



## Bakır Toksisitesinin Bitkilerde Fizyolojik, Morfolojik, Biyokimyasal ve Transkripsiyonel Düzeydeki Etkileri

Duygu KAFKASYALI

Sorumlu yazar: [duyguere1997@gmail.com](mailto:duyguere1997@gmail.com)

Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, ANKARA  
Orcid No: 0000-0002-5134-1046 / [duyguere1997@gmail.com](mailto:duyguere1997@gmail.com)

**Öz:** Bakır (Cu) tüm canlılar için gerekli bir metaldir. Bitkilerde bakır, birçok metalo-protein için temel bir kofaktördür ve çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik süreçlere katılır. Ancak farklı konsantrasyonlarda toksik etki oluşturabilir. Bitkiler genelde bakır toksisitesine çok duyarlıdır. Dokulardaki bakır seviyesi normal seviyelerden biraz daha yüksek olduğunda metabolik bozulmalara sebep olurlar ve bitkinin büyümesini engellerler. Yüksek konsantrasyondaki bakır, çok sayıda enzimi inhibe etmektedir; fotosentez, pigment sentezi ve zar bütünlüğü dahil olmak üzere bitki biyokimyasını etkiler. Hücrede biriken bakır, membran lipidlerini içeren peroksidasyon zincir reaksiyonunu başlatan serbest radikallerin üretimine yol açar ve fotosentetik elektron taşınmasının engellenmesine neden olur. Aşırı bakır, reaktif oksijen türlerini (ROS) artırarak bitkilerde oksidatif strese neden olabilir. Bakır, hücre solunum, yağ asidi ve protein metabolizması ve nitrojen fiksasyonu da dahil olmak üzere bitki fizyolojisi üzerinde geniş bir etkiye sahiptir. Bitkisel büyümede etkili bir inhibitördür ve genellikle yaşlanma semptomlarına neden olur. Bu çalışmada; yüksek konsantrasyondaki bakırın, bitki morfolojisi, fizyolojisi ve biyokimyası üzerindeki etkilerinin yanı sıra, transkripsiyonel seviyede de etkileri incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakır toksisitesi, Transkripsiyonel faktörler, ROS

## Physiological, Morphological, Biochemical and Transcriptional Effects of Copper Toxicity in Plants

**Abstract:** Copper (Cu) is an essential metal for all living things, in plants copper is an essential cofactor for many metal-proteins and participates in various biochemical and physiological processes. However, it may produce toxic effects in different concentrations. Plants are generally very sensitive to copper toxicity. When the copper level in the tissues is slightly higher than normal levels, they cause metabolic disruptions and inhibit the growth of the plant. High quantity of copper may lead to the inhibition of many enzymes; it influences plant biochemistry, consisting of photosynthesis, pigment synthesis, and membrane stability. Copper that accumulates in the cell leads to the generation of free radicals triggering the peroxidation chain reaction including membrane lipids and causes the inhibition of photosynthetic electron transportation. Excess copper may lead to oxidative stress in plants by increasing reactive oxygen species (ROS). Copper has a broad effect on plant physiology, including its interaction with fatty acid and protein metabolism, inhibition of cellular respiration and nitrogen fixation. It is an efficient inhibitor of vegetative growth and often causes symptoms of senescence. In this study; in addition to the effects of high concentrations of copper on plant morphology, physiology and biochemistry, its effects at the transcriptional level were also studied.

**Keywords:** Copper toxicity, Transcription factors, ROS

### 1. Giriş

Bakır (Cu), atom numarası 29, atom kütlesi 63.5 g mol<sup>-1</sup> ve yoğunluğu 8.96 g/cm<sup>3</sup> olan kahverengi bir geçiş metalidir ve ağır metallere biridir. Bakır, ikili doğası olmasından dolayı bitkilerde çok araştırılan

bir metal olmuştur. Bakır, bitki büyümesi için gerekli olan sekiz temel mikro besin öğesinden biridir (Nazir ve ark., 2019). Birçok proteinin yapısal bir bileşeni olarak görev alır. Hücre duvarı metabolizması, fotosentetik elektron taşınması, oksidatif

stres yanıtları, protein sentezi, hormon sinyallenmesi, mitokondriyal solunum gibi birçok rolde görevi bulunur (Nazir ve ark., 2019; Zhang ve Li, 2019). Bakırın kolayca indirgenip yükseltgenebilmesinden dolayı lakkaz, sitokrom c oksidaz, polifenol oksidaz, Cu / Zn süperoksit dismutaz, amino oksidaz ve plastosiyanin gibi birçok enzimde kofaktör görevi görür (Nazir ve ark., 2019; Zhang ve Li, 2019). Kofaktör olarak bakır içeren bu enzimlerin bazıları stres koşullarında önemli bir rol oynar (Zhang ve Li, 2019). Bitkinin metabolizmasının etkili çalışmasında bakır gerekli bir mikrobeseindir. Çünkü oksidatif fosforilasyon, protein trafiği ve sinyalle düzenlenmiş transkripsiyon, lipid ve demir metabolizmaları ile ilişkilendirilmiştir (Nazir ve ark., 2019; Zhang ve Li, 2019).

Bakır mikrobesein olarak hücrenel fonksiyonları sağlayabilmek amacıyla optimum seviyede bitkiler için gerekirken, fazla miktarda bulunduğunda toksik olup, bitkinin birincil üretiminde ve hayatta kalmasında olumsuz etkilere neden olabilir. Eksikliği durumunda bitkinin genç yapraklarında kloroz veya farklı renklenme, büyüme ve gelişmede azalma gibi durumlar meydana gelebilir. Bitkiler  $Cu^{+2}$  eksikliği olan koşullarda yaşayabilir ve bu duruma dayanabilir. Ancak  $Cu^{+2}$  miktarı optimum seviyeyi geçtiğinde bitkilerin sahip olduğu metabolizmayı bozarak bitki için toksik duruma gelir. Fazla bakır, bitki büyümesini

ve gelişimini azaltarak, topraktan besinleri emerek, pigment içeriğini, kök büyümesini ve yaprak genişlemesini azaltarak fotosentezi büyük ölçüde engeller (Lillo ve ark., 2019; Zhang ve Li, 2019). Ayrıca fazla bakır, hücrenel temel bileşenlerinin (proteinler, lipidler, DNA, RNA vb.) normal işleyişini bozar (Ameh ve Sayes, 2019). Bakır elementinin  $Cu^{+}$  ve  $Cu^{+2}$  olması halinde yüksek seviyede toksik reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve diğer hidroksil radikaller artar. Serbest kalan kökler, DNA, RNA, proteinler, lipidler gibi önemli biyomolekülleri oksitleyebilir ve yok edebilir. Proteinlerin oksidasyonunun geri dönüşü olmaması sebebiyle bitkinin biyomoleküllerindeki bu oksidatif hasarlar, oksidatif stres ve ROS için biyobelirteç olarak kullanılır (Lillo ve ark., 2019; Zhang ve Li, 2019).

## 2. Bakırın Bitkilerdeki Rolü

Bakır, bitki beslenmesi için gereklidir ve hücre metabolizması için hayati önem taşıyan birçok enzim için yeri doldurulamaz bir rol oynar (Asada ve ark., 1977; Shkolnik, 1984). Bakır içeren metaloenzimlerin çoğu,  $O_2$ 'nin bir elektron alıcısı olduğu,  $H_2O_2$  veya  $H_2O$ 'ya indirgendiği redoks reaksiyonlarının katalizine katılır (Shkolnik, 1984). Genel olarak, bakır oksidaz daha yüksek bir redoks potansiyeline sahiptir, bu da  $Cu^{+}$ 'nın stabil olduğunu ve daha yüksek redoks potansiyeline sahip bir oksidanla ( $O_2$  gibi)

reaksiyonu teşvik ettiğini gösterir. Tripsin, lakkaz, askorbat oksidaz, monoamin ve diamin oksidaz, D-galaktoz oksidaz ve sitokrom oksidaz içinde durum böyledir (Clarkson ve Hanson, 1980).

