

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



Anna Čepelová

Diverzita a mechanismy hyperakumulace Ni v čeledi Brassicaceae

Diversity and mechanisms of hyperaccumulation in Brassicaceae

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Filip Kolář, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Tereza Koberová

Praha, 2024

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité informační zdroje a literatura jsou řádně uvedeny. Tato práce ani její podstatná část nebyly předloženy k získání jiného akademického titulu.

V Praze dne 7. 8. 2024

Anna Čepelová

Poděkování

Velice děkuji mému školiteli Filipu Kolářovi za trpělivost, ochotu a hbité poskytování podnětných rad při vedení mé práce. Mnohokrát děkuji i mé konzultantce Tereze Koberové za pohotovost a ochotné konzultování mé práce. Velké díky dále patří mým přátelům z Arachne za cenné rady a podporu.

Abstrakt

Schopnost vypořádat se s nezvyklým stresovým prostředím je jedním ze základů přežití. V rostlinné čeledi brukvovitých (Brassicaceae) jsou početně zastoupeny druhy s nevšední schopností hyperakumulace těžkých kovů. Tato schopnost jim poskytuje značnou výhodu při obsazování stanovišť s půdou bohatou na těžké kovy. Tato bakalářská práce se zabývá diverzitou druhů hyperakumulujících nikl (Ni) z čeledi Brassicaceae a poskytuje souhrn současných poznatků jak z fyziologické a molekulární, tak z genetické a evoluční perspektivy. Rychlý vývoj genomických a transkryptomických metod umožňuje dále identifikovat procesy i konkrétní geny podílející se na schopnosti hyperakumulace. Toto poznání nám otevírá cestu k aplikacím nových mechanismů při péči o naše životní prostředí a prohlubuje naše porozumění evoluci.

Klíčová slova: hyperakumulace, nikl, Brassicaceae, adaptace, evoluce, diverzita

Abstract

The ability to cope with an unusual stressful environment is one of the most important aspects of survival. In the plant family Brassicaceae, there are several species with an unusual ability to hyperaccumulate heavy metals. This ability gives them a significant advantage in colonising habitats with soil rich in heavy metals. This bachelor thesis explores the diversity of nickel (Ni) hyperaccumulating species from the Brassicaceae family and provides a summary of current knowledge from both a physiological and molecular, as well as a genetic and evolutionary perspective. The rapid development of genomic and transcriptomic methods makes it possible to further identify the processes involved in the ability of hyperaccumulation. This knowledge paves the way for us to apply new mechanisms in caring for our environment and deepens our understanding of evolution.

Key words: hyperaccumulation, nickel, Brassicaceae, adaptation, evolution, diversity

Obsah

1. Úvod	1
2. Hyperakumulace	2
2.1 Zdroje těžkých kovů, zvláště Ni.....	3
2.2 Role Ni v rostlinách.....	5
3. Hyperakumulátory niklu	6
3.1 Ni-hyperakumulující rody v čeledi Brassicaceae.....	6
3.1.1 <i>Cardamine</i>	7
3.1.2 <i>Odontarrhena</i>	8
3.1.3 <i>Bornmuellera</i>	8
3.1.4 <i>Cochlearia</i>	9
3.1.5 <i>Noccaea</i>	9
3.1.6 <i>Streptanthus</i>	10
4. Mechanismy hyperakumulace Ni	11
4.1 Ni v rhizosféře.....	12
4.2 Příjem Ni.....	15
4.3 Xylémový transport.....	16
4.4 Ukládání Ni v listech.....	17
4.5 Přesun floémem.....	19
5. Role hyperakumulace Ni v adaptaci na toxické půdy	21
5.1 Hyperakumulace jako adaptace na ultramafické půdy.....	21
5.2 Kandidátní geny.....	22
6. Užití hyperakumulujících rostlin	24
7. Závěr	25
8. Literatura	27

1. Úvod

Hyperakumulace těžkých kovů je poměrně vzácnou schopností přibližně 0,2 % druhů ze všech krytosemenných rostlin (Reeves and Baker, 2000; Krämer, 2010). Označení těžké kovy je v kontextu této práce použito pro prvky hliník (Al), železo (Fe), molybden (Mo), cín (Sn), rtuť (Hg), kadmium (Cd), thalium (Tl), selen (Se), kobalt (Co), měď (Cu), chrom (Cr), arsen (As), olovo (Pb), nikl (Ni), zinek (Zn), mangan (Mn) a prvky vzácných zemin. Druhy schopné hyperakumulace těžkých kovů jsou označovány jako hyperakumulátory a jsou rozšířeny napříč různými rostlinnými čeleděmi i rody. Nejčastějším prvkem, který hyperakumulátory akumulují, je nikl (Ni), na nějž je zaměřena i tato práce.

Geograficky se setkáme s významnou koncentrací druhů hyperakumulujících Ni především ve specifických oblastech s půdami na ultramafických horninách, které jsou přirozeně bohaté právě na nikl a další těžké kovy.

Rostliny se schopností ukládat vysoké koncentrace niklu byly objeveny v několika desítkách čeledí. Ovšem čeleď Brassicaceae jasně vyčnívá počtem i diverzitou hyperakumulujících druhů, přičemž k samostatnému vzniku této schopnosti zde došlo nejméně šestkrát (Krämer, 2010).

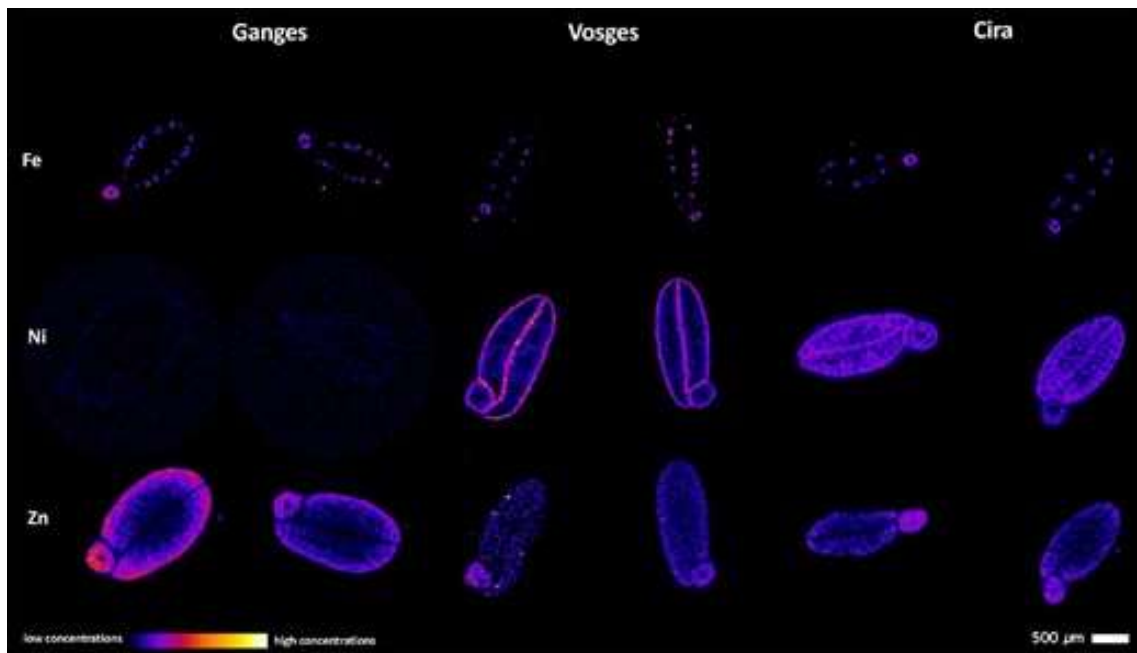
Porozumění vzniku a vývoji této neobvyklé schopnosti představuje další krůček k lepšímu pochopení mechanismů, kterými se rostliny adaptují k výzvám prostředí. Je tedy důležité komplexní porozumění jak z fyziologického a molekulárního, tak z evolučního pohledu. Hyperakumulátory Ni byly popsány jako první a mezi ostatními hyperakumulátory těžkých kovů převažují (Van der Pas and Ingle, 2019). Přesto rozkvět výzkumu detailních procesů stojících za hyperakumulací Ni přichází až v posledních letech s nástupem moderních genomických technologií.

Cílem této bakalářské práce je shrnout současné poznatky o hyperakumulaci Ni v čeledi Brassicaceae, a to jak z fyziologického a molekulárního, tak z evolučního pohledu.

2. Hyperakumulace

Hyperakumulace těžkých kovů v kontextu rostlin je schopnost přijímat a akumulovat těžké kovy v nezvykle vysokých koncentracích a zároveň v takovém prostředí prosperovat. Termín hyperakumulace v kontextu těžkých kovů a rostlin byl prvně zaznamenán ve výzkumu Jaffré *et al.* (1976) o vysokých koncentracích Ni v *Sebertia acuminata* (dnes *Pycnandra acuminata*) z čeledi *Sapotaceae* z Nové Kaledonie. V případě niklu byl pak termín ustálen pro konkrétní hranici koncentrace Ni v listové sušině vyšší než 1000 mg/kg (Brooks *et al.*, 1977). Přesné hranice pro označení hyperakumulace u dalších těžkých kovů byly později definovány na koncentrace v sušině listů >100 mg/kg pro Cd, Tl, Se; > 300 mg/kg pro Co, Cu, Cr; > 1000 mg/kg pro As, Pb a prvky vzácných zemin; > 3000 mg/kg pro Zn a > 10 000 mg/kg pro Mn (Reeves *et al.*, 2018).

Jev nezvyklého nashromáždění niklu v rostlinách byl však pozorován už předtím. V roce 1948 byla v listech herbářové položky *Alyssum bertolonii* (dnes *Odontarrhena bertolonii*) z hadcových výchozů na severozápadě Itálie zjištěna koncentrace Ni vyšší jak 10 000 mg/kg (Minguzzi and Vergnano 1948). Tento objev byl následován nálezy dalších hyperakumulujících druhů z rodu *Alyssum* (*Odontarrhena*) z Arménie a Portugalska (Bani *et al.*, 2010). Po roku 1970 pak byly nalezeny hyperakumulující druhy v Západní Austrálii (Severne and Brooks, 1972) a Nové Kaledonii (Brooks *et al.*, 1974). V sušeném latexu novokaledonské *Sebertia acuminata* (dnes *Pycnandra acuminata*) byla dokonce naměřena koncentrace Ni vyšší než 250 000 mg/kg (Jaffré *et al.*, 1976). Hyperakumulující rostliny jsou tedy schopny obsahovat mnohonásobně vyšší koncentrace kovů než okolní nehyperakumulující rostliny. Tyto koncentrace v hyperakumulátorech často převyšují koncentrace ostatních esenciálních prvků (Reeves and Baker, 2000). Výrazný rozdíl v koncentraci kovů mezi hyperakumulujícími a nehyperakumulujícími rostlinami je tak dobře patrný i ze snímání pomocí rentgenové fluorescenční mikroskopie (XFM) (Obr. 2.1.).



Obrázek 2.1.: Rozdíl obsahu těžkých kovů viditelný na řezech sušených semen tří populací *Noccaea caerulescens*, zobrazených pomocí rentgenové fluorescenční mikroskopie (XFM). Populace Vosges (Francie) a Cira (Španělsko) pochází z ultramafických oblastí, kde je půda bohatá na Ni, populace Ganges (Francie) z oblasti bez zvýšené koncentrace Ni. Druh *Noccaea caerulescens* je geneticky velmi pestrý a jeho populace jsou schopny žít jak na ultramafických, tak na ne-ultramafických půdách. Zatímco populace z ultramafických půd hyperakumulují Ni, populace z půd bez zvýšené koncentrace Ni mají obsah Ni v normách ostatních nehyperakumulujících rostlin. (převzato a upraveno od van der Ent *et al.* (2022))

2.1 Zdroje těžkých kovů, zvláště Ni

Obecně jsou zvýšené koncentrace těžkých kovů obvykle spojeny s antropogenními činnostmi. Primární zdroj kovů je však přírodní a lidé pouze přispívají k jejich další redistribuci do půd, vodních zdrojů či atmosféry. Na redistribuci se podílí i přírodní procesy, z nichž přední vliv má zvětrávání hornin obsahujících tyto kovy (Kierczak *et al.*, 2021). Se zvýšenou přítomností těžkých kovů se můžeme setkat u různých druhů hornin, přičemž nejvyšší koncentrace jsou v horninách ultrabazických a metamorfovaných (Mustafa *et al.*, 2023). Dle Encyklopedie geologie České geologické služby (Petránek, 2016) je označení hornin ultrabazických synonymní s označením hornin ultramafických, v zahraniční literatuře je termín ultramafické horniny často používán jako označení podskupiny ultrabazických hornin. Ve všech případech termín ultramafický označuje

temnou horninu, která může obsahovat vysoké koncentrace těžkých kovů. Z těžkých kovů v těchto horninách je výrazně zastoupen Ni, dále pak také chrom (Cr) či kobalt (Co) (Kierczak *et al.*, 2021). Dalším zdrojem a zároveň procesem redistribuce těžkých kovů je vulkanická činnost (Harasim and Filipek, 2015). Pyroklastické proudy a sopečný popel mohou kovy zanechat do prostředí náhle a ve vysokých koncentracích. Jejich vliv dokládají například analýzy půd z vulkanického ostrova Réunion (Doelsch *et al.*, 2006).

Z lidských činností má značný vliv na redistribuci těžkých kovů v životním prostředí těžba, a to nejen těžba kovových rud, ale i uhlí (Liu *et al.*, 2019), či vápence (Kampouroglou and Economou-Eliopoulos, 2013). Tyto těžební oblasti tedy mohou být také spojovány s přítomností vyšších koncentrací těžkých kovů. Dále hutnictví, zemědělství a jiná odvětví průmyslu přispívají ke zvýšeným koncentracím těžkých kovů v prostředích, kde kovy nejsou přírodního pedogeochemického původu (Begum *et al.*, 2022).

