



Bitkilerde Ağır Metal Stresine Verilen Fizyolojik ve Moleküler Yanıtlar

Kübra SEVGİ¹ Sema LEBLEBİCİ^{2,*}

¹Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 11230 Bilecik, Türkiye

²Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 11230 Bilecik, Türkiye

Geliş Tarihi: 10.08.2022

Kabul Tarihi: 14.12.2022

Basım Tarihi: 31.12.2022

Atıf yapmak için: Sevgi, K. & Leblebici, S. (2022). Bitkilerde Ağır Metal Stresine Verilen Fizyolojik ve Moleküler Yanıtlar. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 7(4), 528-536.

How to cite: Sevgi, K. & Leblebici, S. (2022). Physiological and Molecular Response to Heavy Metal Stress in Plants. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 7(4), 528-536.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3762-6408>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8382-2162>

*Sorumlu yazarın:
Sema LEBLEBİCİ
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen
Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Bölümü, 11230 Bilecik, Türkiye.
✉: leblebicisema@gmail.com

Öz: Artan antropojenik etki ve endüstrileşme ile birlikte doğal ekosistemlerin dengeleri bozulmakta ve birçok canlının tolere edilebileceği düzeylerin üzerinde ağır metal birikmektedir. Sessil organizmalar olan bitkiler ağır metal kirliliğine maruz kaldıklarında verimliliğin azalması ve ürünlerde kalite kaybının yaşanması gibi ciddi sonuçlarla karşı karşıya kalmaktadır. Bu ağır metallerden bakır (Cu), çinko (Zn), kobalt (Co), mangan (Mn), molibden (Mo) ve nikel düşük düzeylerde bitkiler için gerekli olduğu halde yüksek seviyelerde bulunması bitkilerde stres oluşturmaktadır. Alüminyum (Al), arsenik (As), civa (Hg), kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve kurşun (Pb) ise bitki gelişiminde gerekli olmayıp çok düşük konsantrasyonlarda bile bitkiye zarar vermekte ve toksik özellik göstermektedir. Ağır metal kirliliğine maruz kalmış bitkilerde oluşan etkiler ağır metal çeşidi, konsantrasyonu, maruziyet süresi, bitki türü gibi faktörlere göre değişebilmektedir. Ağır metal stresi bitkide sürgün ve kök gelişimi, biyokütle, fotosentetik hız, stoma iletkenliği ve transpirasyon hızının azalmasına; kloroz ve nekroza sebep olmaktadır. Ayrıca ROS ve MDA miktarında artışa sebep olmakta, DNA'da lezyonlar oluşturmakta ve tamir edilmeyen hasarlar ile genomun kararlılığını bozmaktadır. Bitkiler ağır metallerin bu olumsuz etkileriyle mücadele edebilmek için enzimatik olan ve olmayan antioksidanların da içinde bulunduğu bazı savunma stratejileri geliştirmişlerdir. Yüksek seviyelerde ağır metallerin bulunduğu topraklarda bile gelişimini sürdürebilen ağır metal stresine toleranslı hiperakümülatör bitkiler ise ağır metallerle kontamine olmuş toprakların fitoremediasyonunda sıklıkla kullanılmakta ve transgenik bitki teknolojisinde bir model oluşturmaktadır.

Anahtar kelimeler: Abiyotik stres, ağır metal, oksidatif stres, reaktif oksijen türleri.

Physiological and Molecular Response to Heavy Metal Stress in Plants

Abstract: With the increasing anthropogenic effect and industrialization, the balance of natural ecosystems is deteriorating and heavy metals accumulate above the levels that many living things can tolerate. When plants, sessile organisms, are exposed to heavy metal pollution, serious consequences such as decreased productivity and loss of quality in products are encountered. The effects on plants exposed to heavy metal pollution may vary according to factors such as heavy metal type, concentration, exposure time, and plant species. Heavy metal stress causes a decrease in shoot and root development, biomass, photosynthetic rate, stomatal conductivity and transpiration rate; cause chlorosis and necrosis. In addition, it causes an increase in the amount of ROS and MDA, creates lesions in DNA and destabilizes the genome with unrepaired damages. Plants have developed some defense strategies, including enzymatic and non-enzymatic antioxidants, to combat these negative effects of heavy metals. Heavy metal stress-tolerant hyperaccumulator plants, which can continue to grow even in soils with high levels of heavy metals, are frequently used in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals and constitute a model in transgenic plant technology.

*Corresponding author's:
Sema LEBLEBİCİ
Bilecik Şeyh Edebali University, Faculty of
Science, Department of Molecular Biology and
Genetics, 11230 Bilecik, Türkiye.
✉: leblebicisema@gmail.com

Keywords: Abiotic stress, heavy metal, oxidative stress, reactive oxygen species.

GİRİŞ

Tüm canlılarda olduğu gibi bitkiler de yaşamları boyunca biyotik ve abiyotik streslere maruz kalırlar. Antropojenik ve jeolojik birçok etmenin neden olduğu abiyotik streslerden biri olan ağır metal kirliliği, özellikle toprak ve su kirliliğine neden olmakta, bu sayede besin zinciri yoluyla bütün canlıların sağlığını tehdit etmektedir. Sesil organizmalar olan bitkiler ağır metal kirliliğine maruz kaldıklarında verimliliğin azalması ve ürünlerde kalite kaybının yaşanması gibi ciddi sonuçlarla karşı karşıya kalınmaktadır (Hou vd., 2020).

Ağır metaller, 5 g/cm^3 'ten daha yüksek yoğunluğa sahip olan metaller olarak tanımlanmaktadır. Bütün ağır metallerin biyolojik olarak parçalanmadığı bilinmektedir. Bazılarının hareketsiz olduğu, doğal yollarla çevreden temizlenemedikleri ve biriktikleri yerden hareket edemedikleri bilinmektedir. Hareketli oldukları belirtilen bazı ağır metaller ise difüzyon, endositoz veya metal taşıyıcılar yoluyla bitki kök sistemi tarafından alınabilirler (Ghori vd., 2019). Ağır metalleri, bitki gelişiminde gerekli olup olmamalarına göre sınıflandırmak mümkündür. Bakır (Cu), çinko (Zn), kobalt (Co), mangan (Mn) ve nikel (Ni), çeşitli enzimler için kofaktör olarak görev yaptıklarından düşük konsantrasyonlarda bitki gelişiminde gerekli olup yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda bitki için zararlı olmaya ve toksik etki göstermeye başlamaktadır.

