatické membrány (viz Obrázek 5) (Ueno et al., 2009). *ZmYS1* kóduje přenašeč, který zprostředkovává přenos pomocí kotransportu s protonem (Schaaf et al., 2004). V *Hordeum vulgare* je exprese *HvYS1* zvýšena také při nedostatku Fe, avšak jen v rhizodermis (Ueno et al., 2009). U *Oryza sativa* se na příjmu chelatovaného Fe^{3+} z rhizosféry podílí OsYSL15. Je lokalizován na cytoplazmatické membráně a transportuje komplex Fe^{3+} s DMA. *OsYSL15* je však exprimován také v prýtu a vyvíjejících se semenech, a tak lze předpokládat funkci OsYSL15 také v translokaci (Inoue et al., 2009). Zajímavé je, že *Oryza sativa*, kromě příjmu Fe pomocí fytosideroforů, přijímá i železnaté ionty. Má totiž transportní protein OsIRT1, který je homolog AtIRT1 a přijímá též železnaté ionty. To, že *Oryza sativa* využívá částečně strategii I je pravděpodobně díky adaptaci na podmínky prostředí, ve kterých se pěstuje. Rýžoviště mají totiž většinu času redukční podmínky, tudíž Fe se zde vyskytuje ve formě rozpustného železnatého iontu (Ishimaru et al., 2006).



Obrázek 5 *Lokalizace proteinu* YS1 *(yellow stripe 1) na příčném řezu adventivním kořenem Zea mays*, *lze vidět polarizovanou lokalizaci v buňkách rhizodermis. Vizualizace pomocí imunolokalizace (červená barva). (Převzato z Ueno et al.* (2009)

Využití strategie I však u trav není vázáno na mokřadní druhy. Recentně bylo popsáno, že se u *Zea mays* příjmu Fe, ale i Zn účastní transportér ZmIRT2 (Li et al., 2022). Exprese *ZmIRT2* je navýšena při nedostatku Fe a Zn a je lokalizována v kořenech i prýtu. Lokalizace transportéru byla objevena na cytoplazmatické membráně a membráně endoplazmatického retikula. Umělým navýšením exprese *ZmIRT2* byla zvýšena koncentrace Fe a Zn v těle kukuřice, a tak lze usoudit, že napomáhá v příjmu Fe a Zn. Zároveň byla u rostlin s navýšenou expresí *ZmIRT2* pozorována zvýšená exprese *ZmIRT1* v kořenech, avšak je nutno podotknout, že *ZmIRT1* je za normálních podmínek exprimován jen v prýtu, a až za podmínek nedostatku Fe je exprimován v kořenech (Li et al., 2022). Tento fenomén je podobný jako u *AtIRT2* a *AtIRT1* v práci Vert et al. (2009), a tak lze předpokládat podobnou funkci ZmIRT2 jako AtIRT2, a to v odebírání iontů kovů z cytosolu do kompartmentů. Fenotyp rostlin s navýšenou expresí *ZmIRT2* nebyl odlišný od rostlin divokého typu (Li et al., 2022). Lze tedy vidět, že trávy strategie I a II do určité míry kombinují.

Pro zvýšení příjmu Fe rostlinami je nutné zvýšit jeho rozpustnost. *Oryza sativa* využívá sekreci fenolických látek, jako je kyselina protokatechová (PCA) a kyselina kávová (Ishimaru et al., 2011). Tyto fenolické látky totiž způsobují redukci Fe^{3+} iontů na Fe^{2+} ionty a zároveň tím, že formují s Fe^{2+} komplexy, zabraňují jejich samovolné oxidaci na Fe^{3+}. Tímto způsobem zvyšují rozpustnost Fe (Yoshino and Murakami, 1998). Sekreci těchto fenolických látek zajišťují transportní proteiny OsPEZ1 a OsPEZ2 (phenolic efflux zero 1,2) (Bashir et al., 2011; Ishimaru

et al., 2011). OsPEZ2 je homolog OsPEZ1. Lokalizuje se na cytoplazmatické membráně buněk středního válce, ale i buněk rhizodermis a středního válce. Díky těmto lokalizacím lze říct, že OsPEZ2 pravděpodobně zvyšuje rozpustnost Fe jak v xylému, tak v rhizosféře (Bashir et al., 2011). OsPEZ1 se naopak nachází hlavně na cytoplazmatické membráně buněk středního válce, kde transportuje PCA do xylému (Ishimaru et al., 2011). Ishimaru et al. (2011) vytvořili *ospez1* mutantní rostlinu (s vyřazenou funkcí OsPEZ1), kde pozorovali, že koncentrace Fe v kořenech se zvýšila, avšak koncentrace Fe v xylému se snížila. Přítomnost PCA v xylému zvyšuje rozpustnost Fe, a tak je pravděpodobně důležitý pro šíření Fe dále po těle rostliny (Ishimaru et al., 2011).

Dále po příjmu Fe do rostliny následuje jeho translokace. Jak bylo již zmíněno, Fe^{3+} je u trav přijímán již navázaný na fytosiderofor (Takagi et al., 1984). Po příjmu Fe^{2+} dvouděložnými rostlinami je potřeba ho také chelatovat, protože ve formě volného kationu Fe^{2+} je pro rostlinu rizikový, díky své reaktivitě způsobuje např. oxidativní stres (Von Wiren et al., 1999). Kromě MAs se pro chelataci dále využívají kyselina citronová a nikotianamin (Hell and Stephan, 2003). Pro nakládání chelátů s citrátem do xylému se v *A. thaliana* využívá transportní protein FRD3 (ferric reductase defective 3) (Durrett et al., 2007). Tento protein se nachází na cytoplazmatické membráně pericyklu a buněk středního válce (Green and Rogers, 2004). Stejnou funkci v *Oryza sativa* zajišťuje OsFRDL1 (ferric reductase defective-like 1) (Yokosho et al., 2009). Lokalizace tohoto proteinu je na cytoplazmatické membráně buněk pericyklu a průvodních buněk floému (Inoue et al., 2004). YSL proteiny se také pravděpodobně podílí na nakládání chelátů do xylému. Inoue et al. (2009) ve svých experimentech odhalili místo exprese *OsYSL5, -6, -7, -12, -14, a -17* v buňkách středního válce, a tak předpokládají jejich funkci v nakládání/vykládaní DMA nebo NA chelatovaných iontů Fe^{2+}, případně dalších kovů do/z xylému.

Z výše uvedených informací lze shrnout, že pro efektivní příjem daných esenciálních prvků jako je Fe, je potřeba specifických transportních proteinů. Je nutné vypíchnout schopnost rostlin zvýšit hladinu exprese genů těchto transportérů, pro zvýšení příjmu Fe z rhizosféry během podmínek, kdy je tento prvek deficientní. Dalším důležitým mechanismem je polarizovaná lokalizace transportérů, rovněž pro zvýšení příjmu při deficientních podmínkách. Tento mechanismus je však napříč rostlinnými druhy a transportními proteiny specifický a nejedná se o častý fenomén. Nakonec nelze opomenout schopnost rostlin utlumit

příjem Fe díky utlumení exprese příslušných genů nebo přemístění transportérů do dalších kompartmentů buňky, aby při zvýšené dostupnosti v prostředí nedocházelo k nadměrnému příjmu Fe vedoucí k toxicitě.

4.2 Příjem zinku

Dalším esenciálním těžkým kovem je zinek. Tento kov má v rostlině řadu funkcí a je složkou více než 300 enzymů, kde plní katalytickou funkci. Mezi tyto enzymy patří například alkalická fosfatáza, alkohol dehydrogenáza, Cu-Zn superoxid dismutáza a karbonanhydráza. Další důležitou funkcí Zn je jeho strukturní role v proteinech. Zn zároveň nemá redoxní aktivitu, tudíž je v buňkách součástí transkripčních faktorů a dalších enzymů obsluhujících metabolismus nukleových kyselin. Motivy proteinů, které regulují expresi genů, jsou stabilizovány Zn. Mezi takové motivy se řadí zinc finger a proteinové domény RING (Really Interesting New Gene) finger (Broadley et al., 2007; Grotz et al., 1998). Redoxní aktivita iontů kovů může totiž spustit radikálové reakce, a tak poškodit nukleové kyseliny (Ishimaru et al., 2007).

Mezi fenomény deficience Zn v rostlinném těle patří nižší vzrůst, u užitkových plodin nižší výnos, chloróza a inhibice fotosyntézy (Ramesh et al., 2004; Sinclair and Krämer, 2012). Nedostatek zinku má také za následek nižší produkci Cu-Zn superoxid dismutázy, což zvýší oxidativní stres v rostlině (Sinclair and Krämer, 2012). Naopak nadbytek Zn způsobuje cytotoxické reakce (Ishimaru et al., 2005). Proces toxicity není ještě přesně popsán, avšak zinek se může vázat k jiným vnitrobuněčným ligandům a případně i kompetovat s jinými kovovými ionty o aktivní místa enzymů nebo transportérů (Ishimaru et al., 2007). Vzhledem k esenciálním funkcím zinku a nutnosti zajistit jeho dostatečný příjem, ale zároveň i rizikům spojeným s jeho toxicitou, je jeho příjem kořeny i transport uvnitř rostlinného těla precizně kontrolován.

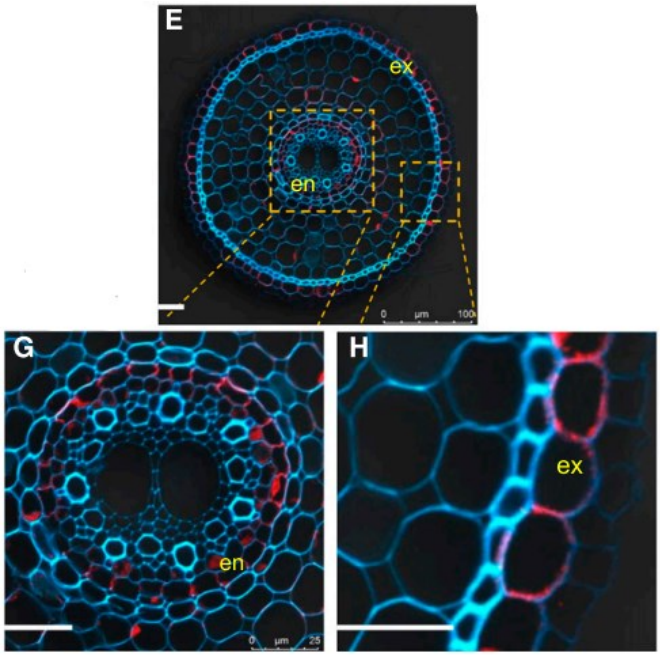
Zinek se vyskytuje v půdě v různých formách, avšak rostlinami je přijímán ve formě divalentního iontu – tzn. jako Zn^{2+} (Grotz et al., 1998). Transport zinku je do značné míry spojen s transportem železa. Je to díky tomu, že transport těchto iontů probíhá v jejich divalentních formách, což jim dává značnou strukturní podobnost. Mnoho transportních proteinů přenáší oba dva kovové ionty a zároveň je jejich aktivita podobně regulována na transkripční úrovni, dochází ke stimulaci exprese genů pro tyto transportéry při deficiencích železa i zinku (Sinclair

and Krämer, 2012). Zinek je přijímán transportními proteiny z rodiny ZIP, podobně jako Fe^{2+}. Mezi tyto proteiny se řadí např. ZIP1, ZIP2, ZIP3, ZIP4, IRT1, IRT2 a další. Několik těchto transportních proteinů v rostlinách transportuje Zn, avšak ne výhradně. Většina je nespecifických a transportují i jiné ionty kovů (Olsen and Palmgren, 2014).