V případě niklu se s nejvyššími koncentracemi setkáme právě v ultramafických vyvěřelých horninách jako je peridotit a v metamorfované hornině serpentinit (Mustafa *et al.*, 2023), neboli hadec, která vzniká přeměnou ultramafických hornin a geochemický charakter si zachovává i po metamorfóze (Hattori and Guillot, 2007). Z těchto hornin zvětráváním vznikají půdy bohaté na Ni (Echevarria, 2018). V chladných klimatických podmínkách je intenzita zvětrávání peridotitů i serpentinitů podobná a vznikají geochemicky podobné půdy (Echevarria, 2018). V tropických podmínkách však vznikají dva odlišné typy ekosystémů, jako je tomu například na Kubě (Echevarria, 2018; Reeves, 1999). Na půdách na serpentinitech zde vzniká stálezelená vegetace podobná mediteránní vegetaci typu macchií (maquis) s výrazným zastoupením Ni hyperakumulátorů, zatímco půdy na peridotitech zarůstají deštnými pralesy s nízkým zastoupením Ni hyperakumulátorů (Echevarria, 2018). Výraznou roli v těchto rozdílech by mohla hrát různá intenzita zvětrávání serpentinitu a peridotitu v tropických podmínkách (Echevarria, 2018). Přes tyto rozdíly jsou půdy vznikající na těchto horninách někdy souhrnně označovány jako serpentinitové půdy (Reeves *et al.*, 1999)

Z hlediska antropogenní činnosti se půdy výrazně bohaté na nikl nachází obvykle v blízkosti uložené hlušiny z těžby či poblíž hutí a dalších industriálních lokalit jako jsou například odkaliště (Tognacchini *et al.*, 2020a).

2.2 Role Ni v rostlinách

Nikl je pro rostliny esenciálním prvkem (Gerendás *et al.*, 1999). V malém množství, přibližně 0,05-10 mg/kg, ho tedy potřebují všechny rostliny (Mustafa *et al.*, 2023). Jeho hlavní role v rostlinách je v enzymu ureáza, kde dva Ni ionty spolutvoří aktivní centra enzymových podjednotek (Balasubramanian and Ponnuraj, 2010). Ureáza v rostlinách především katalyzuje hydrolyzu močoviny za vzniku amoniaku a hydrogenuhličitanu (Polacco *et al.*, 2013) a je tak zásadní součástí metabolismu dusíku (Rizwan *et al.*, 2019). Kromě ureázy působí Ni i v dalších enzymech, kde je kofaktorem jako v případě glyoxalázy (Fabiano *et al.*, 2015; Alfano and Cavazza, 2020). Množství Ni větší než 10 mg/kg v sušině rostlinné biomasy je už ale považováno za toxické pro běžné rostliny (Krstić *et al.*, 2007).

Nedostatek Ni ovlivňuje vývoj a růst rostlin mnoha způsoby. V jeho důsledku dochází ke snížené aktivitě ureázy, což má další následky v podobě narušení metabolismu dusíku a kumulace močoviny v prýtu (Yusuf *et al.*, 2011). Zvláště u mladých listů tento proces způsobuje nekrózu, u starších listů pak především chlorózu, která také může vyústit až v nekrózu (Yusuf *et al.*, 2011). Ovšem vzhledem k tomu, že nikl je pro rostliny mikronutrient, jeho nedostatek běžně v přírodních podmínkách nenastává a mnohem častěji dochází k přebytku Ni v rostlině (Mustafa *et al.*, 2023).

Přebytek Ni způsobuje některé podobné projevy jako nedostatek. Vyskytuje se chloróza, nekróza, omezené klíčení semen, je narušená funkce enzymů, poškozený příjem živin, mimo jiné dusíku (N) a železa (Fe), zvýšený vznik reaktivních forem kyslíku (ROS) a snížená celková produkce biomasy (Shaw *et al.*, 2004; Yusuf *et al.*, 2011; Lešková *et al.*, 2020). Narušeno je i dělení buněk (Kozhevnikova *et al.*, 2009) a dochází ke snížení intenzity asimilačních procesů (Scartazza *et al.*, 2022). Rostliny vystavené pro ně toxické koncentraci Ni reagují sníženou koncentrací fotosyntetických pigmentů, především chlorofylů, i sníženou transpirací, a v důsledku tak dochází právě ke snížení efektivity asimilace (Nabi *et al.*, 2020; Scartazza *et al.*, 2022). Koncentrace chlorofylu by mohla být ovlivněna peroxidací lipidů v membránách chloroplastů (Dubey and Pandey, 2011). Vliv by mohla mít i substituce hořčíku (Mg) v molekulách chlorofylu ionty Ni, která byla zaznamenána například u submerzních vodních rostlin (Küpper *et al.*, 1996). Snížená transpirace a celkově narušená vodní balance může být způsobena narušenou rovnováhou iontů v cytoplazmě, zvláště draselných iontů v cytoplazmě svěracích buněk průduchů (Yadav, 2010; Çelik and Akdaş, 2019; Scartazza *et al.*, 2022).

3. Hyperakumulátory niklu

Rostliny potýkající se s prostředím s vysokými koncentracemi těžkých kovů aplikují různé strategie jak prosperovat v takových podmínkách. Dle typu strategie jsou tyto rostliny rozlišovány na exkludery, indikátory a hyperakumulátory (Baker, 1981; Pasricha *et al.*, 2021).

Rostliny označované jako exkludery přežívají na půdách s těžkými kovy pomocí omezování příjmu a translokace kovů. Například v případě exkluderu *Alyssum saxatile* (dnes *Aurinia saxatilis*) se Ni nachází především v pletivech kořenového kortexu, avšak příjem do středního válce je regulován, čímž je zabráněno poškození pletiv v prýtu (Baklanov *et al.*, 2009). Koncentrace daného přebytečného kovu je tak v jejich pletivech konstantní a drží se přibližně na normálních hodnotách. Řadí se k nim mimo jiné *Triticum aestivum*, *Holcus lanatus* a *Stellaria media* zmíněné v kapitole 2.

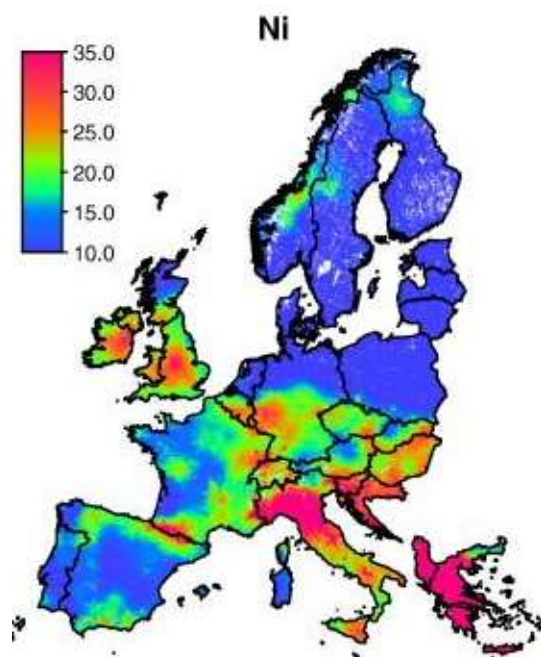
Indikátory akumulují množství kovů v přímé závislosti na jejich koncentraci v půdě (Pasricha *et al.*, 2021). Pokud koncentrace přesáhne hranici toxicity dané rostliny, začne rostlina chřadnout. K indikátorům Ni se řadí například *Trifolium pratense* zmíněné v kapitole 2. Koncentrace Ni v sušině indikátorů rostoucích na ultramafické půdě je vyšší než u běžných rostlin a exkluderů, ale stále je nižší než u hyperakumulátorů (Massoura *et al.*, 2004).

Hyperakumulátory mají pozoruhodnou schopnost akumulovat velmi vysoké koncentrace těžkých kovů v různých pletivech. Na rozdíl od exkluderů hyperakumulátory akumulují více Ni v prýtu než v kořenu (Deng *et al.*, 2018). Zároveň jsou schopny přežít i prosperovat na půdách s koncentracemi těžkých kovů, které by pro jiné rostliny byly toxické. Jednou z nejvíce diverzifikovaných čeledí zahrnujících Ni hyperakumulátory je čeleď Brassicaceae.

3.1 Ni-hyperakumulující rody v čeledi Brassicaceae

Čeleď Brassicaceae čítá v současné době okolo sedmi rodů zahrnujících hyperakumulátory niklu (Krämer, 2010). Největší diverzita druhů byla nalezena v oblasti západní Eurasie a jejich výskyt je nejčastěji spojen s přítomností ultramafických půd (Obr. 3.1.) (Bani *et al.*, 2010; Bettarini *et al.*, 2020). Pořadí následujícího výčtu Ni hyperakumulujících rodů se řídí fylogenetickými vztahy podle Krämer (2010). Mezi

obzvláště studované rostliny patří druhy z rodů *Odontarrhena* a *Noccaea*. V druzích rodu *Odontarrhena*, *Noccaea* a *Bornmuellera* jsou zároveň zaznamenávány nejvyšší koncentrace Ni, tudíž se jim přisuzuje největší schopnost hyperakumulace tohoto prvku (Bianchi *et al.*, 2022).



Obrázek 3.1.: Mapa koncentrace Ni ve svrchních vrstvách půdy Evropy (uvedeno v mg/kg). Většina lokalit s vysokými koncentracemi Ni se nachází na ultramafických horninách.

3.1.1 *Cardamine*

Rostliny rodu *Cardamine* jsou rozšířeny celosvětově (Plants of the World Online, 2024). Přesto byl v tomto rodu zatím identifikován pouze jeden hyperakumulátor Ni, a to *Cardamine resedifolia* (Reeves *et al.*, 2018). Nález hyperakumulující *Cardamine resedifolia* byl hlášen ze severní Itálie a naměřené koncentrace Ni se pohybovaly jen těsně nad hranicí hyperakumulace Ni (1 050 mg/kg) (Reeves *et al.*, 1983; Bianchi *et al.*, 2022). Druhy *Cardamine* typické pro hadcové lokality na Balkánském poloostrově naopak nevykazují znaky hyperakumulace Ni (Tomović *et al.*, 2013).

Někteří zástupci rodu *Cardamine* jsou ale schopni akumulovat nezvykle zvýšené koncentrace dalších kovů. Například u *Cardamine waldsteinii* v Srbsku byla pozorována zvýšená koncentrace Zn, která ovšem nedosahovala hranice pro označení

hyperakumulátoru (Jakovljević *et al.*, 2023). U několika druhů *Cardamine* rostoucích v Číně byla však zaznamenána i schopnost hyperakumulace. V případě těchto druhů se jedná o hyperakumulaci selenu (Se) a dosavadní poznatky naznačují, že zde působí mechanismy fyziologicky i biochemicky odlišné od jiných známých hyperakumulátorů (Zhou *et al.*, 2018; Borbála Both *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2021).

3.1.2 *Odontarrhena*

Rod *Odontarrhena*, původně podrod v rámci rodu *Alyssum*, prošel různými taxonomickými změnami (Španiel *et al.*, 2015). V současném pojetí představuje velký diverzifikovaný rod centrem rozšíření v západní Eurasii, ale zasahující i do východní Eurasie a SZ Severní Ameriky (Španiel *et al.*, 2015, Plants of the World Online, 2024). Většina druhů roste obligátně či fakultativně na ultramafických půdách a je schopna hyperakumulace Ni (Bettarini *et al.*, 2020). U hyperakumulátorů Ni z rodu *Odontarrhena* je schopnost hyperakumulace obvykle považována za druhově konstitutivní znak. Daný hyperakumulující druh je schopen hyperakumulace ohledu na to, zda jeho populace pochází z ultramafických půd nebo z půd jiných (Bettarini *et al.*, 2021).

V tomto rodu je extenzivně studována široká škála druhů, které disponují různou intenzitou schopnosti hyperakumulace. Jedním z druhů vymykajících se většině je druh *Odontarrhena sibirica*, který ve většině případů nedosahuje hranice hyperakumulace Ni, ale ve dvou exemplářích z těžební hlušiny v Turecku hranici hyperakumulace Ni přesahoval (Bettarini *et al.*, 2020).

3.1.3 *Bornmuellera*

Rostliny hyperakumulující nikl z rodu *Bornmuellera* patří k silným hyperakumulátorům. Například pro turecký druh *Bornmuellera glabrescens* se koncentrace Ni v prýtu pohybuje v rozmezí 14 800-19 200 mg/kg (Reeves and Adigüzel, 2004). Tento rod obývá jihovýchodní Evropu a Blízký východ zahrnuje několik druhů schopných hyperakumulace, v popsáných případech se jedná především o druhy hyperakumulující nikl. Zvláště studovány jsou druhy *Bornmuellera emarginata* (5 000-35 000 mg/kg v sušině) a *Bornmuellera tymphaea* (1 590-31 200 mg/kg v sušině) (Reeves *et al.*, 1983; van der Ent *et al.*, 2019). Přirozený areál rozšíření mají v Řecku (Bani *et al.*, 2021). Hyperakumulující rostliny, které jsou ve fylogenetickém schématu od Krämer (2010)

ještě řazeny do rodu *Peltaria*, dnes již spadají do rodu *Bornmuellera* (Rešetnik *et al.*, 2013).