Bakır, bitkiler için mikro besin elementidir ve ATP sentezi ile CO_2 asimilasyonunda önemli rol oynamaktadır. Toprakta 100 mg kg^{-1} , bitki kuru maddesinde $15\text{-}30 \text{ mg kg}^{-1}$ bakır seviyesi toksite için eşik değeri olarak kabul edilmektedir. Besin dengesizliğine yol açan bakır toksisitesi, ROS (reaktif oksijen türleri) seviyesinde artışa, nitrat alımı ve yukarı translokasyonu inhibisyonuna sebep olmaktadır (Huo vd., 2020). Mikro besin elementlerinden olan çinko, kontamine olmuş toprakta $150\text{-}300 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında bulunmaktadır (Nagajyoti vd., 2010). Aşırı miktarda çinkoya maruz kalan bitkide, hidrojen peroksit seviyesi, MDA (malondialdehit) içeriği ve elektrolit sızıntı artmaktadır. Çinko fazlalığı, bitki sürgünlerinde mangan ve bakır eksikliği oluşmasına neden olabildiği gibi bu besin elementlerinin kökten sürgüne transferini de engelleyebilmektedir. B_{12} vitamininin içeriğinde bulunan kobaltın, toprakta 100 mg kg^{-1} gibi yüksek seviyeleri bitkiler için toksik etki oluşturmaktadır. Bitkilerin yüksek miktarlarda kobalta maruz kalması sonucunda, büyüme, fotosentetik hız, klorofil ve karotenoid içeriği azalmakta, ROS ve MDA içeriği ise artmaktadır. Ayrıca bitkilerde demir homeostazını bozmakta ve demir eksikliğine neden olmaktadır (Ozfidan-Konakci vd., 2020). Düşük seviyelerde bitki gelişimi ve beslenmesinde bir mikro besin elementi olan mangan, bir çok enzimde kofaktör görevi yapmaktadır. Yüksek konsantrasyonlarda mangana maruz

kalan bitkilerde, fotosentez reaksiyonları zarar görmekte, ROS birikimi artmakta ve lipid peroksidasyonu oluşmaktadır. Nikel toksisitesinin sebep olduğu semptomlar, genellikle 100 mg kg^{-1} nikel konsantrasyonunu geçen seviyelerde ortaya çıkmaktadır. Nikel stresi; besin dengesizliğine yol açmakta, bitki kök ve yapraklarında elektrolit sızıntı, MDA ve hidrojen peroksit seviyelerini arttırmaktadır (Khaliq vd., 2016).

Yukarıda bahsedilen ağır metallerin dışındaki ağır metaller ise, bitki gelişiminde gerekli olmayıp çok düşük konsantrasyonlarda bile bitkiye zarar vermekte ve toksik özellik göstermektedir. Alüminyum (Al), arsenik (As), kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve kurşun (Pb) ise bu ikinci kısım ağır metal grubuna girmektedir. Alüminyum toksisitesi, bitkilerin su ve besin alımını engellemekte, stomata iletkenliği, fotosentetik hız ve yaprak transpirasyon oranını da azaltmaktadır (Rahman vd., 2018). Hücre zarı depolarizasyonuna ve kök gelişimi inhibisyonuna neden olan alüminyum birikmesi sonucunda, ROS üretimi tetiklenmekte ve hücrel membranlar zarar görmektedir. Bitki gelişimi için esansiyel olmayan arsenik, en toksik metalloid olarak bilinir. Arsenik konsantrasyonunun toprakta 20 mg kg^{-1} 'i aşması arsenik toksisitesi oluşturur (Chandrakar vd., 2018). Arsenik stresine maruz kalan bitkilerde, gelişim azalmakta ve MDA, hidrojen peroksit içeriği ve elektrolit sızıntı seviyeleri artmaktadır. Yaşlı yapraklarda nekroza, tamamen gelişmiş genç yapraklarda ise kloroza neden olmaktadır (Kaya vd., 2020). Tarım ve sanayi alanında yaşanan gelişmeler sonucu tarımsal topraklardaki konsantrasyonu artan kadmiyum, yüksek derecede toksik bir ağır metaldir ve bitkiler için $5\text{-}30 \text{ mg kg}^{-1}$ kadmiyum konsantrasyonu toksik kabul edilmektedir. (Haider vd., 2021). Kadmiyum toksisitesi, fosfor eksikliğine neden olmakta, MDA içeriğini, hidrojen peroksit seviyesini ve membran hasarını arttırmaktadır. Bunun yanı sıra, bitki biyokütlesinin azalmasına, fotosentetik reaksiyonların zarar görmesine ve su alımında dengesizliğe yol açmaktadır (Shaari vd., 2022). Kendine oldukça geniş bir endüstriyel kullanım alanı bulan krom, önemli bir çevre kirleticisidir. $3,8 \text{ mg kg}^{-1}$ krom seviyesini aşan konsantrasyonlar bitki büyümesi için zararlı hale gelmektedir. Bitki büyüme ve gelişimi üzerinde olumsuz etkilere sahip olan krom, biyokütle üretimini ve fotosentetik pigmentlerin konsantrasyonlarını azaltmaktadır. Krom toksisitesi, ROS üretimi, elektrolit sızıntı, MDA ve hidrojen peroksit içeriğinde ise artışa neden olmaktadır (Ahmad vd., 2020). Kurşun, ikinci en toksik ağır metaldir ve bitkilerde herhangi bir biyolojik role sahip değildir. Volkanik patlamalar ve orman yangınları gibi doğal faktörler ile tekstil atık sularından yakıt ve boya endüstrisine kadar birçok antropojenik faaliyetler, kurşun kontaminasyonuna neden olmaktadır. Tarım topraklarında

150-300 mg kg⁻¹, bitkilerde ise 2 mg kg⁻¹ civarı kurşun konsantrasyonu, toksisite için eşik değeri olarak kabul edilmektedir. Bu konsantrasyon seviyeleri aşıldığında, tohum çimlenmesi ve biyokütle üretimi sınırlanmakta, besin alımı dengesi bozulmakta, klorofil degradasyonu artmakta, fotosentetik hızda azalma ve membran hasarı meydana gelmektedir (Zulfiqar vd., 2019). Birçok enzim aktivitesinin inhibisyonuna neden olan kurşun, su dengesini de bozmakta, fotosentetik pigmentlerin içeriğini azaltmakta ve hidrojen peroksit, MDA, elektrolit sızıntı seviyelerini artırmaktadır (Okant & Kaya, 2019).

Ağır Metal Toleransında Fizyolojik ve Moleküler Mekanizmalar: Bitkiler, gelişimleri için gerekli mikro besin elementlerini fizyolojik konsantrasyonlarında tutmak ve gelişimleri için gerekli olmayan ağır metallere maruziyeti azaltmak için bazı savunma stratejileri geliştirirler. Bu savunma stratejilerinin birinci basamağında kök eksüdatları tarafından metal-ligand kompleksleri oluşturulması, rizosfer pH'nın değiştirilmesi gibi mekanizmalar yer almaktadır. Bu mekanizmalarla ağır metallerin kök hücrelerine girişi engellenirken, ağır metallerin kök hücrelerine girmesi ve bu ilk hattı geçmesi sonucunda hücre çeperine bağlama, organik asitler, şelasyon, sekestrasyon gibi ikinci savunma hattını oluşturan süreçlerle hücre içi detoksifikasyon gerçekleşmektedir. Bunun yanında, ağır metal stresine karşı bitkiler tarafından geliştirilen savunma stratejileri arasında oksidatif stres savunma mekanizmasının aktivasyonu ve stresle ilişkili proteinlerin sentezi de yer almaktadır (Dalvi & Bhalerao, 2013).