Transportéry zprostředkovávající přenos Zn jsou v *A. thaliana* například již zmíněné proteiny IRT1 a IRT2. Exprese *IRT1* i *IRT2* v kořenech je sice zvýšena při nedostatku Fe, ale oba transportéry zprostředkovávají transport železa i zinku – hlavně tedy protein IRT1. IRT2 také, ale v menší míře (Henriques et al., 2002). IRT1 se nachází na cytoplazmatické membráně buněk rhizodermis, zatímco IRT2 na membránách váčků (Vert et al., 2009), i když Vert et al. (2001) nejprve popsali lokalizaci na cytoplazmatické membráně. IRT1 není specifický pouze pro Fe a Zn. Transportuje též další ionty kovů jako jsou kobalt, mangan a kadmium (Korshunova et al., 1999). Nicméně *irt1* mutantní rostliny, které mají IRT1 nefunkční, vykazují nižší obsah zinku než rostliny divokého typu (Henriques et al., 2002). Navíc exprese genu *IRT2* je zvýšená v *irt1* mutantních rostlinách, což může značit, že se jedná o jakýsi kompenzační mechanismus v reakci na snížené množství Fe způsobené právě ztrátou funkce IRT1 (Henriques et al., 2002). Nicméně výsledky novějších výzkumů se s touto hypotézou moc neshodují. Přesná funkce IRT2 sice není ještě zcela vysvětlena, avšak již dříve zmíněná práce Vert et al. (2009) přisuzuje IRT2 funkci regulátoru množství Fe v cytosolu. Už jen jeho popsaná lokalizace na membráně endozomálních váčků, a ne na cytoplazmatické membráně buněk rhizodermis, celkově svádí k závěru, že jeho funkcí pravděpodobně není příjem Fe z rhizosféry.

V *A. thalliana* existují i transportéry, jejichž zvýšená hladina exprese závisí přímo na nedostatku Zn. Mezi takové se řadí například IRT3, ZIP1 A ZIP4 (Grotz et al., 1998; Lin et al., 2009). IRT3 se nachází na cytoplazmatické membráně a umožňuje příjem Zn a Fe z rhizosféry (Lin et al., 2009). *IRT3* je však exprimován v celé rostlině, naznačuje účast v distribuci obou kovů v rostlině, jak popisuje Lin et al. (2009). ZIP1 zprostředkovává transport Zn a Mn. Oproti IRT proteinům však nehraje velkou roli v příjmu Zn z rhizosféry. Exprese *ZIP1* je zvýšena při nedostatku Zn především v buňkách středního válce kořene, ale expresi lze najít i v prýtu. Pomocí značení GFP byla lokalizace ZIP1 objevena na tonoplastu, kde pravděpodobně hraje roli v remobilizaci iontů kovů z vakuoly do cytosolu (Milner et al., 2013). *ZIP4* je exprimován nejen v kořenech, ale i v prýtu. Transportér ZIP4 je však zodpovědný za transport zinku v plastidech (Grotz et al., 1998).

V *Oryza sativa* je funkce OsZIP4 oproti AtZIP4 trochu odlišná. OsZIP4 je také zodpovědný za transport zinku. Jako předešlé ZIP transportéry je *OsZIP4* exprimován při nízkých koncentracích zinku. Je exprimován v kořenech i prýtu. V listech je přítomen ve všech mezofylových buňkách a buňkách cévních svazků v podmínkách nedostatku Zn. Ve stonku a kořeni byla exprese nejvíce zaznamenána v buňkách floému. Podílí se tedy hlavně na translokaci uvnitř rostlinného těla (Ishimaru et al., 2005). Huang et al. (2020) objevili v rostlině *Oryza sativa* protein OsZIP9 (zinc-regulated transporter 9), který zprostředkovává transport Zn z okolní rhizosféry. Autoři se domnívají, že tento transportér přenáší výhradně Zn. OsZIP9 se nachází na cytoplazmatické membráně. Exprese *OsZIP9* je zvýšená při nedostatku Zn a zároveň je lokalizovaná v exodermis a endodermis (viz Obrázek 6 dole). Pravděpodobně se jedná o vysokoafinitní transportér, protože snížení exprese genu *OsZIP9*, nebo jeho úplné vyřazení z funkce, způsobí při kultivaci rostlin na médiích s nízkým množstvím Zn jeho snížený příjem (Huang et al., 2020).



Obrázek 6 *Protein* ZIP9 *(zinc-regulated transporter 9) v kořeni Oryza sativa. Vizualizace pomocí imunolokalizace (modrá barva = autofluorescence buněčné stěny, červená barva = OsZIP9). Protein je lokalizován na cytoplazmatické membráně buněk endodermis (en) a exodermis (ex). (Převzato z Huang et al.* (2020)

Jakmile se koncentrace zinku v prostředí navýší, příjem zinku vysokoafinitními transportéry je utlumen. Ramesh et al. (2004) prováděli experimenty na modelovém

organismu *Hordeum vulgare*, kde sledovali rozdíly v příjmu zinku u rostlin divokého typu a u rostlin, ve kterých byl overexprimován gen *AtZIP1* z *A. thaliana.* Všimli si, že při přesunu rostlin z média chudého na zinek do média, kde je zinku dostatečné množství, došlo v rostlinách overexprimujících *AtZIP1* k masivnímu snížení příjmu zinku. Ramesh et al. (2004) spekulují, že je toho docíleno díky posttranslačním modifikacím ZIP1 proteinu. Dalším příkladem schopnosti rostlin potlačit nadměrný příjem Zn při jeho vysoké dostupnosti v prostředí je komparativní studie Becher et al. (2004) modelového nehyperakumulujícího druhu *A. thaliana* a příbuzného hyperakumulujícího druhu *Arabidopsis halleri*. Tato studie odhalila rozdílnou expresi genů *ZIP1* a *ZIP4*. Při vysokých koncentracích Zn došlo u *A. thaliana* ke snížení exprese genů *ZIP1* a *ZIP4* v kořeni i v prýtu, zatímco u *A. halleri* ke snížení exprese ortologních genů došlo v kořenech jen minimálně a v prýtu vůbec, přestože koncentrace Zn v pletivech prýtu byla až 4,7krát vyšší než v pletivech *A. thaliana*. Důvodem proč v *A. halleri* nedochází ke snížení exprese těchto genů je pravděpodobně kvůli vysoce efektivní sekvestraci do vakuol či chelataci zinečnatých iontů v cytosolu, což stále udržuje celkovou optimální koncentraci Zn, a tak není třeba snižovat expresi (Becher et al., 2004).

Jednoděložnými rostlinami je zinek z rhizosféry přijímán nejen ve formě Zn^{2+}, ale v menší míře i ve formě komplexů Zn(II) s některými fytosiderofory, jako je kyselina muginová a její deriváty - MAs (Suzuki et al., 2008). Příjem s fytosiderofory je sice určen hlavně pro Fe, jak bylo zmíněno výše, ale komplexy Zn a fytosiderofor jsou přijímány taktéž, jak bylo dokumentováno např. u *Zea mays* (Schaaf et al., 2004; von Wirén et al., 1996). Komplexy Fe i Zn s MAs jsou kořeny *Zea mays* přijímány přenašečem ZmYS1 (von Wirén et al., 1996). Zvýšená exprese *ZmYS1* byla zaznamenána zatím jen při deficienci Fe, nicméně sekrece fytosideroforů je zvýšena při nedostatku Fe i při nedostatku Zn, což bylo popsáno např. u *Triticum aestivum* (Zhang et al., 1989) nebo i u *H. vulgare* (Römheld and Marschner, 1990; Suzuki et al., 2008). Opět byl pozorován diurnální rytmus při sekreci fytosideroforů při nedostatku Zn, jako u nedostatku Fe (Zhang et al., 1991).

Dvouděložné rostliny nevylučují do rhizosféry fytosiderofory, ale využívají pro chelataci Zn^{2+} v cytosolu strukturně podobný nikotianamin (NA). Formují se komplexy chelatovaný kov-NA. Primární cíl NA je Fe^{2+}, avšak strukturní podobnost Zn^{2+} umožňuje také jeho chelataci. Exprese genů *NAS* (nicotianamine synthase), které kódují nikotinanamin syntázu a vytváří NA v *Arabidopsis thaliana*, je také zvýšena při nedostatku Fe, Zn, ale i při nedostatku Cu (Wintz et

al., 2003). V *A. thalliana* se využívá YSL transportních proteinů, u kterých se předpokládá, že transportují komplexy kovu a NA (Schaaf et al., 2004).

Po příjmu z Zn z rhizosféry je potřeba transportních proteinů, které zajistí nakládání Zn do xylému, což umožní translokaci do nadzemní části rostliny. V *A. thaliana* se mezi takové proteiny řadí hlavně HMA2 a HMA4, které patří do rodiny ATPpáz těžkých kovů HMA (heavy metal ATPases). Jedná se o ATPázy P-typu (Hussain et al., 2004; Verret et al., 2004), které zajišťují aktivní transport za spotřeby energie získané díky hydrolýze ATP. Aktivní transport se využívá tehdy, jakmile je potřeba transportovat těžký kov proti směru elektrochemického gradientu (Morsomme and Boutry, 2000). Exprese genu *HMA4* v *A. thaliana* byla nalezena nejvíce v prýtu, kořeni a květech. Verret et al. (2004) v kořenech objevili, že hlavní místo exprese *HMA4* je v buňkách středního válce, což právě potvrzuje jeho hlavní funkci, a to nakládání Zn do xylému (Verret et al., 2004). Gen *AhHMA4* byl původně objeven v rostlině *A. halleri*, ve které je však hladina exprese tohoto genu zvýšena. Takto vysoká exprese *HMA4* je charakteristická pro fenotyp některých hyperakumulátorů (Hanikenne et al., 2008). Genu *HMA2* je exprimován opět především v cévních svazcích (Hussain et al., 2004). Pro obě HMA platí, že se nacházejí na cytoplazmatické membráně (Hussain et al., 2004; Verret et al., 2004).

Dalším příkladem transportních proteinů, které se podílí na nakládání Zn do xylému, je např. OsZIP7 identifikovaný v *O. sativa*. Nachází se na plazmatické membráně a jeho exprese byla zaznamenána v parenchymu cévních svazků kořenů a nodů (Tan et al., 2019).

Jak již bylo dříve řečeno, efektivní příjem je umožněn díky specifickým transportním proteinům, mechanismům zvýšení a útlumu příjmu Zn. Z dosavadních výsledků pro příjem Zn nebyla zatím popsána polarizovaná lokalizace. Práce popisující tento fenomén v souvislosti se zvýšením příjmu zinku jsem během zpracování bakalářské práce nenalezl.

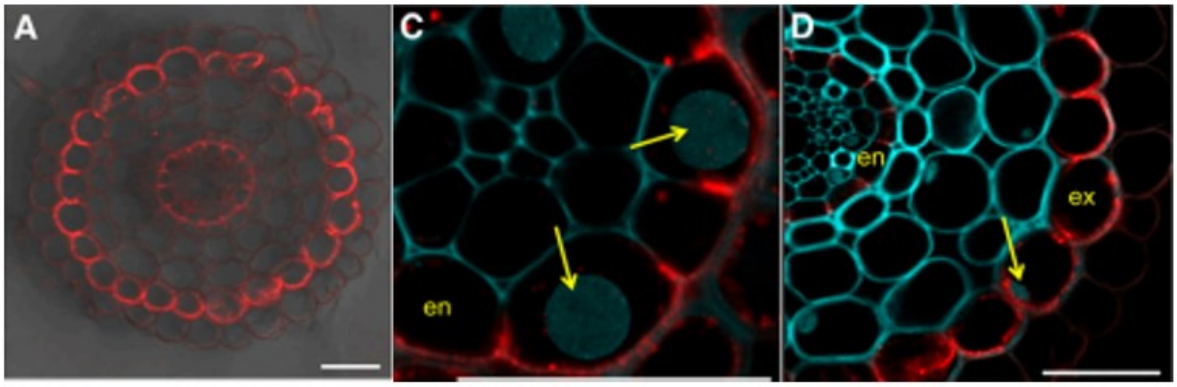
4.3 Příjem dalších esenciálních kovů

V této kapitole bude stručně představen příjem dalších esenciálních mikroprvků ze skupiny těžkých kovů s důrazem na transportéry těchto kovů v kořenech rostlin, jejich lokalizaci a specificitu. Prvním z nich je mangan. Mangan je esenciálním mikroprvkem rostlin, tvořící součást metaloenzymů, jako je např. Mn^{2+}-dependentní superoxid dismutáza. Dále se také vyskytuje ve fotosystému II jako součást komplexu vyvíjející kyslík. V půdách se vyskytuje

v mnoha formách, avšak rostlinami je přijímán ve formě Mn^{2+} (Cailliatte et al., 2010; Schmidt and Husted, 2019).

