



Bitkilerde Rizosferden Demir Alım Mekanizmaları

Emre Aksoy*, Bayram Ali Yerlikaya, Sefa Ayten, Buasimuhan Abudureyimu

Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Genetik Mühendisliği Bölümü, 51240 Niğde, Türkiye.

MAKALE BİLGİSİ

Derleme Makale

Geliş 13 Mayıs 2017
Kabul 11 Ekim 2017

Anahtar Kelimeler:

Demir
Besin
Eksiklik
Taşıyıcı
Mekanizma

*Sorumlu Yazar:

E-mail: emreaksoy@ohu.edu.tr

ÖZET

Demir, toprakta en çok bulunan elementlerden bir tanesi olmasına karşın çözünürlüğü alkali topraklarda düşüktür. Dolayısıyla bu tür topraklarda yetişen bitkiler sürekli demir eksikliği stresine maruz kalırlar. Dünyadaki tarım arazilerin üçte biri bu tür topraklardan oluştuğundan dolayı tedavi edilemeyen demir eksikliği tarımsal üretimi kısıtlar. Bitkilerde gözlenen demir eksikliğinin tedavisinde farklı demir gübreleri kullanılmaktadır. Ancak, bu gübrelerin kullanımı üretim maliyetlerini artırmaktadır. Maliyetlerin azaltılabilmesi için bitkilerin toprakta bulunan demiri en etkin biçimde kullanabilmeleri gerekir. Bunun için de ilk olarak bitkilerin topraktaki demiri nasıl kök içerisine aldıklarının incelenmesi gerekmektedir. Son otuz yılda yapılan çalışmalarda farklı bitki gruplarının 3 farklı demir alım mekanizması kullandıkları keşfedilmiştir. Bu derlemenin amacı, demirin kök içerisine alınımından sorumlu taşıyıcılar ile bu taşıyıcılar hakkındaki güncel gelişmelerden bahsetmektir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 6(12): 1673-1683, 2018

Iron Uptake Mechanisms from the Rhizosphere in Plants

ARTICLE INFO

Review Article

Received 13 May 2017
Accepted 11 October 2017

Keywords:

Iron
Nutrient
Deficiency
Transporter
Mechanism

*Corresponding Author:

E-mail: emreaksoy@ohu.edu.tr

ABSTRACT

Solubility of iron is limited in calcareous soil although it is one of the most common elements in earth's crust. Therefore, plants growing in this kind of soil are constantly exposed to the stress of iron deficiency. When untreated, iron deficiency restricts agricultural production because one third of the agricultural land in the world is made up of this type of soil. Different iron fertilizers are used in the treatment of iron deficiency observed in plants. However, the use of these fertilizers increases production costs. In order to reduce the cost, plants must be able to use the most effective way to extract iron from the soil. For this reason, it is necessary to first examine how the plants take iron into roots from the soil. It has been discovered that during the last three decades, different plant groups used three different iron uptake mechanisms. The purpose of this review is to talk about the transporters responsible for the uptake of iron into the root, and the current developments about these transporters.

Giriş

Demir (Fe) neredeyse bütün canlı organizmalar için temel mikro-besin elementlerinden bir tanesi olup, eksikliği ciddi problemlere sebep olur. Bitkilerde demir, fotosentez, solunum, DNA ve hormon biyosentezi, azot fiksasyonu, sülfat asimilasyonu ve klorofil biyosentezi için gereklidir (Hell ve Stephan, 2003). Demir, toprakta en çok bulunan elementlerden bir tanesi olmasına karşın özellikle aerobik ortamlarda çözünemeyen ferrik (Fe^{3+}) formda demir oksit ve demir hidroksitler şeklinde bulunur (Palmer ve Guerinot, 2009). Çözünür form olan ferröz demirin (Fe^{2+}) havalandırılmış topraktaki çözünürlüğü bitkilerin yaşaması için gerekli olan demir konsantrasyonundan oldukça düşüktür (Marschner ve Marschner, 2011). Çözünemeyen demir formu Fe^{3+} 'in çözünür demir formu Fe^{2+} 'e indirgenbilmesi için toprağın asiditesinin yüksek olması gerekir. Özellikle iyi havalandırılmış kireçli (veya alkali) toprakların asiditesinin düşük olmasından dolayı, bu tür topraklarda yetişen bitkiler demir eksikliği stresini yaşarlar. Dünyadaki tarımsal üretim için kullanılan arazilerin üçte biri kireçli veya alkali topraklardan oluştuğundan dolayı bu tip topraklarda yetişen bitkiler potansiyel olarak sürekli demir eksikliğine maruz kalırlar (Driessen ve ark., 2000; White ve Brown, 2010). Ne yazık ki Türkiye'nin %75'i kireçli topraklarla kaplı olduğundan ülkemizde yetiştirilen tarımsal öneme sahip bitkiler sürekli demir eksikliği semptomlarını gösterirler. Demir yetersizliği bitkilerde klorofil biyosentezinin azalmasına bağlı olarak yaprak damarları arasında oluşan ve "demir eksikliği klorozu" (DEK) olarak adlandırılan bir interkostal/intervenal kloroza neden olur. DEK'in en önemli etkilerinden birisi bodur büyümedir, bu da doğrudan bitki verimini olumsuz yönde etkiler.