Bitkilerde ağır metallerin algılanması ile karmaşık bir sinyal iletim ağı etkinleştirilip metal yanıt genleri transkripsiyonel olarak aktif hale getirilmekte ve ağır metallere karşı yanıt oluşturulmaktadır. Bu sinyal iletim yolları; kalsiyum bağımlı sinyal, ROS sinyali, MAPK kaskadı ve hormon sinyalleridir. Kalsiyum bağımlı sinyal iletiminde, aşırı miktarda biriken ağır metaller, kalsiyum kanallarının stabilitesini değiştirerek hücre içine daha fazla kalsiyum akışına sebep olmaktadır. Sitolitik kalsiyum konsantrasyonundaki bu değişiklikler, CDPK'ler (Ca⁺² bağımlı protein kinazlar), CaM'lar (kalmodulinler), CaM benzeri proteinler, CBL'ler (kalsinörin B benzeri proteinler) gibi kalsiyum sensörleri tarafından algılanıp sinyalin yayılması sağlamaktadır. Böylece stres yanıt genlerinin ekspresyonları arttırılmaktadır (Chaturvedi vd., 2020).

Her bir ağır metalin bitkideki etki bölgesi farklı olabildiği için bitki üzerinde oluşan toksik etki de ağır metale göre değişebilmekle beraber bitkide ağır metal toksisitesi olduğunu gösteren en yaygın etki bitki gelişimindeki inhibisyonudur (Gill, 2014). Bunun yanında tohum çimlenmesi, bitki biyokütlesi ve klorofil biyosentezinde azalma ve senesesteki ilerlemeyle ilişkili

olan fotosentetik reaksiyonların sekteye uğraması da görülen diğer toksik etkilerdir (Shahid vd., 2014). Ağır metal toksisitesine maruziyet sonucu bitkilerde görülen önemli bir etki de hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH) gibi reaktif oksijen türlerindeki (ROS) artışıdır. ROS miktarı belirli eşik değerine ulaştığında hücrelerde programlanmış hücre ölümü yanıtı aktive edilmektedir ve artan ROS miktarı, membranlar ve DNA gibi hücresel bileşenlere zarar vererek oksidatif strese neden olmaktadır (Ghori vd., 2019).

Reaktif oksijen türleri, hücre zarındaki lipidlerden elektronları uzaklaştırarak lipid peroksidasyonuna yol açmakta, lipid peroksidasyonunun indikatörü ve son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) düzeyinde artış gözlenmektedir. Hücresel bileşenler için zararlı etkilere sahip olan ROS, bunun yanında bitki savunma sisteminin indüklenmesinde ise ikincil mesajcı görevi görmektedir (Sytar vd., 2013). Artmış ROS miktarı, antioksidatif savunma sistemi tarafından algılanmakta ve antioksidanlar tarafından detoksifiye edilerek düzenlenmektedir (Huang vd., 2019). Aktif bölgesinde bulunan metal kofaktörüne göre üç farklı izoenzim formunda (Fe-SOD, Mn-SOD ve Cu/ZnSOD) bulunan süperoksit dismutaz, süperoksidi daha az reaktif olan hidrojen peroksitine indirgemektedir. Katalaz, hidrojen peroksidi suya ve oksijene dönüştüren bir enzimken, askorbik asidi elektron vericisi olarak kullanan askorbat peroksidaz ve glutatyonu okside eden glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksidi suya indirgeyen enzimlerdir. Glutatyon redüktaz da glutatyon peroksidaz aktivitesi sonucu oluşan okside glutatyonu tekrar glutatyonla indirgemektedir (Kireççi, 2018).

Bakır, demir, kobalt, krom ve mangan gibi redoks-aktif metaller, Haber-Weiss ve Fenton tipi reaksiyonlarla doğrudan ROS oluştururken, alüminyum, civa, çinko, kadmiyum ve nikel gibi redoks aktif olmayan metaller ise glutatyon tüketimi, antioksidan enzimlerin inhibe edilmesi gibi dolaylı yollarla ROS üretimine sebep olmaktadır (Mahey vd., 2020). Ağır metal stresi gibi abiyotik streslere maruziyet neticesinde, ROS oluşumu ve detoksifikasyonu arasındaki denge bozulmaktadır. Ağır metal stresi altında oluşan ROS'un neden olduğu oksidatif stres ile mücadele edebilmek için bitkiler, enzimatik antioksidanların aktivasyonu ve enzimatik olmayan antioksidan bileşiklerinin birikimi yoluyla antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Antioksidan savunma mekanizmaları sayesinde üretilen ROS'lar düşük seviyelerde tutulabilmektedir (Dutta vd., 2018). Ağır metal çeşidi, konsantrasyonu, strese maruz kalan bitkinin türü ve genotipi, maruz kalma süresi gibi birçok parametreye bağlı olarak bitkilerin antioksidan kapasitelerindeki değişiklikler de farklılaşabilmektedir (Chen vd., 2017).

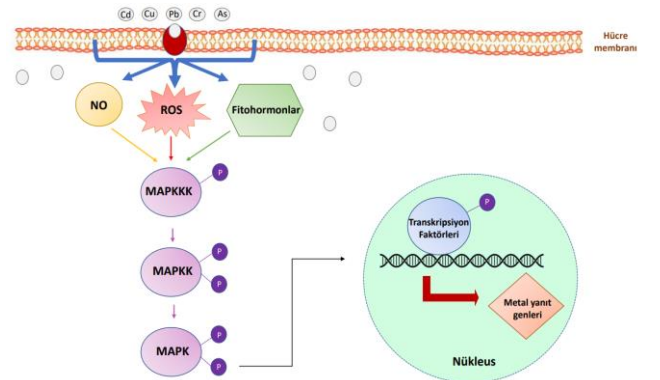
Oksidatif ve genotoksik strese neden olan başlıca etmenlerin başında gelen ağır metal fazlalığı, DNA çift

sarmalında lezyonlar oluşmasına yol açmakta ve DNA sarmalındaki tamir edilmeyen hasarlar da genomun kararlılığını bozmaktadır (Dutta vd., 2018). Ağır metallerin nükleusa girip bağlanması promutajenik hasara neden olabilmektedir. Bu hasarların sebebi, ağır metal toksisitesi nedeniyle üretilen ROS'lardır. ROS'lar, mutajenik oksidatif DNA lezyonlarından 7,8-dihidro-8-oksoguanin (8-okso-G) gibi çeşitli DNA hasarlarına yol açmaktadır (Dutta vd., 2018; Ghori vd., 2019). Genomik DNA'da ağır metallerin sebep olduğu genotoksik etkilerin tespitinde RAPD (rastgele arttırılmış polimorfik DNA)-PCR gibi moleküler araçlar kullanılmaktadır.