Bitkilerde bakırın diğer önemli rollerinden biride, esas olarak yüksek kara bitkilerin kloroplastları ile ilgili olan bir bakır ve çinko enzimi olan süperoksit dismutazdır (Asada ve ark., 1977). Oksidaz fonksiyonu olmayan ana bakır redoks proteini, indirgeme kabiliyetinde fotosistem I'e (PSI) eşdeğer olan plastosiyanindir. (Clarkson ve Hanson, 1980). Bakırın fotosentezdeki rolü, sitokrom oksidazın doğal bir bileşeni olmasıyla ilişkilidir (Shkolnik, 1984).

Optimum koşullar altında kloroplastlar; yaprakta bulunan bakırının % 35 ile 90'ını biriktirmektedir (Lastra ve ark., 1987). Bakırın çok büyük miktarı (yaklaşık yarısı) plastosiyanin olarak kloroplastta yer alır. Bakırın tilakoidin zar yapısının korunmasında önemli bir rol oynadığı gözlenmiştir (Henriques, 1984; Henriques, 1989; Lastra ve ark., 1987).

Bakırın baklagil kökleri tarafından atmosferdeki N<sub>2</sub>'un simbiyotik fiksasyonu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Shkolnik, 1984).

### 3. Bitkilerde Bakır Toksisitesi

Aşırı bakır birikimi bitki büyümesini ve metabolizmasını etkileyerek bitkide strese neden olur (Raldugina ve ark., 2016;

Baldi ve ark., 2018a; Gong ve ark., 2019; Marques ve ark., 2019). Bakır aracılı büyümenin azalması, *Brassica napus* (Mwamba ve ark., 2016), *Mühle zosteria* (Buapet ve ark., 2018) ve *Phaeolus vulgaris* (Mwamba ve ark., 2016) gibi farklı bitki türlerinde kanıtlanmıştır. Bitki köklerine yönelik bakırın neden olduğu toksisite, toprak besinini ve su emilimini etkiler (Michaud ve ark., 2008). Bakırın bitki köklerindeki birikimi, kök gelişiminde inhibe edici bir etki göstermektedir (Michaud ve ark., 2008). Ancak, Cu ile indüklenen kök uzaması inhibisyonunun mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Bakırın toksisitesi önce köklerde meydana gelir, ardından bitkinin diğer kısımlarında çeşitli fizyolojik süreçleri etkiler; gecikmiş kök büyümesine, daha az dallanmaya, daha koyu renge, zayıf büyümeye ve daha az kalınlaşmaya neden olur (Marques ve ark., 2019; Cambrollé ve ark., 2013; Sheldon ve Menzies, 2005; Kopittke ve ark., 2011). Kökün büyümesindeki azalma genelde kök epidermisinin ayrıca dış kabuğunun yırtılmasıyla ilgilidir (Kopittke ve ark., 2011). Bu nedenle, aşırı bakır genellikle *Triticum aestivum* gibi bitkilerde fosfor eksikliğiyle ilişkilendirilmektedir (Rose ve ark., 2016). Bazı çalışmalar ayrıca bakıra maruz kalmanın bitki kökleri üzerinde hiç etkisi olmadığını veya çok az etkisi olduğunu da bildirmiştir. Örneğin; ıspanağa

100 mg L<sup>-1</sup> Cu verildiğinde toplam kök ucu sayısını, kök uzunluğunu ve kök yüzey alanını değiştirmediği belirtilmiştir (Gong ve ark., 2019). Başka bir çalışmada da ıspanak kökü büyümesi hakkında benzer bulgular elde edilmiştir (Singh ve Kumar, 2016). Literatürdeki bazı kaynaklara göre; bakır stresi altında hardal köklerinin uzunluğunda, 0.75 mM bakır uygulamasında bir azalma grlmştir (Yadav ve ark., 2018). Toprakta 271 mg kg<sup>-1</sup> Cu varlığı, turunçgil bitkilerinin kuru kök ağırlığında %20'lik bir azalma olduğunu göstermiştir (Kumar ve ark., 2000). Azalmış kök büyümesinin potasyum ve fosfor alımını önemli derecede azalttığı ve bunun asıl sebebinin kk bitki köklerinin tam gelişmiş köklere göre daha az hacimde toprak kaplamaları olduğu belirtilmiştir (Baldi ve ark., 2018a; Baldi ve ark., 2018b; Kumar ve ark., 2019; Lwalaba ve ark., 2019). Fazla bakırın, fasulye bitkilerinin genç yapraklarında antioksidan enzim sisteminin aktivitesini değiştirdiğini ve toksisitesinin bitki homeostazında bozulmaya neden olduğu bilinmektedir (Bouazizi ve ark., 2010).

Yüksek konsantrasyondaki bakırın *Arabidopsis*'te nitrojen alımını ve birikimini önemli lde azalttığı bilinmektedir. Azot alımındaki bakır aracılı azalmanın temel olarak düşük afiniteli nitrat taşıyıcısının, nitrat redüktaz kodlamasının ve *bZIP* transkripsiyon faktörlerinin (*TGAI* ve *TGA4*) aşağı regülasyonundan

kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu genler, nitrat taşıyıcılarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Hippler ve ark., 2018).

Bakırın hücrelerdeki birikimi, bitki pigment içeriğini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle; fotosentez süreci de olumsuz etkilenmektedir. Bazı alışmalar, azalmış pigment içeriğinin ve bozulmuş fotosentezin bakır toksisitesini etkileyen ana faktörlerden biri olduğunu bildirmiştir (Jaime-Prez ve ark., 2019; Lwalaba ve ark., 2019). Bakırın, fotosentetik membran pigmentlerinin ve proteinlerinin bileşimini etkileyerek fotosentetik enzimlerin sentezini inhibe ettiği bulunmuştur (Bazihizina ve ark., 2015; Silva ve ark., 2018). Yeni yapılan bir çalışmada kırk gün boyunca 100 mg kg<sup>-1</sup> bakıra maruz bırakılan domates bitkilerinin pigment içeriğini ve fotosentetik aktivitesini önemli miktarda azalttığı grlmştir. Ayrıca domates bitkilerinin stomaların hareketini ve antioksidan aktivasyonunu etkilediği gösterilmiştir (Nazir ve ark., 2019). Fotosistem II (PSII) verimliliği, karbondioksit difüzyonu, ROS retimi, elektron taşınması (Gong ve ark., 2019) ve fotorespirasyon (Baldi ve ark., 2018a; Ameh ve Sayes, 2019; Marcec ve ark., 2019) gibi bitki fotosenteziyle ilgili faktörler de bakır toksisitesinden etkilenmektedir (Ryszka ve ark., 2019). Bakıra (100µM) maruz kalmanın arpanın transpirasyon ve fotosentez hızını da büyük lde azalttığı bilinmektedir (Lwalaba ve ark., 2019).

*Peltophorum dubium*'da Cu ile kirlenmiş toprağın fotosentez, ışık kararlılık noktası, transpirasyon, karanlık solunum frekansı, ışık doygunluk noktası ve maksimum net fotosentez hızı gibi gaz değişim parametreleri üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğunu bildirilmiştir (Marques ve ark., 2019). Son zamanlarda, Cu'nun *Rhodospirillum rubrum*'un pigment içerikleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiş ve 2 µM Cu'nun *Rhodospirillum rubrum*'un büyüme ve fotosentetik reaksiyon merkezlerinde önemli bir azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir (Jaime-Pérez ve ark., 2019).