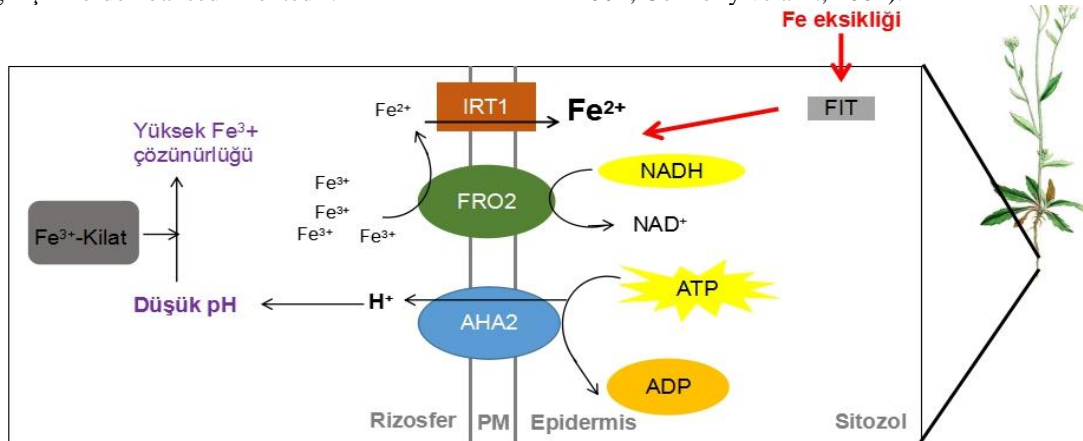
Bitkilerin demir seviyelerinin artırılabilmesi için demirin rizosferden bitki kök hücrelerine alınımından sorumlu özgün mekanizmaların incelenmesi yüksek önem taşır. Bu yüzden bu derlemede demirin kök içerisine alınımından sorumlu taşıyıcılar ile bu taşıyıcılar hakkındaki güncel gelişmelerden bahsedilmektedir.

Bitkilerde Demir Alımı

Son 30 yıldır yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ışığında bitkilerin toprakta çözünmeyen demiri çözmek ve takiben hücre zarından kök hücrelerine alabilmek için indirgenme veya şelasyon tabanlı iki ayrı mekanizmayı kullandıkları bilinmektedir (Romheld, 1987; Marschner ve Romheld, 1994; Welch, 1995; Schmidt, 1999; Gross ve ark., 2003; Grotz ve Guerinot, 2006; Puig ve ark., 2007; Buckhout ve ark., 2009; Kobayashi ve ark., 2010; Conte ve Walker, 2011; Schmidt ve Buckhout, 2011; Thomine ve Lanquar, 2011; Ivanov ve ark., 2012; Kobayashi ve Nishizawa, 2012; White, 2012; Thomine ve Vert, 2013). Ancak, son dört yıldır yapılan çalışmalarda bu iki stratejiye ek olarak topraktan demir alımında bitkilerin alternatif bir stratejiyi daha kullanabilecekleri keşfedilmiştir (Rodriguez-Celma ve ark., 2013; Fourcroy ve ark., 2014; Schmid ve ark., 2014; Schmidt ve ark., 2014; Zamioudis ve ark., 2014; Curie ve Mari, 2016; Fourcroy ve ark., 2016; Ziegler ve ark., 2016; Tsai ve Schmidt, 2017).