Příjem Mn a dalších kovových iontů, zprostředkovává u *A. thaliana* již několikrát zmíněný transportní protein IRT1 (Korshunova et al., 1999). V *O. sativa* je však podíl OsIRT1 na příjmu Mn z rhizosféry zanedbatelný (Sasaki et al., 2012). Při nedostatku Mn byla exprese *OsIRT1* zvýšena jen málo. Výrazně zvýšená exprese *OsIRT1* byla překvapivě detekována v podmínkách, kdy množství Mn bylo dostatečné (Sasaki et al., 2012). V *H. vulgare* byla modulace exprese stejná jako u *O. sativa* (Pedas et al., 2008).

V *A. thalliana* byl popsán transportní protein pro Mn, Nramp1. Patří do rodiny proteinů NRAMP (natural resistance-associated macrophage protein). Jedná se o vysokoafinitní transportér lokalizovaný na cytoplazmatické membráně většiny buněk kořene. Tento transportní protein však zprostředkovává i přenos Cd, Fe, Co, dokonce i Zn, avšak méně efektivně. Exprese *Nramp1* je zvýšena při nedostatku Mn, ale i nedostatku Fe (Cailliatte et al., 2010). U *O. sativa* je důležitým vysokoafinitním transportérem Mn protein Nramp5 (Sasaki et al., 2012). Oproti AtNramp1 se liší několika vlastnostmi. *OsNramp5* je exprimován konstantně, bez ohledu na dostupnost Mn. Další rozdíl spočívá v jeho lokalizaci v buňkách. Nachází se sice na cytoplazmatické membráně exodermis a endodermis, avšak je polárně lokalizován, jako již dříve zmíněné proteiny IRT1 a ZmYS1 (viz Obrázek 7). Podobně jako u AtNramp1, OsNramp5 transportuje i Cd. Mutantní rostliny *osnramp1* totiž vykazují nižší koncentraci Cd v pletivech. Takové vyřazení z funkce však také způsobí snížený příjem Mn, což lze vidět na fenotypu mutantní rostliny – nižší vzrůst a výnos (Sasaki et al., 2012).



Obrázek 7 *Polarizovaná lokalizace proteinu* Nramp1 *(natural resistance-associated macrophage protein 1) v kořenech Oryza sativa. Nachází se v buňkách endodermis (en) i exodermis (ex) na distální části cytoplazmatické membrány. Vizualizace proteinu pomocí*

imunolokalizace (červená barva), autofluorescence buněčné stěny (modrá barva). Šipky poukazují na jádra vizualizovaná pomocí DAPI (4',6-diamidin-2-fenylindol). (Převzato z Sasaki et al. (2012)

Dalším esenciálním kovem je měď (Cu). Pro příjem mědi se využívá transportního proteinu COPT1, který patří do proteinové rodiny CTR (copper transporter proteins). COPT transportéry je měď přijímána ve formě Cu^{+} (Printz et al., 2016). Exprese *COPT1* v *A. thaliana* je výrazná v kořenové špičce, ale také ve svěracích buňkách průduchů a generativních částech prýtu. Při nedostatku Cu dochází ke zvýšení hladiny exprese tohoto genu. COPT1 se nachází v rhizodermis a ve středním válci kořene, pravděpodobně na cytoplazmatické membráně. (Sancenón et al., 2004). Dalším transportérem Cu je COPT2. Je lokalizován na cytoplazmatické membráně. *COPT2* je exprimován v kořenových vláscích a postranních kořenech, a to nejčastěji v buňkách rhizodermis. Jeho exprese je zvýšena při nedostatku Cu, ale i Fe (exprese *COPT1* je při nedostatku Fe utlumena) (Perea-García et al., 2013).

Pro příjem molybdenu (Mo) existuje specifický přenašeč MOT1 (molybdenum transporter type 1) (Tomatsu et al., 2007). Patří do superrodiny proteinů ABC (ATP-binding cassette). Tento transportér přenáší molybden ve formě molybdenanu – $(MoO_4)^{2-}$. Jedná se o vysokoafinitní transportér lokalizovaný na plazmatické membráně a membránách váčků. K expresi *MOT1* v *A. thaliana* dochází v kořenech i prýtu. Jeho hladina exprese byla překvapivě navýšena při dostatku Mo a snížena při nedostatku. V kořeni byla jeho exprese zaznamenána v buňkách endodermis a buňkách středního válce. Tento transportní protein se pravděpodobně podílí na příjmu Mo z rhizosféry a asi i na translokaci v rostlinném těle (Minner-Meinen et al., 2022; Tomatsu et al., 2007). Příbuzný transportér MOT2 je lokalizován na tonoplastu (Gasber et al., 2011).

Nikl je také přijímán pomocí transportéru IRT1. Při nedostatku Fe, kdy se zvyšuje exprese *IRT1*, lze v *A. thaliana* pozorovat akumulaci niklu v rostlinných pletivech (Nishida et al., 2011).

5 Kořeny a příjem toxických kovů

Pro příjem esenciálních prvků mají kořeny mnoho mechanismů. Základem příjmu těchto esenciálních kovů je buď vstup dovnitř kořenů přes apoplast (dokud nejsou vytvořeny

modifikace apoplastických bariér), symplast, nebo kombinovaně. V případě transportu symplastem je potřeba přenašečů, ač už specifických, nebo nespecifických. Neexistence specifických transportérů pro toxické těžké kovy a modifikace apoplastických bariér by měly efektivně bránit akumulaci těchto kovů v rostlinách. Přesto do rostliny do jisté míry vstupují díky strukturní podobnosti s ionty esenciálních živin a pro tento vstup využívají jejich transportérů. V této kapitole budou rozebrány mechanismy, jakými se toxické těžké kovy (As, Cd, Pb, Hg, Cr) do rostlinných těl dostávají. Na příkladu zlata (Au) a stříbra (Ag) bude také popsáno, do jaké míry rostliny dokáží přijímat ušlechtilé kovy. Kromě toho je důležité zmínit, že i některé další prvky mohou v nadbytku negativně působit na rostlinu. Především selen (Se) a hliník (Al) jsou významné polutanty půd a byla provedena řada výzkumů zaměřených na jejich příjem a detoxifikaci, avšak díky jejich hustotě nejsou považovány za těžké kovy, a tudíž nebyly do této kapitoly zařazeny.

5.1 Příjem arsenu

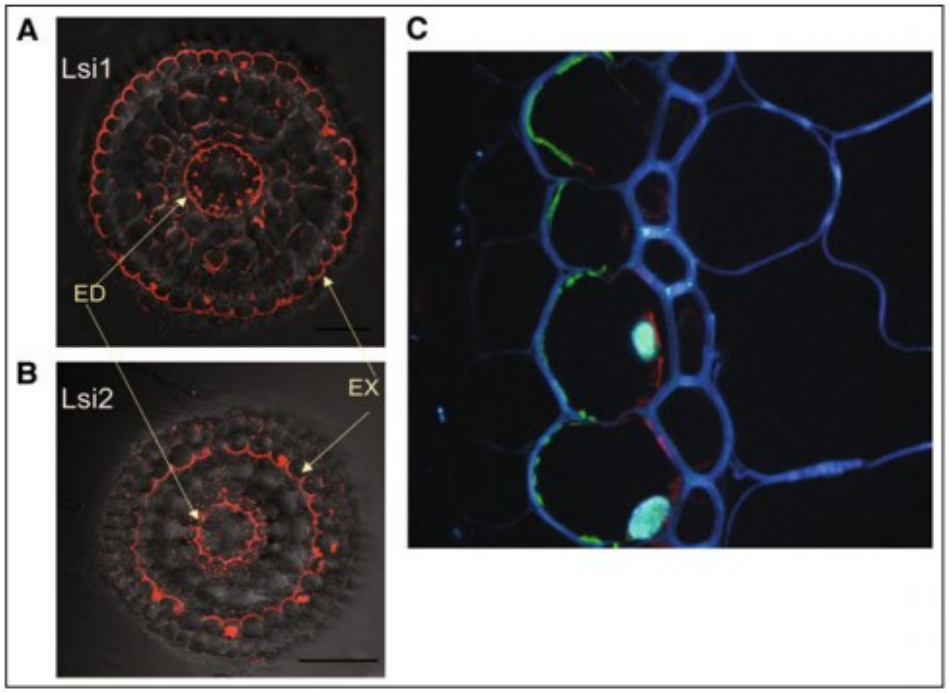
Arsen je toxický polokov, karcinogen a významný polutant pitných vod i zemědělských plodin, zejména rýže, hlavně v oblastech jižní a jihovýchodní Asie (Kile et al., 2007; Mazumder, 2008; Nordstrom, 2002; Sinha and Bhattacharyya, 2015). Podle podmínek prostředí se vyskytuje v rhizosféře v různých formách. V závislosti na jeho formě je rostlinou přijímán různými mechanismy.

As^{3+} je přijímán přes křemíkové transportéry z podrodiny akvaporinů NIPs (nodulin 26-like intrinsic proteins). Jde především o kanál OsLsi1 (low silicon 1), který u *O. sativa* zprostředkovává vstup kyseliny křemičité do buňky a umožňuje akumulaci křemíku v rostlině (Ma et al., 2006). OsLsi1 se nachází v distální části cytoplazmatické membrány (viz Obrázek 8) buněk endodermis a exodermis a kromě příjmu křemíku je schopen transportovat i As^{3+}, dovnitř buňky i směrem ven, tudíž má funkci v příjmu As^{3+} i jeho detoxifikaci (Ma et al., 2008; Zhao et al., 2010). Transport Si a As zprostředkovává u *O. sativa* také protein OsLsi2 (low silicon 2). Nachází se též na cytoplazmatické membráně endodermis a exodermis, avšak na jejich proximální straně (viz Obrázek 8), a tak napomáhá posunu Si i As směrem do středního válce, a tedy i k nakládání do xylému (Ma et al., 2008). Je zajímavé, že tato polarizovaná lokalizace OsLsi1 a OsLsi2, která byla popsána u rýže, není zřejmě typická pro všechny rostliny. U kukuřice

a ječmene totiž nejsou ortology Lsi transportérů takto striktně polarizovaně lokalizovány, což zřejmě souvisí s mírou akumulace Si v jednotlivých druzích (Ma, 2010).

Příjem As^{5+} v souvislosti s příjmem fosforu (P) byl popsán v experimentech Ullrich-Eberius et al. (1989) na modelové rostlině *Lemna gibba*. Autoři ve svých experimentech pozorovali, že As^{5+} je přijímán přes fosfátové přenašeče, které realizují symport fosfátu s protony. Přidání As^{5+} do média s nedostatkem fosfátu způsobilo podobné hodnoty depolarizace membrány, jako po přidání fosfátu, z čehož lze usoudit, že As^{5+} byl přenesen přes membránu. Tyto výsledky také podporuje strukturní podobnost arsenátu a fosfátu. Řízené navýšení exprese genů kódujících fosfátové transportéry PHT (phosphate transporter) způsobí zvýšený příjem arsenátu, jak lze vidět v experimentech Le Blanc et al. (2013), kde autoři navyšovali expresi genů *AtPHT1* a *AtPHT7* v *A. thaliana*. Naopak na zvýšenou koncentraci As v rhizosféře reagují rostliny utlumením exprese fosfátových transportérů, což bylo dokumentováno např. v *O. sativa* (Begum et al., 2016).