Bitkilerin ağır metal stresine karşı oluşturduğu savunma stratejilerinde, topraktan ağır metallerin alınmasında görev alan metal taşıyıcılar önemli bir yer tutmaktadır. Ağır metal homeostazının regülasyonunda ve ağır metal toleransında rol oynayan metal taşıyıcılara, HMA (ağır metal ATPaz), ABC (ATP bağlayıcı kasetler), CDF (kasyon difüzyon kolaylaştırıcıları) taşıyıcıları, ZIP taşıyıcı proteinleri, CAX (kasyon değiştiriciler), COPT (bakır taşıyıcılar) ve NRAMP (doğal dirençle ilişkili makrofaj) taşıyıcıları örnek olarak verilebilir (Mitra vd., 2014). Metal iyonlarının vakuollerde depolanması, bu iyonların zararlı etkilerini azaltmaktadır. Çeşitli metal taşıyıcıları, vakuolar membranda bulunarak metalleri vakuolar boşluklarda sekestre etmekte veya sitozolde metalleri dışarı aktarmaktadır (Jogawat vd., 2021). Metal taşıyıcılardan ABC, CDF ve NRAMP taşıyıcıları, ağır metallerin vakuollere sekestrasyonunu sağlayarak bitkilerde ağır metal toleransının geliştirilmesini sağlamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, ABC taşıyıcısının (*OsABCG36*), kök hücrelerden kadmiyum dışarı akışını sağlayarak bitkilerde kadmiyum toleransında rol aldığını (Fu vd., 2019), Arabidopsis'te ise *AtABCC3*'ün PC(fitoşelatin)-Cd komplekslerini vakuollere taşıyarak kadmiyum detoksifikasyonunda yer aldığını belirlemiştir (Brunetti vd., 2015). CDF taşıyıcılarının (metal tolerans proteinleri olarak da adlandırılır) çoğu, hidrojen veya potasyum iyonlarını hücre dışına ya da vakuole antiport ederek divalent ağır metalleri taşımakta ve sitoplazmadaki ağır metal konsantrasyonunu düşürmektedir (Singh vd., 2016). CAX taşıyıcı proteinleri de hidrojen veya sodyum iyonunu antiport ederek iyon taşınımı yapmakta ve proton gradyanlarını kullanarak divalent iyonların sitozolden vakuollere sekestrasyonunda görev almaktadır. *CAX3*'ün aşırı eksprese edilmesinin Arabidopsis'te kalsiyum akümüasyonu yoluyla antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı bunun da ROS seviyesini düşürerek kadmiyum toleransını arttırdığı ortaya konulmuştur (Modareszadeh vd., 2021). Bitkilerde tanımlanan ilk metal taşıyıcılar olan ve bunun yanında birçok bitki türünde tanımlanan ZIP taşıyıcı ailesi, membranlar boyunca Fe, Zn, Mn ve Cd divalent kasyonlarının translokasyonunda görev alır (Mitra

vd., 2014). HMA taşıyıcıları, P tip ATPaz protein ailesine mensuptur ve ATP kullanarak kasyon taşınımı yapmaktadır. Özellikle P_{1B} -ATPaz alt grubunun metal detoksifikasyonunda önemli rolü olduğu anlaşılmıştır. Bakır taşınımında rol oynayan COPT taşıyıcı ailesinin de COPT4 hariç diğer üyelerinin bakır taşıdığı bilinmektedir (Jogawat vd., 2021).

Bitkilerde ağır metal stresine karşı oluşturulan önemli bir yanıt da MAPK kaskadıdır. Ağır metal stresine maruz kalan bitkilerde bu strese tepki olarak MAPK (mitojenle aktive edilen protein kinaz) kaskadı aktifleştirilir. Ağır metal maruziyeti altındaki bitkilerde NO (nitrik oksit), ROS ve bitki hormonları (fitohormonlar) gibi çoklu sinyal yolları tetiklenir. Bu sinyal molekülleri MAPK ile etkileşir ve MAPK kaskadının aktifleşmesine yol açar. Bir dizi fosforilasyon aşaması içeren kaskad, MAPKKK (MAPK kinaz kinaz), MAPKK (MAPK kinaz) ve MAPK olmak üzere üç kinazdan oluşmaktadır ve bu kinazlar fosforilenmeyle aktif hale gelmektedir. Aktif hale gelen MAPK kaskadı ise bZIP (temel lösin feruarı), WRKY, MYB (miyeloblastoz protein), HSF (ısı şok transkripsiyon faktörleri) gibi transkripsiyon faktörlerini fosforilleyip aktif hale getirmektedir. Bu aktivasyon ise savunma genleri, şelatlama bileşikleri, metal taşıyıcı genleri, antioksidanlarla ilişkili genlerin ekspresyonunu indükleyerek bitkilerde ağır metal toleransının geliştirilmesine neden olabilmektedir (Singh vd., 2016; Li vd., 2022). (Şekil 1).



Şekil 1. Ağır metal stresine cevaben bitkilerde MAPK kaskadının aktifleşmesi.

Figure 1. Activation of the MAPK cascade in plants in response to heavy metal stress.

Birçok fosforilasyon alanı içerebilen transkripsiyon faktörleri, akış aşağı genlerin ekspresyonlarını regüle ederek ağır metal stresine yanıtı düzenleyip ağır metal tolerans ve akümüasyonunu artırabilmektedir (Li vd., 2022). WRKY proteinleri, transkripsiyon faktörleri süper ailesidir ve korunmuş amino asit dizisi WRKYGQK'dan oluşan domain içermektedir (Sheng vd., 2019). WRKY proteinleri, W-kutusuna bağlanarak stresle ilişkili genleri regüle edebilmektedir (Yuan vd., 2018). Bir WRKY

transkripsiyon faktörü olan WRKY13'ün kadmiyum stresi altında bir kadmiyum taşınımını kodlayan PDR8'in promotörüne direkt olarak bağlanıp transkripsiyonunu aktive ettiği ve kadmiyum stresinin WRKY13 ekspresyonunu indüklediği anlaşılmıştır. Arabidopsis'te WRKY13'ün aşırı eksprese edilmesi ile kadmiyum akümülyasyonunun azalıp toleransının arttığı tespit edilmiştir (Sheng vd., 2019).