3.1.4 *Cochlearia*

Dle Krämer (2010) se několik rostlin hyperakumulujících Ni nachází i v arкто-alpinském rodu *Cochlearia*. Zde také proběhly taxonomické změny a je otázkou, zda se do tohoto rodu stále řadí i rostliny hyperakumulující Ni. Například Ni hyperakumulátor *Cochlearia aucheri* (dnes *Noccaea aucheri*) je již v současnosti řazen k rodu *Noccaea* (Ipni.org, 2021). Na dalších druzích rodu *Cochlearia*, které v rodě zůstaly, probíhají výzkumy zaměřené na toleranci stresových podmínek jako je zasolení či zvýšené koncentrace zinku a kadmia (Nawaz *et al.*, 2017).

3.1.5 *Noccaea*

Rod *Noccaea* zahrnuje mnoho druhů hyperakumulujících rostlin (Krämer, 2010), které dosahují značně vysokých koncentrací Ni v prýtu. Například pro *Thlaspi elegans* (dnes *Noccaea elegans*) se koncentrace Ni pohybují zhruba v rozmezí 8 800 - 20 800 mg/kg (Reeves and Adigüzel, 2004).

Zástupci tohoto rodu jsou často schopni hyperakumulovat několik druhů těžkých kovů. Vyskytují se i populace, které tyto kovy akumulují popřípadě hyperakumulují zároveň, když k tomu mají vhodné stanoviště. Zvláště zkoumaný modelový evropský druh, *Noccaea caerulescens* (Obr. 3.2.), je schopen hyperakumulovat Zn, Cd, Ni (Assunção *et al.*, 2003) a některé populace i Pb (van der Zee *et al.*, 2021). V jednotlivých populacích jsou drobné rozdíly hyperakumulujícího genotypu a fenotypu (Kozhevnikova *et al.*, 2020). Typicky jsou populace schopny hyperakumulovat Zn/Cd nebo Zn/Ni (Ó Lochlainn *et al.*, 2011; Sterckeman *et al.*, 2017). Schopnost hyperakumulovat Zn je považována za druhově konstitutivní znak (Kozhevnikova *et al.*, 2020).

V případě srovnání populací z ultramafických a ne-ultramafických lokalit na Obr. 2.1. (van der Ent *et al.*, 2022) je patrné, že populace *Noccaea caerulescens* na lokalitě Ganges mimo ultramafické půdy nehyperakumulovala nikl. Přesto se v jejích semenech nacházely akumulované zvýšené koncentrace Zn (700 mg/kg sušiny). Tato populace totiž na lokalitě Ganges rostla na takzvané calaminové půdě se zvýšeným obsahem oxidů zinku. U populací hyperakumulátoru *Noccaea caerulescens* tedy typ hyperakumulovaného či akumulovaného těžkého kovu závisí mimo jiné na geochemickém složení půdy (van der

Ent *et al.*, 2022). *Noccaea caerulescens* je celkově velmi zajímavým modelovým druhem pro studium hyperakumulace a potenciálním zdrojem pro transfer alel genů podmiňujících hyperakumulující fenotyp do dalších rostlin (Do Nascimento *et al.*, 2021).

3.1.6 *Streptanthus*

V tomto rodu je uváděn jen jediný zástupce hyperakumulujících rostlin. *Streptanthus polygaloides* je hyperakumulátorem Ni a jeho původním areálem rozšíření je Kalifornie (Boyd *et al.*, 2009).

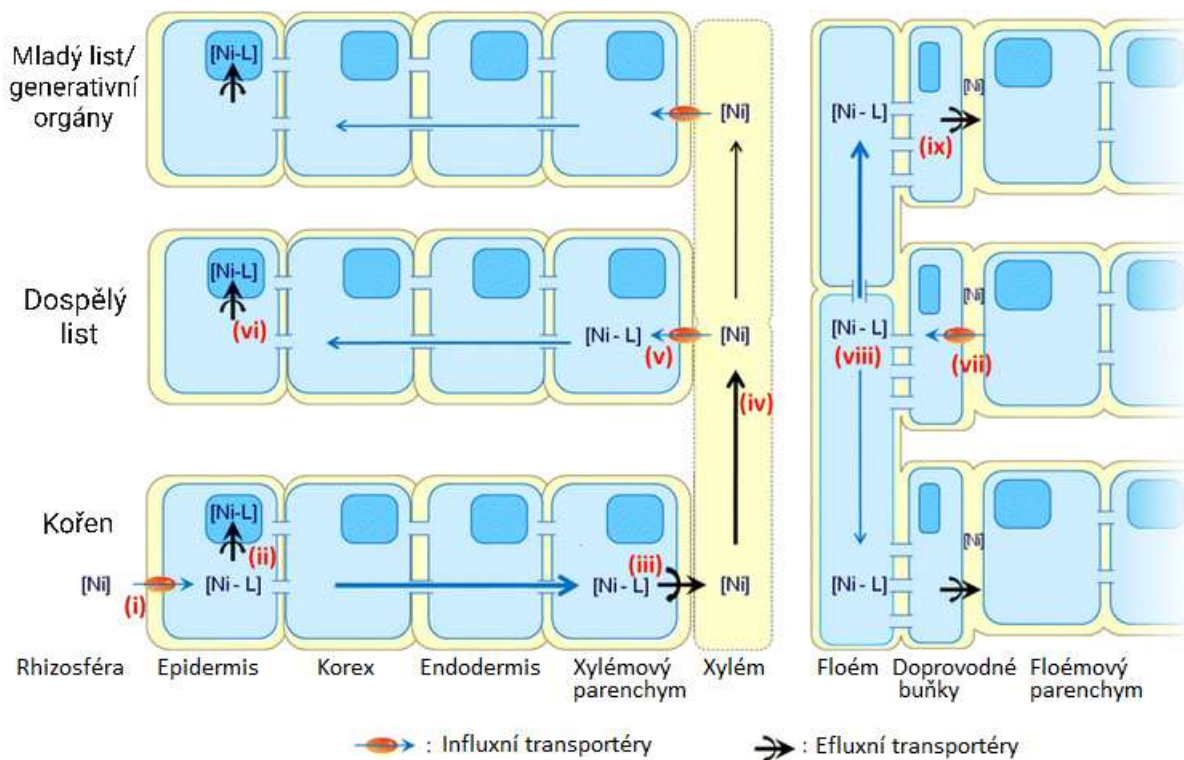


Obrázek 3.2.: Modelový druh pro výzkum hyperakumulace niklu, *Noccaea caerulescens*. (převzato od Plants of the World Online (2024))

4. Mechanismy hyperakumulace Ni

Hyperakumulační mechanismy niklu v rostlinách obecně zahrnují stimulovanou absorpci těžkého kovu kořeny, sníženou sekvestraci v kořenových buňkách, efektivní transport xylémem, zvýšenou sekvestraci kovu v listech a redistribuci Ni floémem (Obr. 4.1.). Významnou roli v efektivitě procesu mají chelatační činidla, jejichž poměrové i složkové zastoupení se pravděpodobně liší mezidruhově (Van der Pas and Ingle, 2019). V Ni hyperakumulující rostlině *Senecio coronatus* z čeledi *Asteraceae* byly objeveny i specializované kořenové buňky v kořenovém kortexu (Mesjasz-Przybyłowicz and Przybyłowicz, 2020). V dalších druzích a čeledích však taková přizpůsobení zatím zaznamenána nebyla. Dosavadní výsledky výzkumů ukazují, že drobné procesy či organické složky hyperakumulace Ni se relativně liší jak mezi čeleděmi, tak v menší míře i mezi druhy stejné čeledi. Ni hyperakumulátory čeledi *Brassicaceae* jsou jednou z více prozkoumaných skupin hyperakumulátorů. Za to vděčí jejich širokému rozšíření a diverzitě v Evropě a následnému mnohaletému výzkumu.

Hyperakumulátory niklu vyvinuly vysoce efektivní mechanismus příjmu Ni kořenovým systémem s následnou translokací a sekvestrací do prýtu. Kov je nabírán do xylému, kde se vyskytuje hlavně v podobě iontů Ni^{2+} a je sekvestrován především do vakuol a apoplastu listů. Dále probíhá translokace Ni i floémem. S ohledem na tento proces můžeme mechanismy hyperakumulace rozdělit na fázi příjmu v kořenech, transportu vodivými pletivými a detoxikaci a ukládání v nadzemních pletivech.



Obrázek 4.1.: Schéma hlavních transportních drah Ni v hyperakumulujících rostlinách. [Ni-L] Ni ve vazbě na chelatující ligand, (i) příjem do kořene, (ii) sekvestrace v kořenu a radiální transport, (iii) příjem do xylému, (iv) xylémový transport, (v) výdej z xylému, (vi) sekvestrace v dospělých listech, (vii) příjem do floému, (viii) redistribuce floémem, (ix) výdej z floému (převzato a upraveno od Deng *et al.* (2018))

4.1 Ni v rhizosféře

Nikl se v půdě vyskytuje v různých formách, u nichž se předpokládá, že čím více jsou rozpustné ve vodě, tím snáze jsou přístupné rostlinám (Brummer *et al.*, 1986). Nepřímá evidence tedy naznačuje, že hyperakumulující rostliny absorbují Ni především ve formě Ni^{2+} (Deng *et al.*, 2017). Rozpustnost Ni se snižuje s navyšujícím se pH, protože v zásaditějším prostředí má nikl tendenci vytvářet nerozpustné sloučeniny (Brummer *et al.*, 1986). I proto je v literatuře opakovaně zdůrazňováno, že pH hraje ústřední roli v příjmu Ni (Risse *et al.*, 2023).

Další otázkou tedy je, zda hyperakumulující druhy mohou v příjmu niklu využívat širší paletu sloučenin, v nichž se Ni vyskytuje. V některých srovnávacích studiích hyperakumulujících a nehyperakumulujících rostlin bylo pozorováno, že oba typy rostlin absorbují kovy ze stejných půdních zdrojů niklu. Massoura *et al.* (2004) toto pozorovali na hyperakumulátoru *Alyssum murale* (dnes *Odontarrhena muralis*), exkluderu *Triticum*

aestivum a indikátoru *Trifolium pratense*. Ovšem množství rozpustného Ni v půdách dostupného obvykle rostlinám je nižší, než množství niklu v nadzemní biomase hyperakumulátorů (Centofanti *et al.*, 2012). Zároveň dle výzkumu na *Alyssum corsicum* (dnes *Odontarrhena corsica*) neodpovídalo pořadí, v jakém hyperakumulující rostlina vyčerpala různé formy Ni z půdy pořadí rozpustnosti daných sloučenin (Centofanti *et al.*, 2012). Přesto ale Centofanti *et al.* (2012) došli k závěru, že koncentrace Ni v hyperakumulátorech závisí na množství rozpustného Ni v půdě a intenzitě transpirace. Jejich měření však mohla být ovlivněna hydroponickým provedením pokusů, tudíž i absencí rhizosféry či dalších mikroorganismů. Výsledky výzkumů tedy nejsou jednoznačné a vedou se debaty, zda jsou hyperakumulátory schopny čerpat z větší škály půdních zásob Ni než nehyperakumulátory (Risse *et al.*, 2023).

Další výzkumy jasněji podporují vliv čerpání Ni hyperakumulátory z méně biologicky dostupných složek půdy (Wenzel *et al.* 2003; Puschenreiter *et al.*, 2005; Álvarez-López *et al.*, 2021). Chardot-Jacques *et al.* (2013) zaznamenali přímo degradaci silikátového minerálu s nízko-rozpustným Ni v rhizosféře hyperakumulátoru *Leptoplax emarginata* (dnes *Bornmuellera emarginata*). Pro pozorování zvětrávání povrchu částic minerálu při tom použili skenovací elektronovou mikroskopii (SEM). Není tedy přesně objasněno, z jakých nikl obsahujících půdních složek hyperakumulátory čerpají přednostně. Příjem Ni hyperakumulátorům ale budou pravděpodobně usnadňovat specifické mechanismy, které jim umožňují mobilizovat či jinak získávat větší množství niklu.

Možnými mechanismy zvyšujícími rozpustnost Ni v půdě je acidifikace rhizosféry a další kořenová exsudace látek, které mohou působit jako chelatační činidla. Výzkumy na *Alyssum murale* (dnes *Odontarrhena muralis*), *Thlaspi caerulescens* (dnes *Noccaea caerulescens*) a *Thlaspi ochroleucum* (dnes *Noccaea ochroleuca*) však naznačovaly, že se acidifikace rhizosféry nepodílí na mechanismu solubilizace kovů u hyperakumulátorů (Bernal *et al.*, 1994; McGrath *et al.*, 1997; Zhao *et al.*, 2001). V případě kořenových exsudátů nebylo zatím jasně prokázáno, že by zvyšovaly solubilizaci Ni z méně biologicky přístupných sloučenin. Recentnější výzkumy na Ni hyperakumulátorech *Odontarrhena serpyllifolia* a *Odontarrhena chalcidica* ale přinášejí evidenci, že k mobilizaci Ni v rhizosféře může docházet (Álvarez-López *et al.*, 2021). Při srovnání terénních měření rhizosféry *O. serpyllifolia*, exkluderu *Holcus lanatus* a okolní půdy, byla největší koncentrace biologicky dostupného Ni právě v rhizosféře hyperakumulátoru. To značí, že

procesy v rhizosféře *O. serpyllifolia* vyvolaly mobilizaci Ni, čemuž mohlo přispět i působení exudátů dlouhodobě na jednom stanovišti. Risse *et al.* (2023) měřili rhizosféru *O. chalcidica* v květináčovém experimentu a taktéž zaznamenali mobilizaci Ni. U *O. chalcidica* byla ale mobilizace Ni nižší než v případě *O. serpyllifolia*, což mohlo být způsobeno jak rozdílnými druhy rostlin, tak rozdíly v terénním a květináčovém provedení experimentu. Risse *et al.* (2023) dále navrhují ko-mobilizaci Ni a Fe ze stejné složky půdy. Přesněji by se mohlo jednat o Ni asociovaný s Fe oxidy, které jsou jedním z hlavních zdrojů biologicky dostupného Ni na hadcových půdách (Massoura *et al.*, 2004; Chardot *et al.*, 2005; Álvarez-López *et al.*, 2021). Exudáty byly dále zaznamenány i například u *Thlaspi goesingense* (dnes *Noccaea goesingense*), kdy v hydroponickém experimentu docházelo k příjmu Ni²⁺ a také k vylučování kovo-organických sloučenin (Puschenreiter *et al.*, 2005). Během tohoto experimentu bylo pozorováno, že *T. goesingense* (*N. goesingense*) vyčerpá z půdy dříve Ni²⁺ než Ni v chelatačních komplexech. Dále bylo v terénním výzkumu rhizosféry *T. goesingense* (*N. goesingense*) naměřeno zvýšené množství kyseliny šťavelové a kyseliny citronové oproti celkové okolní půdě (Puschenreiter *et al.*, 2005). Vliv na čerpání a mobilitu Ni v rhizosféře mohou mít i mikroorganismy, případně další faktory jako obsah celkové organické složky, teplota, textura či vlhkost půdy (Morris, 2020; Ünver *et al.*, 2013). Jednotlivé vlivy jsou ovšem obtížně odlišitelné. Výsledky několika výzkumů na tato témata se mírně různí a zatím není jasná evidence o tom, zda se zmíněné procesy přímo podílejí na intenzifikaci příjmu Ni hyperakumulátory.