Rostliny mohou také přijímat methylované arsenové kyseliny. Patří mezi ně kyselina methylarsonová a k. dimethylarsinová. Rostliny je sice přijímají méně ochotně než As^{5+} a As^{3+}, nicméně methylované arsenové kyseliny vykazují efektivnější translokaci v rostlinném těle (Raab et al., 2007). Pomocí exprese *Lsi1* z *O. sativa* v oocytech bylo zjištěno, že rýžový Lsi1 zprostředkovává příjem k. methylarsonové a v menší míře i k. dimethylarsinové (Li et al., 2009).



Obrázek 8 *Imunolokalizace transportérů* OsLsi1 *(Oryza sativa low silicon 1) a* OsLsi2 *(Oryza sativa low silicon 2). A)* OsLsi1 *lokalizovaný na distální straně cytoplazmatické membrány endodermis (en) a exodermis (ex). B)* OsLsi2 *lokalizovaný na proximální straně cytoplazmatické membrány endodermis a exodermis. C) Vizualizace* OsLsi1 *(zelená barva),* OsLsi2 *(červená barva). Autofluorescence buněčné stěny v modré barvě. (Převzato z Ma* (2010)

5.2 Příjem kadmia

Kadmium (Cd) je vysoce toxický a karcinogenní kov, který se akumuluje v tělech organismů desítky let. Do těl organismů se dostává ze znečištěných vod a potravy. Mezi potraviny, které mohou obsahovat nezanedbatelné množství Cd se řadí zelenina, rýže, fazole, korýši, játra, určité druhy hub a další (Genchi et al., 2020). Cd se dostává do symplastu rostlinných buněk přes několik transportních proteinů. Je přijímán v jeho divalentní formě Cd^{2+}. Z proteinové rodiny ZIP využívá několikrát zmíněného IRT1, protože Cd spadá do spektra kovů, jejichž příjem tento transportér dokáže zprostředkovat (Korshunova et al., 1999). Dále se Cd také dostává přes transportní proteiny z rodiny NRAMP. Jedná se např. o AtNramp1 v *A. thaliana* a OsNramp5, který je považován za hlavního přenašeče Cd v *O. sativa* (Cailliatte et al., 2010; Sasaki et al., 2012). Je nutno připomenout, že přítomnost Cd stimuluje dřívější vývoj apoplastických bariér, což umožňuje jeho snížený příjem apoplastickou cestou (Redjala et al., 2011; Vaculík et al., 2012, 2009).

Na nakládání Cd do xylému se podílejí ATPázy HMA, které jsou určeny hlavně pro transport zinku. V *A. thaliana* je Cd transportováno např. přes AtHMA4 (Verret et al., 2004). V případě *O. sativa* je využíváno OsHMA2 (Satoh-Nagasawa et al., 2012). Navíc kromě HMAs např. již zmíněný OsZIP7 také napomáhá v nakládání Cd do xylému společně se Zn (Tan et al., 2019).

5.3 Příjem chromu

Podobně jako arsen, chrom (Cr) je karcinogen, který se v půdě vyskytuje v několika oxidačních stavech, a podle toho se odvíjí jeho příjem. Cr^{3+} a Cr^{6+} se v prostředí vyskytují nejčastěji a také jsou nejstabilnější (Shekhawat et al., 2015; Zayed et al., 1998).

Cr^{6+} je transportován aktivně, Cr^{3+} pasivně – difuzí, jak lze vidět z experimentů Skeffington et al. (1976), ale mechanismus příjmu Cr^{3+} z rhizosféry není zatím úplně jasný.

Jelikož je Cr^{6+} transportován aktivně, je pravděpodobné, že k tomu dochází za pomoci transportéru jiného prvku. Xu et al. (2021) zjistili, že v *A. thaliana* se Cr^{6+} dostává dovnitř buněk pomocí vysokoafinitního transportéru sulfátu Sultr1;2 (sulphate transporter 1;2). Řízené navýšení exprese *Sultr1;2* totiž způsobilo vyšší příjem Cr^{6+} a snížení exprese genu naopak způsobilo snížený příjem Cr^{6+}. Dále také porovnali transportér Sultr 1;1 a Sultr1;2 v jejich efektivitě při přenosu Cr^{6+} v kvasinkách. Pozorovali, že Sultr1;2 je efektivnější v přenosu Cr^{6+} než Sultr 1;1. Nicméně vyřazení obou genů *Sultr 1;1* a *Sultr1;2* v *A. thaliana* způsobilo téměř nulový příjem Cr^{6+} (Xu et al., 2021). K expresi těchto genů dochází v buňkách primární kůry, rhizodermis a kořenových vláscích a jsou primárně určeny pro vysokoafinitní příjem sulfátu (Yoshimoto et al., 2002).

5.4 Příjem olova

Olovo (Pb) se do těl živočichů dostává hlavně díky kontaminované vodě a potravinám. V minulosti byla navíc kontaminace a příjem Pb do lidského organismu vysoká, kvůli jeho širokému používání, protože se nevědělo o jeho toxicitě. Přidávalo se např. do barev, vyráběly se z něj olověné vodovodní trubky a také se používalo v medicíně. V lidském těle např. negativně ovlivňuje chod orgánů a může způsobovat anémii (Ara and Usmani, 2015). Do rostlin se Pb dostává zřejmě díky neselektivním kationtovým kanálům, a to ve formě Pb^{2+} (Pourrut et al., 2013). Mezi takové se řadí např. AtCNGC1 (cyclic nucleotide gated channel 1) u *A. thaliana* a jeho ortolog NtCBP4 (calmoldulin-binding protein 4) u *Nicotiana tabacum*, které se nachází na cytoplazmatické membráně (Arazi et al., 1999; Sunkar et al., 2000). Navýšená hladina exprese *NtCBP4* způsobila vyšší příjem Pb^{2+} (Arazi et al., 1999). Exprese zkrácené verze genu *NtCBP4* naopak způsobila snížení příjmu Pb^{2+} a zvýšila toleranci vůči toxicitě Pb^{2+}. Podobně také inzerce T-DNA do genu *AtCNGC1*, způsobující jeho vyřazení z funkce, rovněž omezila příjem Pb^{2+} (Sunkar et al., 2000).

5.5 Příjem rtuti, zlata a stříbra

Mechanismus příjmu těchto kovů do rostlin není stále vyjasněn. V půdě se vyskytuje ve formě Hg^{2+}, která může být methylována na škodlivější methylderivát či dimethylderivát (Harrington, 2000). Pro rtuť (Hg) zatím nebyly u rostlin objeveny transportéry, které by mohly zprostředkovávat její vstup. Nicméně Kiyono et al. (2013) vytvořili transgenní rostliny s bakteriálním genem pro transportér kadmia a rtuti, MerC (mercuric ion resistence C).

Introdukováním tohoto genu byla *A. thaliana* schopna hyperakumulovat Hg (Kiyono et al., 2013).

Pro ušlechtilé kovy zlato (Au) a stříbro (Ag) nebyla nalezena práce, která by detailně popisovala jejich příjem, natož transportní proteiny zprostředkovávající jejich transport přes membránu rostlinných buněk. Pro oba prvky však byla pozorována vyšší koncentrace v kořenech, než v prýtu (Girling and Peterson, 1980; Koontz and Berle, 1980). S příjmem Au je spojován termín fytotěžba (anglicky fytomining) – získávání Au z rostlin pro komerční účely. Fytotěžba by se mohla využívat pro získávání Au z oblastí, kde se Au vyskytuje v malých množstvích, které nejsou ekonomicky výhodné získávat klasickým těžením (Sheoran et al., 2013). Problémem je však celkově malá schopnost rostlin Au akumulovat. V experimentech Girling a Peterson (1980) pěstovali *Phacelia sericea* a *Hordeum vulgare* pomocí hydroponie v různých roztocích se zlatem. Nejvíce tyto rostliny naakumulovaly zlato v kořenech (*P. sericea* 3857 ppm a *H. vulgare* 372 ppm v sušině). V prýtu naakumulovaly pouze 87,3 ppm (*P. sericea*) a 1,0 ppm (*H. vulgare*) v sušině (Girling and Peterson, 1980).

6 Hyperakumulace těžkých kovů

Některé rostliny jsou schopné akumulovat ve svých pletivech velká množství těžkých kovů, ať už esenciálních nebo toxických, a jejich růst a vývoj není ovlivněn. Takové rostliny se nazývají hyperakumulátory (HA) a mohou akumulovat v prýtu těžké kovy v rozmezí od 1000 mg · kg^{-1} do 10000 mg · kg^{-1} v závislosi na druhu kovu a hyperakumulátoru (Baker and Brooks, 1989). Mezi těžké kovy, které jsou HA akumulovány, se řadí Zn, Ni, Cu, Cr, As, Cd, Mn, Hg, Pb a další nejen těžké kovy. HA je popsáno asi 700 druhů a přes 25 % jich patří do čeledi *Brassicaceae*. Mezi další čeledi, kam patří HA jsou *Asteraceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae, Fabaceae, Scrophulariaceae, Myrtaceae, Proteaceae, Caryophyllaceae* a *Tiliaceae* a další (Dar et al., 2020; Pasricha et al., 2021). Hyperakumulující druhy rostlin se nejčastěji vyskytují na místech, kde je vysoká koncentrace těžkých kovů v půdách, ať už půdách přirozeně vzniklých během zvětrávání rud a hornin bohatých na kovy, a nebo člověkem přeměněné např. z důvodu těžby (Reeves et al., 2021). Mezi takové půdy se řadí např. hadcové půdy, které jsou bohaté na těžké kovy, jako jsou Ni, Cr, Co a další (Brady et al., 2005).

Existuje několik hypotéz, proč se schopnost hyperakumulace u rostlin vyvinula. První z nich předpokládá, že schopnost efektivní sekvestrace těžkých kovů v pletivech rostliny nebo případně schopnost kovy z těla vylučovat, dává rostlinám možnost obsazovat kontaminované habitaty a uspět tak v konkurenci s jinými druhy. Druhou hypotézou je, že rostliny mohou vylučovat těžké kovy do okolní půdy, a tak zabraňovat růstu ostatním rostlinám, které jsou choulostivé vůči těžkým kovům – tedy fenomén alelopatie. Poslední hypotézou je, že akumulace vysokých koncentrací kovů v pletivech rostliny, a především v prýtu, funguje jako obrana vůči herbivorům (Boyd, 2004; Jhee et al., 2005; Reeves et al., 2021).

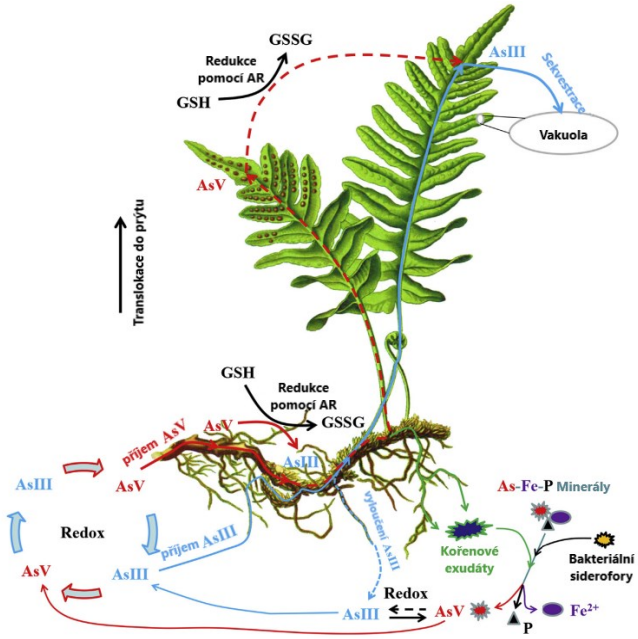
Schopnosti HA lze využít pro fytoremediace či již zmíněnou fytotěžbu. Fytoremediace je proces, kterým se za pomocí rostlin obnovuje životnost znečištěných půd. Využívá se rostlin, které mají schopnost hyperakumulovat těžké kovy z půdy do svých těl, a tak kontaminované půdy čistit. Existuje několik typů fytoremediace. Fytostabilizace – těžké kovy jsou naakumulovány do kořenů rostlin, kde jsou stabilizovány. Fytovolatilizace – rostlina přijme kořeny kontaminující látky, které jsou poté přeměny v plynné látky a vypuštěny do atmosféry. Fytodegradace – rostlina akumuluje těžké kovy do kořenů nebo prýtu, kde jsou rozkládány. Fytoextrakce – těžké kovy jsou z půdy přijímány kořeny a akumulovány v prýtu rostliny, ten je následně odstraněn i s akumulovanými těžkými kovy (Dar et al., 2020; Favas et al., 2014; Ghosh and Singh, 2005). Je zajímavé, že schopnost akumulovat těžké kovy lze navýšit i u nehyperakumulujících (NHA) druhů rostlin. Například aplikací chelatačních činidel, které mobilizují ionty kovů (Dar et al., 2020).