Bakır, ROS oluşumunu artırarak fotosentez ve bitki pigmentlerinde toksisiteye neden olur (Gong ve ark., 2019). ROS'un fotosentetik elektron taşıma sisteminde elektron akışını etkilediği ayrıca fotosentez sürecine etki ettiği gösterilmiştir (Shahid ve ark., 2015). Aşırı miktarda hidrojen peroksit üretimi, PSII proteinindeki sentezini etkilediği bunun sonucunda kloroplasttaki membrana hasar verdiği kanıtlanmıştır (Gomes ve ark., 2014).

Bitkilerin aşırı miktarda bakıra maruz kalması, genellikle nekroz, solma, kloroz ve yavaş bitki büyümesi gibi çeşitli toksik semptomlara neden olur (Ameh ve Sayes, 2019; Marques ve ark., 2019). Bakır toksisitesinin en yaygın semptomu olarak yaprak klorozu gösterilmiştir (Michaud ve ark., 2008; Bouazizi ve ark., 2010). Kloroz,

beyaz lezyon ya da lekelerle görülebilir. Bakır miktarının fazla olması durumunda yaprak uçlarında, yaprak kenarlarında nekrotik görünüme sebep olur (Bouazizi ve ark., 2010; Ameh & Sayes, 2019).

#### **4. Bakırın Bitki Hücrelerine Biyokimyasal, Fizyolojik ve Morfolojik Etkileri**

Bitkilerde, birkaç normal aerobik biyokimyasal reaksiyonun yan ürünleri, doğal olarak hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi farklı ROS formları üretir (Shahid ve ark., 2015; Du ve ark., 2019). Biyokimyasal reaksiyonlar arasında solunum ve fotosentez de sayılabilir ve reaksiyonlar mitokondri, peroksizom ve kloroplastlarda gerçekleşir (Pourrut ve ark., 2011; Du ve ark., 2019; Shahid ve ark., 2015; Marcec ve ark., 2019). *Spinacia oleracea*'dan izole edilen kloroplastlarda fotosentetik elektron taşınmasının inhibisyonu gözlenmemiştir. Bunun sonucunda, bakır iyonlarının direkt elektron taşınmasına dahil olmadığı fakat fotosentetik membranda yapısal değişikliklere neden olduğu ve elektron akışının engellenmesine neden olan membran proteinine bağlandığı düşünülmektedir (Baszynski ve ark., 1982; Marcec ve ark., 2019).

Bakır, redoks aktif bir metaldir ve bitkilerdeki farklı reaksiyonlar yoluyla ROS üretimini etkilemektedir; ROS normal olan metabolik koşullarda patojenlere karşı

savunma, hücre duvarı lignifikasyonu, gen ifadesi yoluyla apoptozun indüksiyonu ve algılanması ile stres koşullarına adaptasyon gibi temel işlevlerle ilişkilidir (Neill ve ark., 2002; Pourrut ve ark., 2011). Ayrıca bitkilerde stres sinyali, meyve olgunlaşmasını, sistemik tepkileri, yaşlanmayı ve hücre ölümünü, redoks seviyelerini, gelişmenin kontrolünü sağlar (Pourrut ve ark., 2011; Qi ve ark., 2017; Noctor ve ark., 2018; Fichman ve ark., 2019; Marcec ve ark., 2019). ROS'un da çok üretilmesi canlı hücrelerde oksidatif hasara neden olur (Krayem ve ark., 2018; Younis ve ark., 2018; Sharma ve ark., 2019). Bu yüzden oksidatif stres biyolojik metabolizmalarda kendiliğinden ortaya çıkan fizyokimyasal bir durumdur. ROS üretiminin artmasıyla DNA, proteinler ve lipidler gibi temel makromoleküllerde oksidatif hasar meydana gelir (Srinivas ve ark., 2018). Bu nedenle ROS artışı birtakım organellerin hasarına da neden olmaktadır (Shahid, 2017).

Lipidler, organellerin ve hücrelerin bütünlüğünü ve bileşimini korumak, hücre zarlarını oluşturmak ve hücre metabolizması için enerji sağlamak gibi birçok biyokimyasal süreçte anahtar rol oynadıklarından çok önemli hücresel bileşenler olarak kabul edilirler. Daha yüksek ROS seviyeleri nerdeyse tüm hücresel makromolekülleri yok edebilir ve bu durum lipid peroksidasyon sürecinin

başlamasına neden olabilir (Yalçınkaya ve ark., 2019). Lipid peroksidasyonu, aşırı metallere kaynaklı ROS üretiminin bir sonucudur ve bitkideki oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilir (Kapoor ve ark., 2019). Bitkilerdeki plazma zarları, ağır metal toksisitesinin ana hedefidir (Natasha ve ark., 2020) ve ROS hücre zarı üzerinde hasarlara neden olabilir (Pourrut ve ark., 2011; Younis ve ark., 2018).

ROS üretiminin artması yağ asidi zincirlerindeki hidrojen atomlarına bir atak yapar böylelikle aldehitler ve lipid radikalleri oluşur. Bu oluşumlar sonucunda plazma zarında işlevsellik ve bütünlük bozulur. Hidrojen peroksit ve süperoksit lipid peroksidasyonunu başlatabilir ancak sadece hidroksil radikali, demir ve bakır varlığında peroksidasyonu etkileyecek kadar reaktiftir (Yalçınkaya ve ark., 2019). MDA (malondialdehit) ve TBARS (Tiobarbitürik asit reaktif maddeler), membranlardaki polidoymuş yağ asitlerinin ayrışması sonucunda ortaya çıkar aynı zamanda lipid peroksidasyonunun da bir göstergesi olarak bilinirler. Bakırdan kaynaklanan membran hasarından dolayı membranındaki geçirgenliğin artmasına ve lipid peroksidasyonuna sebep olmaktadır (Cao ve ark., 2017; Nanda ve Agrawal, 2018; Younis ve ark., 2018).

*Deschampsia caespitosa*'da bakırın, kök asit fosfatazı ve *Silene vulgaris*'te nitrat redüktaz ve fenol oksidazı inhibe ettiği

gösterilmiştir. Bakırın hücre metabolizmasında zararlı etkisi genellikle enzim üzerinde inhibitör etki yaratmasından kaynaklanmaktadır. Olumsuz etkilerin çoğu, bakırın enzimatik aktivite için gerekli olan SH gruplarına geri döndürülemez şekilde bağlanmasından kaynaklanmaktadır (Larcher, 1980).

Bakırın toksisitesi kök büyümesini ve morfolojisini büyük ölçüde etkiler çünkü kök dokularında birikme eğilimindedir ve sürgünlere aktarılabilir (Zhang ve ark., 2015). Bakır toksisitesinin genel görsel semptomları arasında kök büyümesinin engellenmesi, orta yaprakların klorozu, yaprak solması, nekrotik yaprak uçları ve kök anormallikleri sayılabilir. (Chen ve diğerleri, 2015; Jung ve ark., 2015). Aşırı bakır içeriği bitki köklerinde, kök epidermisinin bozulması, kök tüylerinin yayılmasının azalması ve ciddi kök yapısı deformasyonunu gibi semptomlar meydana getirir (Sheldon ve Menzies, 2005). Düşük konsantrasyonlarda, bakır bir bitki mikro besin maddesidir, mahsul verimi ve biyokütle düşmeye devam ederken görünür semptomlar daha az belirgin veya tespit edilemez olabilir (Marschner, 1995). Bir çalışmada bakırın *Hydrangea citronella* üzerindeki toksik etkisine dikkat çekerek elde edilen sonuçlardan, Cu'nun 200 mg kg<sup>-1</sup> muamelesi altında bitkinin büyümesi ve kök morfolojisi için uygun olduğunu, Cu'nun 800 mg kg<sup>-1</sup> muamelesi altındaki bitkinin

büyümesi ve kök morfolojisi üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Marques ve ark., 2018).