Jedním z dalších mechanismů potenciálně zvyšujících zisk Ni hyperakumulačními rostlinami je preferenční proliferace kořenů do oblastí půdy se zvýšenou koncentrací Ni. Distribuce těžkých kovů v půdách je heterogenní, což rostlinám částečně umožňuje se koncentrovaným ložiskům vyhnout, nebo je naopak vyhledávat. Při pokusech v rhizotroních s populacemi hyperakumulátoru *N. caerulescens* a kovo-tolerantního exkluderu *Stellaria media* projevil rostliny zřetelnou odpověď na přítomnost Ni (Tognacchini *et al.*, 2020b). Kořeny populací *N. caerulescens* odebraných z Ni bohatých půd zřetelně vyhledávaly Ni koncentrovaná ložiska. Naopak kořeny populací *N. caerulescens* odebraných z půd bez vyšší koncentrace Ni se ložiskům bohatým na kov vyhýbaly. U *S. media* se ložiskům vyhýbaly všechny populace. Tyto výsledky naznačují fyziologickou adaptaci a potřebu niklu u populací *N. caerulescens* pocházejících z Ni bohatých stanovišť. Evidenci o stimulačním efektu Ni na kořenový růst u hyperakumulátorů přinesl i výzkum Bettarini *et al.* (2021). Populace šesti druhů

hyperakumulátorů z rodu *Odontarrhena* vykazovaly posílený růst kořenů v přítomnosti vyšších koncentrací Ni. Populace sedmého druhu, *Odontarrhena muralis*, také vykazovaly stimulovaný růst při nižších ale v běžné půdě neobvyklých dávkách Ni.

4.2 Příjem Ni

Příjem vody a živin z rhizosféry do rostlin probíhá pasivně přes apoplast a aktivně skrz symplast (Hopmans and Bristow, 2002; Bartoli *et al.*, 2011). Podíl apoplastické a symplastické cesty v kořenovém příjmu Ni byl měřen Redjala *et al.* (2010). Pro exkluder *Zea mays* a Ni hyperakumulátor *Leptoplax emarginata* (*Bornmuellera emarginata*) byl podíl apoplastického transportu 81.3–88.0 % a 90.6–95.5 %. To naznačuje, že hlavní roli v absorpci niklu do kořene hyperakumulátorů bude hrát pasivní transport, ale míra jeho zapojení se může mezidruhově lišit.

Do rostlinného těla proniká Ni^{2+} především přes nízkoafinitní transportní systémy kationtů mikroprvků. Molekulární studie ukazují, že by se mohlo jednat o Zn a Fe transportéry. U Zn/Ni hyperakumulátoru *Thlaspi pindicum* (dnes *Noccaea pindica*) byla zaznamenána inhibice příjmu Ni^{2+} při přidání Zn^{2+} do média. Při opačném zásahu nemělo přidání Ni signifikantní efekt na příjem Zn (Taylor and Macnair, 2005). Stejně tak Ni hyperakumulátor *T. caerulescens* (*N. caerulescens*) preferoval příjem Zn před Ni (Assunção *et al.*, 2001). Z těchto výsledků je patrné, že hyperakumulující druhy rody *Noccaea* by mohly mít Zn specifické vysokoafinitní transportéry a Zn/Ni nízkoafinitní transportéry (Deng *et al.*, 2018). Možné zapojení Fe transportérů přichází v úvahu mimo jiné na základě SOLiD high-throughput sekvenování kořenových transkriptomů v *N. caerulescens*, které ukázaly, že expozice Ni může stimulovat genovou expresi Zn transportéru ZIP10 a Fe transportéru IRT1 (Halimaa *et al.* 2014). Oba tyto transportéry patří do rodiny ZIP (Zinc-regulated transporter, Iron-regulated transporter-like Protein). Ovšem IRT1 má širokou substrátovou specifitu vůči divalentním kationtům a transportuje i ionty dalších kovů (Korshunova *et al.*, 1999).

Jakmile se Ni dostane do kořene, musí projít symplastem a efektivně se translokovat přes Caspariho proužek až do xylému. Po kontaktu s kořenovým symplastem je Ni včasné navázán na chelatační organické ligandy, aby se buňky vyhnuly toxicitě volných Ni^{2+} iontů (Haydon and Cobbett, 2007). Obecně lze očekávat, že Ni bude vázán sloučeninami s reakční skupinou obsahující dusík nebo kyslík (McNear *et al.*, 2010). Jako významné

chelatační činidlo pro Ni hyperakumulátory je opakovaně zaznamenáván histidin (His). Krämer *et al.* (1996) pozorovali, že vystavení hyperakumulátoru *Alyssum lesbiacum* (dnes *Odontarrhena lesbiaca*) zvýšeným koncentracím Ni indukovalo navýšení celkové přítomnosti His a zároveň navýšení Ni v xylémové šťávě. Při srovnávací studii *A. lesbiacum* (*O. lesbiaca*) s Ni nehyperakumulující *Brassica juncea* byly naměřeny konstantně vysoké koncentrace histidinu v kořenech Ni hyperakumulátoru (Kerkeb and Krämer, 2003). Chelatace histidinem tedy potlačuje sekvestraci Ni do vakuol kořenových buněk, a tím podporuje radiální transport (Richau *et al.* 2009). V sekvestraci menší části přijatého niklu do kořene hyperakumulujících rostlin hrají patrně roli další Fe transportéry. García de la Torre *et al.* (2020) přináší evidenci o zapojení IREG/Ferroportin transportéru NcIREG2 z *N. caerulescens*. Většina přijatého Ni je však transportována radiálně od buněk rhizodermis k parenchymu v pericyklu.

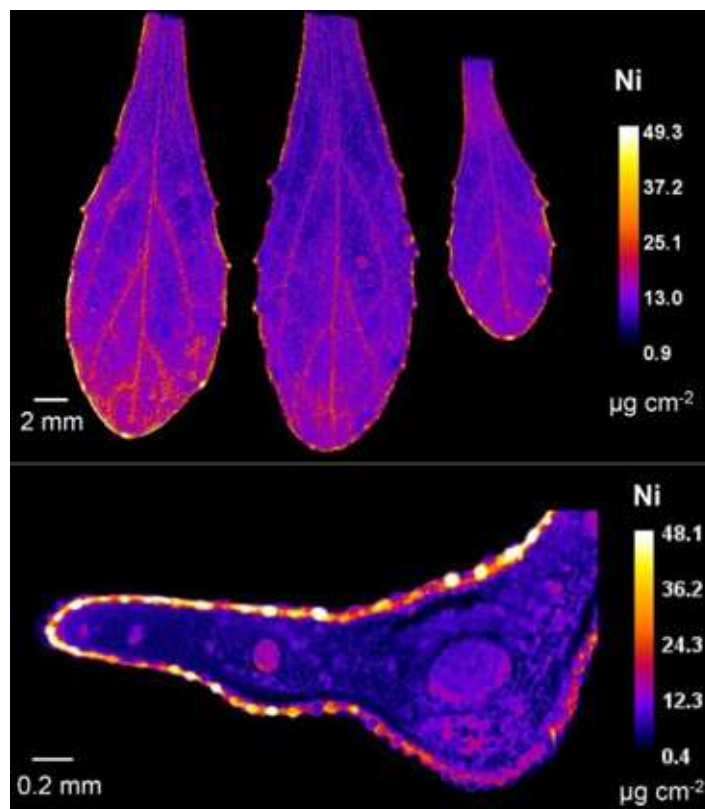
4.3 Xylémový transport

V pericyklu kořene putuje Ni do parenchymu xylému odkud dále přechází do xylémového cévního systému (Obr. 4.1.). Přesun Ni do xylému je pravděpodobně usnadněn proteiny v membránách xylémového parenchymu (Deng *et al.*, 2018). Zapojeny by mohly být mimo jiné YSL3 transportéry komplexu Ni–nicotianamin z rodiny YSL (Yellow Stripe-Like), jejichž genová exprese v *T. caerulescens* (*N. caerulescens*) byla zvýšena při vystavení rostlin vyšším koncentracím Ni (Gendre *et al.*, 2006). Další transportéry pro komplexy Ni–His nebyly zatím identifikovány. Hnací silou xylémového transportu je především transpirace listů, případně kořenový vztlak. V xylémové míze se část niklu může vyskytovat ve formě volných hydratovaných kationtů (Centofanti *et al.*, 2013) a část může být chelatována organickými ligandy. Ni²⁺ je poměrně stabilní v xylémové míze s pH 5-6 a mrtvé buňky xylémových cév by vysokými koncentracemi Ni²⁺ neměly být ovlivněny (Deng *et al.*, 2018). Jako hlavní chelatační sloučenina v xylémovém transportu u *T. caerulescens* (*N. caerulescens*) byl zaznamenán nicotianamin (NA) (Stéphane *et al.*, 2006). Gen pro jeho syntézu byl exprimován pouze v listech. Při vystavení *T. caerulescens* (*N. caerulescens*) vyšším koncentracím Ni se však NA kumuloval v kořenech, přestože exprese jeho genu zde zaznamenána nebyla. Vysvětlením, které Stéphane *et al.* (2006) navrhuje, může být translokace NA z listů. V kořenech NA pravděpodobně tvoří komplex s Ni a doprovází ho xylémovým transportem do listů. U devíti druhů Ni hyperakumulátorů z rodu *Alyssum* (dnes osm z nich *Odontarrhena* až na *A. montanum*) byly jako další

chelatační činidla zaznamenány kyselina citronová a kyselina jablečná (Centofanti *et al.*, 2013). Alves *et al.* (2011) nastiňují vliv i dalších karboxylových kyselin a z malé části i aminokyselin. Chelatační látky však pravděpodobně nepokryjí veškerou koncentraci Ni v xylému a značná část niklu tak zůstává v podobě kationtů.

4.4 Ukládání Ni v listech

Během xylémového transportu končí většina Ni v dospělých listech, které mají nejsilnější transpiraci (Deng *et al.*, 2016). V listech je nikl rozprostřen v apoplastu pomocí vodivých pletiv, případně je absorbován do symplastu. Dále probíhá sekvestrace Ni do fyziologicky méně aktivních oblastí jako vakuoly epidermis (Obr. 4.2.) nebo buněčné stěny. Na vykládání komplexů Ni-NA z xylému do listů se patrně mohou podílet opět transportéry YSL3 (Gendre *et al.*, 2006). Součástí transportu do symplastu by mohly být i transportéry ZNT1 a ZNT2 z rodiny ZIP, které jsou dle výzkumů na *N. caerulescens* upregulovány přítomností niklu (Visioli *et al.*, 2014). V symplastu je Ni akumulován hlavně ve vakuolách (Krämer *et al.*, 2000), do nichž by mohl být transportován skrz tonoplast přes transportéry MTP1 (metal tolerance protein 1) či přes Ni²⁺/H⁺ antiport poháněný V-ATPasou (Ingle *et al.*, 2008). MTP1 je z rodiny CDF (Cation Diffusion Facilitator) a byl zaznamenán u *T. goesingense* (*N. goesingense*) (Persans *et al.*, 2001). Možnost Ni²⁺/H⁺ antiportu zaznamenali Ingle *et al.* (2008) u *A. lesbiacum* (*O. lesbiaca*). Ve vakuolách je Ni stabilizován karboxylovými kyselinami (Montargès-Pelletier *et al.*, 2008; Krämer *et al.*, 2000). V apoplastu může být Ni uskladněn v buněčných stěnách (Krämer *et al.*, 1997; Krämer *et al.*, 2000).