Strateji I: İndirgenme Stratejisi

Toprakta çözünemeyen Fe^{3+} , model bitki *Arabidopsis thaliana* gibi dikotlarda redüksiyon (indirgenme) stratejisi (Strateji I) ile topraktan kök hücrelerine alınır (Şekil 1) (Thomine ve Vert, 2011). Bu stratejide demir epidermal hücre zarında bulunan ve birbirini takip eden üç aktivite sayesinde kök içerisine taşınır (White, 2012). Üç aktiviteden birincisi, rizosferin hücre zarında bulunan H^+ -ATPaz (AHA) tarafından taşınan protonlar aracılığıyla asidifikasyonudur (Li ve ark., 2007). Rizosferin asidifikasyonunu takiben ferrik demir, Ferric Chelate Reductase (FRO) isimli oksidoredüktaz aracılığıyla çözülebilen Fe^{2+} 'ye indirgenir (Robinson ve ark., 1999; Connolly ve ark., 2003; Jeong ve Connolly, 2009). Son olarak da Fe^{2+} iyonları Zinc (Zn)-Fe-Regulated Transporter (ZIP) ailesinden Iron-Regulated Transporter1 (IRT1) isimli bir metal taşıyıcısı aracılığıyla kök hücrelerinin içine taşınır (Eide ve ark., 1996; Vert ve ark., 2002; Connolly ve ark., 2002).



Şekil 1 Dikotlarda bulunan redüksiyon (indirgenme) stratejisi (Strateji I).

Bu stratejide ilk olarak hücre zarında bulunan H^+ -ATPaz (AHA) tarafından taşınan protonlar aracılığıyla rizosferin asidifikasyonu sağlanır. Bunu takiben, ferrik demir, Ferric Chelate Reductase (FRO) isimli oksidoredüktaz aracılığıyla çözülebilen Fe^{2+} 'ye indirgenir. Son olarak da Fe^{2+} iyonları Zinc (Zn)-Fe-Regulated Transporter (ZIP) ailesinden Iron-Regulated Transporter1 (IRT1) isimli bir metal taşıyıcısı aracılığıyla kök hücrelerinin içine taşınır. IRT1: Iron-Regulated Transporter1- yüksek afiniteli Fe^{2+} taşıyıcısı; FRO2: Ferric Chelate Reductase2 - Fe^{3+} 'ü çözülebilen Fe^{2+} 'ye indirgeyen reduktaz; AHA2: Plazma membran üzerinde bulunan H^+ -ATPaz - rizosfer asidifikasyonundan sorumlu; FIT: Fer-Like Iron Deficiency-Induced Transcription Factor - demirin rizosferden epidermis hücrelerine alınımından sorumlu bHLH tipi transkripsiyon faktörü. PM: Hücre membranı

Bitki hücre zarında birçok H^+ -ATPaz izoformu bulunmaktadır. Örneğin, Arabidopsis'te bulunan AHA ailesinin 12 üyesinin hepsinin gen ifadesi Fe tarafından kontrol edilir (Li W ve ark., 2007). Bunlardan özellikle AHA2 ve AHA7 köklerde Fe eksikliği yanıtında önemli roller oynamaktadır. Rizosferdeki demir eksikliğine yanıt olarak AHA7 kök tüylerinin gelişiminde rol oynarken, AHA2 demir eksikliği sonrasında rizosfere proton taşınmasında ve bu sayede toprak asidifikasyonunun artırılmasında rol oynar (Santi ve Schmidt, 2009).