MYB gen ailesi ise, bitkilerdeki en büyük transkripsiyon faktörü ailesidir. Yüksek oranda korunmuş MYB domaini içeren bitki MYB proteinleri, MYB domaini tekrarlarının sayısı baz alınıp 4 alt aile (1R-MYB/MYB ile ilgili, R2R3-MYB, R1R2R3-MYB ve 4R-MYB) olarak sınıflandırılmıştır. MYB domain proteinin R2R3 alt ailesinin bir üyesi olan MYB4 transkripsiyon faktörünün Arabidopsis'te aşırı eksprese edilmesiyle kadmiyum toleransının geliştiği ve kadmiyum akümülyasyonunun arttığı belirlenmiştir. Kadmiyum stresi altında MYB4'ün, PCS1 (Fitoşelatin Sentaz 1) ve MT1C (Metalloiyonein 1C) promotörlerine direkt olarak bağlanıp ekspresyonlarını artırdığı ve MYB4 aşırı ekspresyonunun antioksidan aktivitesini artırdığı gözlenmiştir (Agarwal vd., 2020).

Stres sinyal iletiminde önemli rol oynayan bZIP ailesi de lōsin fermuar dimerizasyon motifi (Kutu 1) adında temel bir bölge bulundurmaktadır. *Agrostis stolonifera* L. bitkisine kadmiyum uygulaması boyunca *bZIP43*'ün yukarı regüle olduğu, *bZIP06* ve *bZIP19* genlerinin ise düşük kadmiyum konsantrasyonlarında yukarı regüle olup yüksek konsantrasyonlarda aşağı regüle olduğu tespit edilmiştir (Yuan vd., 2018).

Bitkilerdeki en büyük transkripsiyon faktör ailesinden biri olan AP2/ERF ailesi, GCC-kutusu (GCCGCC) veya DRE/C-tekrarı elementlerine bağlanıp akış aşağı genleri regüle eden AP2/ERF domaini içermektedir. Bu transkripsiyon faktör ailesi, dizi benzerliğine göre ERF, AP2, DREB, RAV ve solist olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır. ERF alt ailesi, tek bir AP2 domaini ve etilene duyarlı faktör içermekteyken AP2 alt ailesi, çift AP2 domaini içermektedir. DREB alt ailesi ise bir AP2 domaini ve dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı protein bulundurmaktayken RAV alt ailesi de tek bir AP2 domaini ve buna ek olarak bir B3 domaini bulundurmaktadır. Solistler ise AP2 benzeri domain içermektedir. DREB transkripsiyon faktörleri ise, DRE/CRT cis düzenleyici elemente (cis acting element) bağlanarak akış aşağı genlerin transkripsiyonunu aktive edebilmektedir (Li vd., 2015).

Fitoşelatin ve metalloiyonein gibi metal şelatörleri, bitkilerde aşırı miktarda biriken ağır metallerin neden olduğu toksisiteyi azaltmak ve metal homeostazını korumak için büyük önem arz etmektedir (Jogawat vd., 2021). Glutasyon (GSH) türevli polipeptitler olan

fitoşelatinler (PC'ler), metalleri şelatlar ve metal homeostazında görev alırlar (Dennis vd., 2019). Sitozolde sentezlenip vakuollere kompleks halinde taşınan fitoşelatinlerin sentezinde fitoşelatin sentazlar (PCS) görev almaktadır. Ağır metal stresi altında fitoşelatin sentazlar aktive edilmekte ve fitoşelatinlerin sentezi gerçekleşmektedir. Şelatlayıcı bileşiklerde bulunan tiyol grubu, bu bileşiklerin şelatlama ve kompleks oluşturmalarına olanak vermektedir. Oluşan bu kompleksler daha sonra vakuollerde sekestre edilmektedir (Singh vd., 2016). Sitozolde üretilen PC-Cd komplekslerinin ABC taşıyıcıları ile taşınabildiği bilinmektedir. Fitoşelatinlerin metallerle oluşturduğu kompleksler, bitkileri metal toksisitesinden korumaktadır (Dennis vd., 2019). Metalloiyoneinler (MT'ler) ise, bitkilerde ağır metal stresine karşı direnç geliştirilmesinde ve reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda rol oynayan proteinlerdir. Sisteince zengin iki domaine sahip olan bitki metalloiyoneinleri, sistein kalıntılarının dağılımına göre dört gruba (MT1, MT2, MT3 ve MT4) ayrılabilir. Sisteince zengin olan bu proteinlerdeki sisteinlerin sülfidril grupları ağır metal iyonlarına bağlanarak toksik olmayan komplekslerin oluşmasını sağlayabilmektedir (Zhi vd., 2020). *EhMT1*'in (*Elsholtzia haichowensis* Sun metalloiyonein 1) sitoplazmada bakırı bağlayarak serbest bakır iyonu aktivitesini azaltıp sitoplazmik bileşenlerle etkileşimini engellediği bunun da ROS üretimini azalttığı öne sürülmektedir (Zhi vd., 2020). Bitkilerdeki metalloiyonein genlerinin ekspresyonları ağır metal stresiyle indüklenebilmektedir.

Hiperakümülatör Bitkiler ve Fitoremediasyon

Kontamine olmuş topraklarda yetişen bitkiler, ağır metal stresine karşı farklı stratejiler geliştirmiş ve bu stratejilere göre metal dışlayıcıları, indikatörleri ve akümülatörleri olmak üzere üç gruba ayrılmışlardır. Metal dışlayıcıları, sürgünlere ağır metal transferini engeller veya sürgünlerindeki ağır metal konsantrasyonunun düşük seviyelerde tutulmasını sağlar. Ama büyük miktarda ağır metali köklerde biriktirebilmektedir. Metal indikatörleri, toprak üstü dokularında metalleri biriktirir ve bitkideki metal konsantrasyonu, topraktaki metal seviyesini yansıtmaktadır. Metal akümülatörleri (hiperakümülatörler) ise topraktaki ağır metal konsantrasyonunu geçen seviyelerde metali toprak üstü kısımlarında biriktirebilmektedir. Akümülatör bitkiler, topraktan ağır metallerin uzaklaştırılmasını sağlayabilmektedir ve bu özellikleri sayesinde ağır metallerin uzaklaştırılmasında bitkilerin kullanımına dayanan fitoremediasyonda sıklıkla kullanılmaktadırlar (Özay & Mammadov, 2013).