Obrázek 4.2.: Pomocí synchrotronové mikro-rentgenové fluorescence (μ XRF) vytvořená mapa distribuce Ni v listech a v listovém řezu *Noccaea caerulescens* oddělených z živé rostliny. Obrázek ukazuje že v listech je Ni akumulován především v buňkách epidermis a vodivých pletivech (převzato a upraveno od Jakovljević *et al.* (2024))

Hyperakumulátory mají obdivuhodnou schopnost efektivní fotosyntézy, přestože většinu Ni sekvestrují v prýtu. Scartazza *et al.* (2022) zaznamenali, že u Ni hyperakumulátorů *O. chalcidica* a *O. moravensis* byla intenzita fotosyntézy navýšena v přítomnosti Ni. Pozorovali u nich mimo jiné přeuspořádání fotosyntetických pigmentů, vyšší účinnost fotosystému II. a přímo nutnost vyšší koncentrace Ni pro efektivnější celkovou fotosyntetickou aktivitu. Populace dalšího druhu, slabšího hyperakumulátoru *O. muralis*, projeví při vyšších koncentracích Ni symptomy toxicity (Scartazza *et al.*, 2022). Jedním z příznaků Ni toxicity je ztráta obsahu vody v kořenech i prýtu (Schickler and Caspi, 1999). U Ni hyperakumulujících rostlin je naopak opakovaně pozorována stabilní hydratace pletiv (Rosatto *et al.*, 2021; Scartazza *et al.*, 2022). V případě *O. chalcidica* vystavených nejvyšším koncentracím Ni byl pak zjištěn i stimulující efekt Ni na otevírání průduchů a navýšení transpirace (Scartazza *et al.*, 2022). Efektivní kompartmentalizace Ni v buňkách listu a intenzivní transpirace tak budou pravděpodobně jedněmi z klíčových

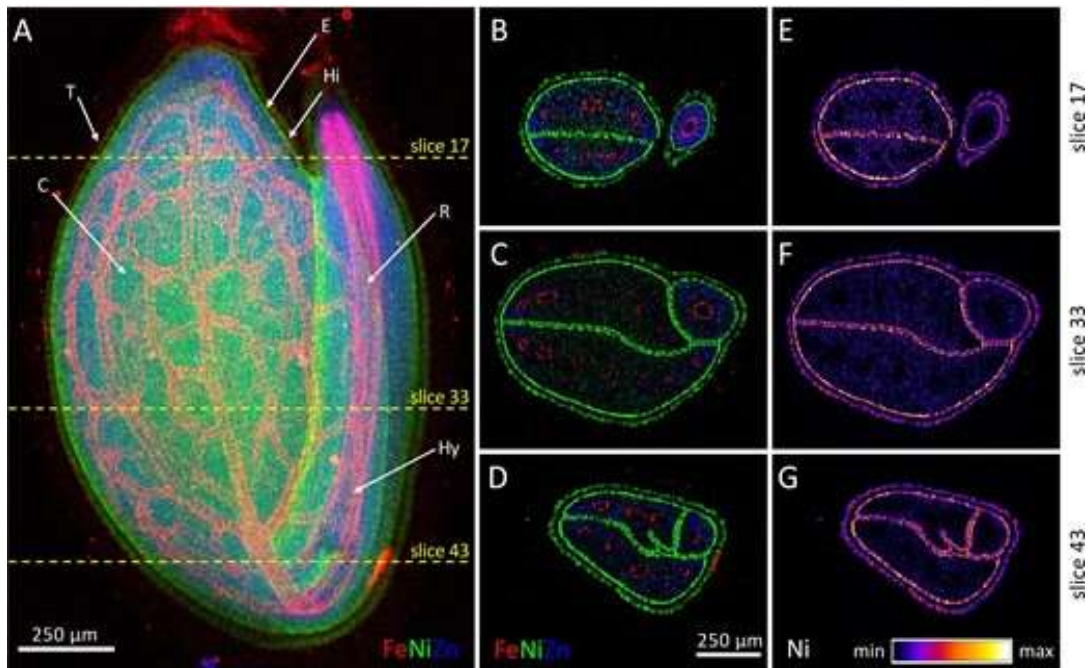
prvků ve vysoké hyperakumulační kapacitě druhů jako *O. chalcidica* (Scartazza *et al.*, 2022).

4.5 Přesun floémem

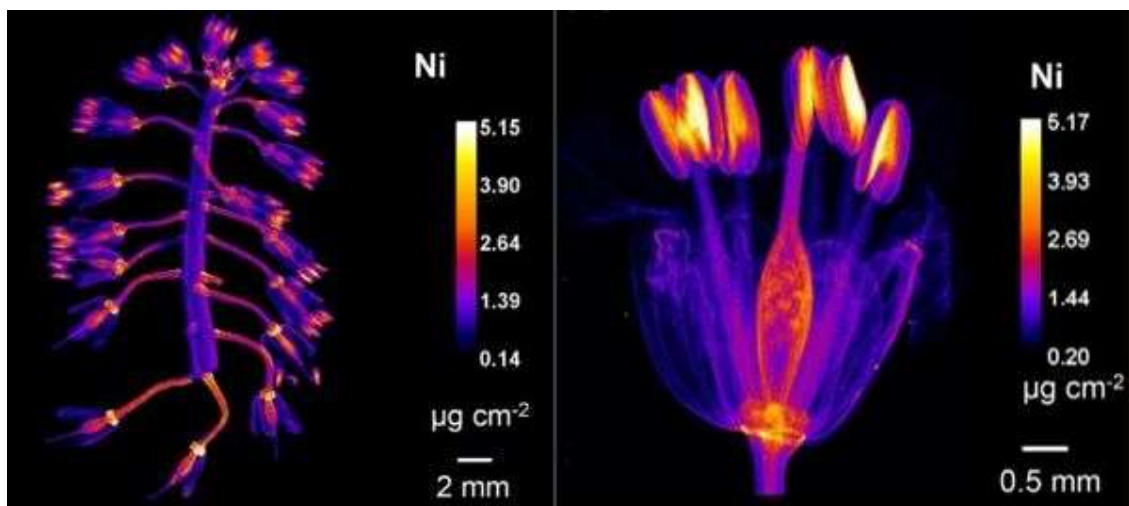
Většina Ni se po xylémovém transportu sekvstruje v silně transpirujících dospělých listech, které se mohou v případě rostlin z čeledi Brassicaceae nacházet v listové růžici, zatímco zbytek dále rostoucího prýtu je nad nimi (Deng *et al.*, 2016; Deng *et al.*, 2021). Část uloženého niklu, jakožto esenciálního prvku pro rostliny, je tedy potřeba v nových rostoucích pletivech (Deng *et al.*, 2016). Nikl může být pohotově přesouván mezi uloženými zdroji a místy spotřeby, sinky. K tomu slouží síť floému poháněná především osmotickými silami. Floémová šťáva má pH mírně alkalické, pH 7-8, a je obohacena o cukry, aminokyseliny a další organické složky (Taiz a Zeiger, 2010). Dá se tedy předpokládat, že i zde budou ionty Ni chelatovány organickými složkami, ale podrobné studie zatím chybí. Deng *et al.* (2016) zaznamenali v *N. caerulescens* vazbu Ni na kyselinu jablečnou a měření naznačovala, že by na ni mohla být navázána většina Ni přítomného ve floému.

Přesun Ni uloženého v buňkách listů do síťových elementů floému probíhá skrz doprovodné buňky floému a dále u některých druhů přes plasmodesmata (Taiz a Zeiger, 2010), ale u jiných přes apoplast. K transportu přes apoplast by mohlo docházet například u *Arabidopsis thaliana*, jehož floémové buňky jsou kvůli nedostatku plasmodesmat více izolovány od buněk ostatních (Haritatos *et al.*, 2000). Ve floému dále dochází k translokaci Ni ve směru nahoru i dolů. Deng *et al.* (2016) naměřili u *N. caerulescens*, že 89 % Ni exportovaného ze starých listů se přemístí nahoru k mladým listům, případně semenům (Obr. 4.3.) a dalším orgánům, zatímco jen 11 % se přesune dolů ke kořenům. Deng *et al.* (2021) dále zaznamenali, že Ni je ve floému značně mobilní a floémový transport tak efektivně přispívá k rovnoměrnému rozmístění Ni v rostlině. To je v souladu s výsledky Meindl *et al.* (2014), kteří již dříve zaznamenali, že u *Noccaea fendleri* subsp. *glauca* a u *Streptanthus polygaloides* se Ni nadměrně akumuluje i v reprodukčních orgánech včetně prašníků, pestíku i v pylu a nektaru (Meindl *et al.*, 2014). Distribuci Ni v rozmnožovacích orgánech Ni hyperakumulátorů dále potvrzují i Jakovljević *et al.* (2024) u *Noccaea praecox* (Obr. 4.4.) a *N. caerulescens*. Floémový transport těžkých kovů včetně Ni je zatím prozkoumán jen málo a zbývá spousta neznámých. Přesto je zřejmé, že hraje

zásadní roli v životě hyperakumulujících rostlin, které prosperují v extrémních podmínkách.



Obrázek 4.3.: Synchrotronová 2D projekční mapa (A) a rentgenová fluorescenční výpočetní tomografie (XFM-CT) (B-G) distribuce Ni, Fe a Zn v sušeném semeni *Nocca caerulea*. T – testa, Hi – hilum, E – endosperm, R – kořen, Hy – hypokotyl, C – kotyledon (převzato a upraveno od Spiers *et al.* (2022))



Obrázek 4.4.: Pomocí synchrotronové mikro-rentgenové fluorescence (μ XRF) vytvořená mapa distribuce Ni v květenství a v květu *Nocca praecox* oddělených z živé rostliny. Obrázek dokumentuje distribuci a nadměrnou akumulaci Ni v rozmnožovacích orgánech. (převzato a upraveno od Jakovljević *et al.* (2024))

5. Role hyperakumulace Ni v adaptaci na toxické půdy

Půdy s vysokými koncentracemi těžkých kovů jsou pro většinu rostlin náročným prostředím pro život. Rostliny, které si osvojily schopnost hyperakumulace těžkých kovů však mají oproti nehyperakumulujícím rostlinám značnou výhodu v přežívání na těchto půdách. Tyto druhy již mají mechanismus, pomocí kterého mohou s těžkými kovy hospodařit.

Je otázkou, zda původními podněty pro vznik schopnosti hyperakumulace byla právě extrémní prostředí. Existuje několik hypotéz, vysvětlujících, proč by pro rostliny mohlo být dále výhodné hyperakumulovat Ni (Kazakou *et al.*, 2008). Několika studiemi podporovaná je hypotéza, že hyperakumulace niklu slouží rostlinám jako ochrana před patogeny, případně herbivory (Fones and Preston, 2013). Tato hypotéza je někdy také nazývána hypotézou elementární obrany a vztahuje se i na hyperakumulaci dalších těžkých kovů.

O evoluční komplexnosti hyperakumulace může svědčit, že schopnost hyperakumulace a akumulace v daných fylogenetických větvích se často vyskytuje opakovaně. Dále není dostatečná evidence, že by u hyperakumulujících druhů docházelo ke ztrátě této schopnosti. Zároveň schopnost hyperakumulace Ni vznikla u rostlin minimálně šestkrát (Krämer, 2010) a je rozšířena mezi různými taxony. Toto by mohlo naznačovat, že schopnost hyperakumulace je výsledkem adaptivní evoluce (Cecchi *et al.*, 2010; Sobczyk *et al.*, 2016).

5.1 Hyperakumulace jako adaptace na ultramafické půdy

Majorita půd s toxickými koncentracemi těžkých kovů se nachází na ultramafických horninách. Termín ultramafické půdy v této podkapitole budu používat záměně s termínem serpentinitové, neboli hadcové půdy, protože značná část diverzity Ni hyperakumulátorů roste na ultramafických půdách vznikajících na serpentinitech (Bani *et al.*, 2010; Bettarini *et al.*, 2020). Tento typ půd je pro rostliny náročným prostředím nejen kvůli přítomnosti vysokých koncentrací těžkých kovů, ale i kvůli dalším specifikům. Lokality se serpentinitovými půdami se často vyznačují vyšší teplotou než okolí

a nedostatkem vody (Rajakaruna, 2018). Zároveň na hadcových půdách bývá nedostatek vápníku, který je pro rostliny esenciální makroživinou (Kazakou *et al.*, 2008). Esenciální makroživinou rostlin je i hořčík, ale toho je na hadcových půdách naopak přebytek, který ještě dále ztěžuje příjem už tak vzácného vápníku. (Kazakou *et al.*, 2008).

Díky těmto specifickým abiotickým faktorům se na hadcových půdách vyskytuje i specifická flóra. Mezi rostliny této flóry patří druhy lépe snášející extrémní podmínky, jako právě hyperakumulátory Ni. Některé z těchto hyperakumulujících druhů jsou na hadcových lokalitách endemické, jiné druhy jsou schopny prosperovat jak na hadcových, tak na běžných půdách (Kazakou *et al.*, 2008). Ačkoliv drtivá většina hyperakumulátorů Ni obývajících ultramafické půdy je hadcovými endemity (85-90 % dle Kazakou *et al.* (2008)), ne všechny druhy adaptované na tyto půdy jsou hyperakumulátory (Brady *et al.*, 2005). Tento nepoměr poukazuje na to, že schopnost hyperakumulace může usnadňovat kolonizaci těchto specifických substrátů, zdaleka však není jediným mechanismem, jak se na tyto půdy adaptovat.

5.2 Kandidátní geny

Hyperakumulující rostliny mají širokou škálu mechanismů, jak se vypořádat s vysokými koncentracemi těžkých kovů v jejich okolí. Je pravděpodobné, že tato diverzita fyziologických procesů se pak bude odrážet in na diverzitě na úrovni genetických změn, o nichž je však známo podstatně méně. Je snaha tyto rozdíly od běžných nehyperakumulujících rostlin identifikovat a nalézt kandidátní geny, které by se mohly na hyperakumulaci podílet. Současné výzkumy se zvláště soustředí na změny v expresi genů pro membránové transportéry (Halimaa *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2021). Největší škála experimentů je prováděna na modelovém druhu *Noccaea caerulescens*. Tento druh je pro výzkum lákavý zvláště díky jeho schopnosti hyperakumulovat několik druhů těžkých kovů a díky dostupnosti značných znalostí o jeho genomu a transkriptomu (Lin *et al.*, 2014).