Mikro besleyici bir ortamda bakırın kök büyümesi üzerinde olumlu bir etkisi vardır (Marques ve ark., 2018). Kök yüzey alanı besin emilimiyle ilgilidir ve kök hacmindeki artış, daha iyi besin emilim kapasitesine yol açar ve sonuçta bitki büyümesi üzerinde olumlu bir etki oluşturur. Cu muamelesi altında kök hacmindeki azalma, hücre bölünmesi ile doğrudan ilişkili kök biyokütlesinde önemli bir düşüş olduğunu gösterir (Batool ve ark., 2015). Kök büyümesindeki önemli azalmanın, ağır bir metal stresi altında kök hücre duvar kalınlığında artışa yol açan hücre bölünmesindeki azalmayla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Batool ve ark., 2015). Cu toksisitesinin yaygın bir erken belirtisi de yaprak klorozudur (Garcia ve ark., 2018). *Eximia okaliptüs* (sarı kan ağacı) ve *Casuarina distyla* (dişi meşe) gibi bitkilerde yüksek bakır toksisitesi altında kloroz gözlenmiştir (Tielle ve ark., 2015). Bakır toksisitesi ayrıca yaprak morarmasıyla da ilişkili olabilir ancak tüm bitkilerde aynı etkiyi göstermeyebilir (Mostofa ve Fujita, 2013). Bakır stresi altındaki yaprak alanındaki azalma, ksilemde lignin birikimine bağlanabilir, bu da sonunda hücre duvarının kalınlaşmasına ve sertleşmesine yol açar. Bu etkiyle hücre elastikiyeti azalır, hücre gelişimi ve yaprak büyümesi üzerinde

olumsuz sonuçlara neden olur (Garcia ve ark., 2018). Cu toksisitesi altında, mısır ve Rodos otunda nekroz gözlenmemiştir (Smilde, 1981).

Tüm bu çalışmalardan bakır uygulamasının kök uzunluğu, dal uzunluğu ve yaprak alanı gibi morfolojik parametreleri azalttığı sonucuna varılabilir. Ayrıca bakır stresi altında yapraklarda kloroz, nekroz ve morarma görülmüştür. Bitkiler özellikle organik toprakta büyüdüğünde bitkilerin bakırı absorblama olasılığı daha düşüktür, dolayısıyla bakırın toksisitesini büyük ölçüde azaltır (Sheldon ve Menzies, 2005). Yulaf, mısır, çavdar, marul, ıspanak ve fasulye gibi bitki türlerini içeren bir deneyde Cu'nun toksisitesi Cd ve Ni'den sonra üçüncü sırada yer aldığı gözlemlenmiştir (Smilde, 1981). Metal içeriğinin kritik düzeyde olması çamurdaki metal miktarının varlığının bir göstergesidir. Bu koşullar altında, çamurdaki bakır içeriği 1000-1500 ppm'e yakın olduğunda, metal emilimindeki ve yer değiştirmedeki azalmayı yansıtan büyüme inhibisyonu gözlemlenebilir. Bununla birlikte, kritik düzeydeki metal seviyesi yaprak konsantrasyonunda ifade edildiğinde, Cu en toksiktir ve büyümeyi engelleyen konsantrasyon, kadmiyum (Cd) ve nikel (Ni)'in etki ettiği konsantrasyondan 3-4 kat daha düşüktür. Bu koşullar altında, bakırın toksisitesi genellikle ilk sırada yer alır: bakırın 10 metal arasında en toksik

olduğunu ve kültür ortamında yetiştirilen çavdarın düşük konsantrasyonlarda bakıra maruz kalması kök büyümesi üzerinde etkilidir (Wong ve Bradshaw, 1982). Bakırın çözültü kültüründe bitkiler için yüksek toksisitesi birkaç türde gözlemlenmiştir; mısır büyümesi 0.06 ppm'lik bakır tarafından engellenir (Stiborova ve ark., 1986b). 0.6 ppm bakır, pirinç köklerinin ve filizlerinin büyümesini ve çimlenmeyi tamamen engeller (Mukherji ve Gupta, 1977). Ortamdaki 1 ppm bakırın, *Agaricus sylvestris*'in kök büyümesini inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Hogan ve Rauser, 1981).

Bitki toprağındaki veya kültür ortamındaki tomurcuk büyümesiyle karşılaştırıldığında, tomurcuk büyümesinin Cu toksisitesine karşı daha duyarlı olduğu belirtilmektedir. Bu durumun, tomurcuk translokasyonunun azalmasına bağlı olarak köklerde bakır birikmesinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Baszynski ve ark., 1982; Stiborova ve ark., 1986a; Gupta ve Mukherji, 1977). Bakır toksisitesine kök uzamasının kök çimlenmesine nazaran daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (Hogan ve Rauser, 1981).

Bakır yalnızca bitkisel büyümeyi engellemez. Literatüre göre, bakır önemli bir üreme sürecini de inhibe edebilmektedir. Örneğin Kızılçamda (*Pinus resinosa*), ortamdaki Cu içeriği 0.04 ve 0.23 ppm ölçüsüne kadar düşüktür, bu da polen tanesi çimlenmesinde ve polen tüpünün



uzamasında %10'luk bir azalma ile sonuçlanır ayrıca 1.13 ppm'de her iki işlemin de tam olarak engellenmesi gözlenmiştir (Chaney ve Strickland, 1984).

*Luschnathiana* bitkisi Brezilya'da bakırla kirlenmiş sulak alanlarda bulunan ve sele karşı oldukça toleranslı bir türdür. Bitkiler, farklı konsantrasyonlarda bakır içermekte olan tamamen besleyici olan bir çözelti içerisinde yetiştirilmiştir. Büyüyen iki yaprakta ve 0.16 mmol Cu L<sup>-1</sup> uygulanan bitki köklerinde Cu toksisitesi belirtileri gözlenmiştir. Yapraklardaki bakır; epidermis, mezofil, palizat parankiması ve parankimanın hücreler arası boşluğunun kalınlığında önemli değişikliklere neden olduğu görülmüştür. Ayrıca bu metal, tilakoid zarlarında düzensizliklere, kloroplastta iç ve dış zarların yırtılmasına, mitokondride değişikliklere, parankima ve hücre çeperi boşluklarında elektrolit materyallerinin birikmesine neden olmuştur. Nişasta granüllerinin kaybolduğu ancak Cu toksisitesine göre plastid sayısında artış gözlenmiştir. Kökte epidermis yok olur, hücreler arasındaki boşluk azalır ve dış kortekste ilk hücrenin morfolojisi önemli ölçüde değişir. Hücre çeperi ve endodermanın parçalandığı gözlemlenmiştir. Mineral besin analiziyle, köklerde daha yüksek bakır birikimi ve dallarda makro ve mikro besin elementlerinin biriktiğini göstermiştir. Bu nedenle, kök morfolojisindeki ve ince yapısındaki

değişiklikler, bakır toksisitesinin neden olduğu zar ve endodermanın yapısal bozulmasına bağlı olarak, farklı besin maddelerinin emilimine ve kökten sürgünlere taşınmasına yol açacağı düşünülmektedir (Stiborova ve ark., 1986a; Marques ve ark., 2018). *Hymenaea courbaril* L.'nin aşırı bakır toksisitesi altında kök morfolojisi ile ilgili yapılan çalışmada, topraktaki yüksek bakır konsantrasyonu nedeniyle kök uzunluğu, özgül yüzey alanı, ortalama çap, kök hacmi, kuru biyokütle ve özgül kök uzunluğu azalır. Bakır, yapraklarda bulunan metabolik bağlamda en aktif dokuları korumak için tolerans mekanizması olarak 800 mg kg<sup>-1</sup> konsantrasyona kadar köklerde birikir. Bu konsantrasyondan fazlasının *H. courbaril* köklerinin büyümesini baskıladığı görülmüştür. Ancak bu konsantrasyona kadar bu bitki topraktaki fazla bakırı tolere edebilir, bu da metalle kirlenmiş alanların geri dönüştürülebileceğini göstermektedir (Marques ve ark., 2018).