Metallofitler olarak da bilinen hiperakümülatör bitkileri, hiperakümülatör olmayan ilişkili taksonlardan ayıran bazı ayırt edici özellikler mevcuttur. Hiperakümülatör olmayan bitkilere kıyasla

hiperakümülatör bitkiler, topraktan ağır metal alım oranı daha yüksek, kökten sürgüne translokasyonu daha hızlı ve yapraklarında ağır metalleri detoksifiye etme yetenekleri daha fazla olan bitkilerdir (Singh vd., 2016). Ağır metalleri vakuollerde tutarak ya da özel epidermal hücrelerde saklayarak ağır metal detoksifikasyonu yapan hiperakümülatörler, yüksek detoksifikasyon ve sekestrasyon yeteneklerinden dolayı fitotoksik etkilere maruz kalmadan toprak üstü organlarında büyük miktarlarda ağır metali konsantrasyon edebilmektedir (Mitra vd., 2014). Yüksek metal konsantrasyonlarında yetiştikleri halde strese dayalı herhangi bir toksisite semptomu göstermeyen hiperakümülatörler, ağır metalleri kökten daha çok sürgünlerinde biriktirmektedir. 10000 mg kg⁻¹'den fazla Mn ve Zn, 1000 mg kg⁻¹'den fazla As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Se veya 100 mg kg⁻¹ Cd konsantrasyonundan daha fazlasını biriktirebilen bitkiler metal hiperakümülatörü olarak sınıflandırılmaktadır (Syta vd., 2021). 400'den fazla bitki türü hiperakümülatör olarak tanımlanmış ve en fazla hiperakümülatör tür içeren bitki familyasının Brassicaceae familyası olduğu belirlenmiştir (Farraji vd., 2016). Bilinen metal hiperakümülatörlerinin büyük çoğunluğu nikel biriktirmekle birlikte diğer ağır metalleri biriktiren hiperakümülatör bitkilerin de olduğu bilinmektedir (Hanikenne & Nouet, 2011).

Çevreden ağır metallerin uzaklaştırılmasında hiperakümülatör bitkilerin kullanımı esasına dayanan fitoremediasyonda, kullanılacak bitkilerin seçiminde biyokonsantrasyon ve translokasyon faktörleri önem taşımaktadır. Biyokonsantrasyon faktörü (BCF), bitkiadaki ağır metal konsantrasyonunun, topraktaki ağır metal konsantrasyonuna oranını ifade etmektedir ve bitkilerin topraktan ağır metalleri uzaklaştırabilme yeteneğini göstermektedir. Translokasyon ya da taşıma faktörü (TF) ise, bitkinin sürgünündeki ağır metal konsantrasyonunun, kökteki ağır metal konsantrasyonuna oranıdır ve ağır metallerin kökten bitkinin diğer organlarına taşınabilme kabiliyetini belirtmektedir. Eğer bitkilerin BCF ve TF değerleri 1'den büyük olursa, fitoremediasyonda biyoakümülatör olarak kullanılabilirler (Takarina & Pin, 2017; Sürmen vd., 2019).

Bitkilerde ağır metallerin toleransı, alınımı, sekestrasyonu ve translokasyonunda görev alan genlerin manipülasyonu ile ağır metal stresine karşı direnç gösterebilen ve ağır metallerle kontamine olmuş alanların fitoremediasyonda kullanılabilir transgenik türler üretilmeye çalışılmıştır (Delangiz vd., 2020).

SONUÇ

Yangınlar ve volkanik patlamalar gibi doğal olayların yanı sıra, artan endüstrileşme ve birçok antropojenik etki toprak ve suda ağır metal kirliliğine sebep

olmaktadır. Bu kirlilik her ne kadar bitkilerde fizyolojik ve moleküler düzeyde tepkiler oluşturarak ürünlerde verim ve kalite kaybına yol açsa da, besin kaynağı olan bitkiler aracılığı ile farklı organizmalara da aktarılmaktadır. Bu durum hiç de azımsanmayacak sağlık problemlerini beraberinde getirmekte hatta bazı canlı türleri için biyolojik çeşitlilik konusunda tehdit oluşturmaktadır. Ağır metaller her bitki türünde benzer biyokimyasal tepkiler oluşturmazlar. Başka bir deyişle farklı bitki türleri farklı metallere karşı farklı tepkiler gösterirler. Aynı zamanda bitkilerin maruz kaldıkları ekolojik koşulların da farklı olması ağır metallerin bitkiler üzerindeki fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yanıtlarının aydınlatılmasını daha da zorlaştırmaktadır. Ağır metallere tolerans, bitkilerin metal iyonlarının alınımı önleyerek, onları hücre dışı boşlukta ya da sitoplazmada kompleks hale getirerek, şelatlayarak ve ağır metalleri vakuolde biriktirip hücre içerisinden spytulayarak toksik etkilerini azaltma yeteneklerini yansıtır. Bitkiler toksisiteye toleransı sağlamada belirtilen bu metabolik olayları gerçekleştirirken antioksidan enzimlerin ekspresyonu ve aktivasyonu ile oksidatif stresin ortaya çıkması ile oluşan sekonder hasarları önlemeye hatta düzeltmeye yönelik savunma sistemleri geliştirmektedirler.

Ağır metal bakımından kirliliğe topraklarda yetişen bitkiler dışlayıcıları, indikatörleri ve akümülatörleri olarak gruplandırılabilirler. Hiperakümülatörler, bitkilerde ağır metal tolerans mekanizmalarının anlaşılmasında ve özellikle toleransa dayanıklı transgenik türlerin oluşturulmasında örnek teşkil edebilecek bitki türleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Yüksek konsantrasyonlardaki ağır metalleri kendi bünyelerinde biriktirebilen hiperakümülatörler, ağır metallerin fitoremediasyonda da sıklıkla kullanılmaktadır.

Gerek artan nüfusun etkisi ile antropojenik faaliyetlerin gerekse sanayileşmenin artması ile dünyada ağır metal toksisitesinde önemli bir artış beklenmektedir. Her ne kadar ağır metal stresine karşı toleranslı ve duyarlı bitkilerde geliştirilen savunma sistemlerine ait fizyolojik düzeyde bazı olaylar aydınlığa kavuşmuş olsa da hücresel ve moleküler seviyede oldukça karmaşık olan stratejiler henüz bilinmemektedir. Çünkü ağır metallerin bitki dokuları veya hücreleri içine alımları, hareketlilikleri ve yer değiştirmeleri büyük ölçüde bitki türüne, ağır metal türüne ve ağır metallerin oksidasyon durumuna olduğu kadar konsantrasyonuna da bağlıdır. Strese karşı savunma stratejileri ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle laboratuvar koşullarında yürütülmektedir ve çok az bir kısmı kontrollü koşullar altında arazilerde gerçekleştirilmektedir. Laboratuvar çalışmalarından elde edilen olumlu sonuçlar, büyük oranda doğal ekosistemlerde karşılığını bulamamaktadır. Çünkü farklı bitkiler, farklı metallere karşı farklı tepkiler verirler ve

doğal ekosistemlerde sahip oldukları farklı büyüme koşulları strese gösterdikleri tepkileri etkiler. Bu durum, ağır metal stresinin bitkiler üzerinde oluşturduğu hücresel, fizyolojik ve moleküler yanıtların tespitini oldukça zorlaştırmaktadır.