Membránové transportéry hrají zásadní roli v příjmu, translokaci i sekvestraci těžkých kovů u hyperakumulátorů. Halimaa *et al.* považují za kandidátní geny specifické pouze pro *N. caerulescens*, které zahrnují geny pro transportéry z rodiny ZIP, NRAMP, CDF, geny pro různé typy ATPáz a další.

Kandidátní geny, které byly nalezeny pro některé transportéry z rodiny ZIP, zahrnují například geny NcIRT1. Tento gen kóduje Fe transportér, který má širokou substrátovou specifitu a je tak schopen transportovat i další ionty.

Dále byly nalezeny kandidátní geny Ni hyperakumulace pro transportéry ze skupiny NRAMP (natural resistance-associated macrophage protein) (Wei *et al.*, 2009; Halimaa *et al.*, 2014). Tyto transportéry se podílejí na transportu divalentních kationtů jako je Fe²⁺. Dle Wei *et al.* (2009) by se gen TcNRAMP3 (dnes NcNRAMP3) kódující transportéry ze skupiny NRAMP mohl podílet na hyperakumulaci Ni. Exprimovaný byl především v kořenu *T. caerulea* (*N. caerulea*) a transportér, který kóduje by mohl zprostředkovávat příjem komplexu Ni-NA (Halimaa *et al.*, 2014).

Jednou z dalších významných skupin transportérů jsou YSL transportéry. Tyto transportéry zajišťují příjem a vylučování komplexů Ni-nicotianamin z cévního systému (Gendre *et al.*, 2006). YSL transportéry jsou kódovány YSL geny. Dle analýzy *Thlaspi caerulea* (*Noccaea caerulea*) od Gendre *et al.* (2006) vykazují tři konkrétní YSL geny výrazně zvýšenou expresi oproti jejich homologům v *Arabidopsis thaliana*. Jedná se o geny TcYSL7 se zvýšenou expresí v květenství, TcYSL5 zvýšeně exprimován v prýtu a TcYSL3 exprimovaný ve zvýšené míře ve všech měřených orgánech. V případě TcYSL7 a TcYSL5 je exprese zvláště navýšena v okolí cévního systému. U TcYSL3 bylo dále prokázáno, že kóduje influxní transportér Fe/Ni-NA. Všechny tři geny navíc projevují konstitutivní expresi neovlivněnou změnami v koncentraci těžkých kovů v jejich prostředí (Gendre *et al.*, 2006). Geny s vlastností konstitutivní exprese jsou často esenciální pro životaschopnost organismu.

Kromě kandidátních genů pro transportéry zapojené v hyperakumulaci jsou identifikované i některé kandidátní geny pro chelatační činidla. V případě nicotianaminu byl například nalezen gen podílející se na jeho syntéze (Stéphane *et al.*, 2006). Konkrétně se jedná o gen TcNAS (dnes NcNAS) kódující nicotianamin syntázu (NAS).

Předcházející zmíněné geny byly identifikovány u *Noccaea caerulea*. Podobné studie, i když v menším rozsahu, jsou prováděny i na dalších hyperakumulujících zástupcích čeledi Brassicaceae. Například u *Thlaspi goesingense* (*Noccaea goesingensis*) či *Alyssum serpyllifolium* (Persans *et al.*, 2001; Sobczyk *et al.*, 2016).

6. Užití hyperakumulujících rostlin

Druhy hyperakumulující Ni lze použít jak k indikaci zvýšené koncentrace Ni v půdě, tak k extrakci Ni z půdy. Extrakce může sloužit k čištění půdy, tedy fytořemediaci, i k získávání cenných kovů z půd, které obsahují příliš nízké koncentrace kovů pro konvenční metody. Tento druhý proces je nazýván fytořmining (van der Ent *et al.*, 2021).

Při výběru rostlin vhodných pro fytořremediaci je zvláště sledována míra produkce biomasy, dohromady s koncentrací daného prvku transportovaného z půdy do prýtu (Reeves and Baker, 2000). Výhodou tohoto způsobu čištění půd je, že není potřeba vyjmout znečištěnou půdu z dané lokality ani ji není třeba chemicky ošetřit.

Pro fytořmining jsou také preferovány rostliny s vysokou schopností hyperakumulace daného kovu a s vysokou produkcí akumulující biomasy. Metodou fytořminingu lze získávat kovy jak z přírodních lokalit, tak například odtěžením zbytkového kovu z odpadního materiálu průmyslu (Tognacchini *et al.*, 2020a). Zrovna *Noccaea caerulescens* je druh, jenž hyperakumuluje zajímavá množství kovů, ale produkuje biomasu příliš pomalu na to, aby byl vhodným druhem pro fytořmining (Reeves and Baker, 2000). Alely genů podílející se na hyperakumulaci však mohou být transferovány do rostlin s vyšší produkcí biomasy.

Pomocí přítomnosti hyperakumulujících druhů lze dále nalézt lokality se zvýšeným obsahem daného kovu v půdě, případně i mateřské hornině. Takto, jako bioindikátory, jsou rostliny prosperující v půdách bohatých na kovy používány pravděpodobně po tisíciletí (van der Ent *et al.*, 2021).

Dále mohou rostliny s touto schopností napomáhat fytořstabilizaci kontaminovaných půd, kdy omezují mobilitu a šíření niklu (van der Ent *et al.*, 2021) či s managementem znečištěných vod (Mustafa *et al.*, 2023). Ve všech těchto případech je kladen důraz na to, aby vybrané druhy odpovídaly svými preferencemi stanovišť dané lokalitě (Mustafa *et al.*, 2023). Vhodné jsou proto rostliny původní, již přizpůsobené daným přírodním podmínkám (Mustafa *et al.*, 2023).

7. Závěr

Ve své bakalářské práci jsem se zabývala hyperakumulací Ni v čeledi Brassicaceae. Shrnuji zde diverzitu těchto druhů, nejpodstatnější fyziologické a molekulární mechanismy, vznik této schopnosti jako adaptace na toxické půdy a kandidátní geny, které by se mohly podílet na této schopnosti. Zároveň poukazuji na využití druhů hyperakumulujících Ni v praktických aplikacích a podtrhuji možné oblasti dalšího výzkumu.

Schopnost hyperakumulace Ni byla v současnosti identifikována zhruba u sedmi rodů čeledi Brassicaceae. Z těchto rodů patří mezi předpokládané nejsilnější hyperakumulátory Ni *Odontarrhena*, *Noccaea* a *Bornmuellera*. Zvláště studovaný je modelový druh *Noccaea caerulescens*, u nějž disponujeme širokou škálou molekulárních dat.

Hyperakumulátory z čeledi Brassicaceae mají schopnost stimulované absorpce Ni, nízkou intenzitu sekvestrace Ni do kořenových vakuol, efektivní transport cévním systémem a intenzivní sekvestraci Ni do listů, zvláště do epidermálních pletiv. Stále není plně ujasněno, pomocí jakých konkrétních procesů získávají hyperakumulátory Ni z půdních složek, které nejsou běžným rostlinám dostupné. V případě dalších mechanismů je také stále prostor pro další výzkum. Bylo by potřeba rozšířit znalosti například v oblasti molekulárních změn v místě sekvestrace Ni, zvláště ve fotosyntetickém aparátu. Nejméně prozkoumaný je asi floémový transport a chelatační činidla v něm působící. Jako chelatační činidla zde pravděpodobně budou rozsáhle působit organické kyseliny, ovšem širší studie na toto téma chybí.

Výkon jednotlivých membránových transportérů, chelatačních činidel a dalších molekulárních komplexů hyperakumulátorů je odlišný od nehyperakumulujících rostlin díky odlišnému genomu a jeho expresi. Výzkumy na molekulární, především genetickou, podstatu hyperakumulace byly však prozatím prováděny především na jednom druhu, a to na *Noccaea caerulescens*. Pro tento druh byl složen kompletně genom, identifikováno několik transportérů podílejících se na hyperakumulaci a identifikováno několik kandidátních genů, které by také mohly hyperakumulaci ovlivňovat či kódovat její součásti.

Dalším potenciálním modelovým druhem je silný hyperakumulátor Ni, *Bornmuellera emarginata*, ovšem o molekulární podstatě hyperakumulace v jeho případě není zatím

známo téměř nic. Podobná situace je i u dalších Ni hyperakumulujících druhů. Tímto směrem by tedy měly směřovat budoucí výzkumy.

Bližší porozumění molekulární podstatě a její mezidruhové diverzitě by nám mohlo pomoci lépe pochopit, proč se vůbec s hyperakumulujícími rostlinami setkáváme, a co vede k jejich výraznému výskytu na ultramafických půdách s centrem diverzity v západní Eurasii. Schopnost hyperakumulace by mohla představovat preadaptaci pro prosperování na hadcových půdách. Pro potvrzení této hypotézy je ovšem třeba dalších výzkumů pokrývajících různé druhy s hadcovými a nehadcovými populacemi. Vhodným výzkumným přístupem pro potvrzení této hypotézy by mohly být například reciproční transplantační experimenty.

8. Literatura

*Alfano, M. and Cavazza, C. (2020). Structure, function, and biosynthesis of nickel-dependent enzymes. *Protein Science*, 29(5), pp.1071–1089.

Álvarez-López, V., Puschenreiter, M., Santner, J., Lehto, N., Prieto-Fernández, Á., Wenzel, W.W., Monterroso, C. and Kidd, P.S. (2021). Evidence for nickel mobilisation in rhizosphere soils of Ni hyperaccumulator *Odontarrhena serpyllifolia*. *Plant and soil*, 464, pp.89–107.

Alves, S., Nabais, C., de Lurdes Simões Gonçalves, M. and Correia dos Santos, S.M. (2011). Nickel speciation in the xylem sap of the hyperaccumulator *Alyssum serpyllifolium* ssp. *lusitanicum* growing on serpentine soils of northeast Portugal. *Journal of Plant Physiology*, 168(15), pp.1715–1722.

Assunção, A.G.L., Da Costa Martins, P., De Folter, S., Vooijs, R., Schat, H. and Aarts, M.G.M. (2001). Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell & Environment*, 24(2), pp.217–226.

Assunção, A.G.L., Schat, H. and Aarts, M.G.M. (2003). *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist*, 159(2), pp.351–360.

Baker, A.J.M. (1981). Accumulators and excluders -strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1-4), pp.643–654.

Baklanov, I.A., Seregin, I.V. and Ivanov, V.B. (2009). Histochemical analysis of nickel distribution in the hyperaccumulator and excluder in the genus *Alyssum* L. *Doklady Biological Sciences*, 429(1), pp.548–550.

Balasubramanian, A. and Ponnuraj, K. (2010). Crystal Structure of the First Plant Urease from Jack Bean: 83 Years of Journey from Its First Crystal to Molecular Structure. *Journal of Molecular Biology*, 400(3), pp.274–283.

Bani, A., Pavlova, D., Echevarria, G., Mullaj, A., Reeves, R.D., Morel, J.-L.J.-L., Sulce, S. and Lorraine, I.N.P. de (2010). Nickel hyperaccumulation by the species of *Alyssum* and *Thlaspi* (Brassicaceae) from the ultramafic soils of the Balkans. *Botanica Serbica*, 34(1), p.3.

Bani, A., Pavlova, D., Garrido-Rodríguez, B., Kidd, P.S., Konstantinou, M., Dimitrios Kyrkas, Jean Louis Morel, Prieto-Fernandez, A., Puschenreiter, M. and Echevarria, G. (2021). Element Case Studies in the Temperate/Mediterranean Regions of Europe: Nickel. *Mineral resource reviews*, pp.341–363.

Bartoli, F., Coinchelin, D., Robin, C. and Echevarria, G. (2011). Impact of active transport and transpiration on nickel and cadmium accumulation in the leaves of the Ni-hyperaccumulator *Leptoplax emarginata*: a biophysical approach. *Plant and soil*, 350(1-2), pp.99–115.

*Begum, W., Rai, S., Banerjee, S., Bhattacharjee, S., Mondal, M.H., Bhattarai, A. and Saha, B. (2022). A comprehensive review on the sources, essentiality and toxicological profile of nickel. *RSC Advances*, 12(15), pp.9139–9153.

Bernal, M.P., McGrath, S.P., Miller, A.J. and Baker, A.J.M. (1994). Comparison of the chemical changes in the rhizosphere of the nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* with the non-accumulator *Raphanus sativus*. *Plant and Soil*, 164(2), pp.251–259.

Bettarini, I., Colzi, I., Gonnelli, C., Pazzagli, L., Reeves, R.D. and Selvi, F. (2020). Inability to accumulate Ni in a genus of hyperaccumulators: the paradox of *Odontarrhena sibirica* (Brassicaceae). *Planta*, 252(6).

Bettarini, I., Gonnelli, C., Selvi, F., Coppi, A., Pazzagli, L. and Colzi, I. (2021). Diversity of Ni growth response and accumulation in Central-Eastern Mediterranean *Odontarrhena* (Brassicaceae) populations on and off serpentine sites. *Environmental and Experimental Botany*, 186, p.104455.

Bianchi, E., Bani, A., Colzi, I., Gonnelli, C. and Selvi, F. (2022). Exploring Ni-accumulation in serpentinophytic taxa of Brassicaceae from Albania and Greece. *Plant Biosystems*, 157(1), pp.199–209.

Borbála Both, E., Stonehouse, G.C., Warzea Lima, L., Fakra, S.C., Aguirre, B., Wangeline, A.L., Xiang, J., Yin, H., Jókai, Z., Soós, Á., Dernovics, M. and Pilon-Smits, E.A.H. (2019). Selenium Tolerance, Accumulation, Localization and Speciation in a *Cardamine* Hyperaccumulator and a Non-Hyperaccumulator. *Science of The Total Environment*, 703, p.135041.