##### **5. Bakırın Transkripsiyonel Seviyede Gen İfadesi Üzerine Etkisi**

Gen ifadesinin düzenlenmesi, bitkilerde büyüme, gelişme, farklılaşma, metabolik düzenleme ve çevreye adaptasyon gibi birkaç temel süreç için gereklidir (Verma, 1992). Herhangi bir gen ifadesinde transkripsiyon, gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Transkripsiyon, hücreler arası ve hücre dışı

sinyallere aracılık eden çok sayıda transkripsiyon faktörü tarafından kontrol ediliyor gibi görünmektedir. Bu nedenle, transkripsiyon faktörlerinin analizi, gen ifadesi mekanizmalarını anlamak için gereklidir ve bitki biliminin tüm alanlarında önemlidir (Verma, 1992). DNA'daki genetik bilgiyi okuyup ifade edilmesinde görevli protein gruplarından biri olan transkripsiyon faktörleri, bir genin transkripsiyonuna aktivator veya repressör olarak etki eder. (Lee ve ark.; 2000, Verma, 1992; Gökdemir, 2019). *COPT1* geni embriyolarda, trikomlarda, stomalarda, polenlerde ve kök uçlarında ifade edilir. Bakır, sınırlı koşullar altında büyüme için gerekli olduğundan, bakır kazanımı ve birikiminde önemli bir fizyolojik rol oynar. Kök uzaması ve polen gelişimine olan katkısı da açıklanmıştır (Sancenón ve ark., 2004). COX17, biyotik ve abiyotik stres altında, özellikle bakır toksisitesinde organel işlevini sürdürmek için gerekli olan spesifik enzimlerin aktivitesini artırmaya yardımcı olur (Balandin ve Castresana, 2002).

Cu eksikliği sırasında *SPL7* (Squamosa PROMOTER BAĞLAYICI PROTEİN LIKE7) ve *CRR1* (BAKIR RESPONSE REGULATOR1) gibi iki transkripsiyon faktörü hedeflerinin promoterlerinde Cu eksikliğine duyarlı elemanlara (5'-GTAC-3') bağlanarak gen ifadesini düzenler (Sommer ve ark., 2010; Yamasaki ve ark., 2009; Quinn ve ark.,

2000; Birkenbihl ve ark., 2005; Garcia-Molina ve ark., 2014; Kropat ve ark., 2005). Yapılan transkriptom analizleri, *SPL7*'nin demir (Fe) / Cu redüktaz oksidazların, *FRO4* ve *FRO5*'in ve birlikte yüksek afiniteyi oluşturan bakır taşıyıcı ailesinin üyelerinin, (*COPT1* ve *COPT2*) birkaç Cu taşıyıcısının ekspresyonu için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (Bernal ve ark., 2012; Gayomba ve ark., 2013; Jung ve ark., 2012; Yamasaki ve ark., 2009). *SPL7* ile düzenlenen genler arasında, *COPT6*, *YSL2* ve *YSL3* ve Cu şaperon *CCH*, birlikte Cu'nun fotosentetik dokulara taşınmasına ve yaşlanmanın ardından bakırın biriktirildiği yerlerden az olan yerlere hareketlendirmesine katkıda bulunur (Bernal ve ark., 2012; Gayomba ve ark., 2013; Jung ve ark., 2012; Yamasaki ve ark., 2009; Chu ve ark., 2010; Himelblau ve ark., 1998; Mira ve ark., 2001; Himelblau ve Amasino, 2001). Bakırın hücre içi dengesinde *SPL7*'nin önemli rolü olmasının bir kanıtı olarak yapılan bir çalışmada *SPL7* mutantlar, büyüme ortamına Cu eklenmedikçe daha az Cu biriktirdiği ve daha yavaş geliştiği görülmüştür (Bernal ve ark., 2012; Yamasaki ve ark., 2009; Gayomba ve ark., 2013). Bakırın bitki verimliliğindeki rollerinin bilinmesine rağmen bakırın üremeye olan ilişkisini belirleyen moleküler belirleyicilerle ilgili bilgiler çok azdır. Yapılan çalışmalara göre, *COPT1*, *COPT2*, *COPT3* ve *COPT6* bakır taşıyıcılarını kodlayan genlerin

*Arabidopsis*'in polen tanelerinde ifade edildiği bildirilmiştir (Sancenón ve ark., 2004; Gayomba ve ark., 2013; Jung ve ark., 2012; Bock ve ark., 2006). *AtCOPT3* polen gelişiminde erken ifade edilirken, *AtCOPT1* daha sonraki aşamalarda ifade edilir (Bock ve ark., 2006). *AtCOPT1* antisens bitkileri, Cu sınırlı koşullar altında polen anormallikleri sergiler ancak bu durumun bakır takviyesi ile düzelebileceği bildirilmiştir (Sancenón ve ark., 2004).

Bakırın fazla miktarda uygulanmasının birincil kök büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Pasternak ve ark., 2005; Chen ve ark., 2011; Bernal ve ark., 2012). Bakır aracılı oksinin yeniden dağılımının, birincil kök uzamasındaki Cu aracılı inhibisyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bunu düzenleyen *PINFORMED1* (*PIN1*) olduğu, ancak *PIN2* veya *AUXIN1* (*AUX1*) olmadığı gösterilmiştir (Yuan ve ark., 2013). *CAMTA* ve *YABBY* genlerinin bitkilerin ağır metal stresi altında potansiyel genetik belirteç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Bakır konsantrasyonunun Akman-98 fasulye çeşidinde gen ifade düzeyinde artışa neden olurken Önceler-98 fasulye çeşidinde ise azalışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Önceler-98 çeşidinde *YABBY-7* genine ait ifade seviyesinde azalış, *CAMTA-4* geninin ifade düzeyinde ise artış gözlemlenmiştir. *CAMTA* ve *YABBY* gen aileleri bu çalışmada stres uygulandıktan sonra, iki farklı fasulye

çeşidinin gen ekspresyon profillerinin farklı süreçleri, tolerans ve adaptasyon mekanizmalarının farklı evrimsel süreçleri izlediğini göstermiştir (Köseoğlu, 2019).

Bütün canlılarda olduğu gibi, bitkilerde de gen ifadesinin biyolojik kontrol düzenlemeleri en temel durumdur. Transkripsiyon faktörleri, bitkilerin planlama, gelişme, bitki organı farklılaşması, stoma gelişimi, yanal organ oluşumu, çiçek oluşumu ve çeşitli çevresel sinyallere cevap verme gibi birçok fonksiyona sahip olması için gereklidir (Yanagisawa, 1998).