U hyperakumulátorů je typické navýšení exprese genů, které kódují transportéry pro příjem iontů kovů z rhizosféry a nakládání do xylému (Assunção et al., 2001; Hanikenne et al., 2008). Nehyperakumulátory při expozici vyšší koncentraci těžkých kovů tlumí expresi těchto genů, naopak HA expresi nemění. Zároveň po utlumení příjmu NHA rychle chelatují kovové ionty v cytosolu a sekvestrují je do vakuol v kořenech, aby se vyhnuly jejich toxicitě. HA naopak kovy extenzivně přijímají a nakládají do xylému pro translokaci do prýtu, kde dochází k intenzivní sekvestraci do vakuol (Dar et al., 2020). U HA je tedy patrné, že hlavním sinkem těžkých kovů je prýt, i když to neplatí pro všechny rostlinné druhy, protože některé rostliny hyperakumulují kovy v kořenech. Jedná se např. *Marrubium vulgare* nebo *Isatis pinnatiloba* (Pasricha et al., 2021).

Jako příklad demonstrace transportních mechanismů, které hyperakumulaci umožňují, jsem si vybral HA rostlinu *Arabidopsis halleri*. *A. halleri* je hyperakumulátor Zn a Cd. V porovnáním s příbuzným NHA druhem *A. thaliana* má *A. halleri* navýšenou hladinu exprese několika genů. Jedná se např. o geny *IRT3*, *ZIP3* a *Nramp5*, které zprostředkovávají příjem Zn/Cd. Jejich exprese byla zaznamenána jak v kořenech, tak v prýtu (Chiang et al., 2006). Exprese genů *HMA3* a *HMA4*, které kódují transportéry pro sekvestraci do vakuol a nakládání do xylému, byly také navýšeny (Assunção et al., 2001; Becher et al., 2004). Vyšší míra exprese byla také pozorována u *MTP* (metal tolerance protein) genů, které umožňují sekvestraci těžkých kovů do vakuol (Chiang et al., 2006). Kromě genů pro transportéry je navýšena také exprese genů pro enzymy syntetizující chelatační činidla a pro zvýšení tolerance vůči stresu způsobenou zvýšenou koncentrací Zn v cytosolu. Ionty kovů jsou v cytosolu velmi reaktivní a cytotoxické, tudíž je potřeba chelatačních činidel, které umožňují detoxifikaci cytosolu. Dále jsou tyto komplexy translokovány či sekvestrovány do vakuol (Clemens, 2001; Wintz et al., 2003). Jedná se např. o *MT2a* (*metallothionenin 2a*), *MT2b*, *MT3* (*metalothionenin 2b, 3*) společně s geny *NAS2* a *NAS3* (*nicotianamin synthase*). *A. halleri* má také zvýšenou expresi genů pro enzymy zapojené v antioxidační ochraně rostliny, protože s akumulací těžkých kovů v rostlině je spojen oxidativní stres. Jedná se o geny kódující peroxidázy, např. *POX* (peroxidázy třetí třídy) *a APX* (askorbátové peroxidázy). V *A. halleri* lze pozorovat nižší koncentrace peroxidů vodíku v pletivech než u *A. thaliana,* díky zvýšené expresi peroxidáz (Chiang et al., 2006).

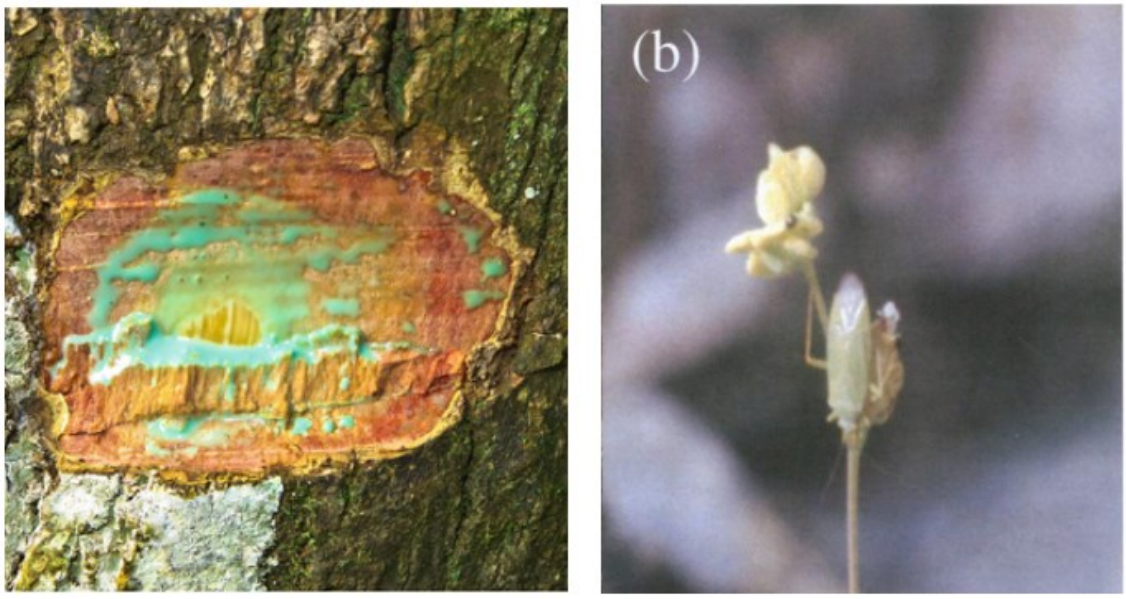
Dalším zajímavým příkladem HA druhu rostliny je *Pteris vittata*. Tato kapradina umí hyperakumulovat As. Tento toxický polokov se v půdě vyskytuje především jako As^{5+} a As^{3+} a obě formy jsou rostlinami přijímány. *P. vittata* však preferuje příjem As^{5+} nad As^{3+}, jak lze odvodit z výsledků Huang et al. (2011). Pro shrnutí procesů odehrávajících se s As v půdě a uvnitř rostlinného těla, viz Obrázek 9. As^{5+} je transportován přes transportéry P. Transportér PvPht1; 3 (phosphate transporter 1; 3) z *Pteris vittata* pravděpodobně zprostředkovává přenos As^{5+}, protože v transgenních kvasinkách, ve kterých byl *PvPht1; 3* exprimován, byla zaznamenána vyšší koncentrace As^{5+}. Lokalizace PvPht1; 3 se nachází na cytoplazmatické membráně. V buňkách gametofytu je exprese zvýšená při nedostatku P a v přítomnosti As^{5+} (DiTusa et al., 2016). As^{3+} je transportován přes akvaporiny a v *P. vittata* byl popsán PvTIP4; 1 (tonoplast intrinsic protein 4; 1), který v *A. thaliana* a kvasinkách umožnil akumulaci As.

Nachází se na cytoplazmatické membráně a jeho exprese byla nejvyšší v kořenech (He et al., 2016). Po příjmu následuje redukce As^{5+} na As^{3+}. Ta probíhá v oddencích a kořenech kapradiny, a to pomocí proteinu PvACR2 (arsenic compound resistence 2) (Ellis et al., 2006; Mathews et al., 2010). Jelikož je *P. vittata* hyperakumulátor, část As se váže s fytochelatiny a sekvestruje do vakuol již v oddencích (Zhao et al., 2003). Většina je však translokována do nadzemní části prýtu. Transportéry, které hrají roli v translokaci do prýtu, nebyly zatím popsány. V listech je As^{3+} sekvestrován do vakuol, která je docílena pravděpodobně pomocí proteinu PvACR3 (arsenic compound resistence 3). V gametofytu *P. vittata* je lokalizován na tonoplastu, a v transgenní linii kvasinek bez ACR3 umožnil PvACR3 opět sekvestraci As do kvasinkových vakuol (Indriolo et al., 2010). Nicméně jeho vysoká exprese v kořenech sporofytu vedla autory Indriolo et al. (2010) k otázce, zda nezprostředkovává také nakládání As do xylému. Chen et al. (2013) vytvořili transgenní *A. thaliana* s genem *PvACR3*, transportér se lokalizoval na cytoplazmatickou membránu a zvýšil translokaci As do prýtu, tudíž lze předpokládat jeho možnou roli také v nakládání do xylému. S výzkumem transportérů ACR3 Chen et al. (2021) dále pokračovali a popsali transportéry PvACR3; 2 a PvACR3; 3, které v kvasinkách oba transportují As ven z cytosolu. PvACR3; 2 v transgenním *N. tabacum* je lokalizovaný na cytoplazmatické membráně a zvyšuje koncentraci v prýtu oproti kořenům, tedy nakládá As do xylému. PvACR3; 3 naopak zvyšuje koncentraci As v kořenech díky sekvestraci do místních vakuol (Chen et al., 2021). Transportéry z rodiny ACR3 tudíž mohou zprostředkovat jak nakládání do xylému a umožnit intenzivní translokaci do prýtu, tak sekvestraci do vakuol už v kořenech, a místo prýtu akumulovat As v podzemní části rostliny.



Obrázek 9 *Soubor procesů s As, které se odehrávají v půdě a uvnitř kapradiny Pteris vittata. AR (arsenát reduktáza), GSH (redukovaný glutathion), GSSG (oxidovaný glutathion). (Převzato z Han et al.* (2017) *a upraveno)*

Mezi hyperakumulátory těžkých kovů bylo popsáno nejvíce akumulátorů Ni. Jejich hojný výskyt se dá rozdělit do dvou oblastí – Mediterán a tropy a subtropy (hlavně Kuba, Nová Kaledonie a ostrovy Indonésie a Filipín). Mezi nejzajímavější HA Ni patří *Pycnandra acuminata* z čeledi *Sapotaceae*, která je z Nové Kaledonie. Akumuluje takové množství Ni, že latex tohoto stromu obsahuje až 25 % Ni, což dělá latex tyrkysově modrý (viz Obrázek 10) (Reeves et al., 2021). Dalším zajímavým HA Ni je *Streptanthus polygaloides* z čeledi *Brassicaceae*. U této rostliny byl popsán zajímavý fenomén potravní specializace hmyzích herbivorů, protože *Melanotrichus boydi* (hmyz z čeledi *Miridae*) se potravně specializuje pouze na tuto rostlinu a bez problému toleruje vysoké koncentrace Ni (Boyd, 2004). Druhotným efektem Ni, který *Melanotrichus boydi* ve svém těle naakumuluje, je možná ochrana před predátory (Boyd and Wall, 2001).