Boyd, R.S., Wall, M.A., Santos, S.R. and Davis, M.A. (2009). Variation of Morphology and Elemental Concentrations in the California Nickel Hyperaccumulator *Streptanthus polygaloides* (Brassicaceae). *Northeastern Naturalist*, 16, p.21.

- *Brady, K.U., Kruckeberg, A.R. and Bradshaw Jr., H.D. (2005). Evolutionary Ecology of Plant Adaptation to Serpentine Soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36(1), pp.243–266.
- Brooks, R.R., Lee, J. and Jaffre, T. (1974). Some New Zealand and New Caledonian Plant Accumulators of Nickel. *The Journal of Ecology*, 62(2), p.493.
- Brooks, R.R., Lee, J., Reeves, R.D. and Jaffre, T. (1977). Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 7, pp.49–57.
- Bruemmer, G.W., Gerth, J. and Herms, U. (1986). Heavy metal species, mobility and availability in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 149(4), pp.382–398.
- Cecchi, L., Gabbriellini, R., Arnetoli, M., Gonnelli, C., Hasko, A. and Selvi, F. (2010). Evolutionary lineages of nickel hyperaccumulation and systematics in European *Alyseae* (Brassicaceae): evidence from nrDNA sequence data. *Annals of Botany*, 106(5), pp.751–767.
- Çelik, Ö. and Akdaş, E.Y. (2019). Tissue-specific transcriptional regulation of seven heavy metal stress-responsive miRNAs and their putative targets in nickel indicator castor bean (*R. communis* L.) plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 170, pp.682–690.
- Centofanti, T., Sayers, Z., Cabello-Conejo, M.I., Kidd, P., Nishizawa, N.K., Kakei, Y., Davis, A.P., Sicher, R.C. and Chaney, R.L. (2013). Xylem exudate composition and root-to-shoot nickel translocation in *Alyssum* species. *Plant and Soil*, 373(1-2), pp.59–75.
- Centofanti, T., Siebecker, M.G., Chaney, R.L., Davis, A.P. and Sparks, D.L. (2012). Hyperaccumulation of nickel by *Alyssum corsicum* is related to solubility of Ni mineral species. *Plant and Soil*, 359(1-2), pp.71–83.
- Chardot, V., Massoura, S.T., Echevarria, G., Reeves, R.D. and Morel, J.-L. (2005). Phytoextraction Potential of the Nickel Hyperaccumulators *Leptoplax emarginata* and *Bornmuellera tymphaea*. *International Journal of Phytoremediation*, 7(4), pp.323–335.
- Chardot-Jacque, V., Calvaruso, C., Simon, B., Turpault, M.-P., Echevarria, G. and Morel, J.-L. (2013). Chrysotile Dissolution in the Rhizosphere of the Nickel Hyperaccumulator *Leptoplax emarginata*. *Environmental science & technology*, 47(6), pp.2612–2620.
- Deng, T.-H.-B., Chen, J.-Q., Geng, K.-R., van der Ent, A., Tang, Y.-T., Wen, D., Wang, X., Li, L., Du, R.-Y., Morel, J.-L. and Qiu, R.-L. (2021). Quantification of nickel and cobalt mobility and accumulation via the phloem in the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* (Brassicaceae). *Metallomics*, 13(4).

Deng, T.-H.-B., Tang, Y.-T., van der Ent, A., Sterckeman, T., Echevarria, G., Morel, J.-L. and Qiu, R.-L. (2016). Nickel translocation via the phloem in the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* (Brassicaceae). *Plant and soil*, 404(1-2), pp.35–45.

*Deng, T.-H.-B., van der Ent, A., Tang, Y.-T., Sterckeman, T., Echevarria, G., Morel, J.-L. and Qiu, R.-L. (2018). Nickel hyperaccumulation mechanisms: a review on the current state of knowledge. *Plant and Soil*, 423(1-2), pp.1–11.

Do Nascimento, C.W.A., Hesterberg, D. and Tappero, R. (2021). Imaging Zn and Ni distributions in leaves of different ages of the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* by synchrotron-based X-ray fluorescence. *Journal of Hazardous Materials*, 408, pp.124813–124813.

Döelsch, E., Saint Macary, H. and Van de Kerchove, V. (2006). Sources of very high heavy metal content in soils of volcanic island (La Réunion). *Journal of Geochemical Exploration*, 88(1-3), pp.194–197.

Dubey, D. and Pandey, A. (2011). Effect of nickel (Ni) on chlorophyll, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities in black gram (*Vigna mungo*) leaves. *International Journal of Science and Nature*, 2(2), pp.395–401, ISSN 2229 – 6441.

*Echevarria, G. (2018). Genesis and Behaviour of Ultramafic Soils and Consequences for Nickel Biogeochemistry. In: A. van der Ent, G. Echevarria, A. Baker and J. Morel, eds., *Agromining: Farming for Metals. Mineral Resource Reviews*. Springer, Cham, pp.135–156.

Fabiano, C.C., Tezotto, T., Favarin, J.L., Polacco, J.C. and Mazzafera, P. (2015). Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. *Frontiers in Plant Science*, 6.

*Fones, H.N. and Preston, G.M. (2013). Trade-offs between metal hyperaccumulation and induced disease resistance in metal hyperaccumulator plants. *Plant Pathology*, 62, pp.63–71.

García de la Torre, V.S., Majorel-Loulergue, C., Rigai, G.J., Gonzalez, D.A., Soubigou-Taconnat, L., Pillon, Y., Barreau, L., Thomine, S., Fogliani, B., Burtet-Sarramegna, V. and Merlot, S. (2020). Wide cross-species RNA-Seq comparison reveals convergent molecular mechanisms involved in nickel hyperaccumulation across dicotyledons. *New phytologist*, 229(2), pp.994–1006.

Gendre, D., Czernic, P., Conéjéro, G., Pianelli, K., Briat, J.-F., Lebrun, M. and Mari, S. (2006). TcYSL3, a member of the YSL gene family from the hyper-accumulator *Thlaspi caerulescens*, encodes a nicotianamine-Ni/Fe transporter. *The Plant Journal*, 49(1), pp.1–15.

Gerendás, J., Polacco, J.C., Freyermuth, S.K. and Sattelmacher, B. (1999). Significance of nickel for plant growth and metabolism. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 162(3), pp.241–256.

Halimaa, P., Lin, Y.-F., Ahonen, V.H., Blande, D., Clemens, S., Gyenesei, A., Häikiö, E., Kärenlampi, S.O., Laiho, A., Aarts, M.G.M., Pursiheimo, J.-P., Schat, H., Schmidt, H., Tuomainen, M. and Tervahauta, A.I. (2014). Gene Expression Differences between *Noccaea caerulescens* Ecotypes Help to Identify Candidate Genes for Metal Phytoremediation. *Environmental Science & Technology*, 48(6), pp.3344–3353.

*Harasim, P. and Filipek, T. (2015). Nickel in the environment. *Journal of Elementology*.

Haritatos, E., Medville, R. and Turgeon, R. (2000). Minor vein structure and sugar transport in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 211(1), pp.105–111.

Hattori, K.H. and Guillot, S. (2007). Geochemical character of serpentinites associated with high- to ultrahigh-pressure metamorphic rocks in the Alps, Cuba, and the Himalayas: Recycling of elements in subduction zones. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 8.

*Haydon, M.J. and Cobbett, C.S. (2007). Transporters of ligands for essential metal ions in plants. *New Phytologist*, 174(3), pp.499–506.

Hopmans, J.W. and Bristow, K.L. (2002). Current Capabilities and Future Needs of Root Water and Nutrient Uptake Modeling. *Advances in Agronomy*, 77, pp.103–183.

Huang, C., Ying, H., Yang, X., Gao, Y., Li, T., Wu, B., Ren, M., Zhang, Z., Ding, J., Gao, J., Wen, D., Ye, X., Liu, L., Wang, H., Sun, G., Zou, Y., Chen, N. and Wang, L. (2021). The *Cardamine enshiensis* genome reveals whole genome duplication and insight into selenium hyperaccumulation and tolerance. *Cell Discovery*, 7(1).

Ingle, R.A., Fricker, M.D. and Smith, C. (2008). Evidence for nickel/proton antiport activity at the tonoplast of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*. *Plant biology*, 10(6), pp.746–753.

Ipni.org. (2021). *Cochlearia aucheri* | *International Plant Names Index*. [online] Available at: <https://www.ipni.org/n/281392-1>. [Accessed 30 Jul. 2024].

Jaffré, T., Brooks, R.R., Lee, J. and Reeves, R.D. (1976). *Sebertia acuminata*: A Hyperaccumulator of Nickel from New Caledonia. *Science*, 193(4253), pp.579–580.

Jakovljević, K., Mišljenović, T., Brueckner, D., Jacquet, J., Michaudel, G. and van der Ent, A. (2024). Elemental localization in inflorescences of the hyperaccumulators *Noccaea praecox* and *Noccaea caerulescens* (Brassicaceae). *Ecological Research*.

Jakovljević, K., Mišljenović, T., van der Ent, A., Baker, A.J.M., Andrejić, G., Tomović, G. and Echevarria, G. (2023). Zinc (hyper)accumulation in *Cardamine waldsteinii*: from discovery in the herbarium to validation in the field. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 157(4), pp.851–857.

Kampouroglou, E. and Economou-Eliopoulos, M. (2013). Natural contamination by As and heavy metals in soil, their bio-accumulation and potential sources: the case of a travertine limestone quarry, Greece. *Open Geosciences*, 5(1).

*Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P.G., Baker, A.J., Reeves, R.J. and Troumbis, A.Y. (2008). Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biological Reviews*, 83, pp.495–508.

Kerkeb, L. and Krämer, U. (2003). The Role of Free Histidine in Xylem Loading of Nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea*. *Plant Physiology*, 131(2), pp.716–724.

*Kierczak, J., Pietranik, A. and Pędziwiatr, A. (2021). Ultramafic geoecosystems as a natural source of Ni, Cr, and Co to the environment: A review. *Science of The Total Environment*, 755, p.142620.

Korshunova, Y.O., Eide, D., Clark, W.G., Guerinot, M.L. and Pakrasi, H.B. (1999). The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range. *Plant Molecular Biology*, [online] 40(1), pp.37–44.

Kozhevnikova, A.D., Seregin, I.V., Aarts, M.G.M. and Schat, H. (2020). Intra-specific variation in zinc, cadmium and nickel hypertolerance and hyperaccumulation capacities in *Noccaea caerulescens*. *Plant and Soil*, 452(1-2), pp.479–498.

Kozhevnikova, A.D., Seregin, I.V., Bystrova, E.I., Belyaeva, A.I., Kataeva, M.N. and Ivanov, V.B. (2009). The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(2), pp.242–250.

*Krämer, U. (2010). Metal Hyperaccumulation in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1), pp.517–534.

Krämer, U., Cotter-Howells, J.D., Charnock, J.M., Baker, A.J.M. and Smith, A.C. (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, 379(6566), pp.635–638.

Krämer, U., Grime, G.W., Smith, J.A.C., Hawes, C.R. and Baker, A.J.M. (1997). Micro-PIXE as a technique for studying nickel localization in leaves of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*. *Nuclear instruments and methods in physics research. Section B, Beam interactions with materials and atoms/Nuclear instruments & methods in physics research. Section B, Beam interactions with materials and atoms*, 130(1-4), pp.346–350.

Krämer, U., Pickering, I.J., Prince, R.C., Raskin, I. and Salt, D.E. (2000). Subcellular Localization and Speciation of Nickel in Hyperaccumulator and Non-Accumulator *Thlaspi* Species. *Plant Physiology*, 122(4), pp.1343–1354.

Krstić, B., Stanković, D., Igić, R. and Nikolic, N. (2007). The Potential of Different Plant Species for Nickel Accumulation. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 21(4), pp.431–436.

Küpper, H., Küpper, F. and Spiller, M. (1996). Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany*, 47(2), pp.259–266.

Lešková, A., Zvarík, M., Araya, T. and Giehl, R.F.H. (2020). Nickel Toxicity Targets Cell Wall-Related Processes and PIN2-Mediated Auxin Transport to Inhibit Root Elongation and Gravitropic Responses in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, 61(3), pp.519–535.

Lin, Y.F., Severing, E.I., Lintel Hekkert, B., Schijlen, E. and Aarts, M.G.M. (2014). A comprehensive set of transcript sequences of the heavy metal hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *Frontiers in Plant Science*, 5.

*Liu, X., Bai, Z., Shi, H., Zhou, W. and Liu, X. (2019). Heavy metal pollution of soils from coal mines in China. *Natural Hazards*, 99, pp.1163–1177.

Massoura, S.T., Echevarria, G., Leclerc-Cessac, E. and Morel, J.L. (2004). Response of excluder, indicator, and hyperaccumulator plants to nickel availability in soils. *Soil Research*, 42(8), p.933.

McGrath, S.P., Shen, Z.G. and Zhao, F.J. (1997). Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils. *Plant and soil*, 188(1), pp.153–159.

McNear, D.H., Chaney, R.L. and Sparks, D.L. (2010). The hyperaccumulator *Alyssum murale* uses complexation with nitrogen and oxygen donor ligands for Ni transport and storage. *Phytochemistry*, 71(2-3), pp.188–200.

McNear, D.H., Peltier, E., Everhart, J., Chaney, R.L., Sutton, S.G., Newville, M., Rivers, M.L. and Sparks, D.L. (2005). Application of Quantitative Fluorescence and Absorption-Edge Computed Microtomography to Image Metal Compartmentalization in *Alyssum murale*. *Environmental Science & Technology*, 39(7), pp.2210–2218.