Sonuç olarak; şimdiye kadar yapılan çalışmalarda toprak ve bitkiler için toksik bakır seviyeleri iyi bir şekilde tespit edilmiştir. Ayrıca bakırın temel ve toksik seviyeleri, farklı redoks durumu, çeşitli toprak koşulları ve bitki türleri için değişebileceği bazı çalışmalarla kanıtlanmıştır. Örneğin,  $Cu^+$  ve  $Cu^{+2}$  arasındaki biyotransformasyon ve aynı zamanda ilişkili toksisite, farklı bitki türleri arasında büyük ölçüde farklılık gösterir. Benzer şekilde, asidik ve alkali toprak koşulları, Cu'nun toprak-bitki transferi ve bitki büyümesi üzerindeki etkileri değiştirebilir.

Hassas bitkilerin bakır alım kapasitesi bitkinin toleransına göre değişebilir. Bu nedenlerden dolayı çeşitli redoks durumları, farklı toprak koşulları, bitki türleri ve diğer ilişkili bazı faktörler için bakırın eşik seviyelerini bilmek önem

taşımaktadır. Farklı biyokimyasal reaksiyonlarda, dokulardaki temel rolü sebebiyle uygun bitki büyümesinin sağlanabilmesi için farklı bitki doku ve organlarına kontrollü bir bakır transferi çok önemli ve zorunludur. Bakırın gerekli olduğu dokulara, organlara taşınmasına aracılık eden çeşitli taşıyıcı proteinlerin katılımı iyi bilinmektedir. Fakat, farklı taşıyıcı proteinlerin rolü ayrıca ilişkili genlerin ekspresyonu, özellikle farklı bitki türlerinde tam manasıyla açık olarak ifade edilmemiştir. Farklı bitki türlerinde uygulanan çeşitli Cu seviyeleri altında farklı doku ve organlarda çeşitli genlerin ve taşıyıcı proteinlerin ekspresyonu ve rolü ile ilgili daha fazla araştırma gereklidir.

Bakır redoks-aktif bir metaldir ve Fenton reaksiyonu sayesinde bitkilerde ROS oluşturur. ROS, antioksidan ve redoks dengesine bağlı olarak farklı biyomoleküllerde ve biyokimyasal işlemlerde faydalı veya toksik olabilir. Bununla birlikte, uygulanan farklı bakır seviyeleri, farklı toprak koşulları, bitki türleri, bitkiler içinde ROS üretimi ve detoksifikasyon mekanizmalarının aktivasyonu için doz-tepki etkileşimleri tam olarak açıklanmamıştır. Bakırın toksik

olduğu koşullarda bazı bitki türlerinde, farklı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar aktiftir. Ayrıca genetik ve hücreysel düzeyde birçok antioksidanın aktivasyon hızı ve de yoğunluğu ile ilgili mekanizmalar net olarak açıklanmamıştır. Bitkiler için mineral beslenmenin yaşamsal önemiyle ilgili bazı bilimsel sorular tam olarak hala netleşmemiştir. Örneğin farklı bitki türleri, temel hücreysel reaksiyonlara dengeli ayrıca toksik düzeydeki bakır alınmasına nasıl aracılık eder? Farklı bitki türleri, farklı dokularda toksik bakır birikimini nasıl engeller? Bu sorulara daha fazla cevap bulunmalıdır. Ayrıca bakır toksisitesi altında bitkiye aracılık eden çok az transkripsiyon faktörü bulunmuştur ve incelenmiştir. Bitkide fazla bakır alınmasına aracılık eden şaperonlar ve transkripsiyon faktörleri ile ilgili mekanizmalar daha çok incelenmelidir. Böylelikle bakırın, etki ettiği stresle ilgili yollar ve bitkilerin stresle başa çıkma yolları daha iyi aydınlatılmış olacaktır.

### **Teşekkür**

Bu çalışmanın hazırlanmasında desteklerini aldığım Sayın Dr. Fatma Şeyma GÖKDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

## Kaynaklar

- Ameh T, Sayes C (2019). The potential exposure and hazards of copper nanoparticles: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 71: 103220.
- Balandin T, Castresana C (2002). AtCOX17, an *Arabidopsis* homolog of the yeast copper chaperone COX17. *Plant Physiol* 129: 1852–1857.
- Baldi E, Miotto A, Ceretta CA, Brunetto G, Muzzi E, Sorrenti G, Quartieri M, Toselli M, (2018a). Soil application of P can mitigate the copper toxicity in grapevine: physiological implications. *Scientia Horticulturae* 238: 400–407.
- Baldi E, Miotto A, Ceretta CA, Quartieri M, Sorrenti G, Brunetto G, Toselli M (2018b). Soil-applied phosphorous is an effective tool to mitigate the toxicity of copper excess on grapevine grown in rhizobox. *Scientia Horticulturae* 227: 102–111.
- Batool R, Hameed M, Ashraf M, Ahmad MSA, Fatima S (2015). Physio-anatomical responses of plants to heavy metals. In: M Öztürk, M Ashraf, A Aksoy, M.SA Ahmad (Eds.) *Phytoremediation For Green Energy* 79–96.
- Bazihizina N, Colzi I, Giorni E, Mancuso S, Gonnelli C (2015). Photosynthesizing on metal excess: Copper differently induced changes in various photosynthetic parameters in copper tolerant and sensitive *Silene paradoxa* L. populations. *Plant Science* 232: 67–76.
- Bernal M, Casero D, Singh V, Wilson GT, Grande A, Chen H, Dodani SC, Pellegrini M, Huijser P, Connolly EL, Merchant SS, Krämer U (2012). Transcriptome sequencing identifies SPL7-regulated copper acquisition genes FRO4/FRO5 and the copper dependence of iron homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24: 738–761.
- Birkenbihl RP, Jach G, Saedler H, Huijser P (2005) Functional dissection of the plant-specific sbp-domain: overlap of the dna-binding and nuclear localization domains. *Journal of Molecular Biology* 352(3): 585–596.
- Bock KW, Honys D, Ward JM, Padmanaban S, Nawrocki EP, Hirschi KD, Twell D, Sze H (2006). Integrating membrane transport with male gametophyte development and function through transcriptomics. *Plant Physiol* 140: 1151–1168.
- Bouazizi H, Jouili H, Geitmann A, ElFerjani E (2010). Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 1304–1308.
- Buapet P, Shah Mohammadi N, Pernice M, Kumar M, Kuzhiumparambil U, Ralph P (2018). Excess copper promotes photoinhibition and modulates the expression of antioxidant related genes in *Zostera muelleri*. *Aquatic Toxicology* 207.
- Cambrollé J, García Fernández JL, Ocete R, Figueroa E, Cantos M (2013). Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. *Chemosphere* 93: 294–301.
- Cambrollé J, García Fernández JL, Ocete R, Figueroa E, Cantos M (2013). Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. *Chemosphere* 93: 294–301.
- Cao Y, Ma C, Chen G, Zhang J, Xing B (2017). Physiological and biochemical responses of *Salix integra* Thunb. under copper stress as affected by soil flooding. *Environmental Pollution* 225: 644–653.
- Chaney WR, Strickland RC (1984). Relative toxicity of heavy metals to red pine pollen germination and germ tube elongation. *J Environ Quai* 13: 391–394.