KAYNAKLAR

- Agarwal, P., Mitra, M., Banerjee, S. & Roy, S. (2020).** MYB4 transcription factor, a member of R2R3-subfamily of MYB domain protein, regulates cadmium tolerance via enhanced protection against oxidative damage and increases expression of *PCSI* and *MTIC* in *Arabidopsis*. *Plant Science*, **297**, 110501. DOI: [10.1016/j.plantsci.2020.110501](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110501)
- Ahmad, R., Ali, S., Abid, M., Rizwan, M., Ali, B., Tanveer, A., Ahmad, I., Azam, M. & Ghani, M.A. (2020).** Glycinebetaine alleviates the chromium toxicity in *Brassica oleracea* L. by suppressing oxidative stress and modulating the plant morphology and photosynthetic attributes. *Environmental Science & Pollution Research*, **27**(1), 1101-1111. DOI: [10.1007/s11356-019-06761-z](https://doi.org/10.1007/s11356-019-06761-z)
- Brunetti, P., Zanella, L., De Paolis, A., Di Litta, D., Cecchetti, V., Falasca, G., Barbieri, M., Altamura, M.M., Costantino, P. & Cardarelli, M., (2015).** Cadmium-inducible expression of the ABC-type transporter *AtABCC3* increases phytochelatin-mediated cadmium tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, **66**(13), 3815-3829. DOI: [10.1093/jxb/erv185](https://doi.org/10.1093/jxb/erv185)
- Chandrakar, V., Pandey, N. & Keshavkant, S. (2018).** Plant responses to arsenic toxicity: morphology and physiology. In: *Mechanisms of arsenic toxicity and tolerance in plants, 1st ed.*, Springer Singapore, pp. 27-48. DOI: [10.1007/978-981-13-1292-2_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1292-2_2)
- Chaturvedi, R., Talwar, L., Malik, G. & Paul, M.S. (2020).** Heavy metal-induced toxicity responses in plants: an overview from physicochemical to molecular level. *Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals*, pp. 69-88. DOI: [10.1007/978-3-030-45975-8_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-45975-8_5)
- Chen, Q., Zhang, X., Liu, Y., Wei, J., Shen, W., Shen, Z. & Cui, J. (2017).** Hemin-mediated alleviation of zinc, lead and chromium toxicity is associated with elevated photosynthesis, antioxidative capacity; suppressed metal uptake and oxidative stress in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, **81**(2), 253-264. DOI: [10.1007/s10725-016-0202-y](https://doi.org/10.1007/s10725-016-0202-y)
- Dalvi, A.A. & Bhalerao, S.A. (2013).** Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. *Annals of Plant Sciences*, **2**(9), 362-368.
- Delangiz, N., Khoshru, B., Asgari Lajayer, B., Ghorbanpour, M. & Kazemalilou, S. (2020).** Molecular mechanisms of heavy metal tolerance in plants. *Cellular & Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals*, 125-136. DOI: [10.1007/978-3-030-45975-8_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-45975-8_8)
- Dennis, K.K., Uppal, K., Liu, K.H., Ma, C., Liang, B., Go, Y.M. & Jones, D.P. (2019).** Phytochelatin database: a resource for phytochelatin complexes of nutritional and environmental metals. *Database*, 2019. DOI: [10.1093/database/baz083](https://doi.org/10.1093/database/baz083)
- Dutta, S., Mitra, M., Agarwal, P., Mahapatra, K., De, S., Sett, U. & Roy, S. (2018).** Oxidative and genotoxic damages in plants in response to heavy metal stress and maintenance of genome stability. *Plant Signaling & Behavior*, **13**(8), e1460048. DOI: [10.1080/15592324.2018.1460048](https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1460048)
- Farraji, H., Zaman, N.Q., Tajuddin, R. & Faraji, H. (2016).** Advantages and disadvantages of phytoremediation: A concise review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, **2**, 69-75.
- Fu, S., Lu, Y., Zhang, X., Yang, G., Chao, D., Wang, Z., Shi, M., Chen, J., Chao, D.Y., Li, R., Ma, J.F. & Xia, J. (2019).** The ABC transporter ABCG36 is required for cadmium tolerance in rice. *Journal of Experimental Botany*, **70**(20), 5909-5918. DOI: [10.1093/jxb/erz335](https://doi.org/10.1093/jxb/erz335)
- Ghori, N.H., Ghori, T., Hayat, M.Q., Imadi, S.R., Gul, A., Altay, V. & Ozturk, M. (2019).** Heavy metal stress and responses in plants. *International Journal of Environmental Science & Technology*, **16**(3), 1807-1828. DOI: [10.1007/s13762-019-02215-8](https://doi.org/10.1007/s13762-019-02215-8)
- Gill, M. (2014).** Heavy metal stress in plants: a review. *International Journal of Advanced Research*, **2**(6), 1043-1055.
- Haider, F.U., Liqun, C., Coulter, J.A., Cheema, S.A., Wu, J., Zhang, R., Wenjun, M. & Farooq, M. (2021).** Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, **211**, 111887. DOI: [0.1016/j.ecoenv.2020.111887](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887)
- Hanikenne, M. & Nouet, C. (2011).** Metal hyperaccumulation and hypertolerance: a model for plant evolutionary genomics. *Current Opinion in Plant Biology*, **14**(3), 252-259. DOI: [10.1016/j.pbi.2011.04.003](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.003)