Meindl, G.A., Bain, D.J. and Ashman, T.-L. (2014). Variation in nickel accumulation in leaves, reproductive organs and floral rewards in two hyperaccumulating Brassicaceae species. *Plant and Soil*, 383(1-2), pp.349–356.

*Mesjasz-Przybyłowicz, J. and Przybyłowicz, W.J. (2020). Ecophysiology of nickel hyperaccumulating plants from South Africa – from ultramafic soil and mycorrhiza to plants and insects. *Metallomics*, 12(7), pp.1018–1035.

Montargès-Pelletier, E., Chardot, V., Echevarria, G., Michot, L.J., Bauer, A. and Morel, J.-L. (2008). Identification of nickel chelators in three hyperaccumulating plants: An X-ray spectroscopic study. *Phytochemistry*, 69(8), pp.1695–1709.

Morris, J.W. (2020). Nickel speciation, microbial community structure, and chemical attributes in the rhizosphere of nickel hyperaccumulating and non-accumulating plants growing in serpentine soils. *Theses and Dissertations--Plant and Soil Sciences*, 131.

*Mustafa, A., Zulfiqar, U., Mumtaz, M.Z., Radziemska, M., Haider, F.U., Holatko, J., Hammershmidt, T., Naveed, M., Ali, H., Kintl, A., Saeed, Q., Kucerik, J. and Brtnicky, M. (2023). Nickel (Ni) phytotoxicity and detoxification mechanisms: A review. *Chemosphere*, 328, p.138574.

Nabi, A., Naeem, M., Aftab, T. and Khan, M.M.A. (2020). Alterations in photosynthetic pigments, antioxidant machinery, essential oil constituents and growth of menthol mint (*Mentha arvensis* L.) upon nickel exposure. *Brazilian Journal of Botany*, 43(4), pp.721–731.

Nawaz, I., Iqbal, M., Bliet, M. and Schat, H. (2017). Salt and heavy metal tolerance and expression levels of candidate tolerance genes among four extremophile *Cochlearia* species with contrasting habitat preferences. *Science of The Total Environment*, 584-585, pp.731–741.

Ó Lochlainn, S., Bowen, H.C., Fray, R.G., Hammond, J.P., King, G.J., White, P.J., Graham, N.S. and Broadley, M.R. (2011). Tandem Quadruplication of HMA4 in the Zinc (Zn) and Cadmium (Cd) Hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *PLoS ONE*, 6(3), p.e17814.

*Pasricha, S., Mathur, V., Garg, A., Lenka, S., Verma, K. and Agarwal, S. (2021). Molecular mechanisms underlying heavy metal uptake, translocation and tolerance in hyperaccumulators-an analysis. *Environmental Challenges*, 4, p.100197.

Persans, M.W., Nieman, K. and Salt, D.E. (2001). Functional activity and role of cation-efflux family members in Ni hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(17), pp.9995–10000.

Petránek, J. (2016). *Encyklopedie geologie*. Česká geologická služba, p.314.

Plants of the World Online. (2024). *Plants of the World Online | Kew Science*. [online] Available at: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:60436526-2>. [Accessed 28 Jul. 2024].

*Polacco, J.C., Mazzafera, P. and Tezotto, T. (2013). Opinion – Nickel and urease in plants: Still many knowledge gaps. *Plant Science*, 199-200, pp.79–90.

Puschenreiter, M., Schnepf, A., Inés Molina Millán, Fitz, W.J., Horak, O., Klepp, J., Schrefl, T., Enzo Lombi and Wenzel, W.W. (2005). Changes of Ni biogeochemistry in the rhizosphere of the hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Plant and soil*, 271(1-2), pp.205–218.

*Rajakaruna, N. (2018). Lessons on Evolution from the Study of Edaphic Specialization. *The Botanical Review*, 84(1), pp.39–78.

Redjala, T., Sterckeman, T., Skiker, S. and Echevarria, G. (2010). Contribution of apoplast and symplast to short term nickel uptake by maize and *Leptoplax emarginata* roots. *Environmental and Experimental Botany*, 68(1), pp.99–106.

Reeves, R. and Adigüzel, N. (2004). Rare Plants and Nickel Accumulators from Turkish Serpentine Soils, with Special Reference to Centaurea Species. *Turkish Journal of Botany*, 28(1), pp.147–153.

Reeves, R., Baker, A.J.M., Borhidi, A. and Berazaín Iturralde, R. (1999). Nickel Hyperaccumulation in the Serpentine Flora of Cuba. *Annals of Botany*, 83(1), pp.29–38.

Reeves, R.D. and Baker, A.J.M. (2000). Metal accumulating plants. In: I. Raskin and B.D. Finsley , eds., *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*. Wiley, New York, pp.193–229.

- Reeves, R.D., Baker, A.J.M., Jaffré, T., Erskine, P.D., Echevarria, G. and van der Ent, A. (2018). A global database for plants that hyperaccumulate metal and metalloid trace elements. *New Phytologist*, 218(2), pp.407–411.
- Reeves, R.D., Brooks, R.R. and Dudley, T.R. (1983). Uptake of nickel by species of *Alyssum*, *Bornmuellera*, and other genera of old world tribus *Alysseae*. *Taxon*, 32(2), pp.184–192.
- Rešetnik, I., Satovic, Z., Schneeweiss, G.M. and Liber, Z. (2013). Phylogenetic relationships in Brassicaceae tribe *Alysseae* inferred from nuclear ribosomal and chloroplast DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(3), pp.772–786.
- Richau, K., Kozhevnikova, A.D., Seregin, I.V., Vooijs, R., Koevoets, P.L.M., Smith, J.G., Ivanov, V.A. and Schat, H. (2009). Chelation by histidine inhibits the vacuolar sequestration of nickel in roots of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, 183(1), pp.106–116.
- Risse, L., Puschenreiter, M. and Tognacchini, A. (2023). Rhizosphere processes by the nickel hyperaccumulator *Odontarrhena chalcidica* suggest Ni mobilization. *Plant and soil*, 495(1-2), pp.43–56.
- Rizwan, M., Mostofa, M.G., Ahmad, M.Z., Zhou, Y., Yang, Y., Mehmood, S., Ahmad, M.A., Javed, R., Imtiaz, M., Aziz, O., Ikram, M., Tu, S. and Liu, Y. (2019). Hydrogen sulfide enhances rice tolerance to nickel through the prevention of chloroplast damage and the improvement of nitrogen metabolism under excessive nickel. *Plant Physiology and Biochemistry*, 138, pp.100–111.
- *Rosatto, S., Mariotti, M., Romeo, S. and Roccotiello, E. (2021). Root and Shoot Response to Nickel in Hyperaccumulator and Non-Hyperaccumulator Species. *Plants*, 10(3), p.508.
- Scartazza, A., Di Baccio, D., Mariotti, L., Bettarini, I., Selvi, F., Pazzagli, L., Colzi, I. and Gonnelli, C. (2022). Photosynthesizing while hyperaccumulating nickel: Insights from the genus *Odontarrhena* (Brassicaceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 176, pp.9–20.
- Schickler, H. and Caspi, H. (1999). Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*. *Physiologia Plantarum*, 105(1), pp.39–44.
- Severne, B.C. and Brooks, R.R. (1972). A nickel-accumulating plant from Western Australia. *Planta*, 103(1), pp.91–94.

*Sharma, P., Ngo, H.H., Khanal, S., Larroche, C., Kim, S.-H. and Pandey, A. (2021). Efficiency of transporter genes and proteins in hyperaccumulator plants for metals tolerance in wastewater treatment: Sustainable technique for metal detoxification. *Environmental Technology & Innovation*, 23, p.101725.

Shaw, B.P., Sahu, S.K. and Mishra, R.K. (2004). Heavy Metal Induced Oxidative Damage in Terrestrial Plants. In: M.N.V. Prasad, ed., *Heavy Metal Stress in Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp.84–126.

Sobczyk, M.K., Smith, J.A.C., Pollard, A.J. and Filatov, D.A. (2016). Evolution of nickel hyperaccumulation and serpentine adaptation in the *Alyssum serpyllifolium* species complex. *Heredity*, 118(1), pp.31–41.

Španiel, S., Kempa, M., Salmerón-Sánchez, E., Fuertes Aguilar, J., Francisco, J., Al-Shehbaz, I.A., German, D.A., Olšavská, K., Šingliarová, B., Zozomová-Lihová, J. and Marhold, K. (2015). AlyBase: database of names, chromosome numbers, and ploidy levels of *Alysseae* (Brassicaceae), with a new generic concept of the tribe. *Plant Systematics and Evolution*, 301(10), pp.2463–2491.

Spiers, K.M., Brueckner, D., Garrevoet, J., Falkenberg, G. and van der Ent, A. (2022). Synchrotron XFM tomography for elucidating metals and metalloids in hyperaccumulator plants. *Metallomics*, 14(11).

Stéphane, M., Gendre, D., Pianelli, K., Ouerdane, L., Lobinski, R., Briat, J.-F., Lebrun, M. and Czernic, P. (2006). Root-to-shoot long-distance circulation of nicotianamine and nicotianamine-nickel chelates in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*, 57(15), pp.4111–4122.

Sterckeman, T., Cazes, Y., Gonneau, C. and Sirguey, C. (2017). Phenotyping 60 populations of *Noccaea caerulescens* provides a broader knowledge of variation in traits of interest for phytoextraction. *Plant and Soil*, 418(1-2), pp.523–540.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*. 5th ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, pp.193–221.

Taylor, S.I. and Macnair, M.R. (2005). Within and between population variation for zinc and nickel accumulation in two species of *Thlaspi* (Brassicaceae). *New Phytologist*, 169(3), pp.505–514.

- Tognacchini, A., Rosenkranz, T., van der Ent, A., Machinet, G.E., Echevarria, G. and Puschenreiter, M. (2020a). Nickel phytomining from industrial wastes: Growing nickel hyperaccumulator plants on galvanic sludges. *Journal of Environmental Management*, 254, p.109798.
- Tognacchini, A., Salinitro, M., Puschenreiter, M. and van der Ent, A. (2020b). Root foraging and avoidance in hyperaccumulator and excluder plants: a rhizotron experiment. *Plant and Soil*, 450(1-2), pp.287–302.
- Tomović, G., Mihailović, N., Tumi, A.F., Gajić, B., Mišljenović, T. and Niketić, M. (2013). Trace Metals in Soils and Several Brassicaceae Plant Species from Serpentine Sites of Serbia. *Archives of Environmental Protection*, 39(4), pp.29–49.
- Ünver, İ., Madenoğlu, S., Dilsiz, A. and Namlı, A. (2013). Influence of rainfall and temperature on DTPA extractable nickel content of serpentine soils in Turkey. *Geoderma*, 202-203, pp.203–211.
- van der Ent, A., Baker, M., Echevarria, G., Simonnot, M.-O. and Morel, J.-L. (2021). *Agromining: Farming for Metals. Mineral resource reviews*. Springer Nature Switzerland AG 2021.
- van der Ent, A., de Jonge, M.D., Echevarria, G., Aarts, M.G.M., Mesjasz-Przybyłowicz, J., Przybyłowicz, W.J., Brueckner, D. and Harris, H.H. (2022). Multimodal synchrotron X-ray fluorescence imaging reveals elemental distribution in seeds and seedlings of the Zn–Cd–Ni hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *Metallomics*, 14(5).
- van der Ent, A., Spiers, K.M., Brueckner, D., Echevarria, G., Aarts, M.G.M. and Emmanuelle Montargès-Pelletier (2019). Spatially-resolved localization and chemical speciation of nickel and zinc in *Noccaea tymphaea* and *Bornmuellera emarginata*. *Metallomics*, 11(12), pp.2052–2065.
- van der Pas, L. and Ingle, R.A. (2019). Towards an Understanding of the Molecular Basis of Nickel Hyperaccumulation in Plants. *Plants*, 8(1), p.11.
- van der Zee, L., Corzo Remigio, A., Casey, L.W., Purwadi, I., Yamjabok, J., van der Ent, A., Kootstra, G. and Aarts, M.G.M. (2021). Quantification of spatial metal accumulation patterns in *Noccaea caerulescens* by X-ray fluorescence image processing for genetic studies. *Plant Methods*, 17(86).
- Visioli, G., Gullì, M. and Marmioli, N. (2014). *Noccaea caerulescens* populations adapted to grow in metalliferous and non-metalliferous soils: Ni tolerance, accumulation and expression analysis of genes involved in metal homeostasis. *Environmental and Experimental Botany*, 105, pp.10–17.

Wei, W., Chai, T., Zhang, Y., Han, L., Xu, J. and Guan, Z. (2009). The *Thlaspi caerulescens* NRAMP Homologue TcNRAMP3 is Capable of Divalent Cation Transport. *Molecular Biotechnology*, 41(1), pp.15–21.

Wenzel, W.W., Bunkowski, M., Puschenreiter, M. and Horak, O. (2003). Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil. *Environmental Pollution*, 123(1), pp.131–138.

*Yadav, S.K. (2010). Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*, 76(2), pp.167–179.

Yusuf, M., Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. (2011). Nickel: An Overview of Uptake, Essentiality and Toxicity in Plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(1), pp.1–17.

Zhao, F.-J., Hamon, R. and McLaughlin, M.J. (2001). Root exudates of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* do not enhance metal mobilization. *New Phytologist*, 151(3), pp.613–620.

Zhou, Y., Tang, Q., Wu, M., Mou, D., Liu, H., Wang, S., Zhang, C., Ding, L. and Luo, J. (2018). Comparative transcriptomics provides novel insights into the mechanisms of selenium tolerance in the hyperaccumulator plant *Cardamine hupingshanensis*. *Scientific Reports*, 8(1), p.2789.

*review