Obrázek 10 *Latex Pycnandra cuminata, jehož tyrkysově modrá barva souvisí s vysokým obsahem Ni (nalevo) a rostlina Streptanthus polygaloides hyperakumulující Ni a na ní Melanotrichus boydi, který je na ni potravně adaptován a dokáže ve svém těle Ni také akumulovat (vpravo). (Převzato z Reeves et al.* (2021) *a Boyd* (2004)*)*

Z výše uvedených informací lze shrnout, že hlavním rozdílem mezi HA a NHA je rozdílná míra exprese genů, které kódují proteiny zapojené v transportu i sekvestraci těžkých kovů. Zatímco NHA se snaží ihned po prvních interakcích s ionty těžkých kovů vyhnout – okamžitá chelatace a sekvestrace do vakuol nebo tlumení exprese genů pro transportéry kovů, HA naopak příjem kovů kořeny nepotlačují, ve větší míře je transportují do nadzemní části a jsou schopné se dobře vypořádat s rizikem toxicity intenzivní sekvestrací.

7 Závěr

Příjem těžkých kovů je regulován několika způsoby. V první řadě pro efektivní příjem esenciálních kovů kořeny využívá rostlina specifických transportérů. Jejich exprese může být zvýšena, případně tlumena, v závislosti na dostupnosti daného kovu. Zvýšení příjmu může být docíleno i pomocí polarizované lokalizace transportérů buď na distální, nebo proximální část cytoplazmatické membrány, jak lze pozorovat např. u transportérů IRT1, Nramp5 nebo Lsi1. Dalším neméně důležitým způsobem zvýšení příjmu esenciálních mikroprvků je sekrece exudátů, jako jsou fytosiderofory, které jsou zejména důležité pro rostliny využívající strategie II v příjmu Fe z rhizosféry. Pro toxické kovy neexistují specifické přenašeče, nicméně jejich strukturní podobnost s některými esenciálními mikroprvky (např. divalentní Cd a Zn) umožňuje do jisté míry přenos přes transportéry esenciálních mikroprvků.

V případě, že se rostlina potřebuje bránit příjmu těžkých kovů existuje také několik způsobů. Jedna z prvních zábran příjmu těžkých kovů je diferenciace apoplastických bariér, a tak zamezení volného transportu do rostlinných těl prostou difuzí apoplastem. Některé těžké kovy, jako je kadmium, urychlují diferenciaci apoplastických bariér, pokud jsou v blízkosti kořene. Dalším způsobem, jak se bránit buď nadměrnému příjmu esenciálních mikroprvků, či toxickým kovům, je již zmíněné utlumení exprese genů pro transportéry. V neposlední řadě je potřeba zmínit detoxifikaci těžkých kovů poté, co vstoupí do rostlinných těl. Je toho docíleno chelatací v cytosolu a následnou sekvestrací do vakuol či translokaci z jednoho orgánu do dalších orgánů rostliny.

Hyperakumulace u rostlin je již dlouho studována. Hyperakumulátory mají vlastnosti, které je charakterizují. Lze vypíchnout jejich stálou expresi genů pro transportéry i v podmínkách vysokých koncentrací těžkých kovů v prostředí rhizosféry, intenzivní translokaci, vysokou chelataci a efektivní sekvestraci do vakuol. Zmíněnými vlastnostmi se liší od nehyperakumulátorů, což jim umožňuje přežívat např. na místech s půdou kontaminovanou těžkými kovy bez dopadu na jejich vývoj a fungování.

Dle mého názoru je zajímavé, že není téměř vůbec vysvětlen příjem rtuti rostlinami v porovnání s ostatním těžkými kovy. Myslím si, že by stálo za pokus příjem tohoto prvku více zkoumat. Fenomén polarizované lokalizace mě velmi zaujal. Její proměnlivost u transportérů a rostlinných druhů je podivuhodná. Zajímá mě, zdali budou v budoucnu objeveny další.

8 Seznam literatury

AbdElgawad, H., Zinta, G., Hamed, B.A., Selim, S., Beemster, G., Hozzein, W.N., Wadaan, M.A., Asard, H., Abuelsoud, W., 2020. Maize roots and shoots show distinct profiles of oxidative stress and antioxidant defense under heavy metal toxicity. Environ. Pollut. 258, 113705.

Andersen, T.G., Barberon, M., Geldner, N., 2015. Suberization—the second life of an endodermal cell. Curr. Opin. Plant Biol. 28, 9–15.

Ara, A., Usmani, J.A., 2015. Lead toxicity: a review. Interdiscip. Toxicol. 8, 55–64.

Arazi, T., Sunkar, R., Kaplan, B., Fromm, H., 1999. A tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers Ni2+ tolerance and Pb2+ hypersensitivity in transgenic plants. Plant J. 20, 171–182.

Assunção, A., Martins, P.D.C., De Folter, S., Vooijs, R., Schat, H., Aarts, M., 2001. Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator Thlaspi caerulescens. Plant Cell Environ. 24, 217–226.

Baker, A.J., Brooks, R., 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery. 1, 81–126.

Barberon, M., Dubeaux, G., Kolb, C., Isono, E., Zelazny, E., Vert, G., 2014. Polarization of IRON-REGULATED TRANSPORTER 1 (IRT1) to the plant-soil interface plays crucial role in metal homeostasis. Proc. Natl. Acad. Sci. 111, 8293–8298.

Bashir, K., Ishimaru, Y., Shimo, H., Kakei, Y., Senoura, T., Takahashi, R., Sato, Yutaka, Sato, Yuki, Uozumi, N., Nakanishi, H., 2011. Rice phenolics efflux transporter 2 (PEZ2) plays an important role in solubilizing apoplasmic iron. Soil Sci. Plant Nutr. 57, 803–812.

Becher, M., Talke, I.N., Krall, L., Krämer, U., 2004. Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator Arabidopsis halleri. Plant J. 37, 251–268.

Begum, M.C., Islam, M.S., Islam, M., Amin, R., Parvez, M.S., Kabir, A.H., 2016. Biochemical and molecular responses underlying differential arsenic tolerance in rice (Oryza sativa L.). Plant Physiol. Biochem. 104, 266–277.

Blakeley, R.L., Zerner, B., 1984. Jack bean urease: the first nickel enzyme. J. Mol. Catal. 23, 263–292.

Boyd, R.S., 2004. Ecology of metal hyperaccumulation. New Phytol. 563–567.

Boyd, R.S., Wall, M.A., 2001. Responses of generalist predators fed high-Ni Melanotrichus boydi (Heteroptera: Miridae): elemental defense against the third trophic level. Am. Midl. Nat. 146, 186–198.

Brady, K.U., Kruckeberg, A.R., Bradshaw Jr, H.D., 2005. Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. Annu Rev Ecol Evol Syst 36, 243–266.

Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A., 2007. Zinc in plants. New Phytol. 173, 677–702.

Broderick, J.B., 2001. Coenzymes and cofactors. E LS.

Cailliatte, R., Schikora, A., Briat, J.-F., Mari, S., Curie, C., 2010. High-affinity manganese uptake by the metal transporter NRAMP1 is essential for Arabidopsis growth in low manganese conditions. Plant Cell 22, 904–917.

Chen, J.-X., Cao, Y., Yan, X., Chen, Y., Ma, L.Q., 2021. Novel PvACR3; 2 and PvACR3; 3 genes from arsenic-hyperaccumulator Pteris vittata and their roles in manipulating plant arsenic accumulation. J. Hazard. Mater. 415, 125647.

Chen, Y., Xu, Wenzhong, Shen, H., Yan, H., Xu, Wenxiu, He, Z., Ma, M., 2013. Engineering arsenic tolerance and hyperaccumulation in plants for phytoremediation by a PvACR3 transgenic approach. Environ. Sci. Technol. 47, 9355–9362.

Chiang, H.-C., Lo, J.-C., Yeh, K.-C., 2006. Genes associated with heavy metal tolerance and accumulation in Zn/Cd hyperaccumulator Arabidopsis halleri: a genomic survey with cDNA microarray. Environ. Sci. Technol. 40, 6792–6798.

Claus, J., Bohmann, A., Chavarría-Krauser, A., 2013. Zinc uptake and radial transport in roots of Arabidopsis thaliana: a modelling approach to understand accumulation. Ann. Bot. 112, 369–380.

Clemens, S., 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta 212, 475–486.

Connolly, E.L., Fett, J.P., Guerinot, M.L., 2002. Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. Plant Cell 14, 1347–1357.

Curie, C., Panaviene, Z., Loulergue, C., Dellaporta, S.L., Briat, J.-F., Walker, E.L., 2001. Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe (III) uptake. Nature 409, 346–349.

DalCorso, G., Manara, A., Furini, A., 2013. An overview of heavy metal challenge in plants: from roots to shoots. Metallomics 5, 1117–1132.

Damus, M., Peterson, R., Enstone, D.E., Peterson, C.A., 1997. Modifications of cortical cell walls in roots of seedless vascular plants. Bot. Acta 110, 190–195.

Dar, F.A., Pirzadah, T.B., Malik, B., 2020. Accumulation of heavy metals in medicinal and aromatic plants. Plant Micronutr. Defic. Toxic. Manag. 113–127.

DiTusa, S.F., Fontenot, E.B., Wallace, R.W., Silvers, M.A., Steele, T.N., Elnagar, A.H., Dearman, K.M., Smith, A.P., 2016. A member of the Phosphate transporter 1 (Pht1) family from the arsenic-hyperaccumulating fern Pteris vittata is a high-affinity arsenate transporter. New Phytol. 209, 762–772.

Dubeaux, G., Neveu, J., Zelazny, E., Vert, G., 2018. Metal sensing by the IRT1 transporter-receptor orchestrates its own degradation and plant metal nutrition. Mol. Cell 69, 953–964.

Durrett, T.P., Gassmann, W., Rogers, E.E., 2007. The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation. Plant Physiol. 144, 197–205.

Ellis, D.R., Gumaelius, L., Indriolo, E., Pickering, I.J., Banks, J.A., Salt, D.E., 2006. A novel arsenate reductase from the arsenic hyperaccumulating fern Pteris vittata. Plant Physiol. 141, 1544–1554.

Enstone, D.E., Peterson, C.A., Ma, F., 2002. Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment. J. Plant Growth Regul. 21, 335–351.

Favas, P.J., Pratas, J., Varun, M., D'Souza, R., Paul, M.S., 2014. Phytoremediation of soils contaminated with metals and metalloids at mining areas: potential of native flora. Environ. Risk Assess. Soil Contam. 3, 485–516.

Gasber, A., Klaumann, S., Trentmann, O., Trampczynska, A., Clemens, S., Schneider, S., Sauer, N., Feifer, I., Bittner, F., Mendel, R., 2011. Identification of an Arabidopsis solute carrier critical for intracellular transport and inter-organ allocation of molybdate. Plant Biol. 13, 710–718.

Gaullier, J.-M., Simonsen, A., D'Arrigo, A., Bremnes, B., Stenmark, H., 1999. FYVE finger proteins as effectors of phosphatidylinositol 3-phosphate. Chem. Phys. Lipids 98, 87–94.

Genchi, G., Sinicropi, M.S., Lauria, G., Carocci, A., Catalano, A., 2020. The effects of cadmium toxicity. Int. J. Environ. Res. Public. Health 17, 3782.

Ghori, Z., Iftikhar, H., Bhatti, M.F., Sharma, I., Kazi, A.G., Ahmad, P., 2016. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soil, in: Plant Metal Interaction. Elsevier, pp. 385–409.

Ghosh, M., Singh, S., 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. Asian J Energy Env. 6, 214–231.

Girling, C.A., Peterson, P.J., 1980. Gold in plants. Gold Bull. 13, 151–157.

Green, L.S., Rogers, E.E., 2004. FRD3 controls iron localization in Arabidopsis. Plant Physiol. 136, 2523–2531.

Grotz, N., Fox, T., Connolly, E., Park, W., Guerinot, M.L., Eide, D., 1998. Identification of a family of zinc transporter genes from Arabidopsis that respond to zinc deficiency. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 7220–7224.