- Chen CC, Chen YY, Tang IC, Liang HM, Lai CC, Chiou JM (2011). *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 is involved in excess copper tolerance. *Plant Physiol* 156: 2225–2234.
- Chu HH, Chiecko J, Punshon T, Lanzirrotti A, Lahner B, Salt DE, Walker EL (2010). Successful reproduction requires the function of *Arabidopsis* YELLOW STRIPE-LIKE1 and YELLOW STRIPE-LIKE3 metal-nicotianamine transporters in both vegetative and reproductive structures. *Plant Physiology* 154(1): 197–210.
- Clarkson DT, Hanson JB (1980). The mineral nutrition of higher plants. *Annual Rev PI Physiol* 31: 239–298.
- Cox RM, Hutchinson TC (1980). The response of root acid phosphatase activity to heavy metal stress in tolerant and non-tolerant clones of two grass species. *New Phytol* 86: 359–364.
- de Freitas, Tielle Abreu França, Marcel Giovanni Costa; de Almeida, Alex-Alan Furtado; de Oliveira, Sérgio José Ribeiro; de Jesus, Raildo Mota; Souza, Vânia Lima; dos Santos Silva, José Victor; Mangabeira, Pedro Antônio (2015). Morphology, ultrastructure and mineral uptake is affected by copper toxicity in young plants of *Inga subnudasubs luschnathiana* (Benth.) T.D. Penn. Environmental Science and Pollution Research, 22(20), 15479–15494.
- Du Q, Zhao XH, Xia L, Jiang CJ, Wang XG, Han Y, Wang J, Yu HQ (2019). Effects of potassium deficiency on photosynthesis, chloroplast ultrastructure, ROS, and antioxidant activities in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Integrative Agriculture* 18: 395–406.
- Fichman Y, Miller G, Mittler R (2019). Whole-plant live imaging of reactive oxygen species. *Molecular Plant* 12: 1203–1210.
- Garcia-Molina A, Xing S, Huijser P (2014) A conserved KIN17 curved DNA-binding domain protein assembles with SQUAMOSA PROMOTER-BINDING PROTEIN-LIKE7 to adapt *Arabidopsis* growth and development to limiting copper availability. *Plant Physiol* 164(2): 828–840.
- Gayomba SR, Jung HI, Yan J, Danku J, Rutzke MA, Bernal M, Krämer U, Kochian LV Salt DE, Vatamaniuk OK (2013). The CTR/COPT-dependent copper uptake and SPL7-dependent copper deficiency responses are required for basal cadmium tolerance in *A. thaliana*. *Metallomics* 5: 1262–1275.
- Gomes M, Smedbol É, Chalifour A, Hénault-Ethier L, Labrecque M, Lepage L, Lucotte, M, Juneau P (2014). Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview. *Journal of Experimental Botany* 65.
- Gong Q, Wang L, Dai T, Zhou J, Kang Q, Chen H, Li K, Li Z (2019). Effects of copper on the growth, antioxidant enzymes and photosynthesis of spinach seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 171: 771–780.
- Gökdemir FŞ (2019). Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinde *Whirly* ve *ARR-B* genlerinin genom düzeyinde tanımlanması, karakterizasyonu ve biyotik stres cevabı ile olan ilişkilerinin gen ifadesi düzeyinde belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi*.
- Gupta B, Mukherji S (1977). Effects of toxic concentrations of copper on growth and metabolism of rice seedlings. *Z Pflanzen Physiol* 82: 95–106.

- Henriques F (1984). Effects of copper and iron deficiency on sugar beet chloroplasts ultrastructure. *Actas del Congreso Iberico de Microscopia Electronica* 75.
- Henriques F (1989). Effects of copper deficiency on the photosynthetic apparatus of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *J Pl Physiol* 135: 453–458.
- Himelblau E, Mira H, Lin SJ, Culotta VC, Peñarrubia L, Amasino RM (1998). Identification of a functional homolog of the yeast copper homeostasis gene ATX1 from *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 117: 1227–1234.
- Hippler FWR, Mattos JR D, Boaretto RM, Williams LE (2018). Copper excess reduces 1463 nitrate uptake by *Arabidopsis* roots with specific effects on gene expression. *Journal of Plant Physiology* 228: 158–165.
- Hogan GD, Ranser WE (1981). Role of copper binding, absorption and translocation in copper tolerance of *Agrostis gigantea* Roth *J Exp Bot* 32: 27–36.
- Jaime-Pérez N, Kaftan D, Bina D, Bokhari SNH, Shreedhar S, Küpper H (2019). Mechanisms of sublethal copper toxicity damage to the photosynthetic apparatus of *Rhodospirillum rubrum*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Bioenergetics* 1860: 640–650.
- Jung HI, Gayomba SR, Rutzke MA, Craft E, Kochian LV, Vatamaniuk OK (2012). COPT6 is a plasma membrane transporter that functions in copper homeostasis in *Arabidopsis* and is a novel target of SQUAMOSA promoter-binding protein-like 7. *J Biol Chem* 287: 33252–33267.
- Kapoor D, Singh S, Kumar V, Romero R, Prasad R, Singh J (2019). Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene* 19: 100182.
- Kopittke P, Pax C Blamey F, McKenna B, Wang P, Menzies N (2011). Toxicity of metals to roots of cowpea in relation to their binding strength. *Environ Toxicol Chem* 30: 1827–1833.
- Köseoğlu E (2019). Ağır metal stresine maruz kalmış fasulye çeşitlerinde CAMTA ve YABBY genlerinin gen ifadesi düzeyinde incelenmesi. *Ankara Üniversitesi*.
- Krayem M, Deluchat V, Hourdin P, Fondanèche P, Lecavelier Des Etangs F, Kazpard V, Moesch C, Labrousse P (2018). Combined effect of copper and hydrodynamic conditions on *Myriophyllum alterniflorum* biomarkers. *Chemosphere* 199: 427–434.
- Kropat J, Tottey S, Birkenbihl RP, Depège N, Huijser P, Merchant S (2005). A regulator of nutritional copper signaling in *Chlamydomonas* is an SBP domain protein that recognizes the GTAC core of copper response element. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(51):18730–18735.
- Kumar A, Gahoi P, Verma N (2019). Simultaneous scavenging of Cr (VI) from soil and facilitation of nutrient uptake in plant using a mixture of carbon microfibers and nanofibers. *Chemosphere* 124760.
- Kumar A, Huang B, Sivapatham P (2000). Soil pH affects copper fractionation and phytotoxicity. *Soil Science Society of America Journal - SSSAJ* 64.
- Larcher W (1980). *Ecological Plant Physiology* 2: 303.
- Lastra OA, Chneca C., Gonzez M, Lachica J., (1987). El cobre como nutriente de la pinata. *Anales Edafol. Agrobiol.* 46: 1005–1020.

- Lee TI, Young RA (2000). Transcription of eukaryotic protein-coding genes. *Annu Rev Genet* 34: 77–137.
- Lillo F, Ginocchio R, Ulriksen C, Dovletyarova EA, Neaman A (2019). Evaluation of connected clonal growth of *Solidago chilensis* as an avoidance mechanism in copper-polluted soils. *Chemosphere* 230: 303–307.
- Lwalaba JLW, Louis LT, Zvobgo G, Fu L, Mwamba TM, Mukobo Mundende RP, Zhang G, (2019). Copper alleviates cobalt toxicity in barley by antagonistic interaction of the two metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 180: 234–241.
- Marcec MJ, Gilroy S, Poovaiah BW, Tanaka K (2019). Mutual interplay of Ca<sup>2+</sup> and ROS signaling in plant immune response. *Plant Science* 283: 343–354.
- Marques DM, da Silva AB, Mantovani JR, Magalhães PC, de Souza TC (2019). Root morphology and leaf gas exchange in *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Caesalpinioideae) exposed to copper-induced toxicity. *South African Journal of Botany* 121: 186–192.
- Marques DM, Veroneze JV, da Silva A, Mantovani JR, Magalhães PC, de Souza TC (2018). Copper toxicity on photosynthetic responses and root morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). *Water, Air, & Soil Pollution*, 229(5): 138.
- Marschner H (2011). Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press.
- Michaud A, Chappellaz C, Hinsinger P (2008). Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). *Plant and Soil* 310: 151–165.
- Mira H, Martínez-García F, Peñarrubia L (2001). Evidence for the plant-specific intercellular transport of the *Arabidopsis* copper chaperone CCH. *Plant J.* 25: 521–528.
- Mostofa MG, Fujita M (2013). Salicylic acid alleviates copper toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by up-regulating antioxidative and glyoxalase systems. *Ecotoxicology* 22: 959–973.
- Mwamba T, Li L, Gill RA, Islam F, Nawaz A, Ali DB, Farooq MA, Lwalaba J, Zhou W (2016). Differential subcellular distribution and chemical forms of cadmium and copper in *Brassica napus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 134: 239–249.
- Nanda R, Agrawal V (2018). *Piriformospora indica*, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in *Cassia angustifolia* Vahl under copper stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 156: 409–419.
- Natasha Shahid M, Khalid S, Bibi I, Bundschuh J, Niazi N, Dumat C (2020). A critical review of mercury speciation, bioavailability, toxicity and detoxification in soil-plant environment: Ecotoxicology and health risk assessment. *Science of The Total Environment* 711: 134749.
- Nazir F, Hussain A, Fariduddin Q (2019). Hydrogen peroxide modulate photosynthesis and antioxidant systems in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants under copper stress. *Chemosphere* 230: 544–558.
- Neill SJ, Desikan R, Clarke A, Hurst RD, Hancock JT (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany* 53: 1237–1247.