- Hou, D., O'Connor, D., Igalavithana, A.D., Alessi, D.S., Luo, J., Tsang, D.C.W., Sparks, D.L., Yamauchi, Y., Rinklebe, J. & Ok, Y.S. (2020). Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability. *Nature Reviews Earth & Environment*, *1*(7), 366-381. DOI: [10.1038/s43017-020-0061-y](https://doi.org/10.1038/s43017-020-0061-y)
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.X., Yi, M. & Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 800. DOI: [10.3389/fpls.2019.00800](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800)
- Huo, K., Shangguan, X., Xia, Y., Shen, Z. & Chen, C. (2020). Excess copper inhibits the growth of rice seedlings by decreasing uptake of nitrate. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, *190*, 110105. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2019.110105](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110105)
- Jogawat, A., Yadav, B. & Narayan, O.P. (2021). Metal transporters in organelles and their roles in heavy metal transportation and sequestration mechanisms in plants. *Physiologia Plantarum*, *173*(1), 259-275. DOI: [10.1111/ppl.13370](https://doi.org/10.1111/ppl.13370)
- Kaya, C., Ashraf, M., Alyemeni, M.N., Corpas, F.J. & Ahmad, P. (2020). Salicylic acid-induced nitric oxide enhances arsenic toxicity tolerance in maize plants by upregulating the ascorbate-glutathione cycle and glyoxalase system. *Journal of Hazardous Materials*, *399*, 123020. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2020.123020](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123020)
- Khaliq, A., Ali, S., Hameed, A., Farooq, M.A., Farid, M., Shakoor, M.B., Mahmood, K., Ishaque, W. & Rizwan, M. (2016). Silicon alleviates nickel toxicity in cotton seedlings through enhancing growth, photosynthesis, and suppressing Ni uptake and oxidative stress. *Archives of Agronomy & Soil Science*, *62*(5), 633-647. DOI: [10.1080/03650340.2015.1073263](https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1073263)
- Kireççi, O.A. (2018). Bitkilerde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, *7*(2), 473-483. DOI: [10.17798/bitlisfen.463251](https://doi.org/10.17798/bitlisfen.463251)
- Li, M.Y., Xu, Z.S., Huang, Y., Tian, C., Wang, F. & Xiong, A.S. (2015). Genome-wide analysis of AP2/ERF transcription factors in carrot (*Daucus carota* L.) reveals evolution and expression profiles under abiotic stress. *Molecular Genetics & Genomics*, *290*(6), 2049-2061. DOI: [10.1007/s00438-015-1061-3](https://doi.org/10.1007/s00438-015-1061-3)
- Li, S., Han, X., Lu, Z., Qiu, W., Yu, M., Li, H., He, Z. & Zhuo, R. (2022). MAPK Cascades and Transcriptional Factors: Regulation of Heavy Metal Tolerance in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(8), 4463. DOI: [10.3390/ijms23084463](https://doi.org/10.3390/ijms23084463)
- Mahey, S., Kumar, R., Sharma, M., Kumar, V. & Bhardwaj, R. (2020). A critical review on toxicity of cobalt and its bioremediation strategies. *SN Applied Sciences*, *2*(7), 1-12. DOI: [10.1007/s42452-020-3020-9](https://doi.org/10.1007/s42452-020-3020-9)
- Mitra, A., Chatterjee, S., Datta, S., Sharma, S., Veer, V., Razafindrabe, B.H., Walther, C. & Gupta, D.K. (2014). Mechanism of metal transporters in plants. In: *Heavy metal remediation: transport & accumulation in plants*, Nova Science Publisher Inc, pp.1-28.
- Modareszadeh, M., Bahmani, R., Kim, D. & Hwang, S. (2021). CAX3 (cation/proton exchanger) mediates a Cd tolerance by decreasing ROS through Ca elevation in Arabidopsis. *Plant Molecular Biology*, *105*(1), 115-132. DOI: [10.1007/s11103-020-01072-1](https://doi.org/10.1007/s11103-020-01072-1)
- Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., & Sreekanth, T.V.M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, *8*(3): 199-216. DOI: [10.1007/s10311-010-0297-8](https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8)
- Okant, M. & Kaya, C. (2019). The role of endogenous nitric oxide in melatonin-improved tolerance to lead toxicity in maize plants. *Environmental Science & Pollution Research*, *26*(12), 11864-11874. DOI: [10.1007/s11356-019-04517-3](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04517-3)
- Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Elbasan, F., Kucukoduk, M. & Turkan, I. (2020). Hydrogen sulfide (H₂S) and nitric oxide (NO) alleviate cobalt toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) by modulating photosynthesis, chloroplastic redox and antioxidant capacity. *Journal of Hazardous Materials*, *388*, 122061. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2020.122061](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122061)
- Özay, C. & Mammadov, R. (2013). Ağır Metaller ve Süs Bitkilerinin Fitoremediasyonda Kullanılabilirliği. *Bahkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *15*(1), 68-77.
- Rahman, M., Lee, S.H., Ji, H.C., Kabir, A.H., Jones, C.S. & Lee, K.W. (2018). Importance of mineral nutrition for mitigating aluminum toxicity in plants on acidic soils: current status and opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(10), 3073. DOI: [10.3390/ijms19103073](https://doi.org/10.3390/ijms19103073)
- Shaari, N.E.M., Tajudin, M.T.F.M., Khandaker, M.M., Majrashi, A., Alenazi, M.M., Abdullahi, U.A. & Mohd, K.S. (2022). Cadmium toxicity symptoms and uptake mechanism in plants: a review. *Brazilian Journal of Biology*, *84*, 1-17. DOI: [10.1590/1519-6984.252143](https://doi.org/10.1590/1519-6984.252143)

- Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M. & Pinelli, E. (2014). Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **232**, 1-44. DOI: [10.1007/978-3-319-06746-9_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-06746-9_1)
- Sheng, Y., Yan, X., Huang, Y., Han, Y., Zhang, C., Ren, Y., Fan, T., Xiao, F., Liu, Y. & Cao, S. (2019). The WRKY transcription factor, WRKY13, activates PDR8 expression to positively regulate cadmium tolerance in Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment*, **42**(3), 891-903. DOI: [10.1111/pce.13457](https://doi.org/10.1111/pce.13457)
- Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V.P. & Prasad, S.M. (2016). Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Frontiers in Plant Science*, **6**, 1143. DOI: [10.3389/fpls.2015.01143](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143)
- Sürmen, B., Kılıç, D.D., Kutbay, H.G. & Tuna, E.E. (2019). Doğal olarak yayılış gösteren *Lepidium draba* L. türünün fitoremediasyon yönteminde kullanılabilirliğinin araştırılması. *Avrupa Bilim & Teknoloji Dergisi*, **17**, 491-499. DOI: [10.31590/ejosat.624424](https://doi.org/10.31590/ejosat.624424)
- Sytar, O., Ghosh, S., Malinska, H., Zivcak, M. & Brestic, M. (2021). Physiological and molecular mechanisms of metal accumulation in hyperaccumulator plants. *Physiologia Plantarum*, **173**(1), 148-166. DOI: [10.1111/ppl.13285](https://doi.org/10.1111/ppl.13285)
- Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzalka, K. & Prasad, M.N.V. (2013). Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, **35**(4), 985-999. DOI: [10.1007/s11738-012-1169-6](https://doi.org/10.1007/s11738-012-1169-6)
- Takarina, N.D. & Pin, T.G. (2017). Bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) of heavy metals in mangrove trees of Blanakan fish farm. *Makara Journal of Science*, pp. 77-81. DOI: [10.7454/mss.v21i2.7308](https://doi.org/10.7454/mss.v21i2.7308)
- Yuan, J., Bai, Y., Chao, Y., Sun, X., He, C., Liang, X., Xie, L. & Han, L. (2018). Genome-wide analysis reveals four key transcription factors associated with cadmium stress in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera* L.). *PeerJ*, **6**, e5191. DOI: [10.7717/peerj.5191](https://doi.org/10.7717/peerj.5191)
- Zhi, J., Liu, X., Yin, P., Yang, R., Liu, J. & Xu, J. (2020). Overexpression of the metallothionein gene PaMT3-1 from *Phytolacca americana* enhances plant tolerance to cadmium. *Plant Cell, Tissue & Organ Culture (PCTOC)*, **143**(1), 211-218. DOI: [10.1007/s11240-020-01914-2](https://doi.org/10.1007/s11240-020-01914-2)
- Zulfiqar, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., Ahmad, M. & Anjum, M.Z. (2019). Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of Environmental Management*, **250**, 109557. DOI: [10.1016/j.jenvman.2019.109557](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109557)