Hanikenne, M., Talke, I.N., Haydon, M.J., Lanz, C., Nolte, A., Motte, P., Kroymann, J., Weigel, D., Krämer, U., 2008. Evolution of metal hyperaccumulation required cis-regulatory changes and triplication of HMA4. Nature 453, 391–395.

Harrington, C.F., 2000. The speciation of mercury and organomercury compounds by using high-performance liquid chromatography. TrAC Trends Anal. Chem. 19, 167–179.
He, Z., Yan, H., Chen, Y., Shen, H., Xu, W., Zhang, H., Shi, L., Zhu, Y., Ma, M., 2016. An aquaporin Pv TIP 4; 1 from Pteris vittata may mediate arsenite uptake. New Phytol. 209, 746–761.
Hell, R., Stephan, U.W., 2003. Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. Planta 216, 541–551.
Henriques, R., Jásik, J., Klein, M., Martinoia, E., Feller, U., Schell, J., Pais, M.S., Koncz, C., 2002. Knock-out of Arabidopsis metal transporter gene IRT1 results in iron deficiency accompanied by cell differentiation defects. Plant Mol. Biol. 50, 587–597.
Huang, S., Sasaki, A., Yamaji, N., Okada, H., Mitani-Ueno, N., Ma, J.F., 2020. The ZIP transporter family member OsZIP9 contributes to root zinc uptake in rice under zinc-limited conditions. Plant Physiol. 183, 1224–1234.
Huang, Y., Hatayama, M., Inoue, C., 2011. Characterization of As efflux from the roots of As hyperaccumulator Pteris vittata L. Planta 234, 1275–1284.
Hussain, D., Haydon, M.J., Wang, Y., Wong, E., Sherson, S.M., Young, J., Camakaris, J., Harper, J.F., Cobbett, C.S., 2004. P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in Arabidopsis. Plant Cell 16, 1327–1339.
Ide, Y., Kusano, M., Oikawa, A., Fukushima, A., Tomatsu, H., Saito, K., Hirai, M.Y., Fujiwara, T., 2011. Effects of molybdenum deficiency and defects in molybdate transporter MOT1 on transcript accumulation and nitrogen/sulphur metabolism in Arabidopsis thaliana. J. Exp. Bot. 62, 1483–1497.
Indriolo, E., Na, G., Ellis, D., Salt, D.E., Banks, J.A., 2010. A vacuolar arsenite transporter necessary for arsenic tolerance in the arsenic hyperaccumulating fern Pteris vittata is missing in flowering plants. Plant Cell 22, 2045–2057.
Inoue, H., Kobayashi, T., Nozoye, T., Takahashi, M., Kakei, Y., Suzuki, K., Nakazono, M., Nakanishi, H., Mori, S., Nishizawa, N.K., 2009. Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron (III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings. J. Biol. Chem. 284, 3470–3479.
Inoue, H., Mizuno, D., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., Nishizawa, N.K., 2004. A rice FRD3-like (OsFRDL1) gene is expressed in the cells involved in long-distance transport. Soil Sci. Plant Nutr. 50, 1133–1140.
Ishimaru, Y., Kakei, Y., Shimo, H., Bashir, K., Sato, Yutaka, Sato, Yuki, Uozumi, N., Nakanishi, H., Nishizawa, N.K., 2011. A rice phenolic efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele. J. Biol. Chem. 286, 24649–24655.
Ishimaru, Y., Masuda, H., Suzuki, M., Bashir, K., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., Nishizawa, N.K., 2007. Overexpression of the OsZIP4 zinc transporter confers disarrangement of zinc distribution in rice plants. J. Exp. Bot. 58, 2909–2915.
Ishimaru, Y., Suzuki, M., Kobayashi, T., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., Nishizawa, N.K., 2005. OsZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. J. Exp. Bot. 56, 3207–3214.
Ishimaru, Y., Suzuki, M., Tsukamoto, T., Suzuki, K., Nakazono, M., Kobayashi, T., Wada, Y., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Takahashi, M., 2006. Rice plants take up iron as an Fe3+-phytosiderophore and as Fe2+. Plant J. 45, 335–346.
Jhee, E.M., Boyd, R.S., Eubanks, M.D., 2005. Nickel hyperaccumulation as an elemental defense of Streptanthus polygaloides (Brassicaceae): influence of herbivore feeding mode. New Phytol. 168, 331–344.
Khan, S., Naushad, M., Lima, E.C., Zhang, S., Shaheen, S.M., Rinklebe, J., 2021. Global soil pollution by toxic elements: Current status and future perspectives on the risk assessment and remediation strategies–A review. J. Hazard. Mater. 417, 126039.
Kile, M.L., Houseman, E.A., Breton, C.V., Smith, T., Quamruzzaman, Q., Rahman, M., Mahiuddin, G., Christiani, D.C., 2007. Dietary arsenic exposure in Bangladesh. Environ. Health Perspect. 115, 889–893.

Kiyono, M., Oka, Y., Sone, Y., Nakamura, R., Sato, M.H., Sakabe, K., Pan-Hou, H., 2013. Bacterial heavy metal transporter MerC increases mercury accumulation in Arabidopsis thaliana. Biochem. Eng. J. 71, 19–24.
Kobayashi, T., Nishizawa, N.K., 2012. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. Annu. Rev. Plant Biol. 63, 131–152.
Kobayashi, T., Nozoye, T., Nishizawa, N.K., 2019. Iron transport and its regulation in plants. Free Radic. Biol. Med. 133, 11–20.
Koontz, H.V., Berle, K.L., 1980. Silver uptake, distribution, and effect on calcium, phosphorus, and sulfur uptake. Plant Physiol. 65, 336–339.
Korshunova, Y.O., Eide, D., Gregg Clark, W., Lou Guerinot, M., Pakrasi, H.B., 1999. The IRT1 protein from Arabidopsis thaliana is a metal transporter with a broad substrate range. Plant Mol. Biol. 40, 37–44.
LeBlanc, M.S., McKinney, E.C., Meagher, R.B., Smith, A.P., 2013. Hijacking membrane transporters for arsenic phytoextraction. J. Biotechnol. 163, 1–9.
Li, R.-Y., Ago, Y., Liu, W.-J., Mitani, N., Feldmann, J., McGrath, S.P., Ma, J.F., Zhao, F.-J., 2009. The rice aquaporin Lsi1 mediates uptake of methylated arsenic species. Plant Physiol. 150, 2071–2080.
Li, S., Song, Z., Liu, X., Zhou, X., Yang, W., Chen, J., Chen, R., 2022. Mediation of Zinc and Iron Accumulation in Maize by ZmIRT2, a Novel Iron-Regulated Transporter. Plant Cell Physiol. 63, 521–534.
Lin, Y., Liang, H., Yang, S., Boch, A., Clemens, S., Chen, C., Wu, J., Huang, J., Yeh, K., 2009. Arabidopsis IRT3 is a zinc-regulated and plasma membrane localized zinc/iron transporter. New Phytol. 182, 392–404.
Lindskog, S., 1997. Structure and mechanism of carbonic anhydrase. Pharmacol. Ther. 74, 1–20.
Ma, J.F., 2010. Silicon transporters in higher plants. MIPs Their Role Exch. Met. 99–109.
Ma, J.F., Tamai, K., Yamaji, N., Mitani, N., Konishi, S., Katsuhara, M., Ishiguro, M., Murata, Y., Yano, M., 2006. A silicon transporter in rice. Nature 440, 688–691.
Ma, J.F., Yamaji, N., Mitani, N., Xu, X.-Y., Su, Y.-H., McGrath, S.P., Zhao, F.-J., 2008. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. Proc. Natl. Acad. Sci. 105, 9931–9935.
Maathuis, F., Sanders, D., 1994. Mechanism of high-affinity potassium uptake in roots of Arabidopsis thaliana. Proc. Natl. Acad. Sci. 91, 9272–9276.
Maathuis, F.J., 2009. Physiological functions of mineral macronutrients. Curr. Opin. Plant Biol. 12, 250–258.
Maathuis, F.J., Diatloff, E., 2013. Roles and functions of plant mineral nutrients. Plant Miner. Nutr. 1–21.
Markov, D., Naryshkina, T., Mustaev, A., Severinov, K., 1999. A zinc-binding site in the largest subunit of DNA-dependent RNA polymerase is involved in enzyme assembly. Genes Dev. 13, 2439–2448.
Marschner, H., 2011. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press.
Mathews, S., Ma, L.Q., Rathinasabapathi, B., Natarajan, S., Saha, U.K., 2010. Arsenic transformation in the growth media and biomass of hyperaccumulator Pteris vittata L. Bioresour. Technol. 101, 8024–8030.
Mazumder, D.G., 2008. Chronic arsenic toxicity & human health. Indian J. Med. Res. 128, 436–447.
McLean, E., Cogswell, M., Egli, I., Wojdyla, D., De Benoist, B., 2009. Worldwide prevalence of anaemia, WHO vitamin and mineral nutrition information system, 1993–2005. Public Health Nutr. 12, 444–454.
Milner, M.J., Seamon, J., Craft, E., Kochian, L.V., 2013. Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis. J. Exp. Bot. 64, 369–381.
Minner-Meinen, R., Weber, J.-N., Kistner, S., Meyfarth, P., Saudhof, M., van den Hout, L., Schulze, J., Mendel, R.-R., Hänsch, R., Kaufholdt, D., 2022. Physiological Importance of Molybdate

Transporter Family 1 in Feeding the Molybdenum Cofactor Biosynthesis Pathway in Arabidopsis thaliana. Molecules 27, 3158.
Morsomme, P., Boutry, M., 2000. The plant plasma membrane H+-ATPase: structure, function and regulation. Biochim. Biophys. Acta BBA-Biomembr. 1465, 1–16.
Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15, 473–497.
Naseer, S., Lee, Y., Lapierre, C., Franke, R., Nawrath, C., Geldner, N., 2012. Casparian strip diffusion barrier in Arabidopsis is made of a lignin polymer without suberin. Proc. Natl. Acad. Sci. 109, 10101–10106.
Nishida, S., Tsuzuki, C., Kato, A., Aisu, A., Yoshida, J., Mizuno, T., 2011. AtIRT1, the primary iron uptake transporter in the root, mediates excess nickel accumulation in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Physiol. 52, 1433–1442.
Nordstrom, D.K., 2002. Worldwide occurrences of arsenic in ground water. Science 296, 2143–2145.
Nozoye, T., Nagasaka, S., Kobayashi, T., Sato, Y., Uozumi, N., Nakanishi, H., Nishizawa, N.K., 2015. The phytosiderophore efflux transporter TOM2 is involved in metal transport in rice. J. Biol. Chem. 290, 27688–27699.
Nozoye, T., Nagasaka, S., Kobayashi, T., Takahashi, M., Sato, Yuki, Sato, Yoko, Uozumi, N., Nakanishi, H., Nishizawa, N.K., 2011. Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants. J. Biol. Chem. 286, 5446–5454.
Olsen, L.I., Palmgren, M.G., 2014. Many rivers to cross: the journey of zinc from soil to seed. Front. Plant Sci. 5, 30.
Pasricha, S., Mathur, V., Garg, A., Lenka, S., Verma, K., Agarwal, S., 2021. Molecular mechanisms underlying heavy metal uptake, translocation and tolerance in hyperaccumulators-an analysis: Heavy metal tolerance in hyperaccumulators. Environ. Chall. 4, 100197.
Pedas, P., Ytting, C.K., Fuglsang, A.T., Jahn, T.P., Schjoerring, J.K., Husted, S., 2008. Manganese efficiency in barley: identification and characterization of the metal ion transporter HvIRT1. Plant Physiol. 148, 455–466.
Perea-García, A., Garcia-Molina, A., Andrés-Colás, N., Vera-Sirera, F., Pérez-Amador, M.A., Puig, S., Peñarrubia, L., 2013. Arabidopsis copper transport protein COPT2 participates in the cross talk between iron deficiency responses and low-phosphate signaling. Plant Physiol. 162, 180–194.
Perumalla, C.J., Chmielewski, J.G., Peterson, C.A., 1990. A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bands. III. Rhizomes. Bot. J. Linn. Soc. 103, 127–132.
Pourrut, B., Shahid, M., Douay, F., Dumat, C., Pinelli, E., 2013. Molecular mechanisms involved in lead uptake, toxicity and detoxification in higher plants. Heavy Met. Stress Plants 121–147.
Printz, B., Lutts, S., Hausman, J.-F., Sergeant, K., 2016. Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. Front. Plant Sci. 7, 601.
Raab, A., Williams, P.N., Meharg, A., Feldmann, J., 2007. Uptake and translocation of inorganic and methylated arsenic species by plants. Environ. Chem. 4, 197–203.
Ramesh, S.A., Choimes, S., Schachtman, D.P., 2004. Over-expression of an Arabidopsis zinc transporter in Hordeum vulgare increases short-term zinc uptake after zinc deprivation and seed zinc content. Plant Mol. Biol. 54, 373–385.
Ramshaw, J., Brown, R., Scawen, M., Boulter, D., 1973. Higher plant plastocyanin. Biochim. Biophys. Acta BBA-Protein Struct. 303, 269–273.
Raymond, J., Blankenship, R.E., 2008. The origin of the oxygen-evolving complex. Coord. Chem. Rev. 252, 377–383.
Redjala, T., Zelko, I., Sterckeman, T., Legué, V., Lux, A., 2011. Relationship between root structure and root cadmium uptake in maize. Environ. Exp. Bot. 71, 241–248.
Reeves, R.D., van Der Ent, A., Echevarria, G., Isnard, S., Baker, A.J., 2021. Global distribution and ecology of hyperaccumulator plants. Agromining Farming Met. Extr. Unconv. Resour. Using Plants 133–154.