- Noctor G, Reichheld JP, Foyer CH (2018). ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 80: 3–12.
- Pasternak T, Rudas V, Potters G, Jansen MAK (2005). Morphogenic effects of abiotic stress: reorientation of growth in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Environ Exp Bot* 53: 299–314.
- Pourrut B, Shahid M, Dumat C, Winterton P, Pinelli E (2011). Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Rev Environ Contam Toxicol* 113–136.
- Qi J, Wang J, Gong Z, Zhou JM (2017). Apoplastic ROS signaling in plant immunity. *Curr Opin Plant Biol* 38: 92–100.
- Quinn JM, Barraco P, Eriksson M, Merchant S (2000). Coordinate copper- and oxygen-responsive Cyc6 and Cpx1 expression in *Chlamydomonas* is mediated by the same element. *J Biol Chem* 275: 6080–6089.
- Raldugina G, Krasavina M, Fjodorovna Lunkova N, Anatoljevna Burmistrova N (2016). *Resistance of Plants to Cu Stress* 69–114.
- Rose T, Kretschmar T, Liu L, Lancaster G, Wissuwa M (2016). Phosphorus deficiency alters nutrient accumulation patterns and grain nutritional quality in rice. *Agronomy* 6, 52.
- Ryszka P, Lichtscheidl I, Tylko G, Turnau K (2019). Symbiotic microbes of *Saxifraga stellaris* ssp. *alpigena* from the copper creek of Schwarzwand (Austrian Alps) enhance plant tolerance to copper. *Chemosphere* 228: 183–194.
- Sancenón V, Puig S, Mateu-Andrés I, Dorcey E, Thiele DJ, Peñarrubia L (2004). The *Arabidopsis* copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development. *J Biol Chem* 279: 15348–15355.
- Sancenón V, Puig S, Mira H, Thiele DJ, Peñarrubia L (2003). Identification of a copper transporter family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* 51: 577–587.
- Schrimpf E (1984). Air pollution patterns in two cities of Colombia, S.A., according to trace substances content of an epiphyte (*Tillandsia recurvata* L.). *Water Air Soil Pollut* 24: 85–101.
- Shahid M (2017). Biogeochemical behavior of heavy metals in soil-plant system. *Higher Education Commission of Pakistan* 1–196.
- Shahid M, Khalid S, Abbas G, Shahid N, Nadeem M, Sabir M, Aslam M, Dumat C (2015). Heavy metal stress and crop productivity. *Crop Production and Global Environmental Issues*. Springer, 1–25.
- Sharma R, Bhardwaj R, Thukral AK, Al-Huqail AA, Siddiqui MH, Ahmad P (2019). Oxidative stress mitigation and initiation of antioxidant and osmoprotectant responses mediated by ascorbic acid in *Brassica juncea* L. subjected to copper (II) stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 182: 109436.
- Sheldon A, Menzies N (2005). The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. *Plant and Soil* 278: 341–349.
- Shkolnik MY (1984). Trace elements in plants. Elsevier, Amsterdam. 463 pp.

- Silva JC, Echeveste P, Lombardi AT (2018). Higher biomolecules yield in phytoplankton under copper exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 161: 57–63.
- Silva JC, Echeveste P, Lombardi AT (2018). Higher biomolecules yield in phytoplankton under copper exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 161: 57–63.
- Singh D, Kumar A (2016). Impact of irrigation using water containing CuO and ZnO nanoparticles on *Spinach oleracea* grown in soil media. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 97.
- Smilde KW (1981). Heavy metal accumulation in crops grown on sewage sludge amended with metal salts. *Plant & Soil* 62: 3–14.
- Sommer AL (1931). Copper as an essential for plant growth. *Plant Physiol* 6: 339–345.
- Sommer F, Kropat J, Malasarn D, Grosseohme NE, Chen X, Giedroc DP, Merchant SS (2010). The CRR1 nutritional copper sensor in *Chlamydomonas* contains two distinct metal-responsive domains. *Plant Cell* 22: 4098–4113.
- Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, Jeyasekharan AD (2018). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology* 101084.
- Stiborova M, Doubravovfi M., Brezinovt A., Friedrich A. (1986a). Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Photosynthetica* 20: 418–425.
- Stiborova M, Hrodmadkova R, Leblova S (1986b). Effects of ions of heavy metals on the photosynthetic characteristics of maize (*Zea mays* L.) *Biologia* 41: 1221–1228.
- Verma DPS (1992). Control of plant gene expression. *The CRC Press*, Boca Raton, Florida.
- Wong MH, Bradshaw AD (1982). A comparison of the toxicity of heavy metals, using root elongation of ryegrass, *Lolium perenne*. *New Phytol* 91: 255–261.
- Yadav P, Kaur R, Kanwar MK, Sharma A, Verma V, Sirhindi G, Bhardwaj R (2018). Castasterone confers copper stress tolerance by regulating antioxidant enzyme responses, antioxidants, and amino acid balance in *B. juncea* seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147: 725–734.
- Yalcinkaya T, Uzilday B, Ozgur R, Turkan I, Mano JI (2019). Lipid peroxidation-derived reactive carbonyl species (RCS): Their interaction with ROS and cellular redox during environmental stresses. *Environmental and Experimental Botany* 165: 139–149.
- Yamasaki H, Hayashi M, Fukazawa M, Kobayashi Y, Shikanai T (2009). SQUAMOSA Promoter Binding Protein-Like7 is a central regulator for copper homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 347–361.
- Yanagisawa S, Sheen J (1998). Involvement of maize Dof zinc finger proteins in tissue-specific and lightregulated gene expression. *Plant Cell* 10: 75–89.
- Younis M, Tourky S, Elsharkawy S (2018). Symptomatic parameters of oxidative stress and antioxidant defense system in *Phaseolus vulgaris* L. in response to copper or cadmium stress. *South African Journal of Botany* 117, 207–214.
- Yuan HM, Xu HH, Liu WC, Lu YT (2013). Copper regulates primary root elongation through *PINI*-mediated auxin redistribution. *Plant and Cell Physiology* 54(5): 766–778.

Zhang D, Li C (2019). Genotypic differences and glutathione metabolism response in wheat exposed to copper. *Environmental and Experimental Botany* 157: 250–259.

Zhang H, Yang J, Wang W, Li D, Hu X, Wang H, Wei M, Liu Q, Wang Z, Li C (2015). Genome-wide identification and expression profiling of the copper transporter gene family in *Populus trichocarpa*. *Plant Physiology and Biochemistry* 97: 451–460.