Robards, A., Clarkson, D., 1976. The role of plasmodesmata in the transport of water and nutrients across roots, in: Intercellular Communication in Plants: Studies on Plasmodesmata. Springer, pp. 181–201.
Robinson, N.J., Procter, C.M., Connolly, E.L., Guerinot, M.L., 1999. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. Nature 397, 694–697.
Römheld, V., Marschner, H., 1990. Genotypical differences among graminaceous species in release of phytosiderophores and uptake of iron phytosiderophores. Plant Soil 123, 147–153.
Römheld, V., Marschner, H., 1986. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. Plant Physiol. 80, 175–180.
Sancenón, V., Puig, S., Mateu-Andrés, I., Dorcey, E., Thiele, D.J., Peñarrubia, L., 2004. The Arabidopsis copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development. J. Biol. Chem. 279, 15348–15355.
Sandeep, G., Vijayalatha, K., Anitha, T., 2019. Heavy metals and its impact in vegetable crops. Int J Chem Stud 7, 1612–1621.
Sasaki, A., Yamaji, N., Yokosho, K., Ma, J.F., 2012. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. Plant Cell 24, 2155–2167.
Satoh-Nagasawa, N., Mori, M., Nakazawa, N., Kawamoto, T., Nagato, Y., Sakurai, K., Takahashi, H., Watanabe, A., Akagi, H., 2012. Mutations in rice (Oryza sativa) heavy metal ATPase 2 (OsHMA2) restrict the translocation of zinc and cadmium. Plant Cell Physiol. 53, 213–224.
Schaaf, G., Ludewig, U., Erenoglu, B.E., Mori, S., Kitahara, T., Von Wirén, N., 2004. ZmYS1 functions as a proton-coupled symporter for phytosiderophore-and nicotianamine-chelated metals. J. Biol. Chem. 279, 9091–9096.
Schmidt, S.B., Husted, S., 2019. The biochemical properties of manganese in plants. Plants 8, 381.
Schreiber, L., Hartmann, K., Skrabs, M., Zeier, J., 1999. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. J. Exp. Bot. 50, 1267–1280.
Schulin, R., Johnson, A., Frossard, E., 2010. Trace Element-Deficient Soils. Trace Elem. Soils 175–197.
Shekhawat, K., Chatterjee, S., Joshi, B., 2015. Chromium toxicity and its health hazards. Int. J. Adv. Res. 3, 167–172.
Sheoran, V., Sheoran, A., Poonia, P., 2013. Phytomining of gold: a review. J. Geochem. Explor. 128, 42–50.
Sinclair, S.A., Krämer, U., 2012. The zinc homeostasis network of land plants. Biochim. Biophys. Acta BBA-Mol. Cell Res. 1823, 1553–1567.
Sinha, B., Bhattacharyya, K., 2015. Arsenic toxicity in rice with special reference to speciation in Indian grain and its implication on human health. J. Sci. Food Agric. 95, 1435–1444.
Skeffington, R., Shewry, P., Peterson, P., 1976. Chromium uptake and transport in barley seedlings (Hordeum vulgare L.). Planta 132, 209–214.
Stoláriková, M., Vaculík, M., Lux, A., Di Baccio, D., Minnocci, A., Andreucci, A., Sebastiani, L., 2012. Anatomical differences of poplar (Populus× euramericana clone I-214) roots exposed to zinc excess. Biologia (Bratisl.) 67, 483–489.
Sunkar, R., Kaplan, B., Bouche, N., Arazi, T., Dolev, D., Talke, I.N., Maathuis, F.J., Sanders, D., Bouchez, D., Fromm, H., 2000. Expression of a truncated tobacco NtCBP4 channel in transgenic plants and disruption of the homologous Arabidopsis CNGC1 gene confer Pb2+ tolerance. Plant J. 24, 533–542.
Suzuki, M., Tsukamoto, T., Inoue, H., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., Nishizawa, N.K., 2008. Deoxymugineic acid increases Zn translocation in Zn-deficient rice plants. Plant Mol. Biol. 66, 609–617.
Takagi, S., Nomoto, K., Takemoto, T., 1984. Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. J. Plant Nutr. 7, 469–477.
Tan, L., Zhu, Y., Fan, T., Peng, C., Wang, J., Sun, L., Chen, C., 2019. OsZIP7 functions in xylem loading in roots and inter-vascular transfer in nodes to deliver Zn/Cd to grain in rice. Biochem. Biophys. Res. Commun. 512, 112–118.

Tomatsu, H., Takano, J., Takahashi, H., Watanabe-Takahashi, A., Shibagaki, N., Fujiwara, T., 2007. An Arabidopsis thaliana high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil. Proc. Natl. Acad. Sci. 104, 18807–18812.

Ueno, D., Yamaji, N., Ma, J.F., 2009. Further characterization of ferric—phytosiderophore transporters ZmYS1 and HvYS1 in maize and barley. J. Exp. Bot. 60, 3513–3520.

Ullrich-Eberius, C., Sanz, A., Novacky, A., 1989. Evaluation of arsenate-and vanadate-associated changes of electrical membrane potential and phosphate transport in Lemna gibba G1. J. Exp. Bot. 119–128.

Vaculík, M., Konlechner, C., Langer, I., Adlassnig, W., Puschenreiter, M., Lux, A., Hauser, M.-T., 2012. Root anatomy and element distribution vary between two Salix caprea isolates with different Cd accumulation capacities. Environ. Pollut. 163, 117–126.

Vaculík, M., Lux, A., Luxová, M., Tanimoto, E., Lichtscheidl, I., 2009. Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. Environ. Exp. Bot. 67, 52–58.

Verret, F., Gravot, A., Auroy, P., Leonhardt, N., David, P., Nussaume, L., Vavasseur, A., Richaud, P., 2004. Overexpression of AtHMA4 enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance. FEBS Lett. 576, 306–312.

Vert, G., Barberon, M., Zelazny, E., Séguéla, M., Briat, J.-F., Curie, C., 2009. Arabidopsis IRT2 cooperates with the high-affinity iron uptake system to maintain iron homeostasis in root epidermal cells. Planta 229, 1171–1179.

Vert, G., Briat, J., Curie, C., 2001. Arabidopsis IRT2 gene encodes a root-periphery iron transporter. Plant J. 26, 181–189.

Vert, G., Grotz, N., Dédaldéchamp, F., Gaymard, F., Guerinot, M.L., Briat, J.-F., Curie, C., 2002. IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. Plant Cell 14, 1223–1233.

Von Wiren, N., Klair, S., Bansal, S., Briat, J.-F., Khodr, H., Shioiri, T., Leigh, R.A., Hider, R.C., 1999. Nicotianamine chelates both FeIII and FeII. Implications for metal transport in plants. Plant Physiol. 119, 1107–1114.

von Wirén, N., Marschner, H., Romheld, V., 1996. Roots of iron-efficient maize also absorb phytosiderophore-chelated zinc. Plant Physiol. 111, 1119–1125.

von Wirén, N., Mori, S., Marschner, H., Romheld, V., 1994. Iron inefficiency in maize mutant ys1 (Zea mays L. cv Yellow-Stripe) is caused by a defect in uptake of iron phytosiderophores. Plant Physiol. 106, 71–77.

Wada, H., Watanabe, S., Kimura, M., 1987. Isolation of mugineic acid decomposing bacteria. Presented at the Meeting, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition, p. 282.

Wessells, K.R., Brown, K.H., 2012. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. PloS One 7, e50568.

Wintz, H., Fox, T., Wu, Y.-Y., Feng, V., Chen, W., Chang, H.-S., Zhu, T., Vulpe, C., 2003. Expression profiles of Arabidopsis thaliana in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis. J. Biol. Chem. 278, 47644–47653.

Xu, Z.-R., Cai, M.-L., Chen, S.-H., Huang, X.-Y., Zhao, F.-J., Wang, P., 2021. High-affinity sulfate transporter Sultr1; 2 is a major transporter for Cr (VI) uptake in plants. Environ. Sci. Technol. 55, 1576–1584.

Yokosho, K., Yamaji, N., Ueno, D., Mitani, N., Ma, J.F., 2009. OsFRDL1 is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice. Plant Physiol. 149, 297–305.

Yordem, B.K., Conte, S.S., Ma, J.F., Yokosho, K., Vasques, K.A., Gopalsamy, S.N., Walker, E.L., 2011. Brachypodium distachyon as a new model system for understanding iron homeostasis in grasses: phylogenetic and expression analysis of Yellow Stripe-Like (YSL) transporters. Ann. Bot. 108, 821–833.

Yoshimoto, N., Takahashi, H., Smith, F.W., Yamaya, T., Saito, K., 2002. Two distinct high-affinity sulfate transporters with different inducibilities mediate uptake of sulfate in Arabidopsis roots. Plant J. 29, 465–473. https://doi.org/10.1046/j.0960-7412.2001.01231.x

Yoshino, M., Murakami, K., 1998. Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. Anal. Biochem. 257, 40–44.
Zayed, A., Lytle, C.M., Qian, J.-H., Terry, N., 1998. Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. Planta 206, 293–299.
Zeier, J., Schreiber, L., 1997. Chemical composition of hypodermal and endodermal cell walls and xylem vessels isolated from Clivia miniata (identification of the biopolymers lignin and suberin). Plant Physiol. 113, 1223–1231.
Zhang, F., Römheld, V., Marschner, H., 1989. Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilizing root exudates. Z. Für Pflanzenernähr. Bodenkd. 152, 205–210.
Zhang, F.-S., Römheld, V., Marschner, H., 1991. Diurnal rhythm of release of phytosiderophores and uptake rate of zinc in iron-deficient wheat. Soil Sci. Plant Nutr. 37, 671–678.
Zhao, F., Ago, Y., Mitani, N., Li, R., Su, Y., Yamaji, N., McGrath, S.P., Ma, J.F., 2010. The role of the rice aquaporin Lsi1 in arsenite efflux from roots. New Phytol. 186, 392–399.
Zhao, F., Wang, J., Barker, J., Schat, H., Bleeker, P., McGrath, S., 2003. The role of phytochelatins in arsenic tolerance in the hyperaccumulator Pteris vittata. New Phytol. 159, 403–410.