Arabidopsis'te 8 proteinden oluşan FRO ailesinin üyeleri doku ifade özgüllükleri ve hücre içi lokalizasyonu bakımından çeşitlilik gösterirler (Jeong ve Connolly, 2009; Guerinot, 2010). Aile üyeleri hücre zarına ek olarak, mitokondri, kloroplast veya ekzositozdan sorumlu organellerin zarlarına lokalize olabilirler (Heazlewood ve ark., 2004; Mukherjee ve ark., 2006; Jeong ve ark., 2008). Örneğin ailenin tespit edilen ilk üyesi, FRO2, kök epidermis hücrelerinin zarına yerleşik olarak bulunurken (Robinson ve ark., 1999; Connolly ve ark., 2003; Feng ve ark., 2006; Mukherjee ve ark., 2006; Jeong ve ark., 2008; Jeong ve Connolly, 2009), FRO6 ve FRO7 özellikle sürgünlerde görev yaparlar (Wu ve ark., 2005; Mukherjee ve ark., 2006). Bitkinin farklı dokularında ve hücre içi destinasyonlarında farklı bir FRO üyesinin bulunması, indirgenme tabanlı Fe taşınmasının dikotlarda demir alımı ve homeostazının önemli bir bileşeni olduğunu ispatlamaktadır. FRO enzim aktivitesi ve gen ifade seviyesi demir eksikliği altındaki bitki köklerinde artış gösterirken (Blair ve ark., 2010), bezelyede yapılan çalışmalarda FRO'nun demir alınımındaki ana basamak olduğu bulunmuştur (Grusak ve ark., 1990). Hücre zarına lokalize olan FRO proteini sekiz transmembran bölgesine ek olarak, oksitlenme/indirgenme tepkimelerinde kullanılmak üzere FAD ve NADPH'nin bağlanacağı yerler içerir (Schagerlöff ve ark., 2006). Strateji 1 bitkilerinin demir eksikliğine karşı göstermiş oldukları tepkileri belirlemede özellikle Arabidopsis *AtFRO2* homologları kullanılmakta olup, domates (Li ve ark., 2004), bezelye (Waters ve ark., 2002) ve salatalık (Waters ve ark., 2007) gibi dikotların köklerindeki FRO2 proteini karakterize edilmiştir. Arabidopsis FRO2'nin devre dışı bıraktığı T-DNA ekleme mutanlığı *frd1-1* (*ferric reductase deficient1-1*) demir yeterli koşullarda FRO enzim aktivitesi, demir eksikliğinde ise kloroz göstermez (Yi ve Guerinot, 1996). Öte yandan, FRO2'nin aşırı ifade edildiği Arabidopsis, pirinç, soya ve tütün bitkileri ise endüklenmiş kloroza ve dolayısıyla da demir eksikliğine tolerans gösterirler (Connolly ve ark., 2003, Oki ve ark., 2004; Vasconcelos ve ark., 2006; Ishimaru ve ark., 2007). *Arabidopsis thaliana*'da ferrik redüktaz enzimini kodlayan bir genin (*AtFRO2*) soyada konstitütif olarak ifade edilmesi yüksek FRO enzim aktivitesine bağlı DEK toleransına neden olur (Vasconcelos ve ark., 2006). Öte yandan *Lotus japonicus*'da yapılan bir çalışmada kök FRO enzim aktivitesinin artmasının tek başına DEK toleransına neden olmadığı bulunmuştur (Klein ve ark., 2012). Dolayısıyla her ne kadar FRO enzim aktivitesi ve FRO gen ifade seviyesi bitkilerin DEK'e karşı olan toleranslarını açıklamaya yarayabilseler de, tek başlarına tolerans mekanizmasını tam anlamıyla anlamamıza yardım edemezler.

Rizosferde FRO aracılığıyla çözünemeyen Fe^{3+} formundan çözülebilen Fe^{2+} formuna indirgenmiş demir, ZIP ailesinin üyesi olan yüksek afiniteli IRON-REGULATED TRANSPORTER1 (IRT1) demir taşıyıcısı tarafından kök hücre zarından epidermis hücrelerinin içine taşınır (Eide ve ark., 1996; Henriques ve ark., 2002; Varotto ve ark., 2002; Vert ve ark., 2002). Demir alımında kusur bulunan ve Fe alımı için gerekli IRT1'in devre dışı bırakıldığı Arabidopsis mutanlığı (*irt1-1*), klorotik olup, sadece gerekli seviyede çözülebilir demirin bitki yapıklarına uygulanması sayesinde hayatta kalabilir (Eide ve ark., 1996). Fonksiyonel maya tamamlama deneylerinde Arabidopsis IRT1'in demire ek olarak manganez (Mn), çinko (Zn), kobalt (Co), nikel (Ni) ve kadmiyum (Cd) gibi divalent elementleri de taşıyabildiği gösterilmiş olup, bu da AtIRT1'in seçici olmayan bir demir taşıyıcısı olduğu anlamına gelir (Vert ve ark., 2002). Aynı maya tamamlama deneylerinde AtIRT1'in paraloğu AtIRT2'nin sadece Fe ve Zn taşıyabildiği bulunmuştur (Vert ve ark., 2001). AtIRT2, kök epidermisinde ifade edilmesine ve demir eksikliği altında ifade seviyesi artmasına karşın *irt1-1* mutanlığında yüksek oranda ekspres olması dahi mutanın demir eksikliği semptomlarını kurtaramaz (Varotto ve ark., 2002; Vert ve ark., 2009). Ayrıca, demir eksikliği altında IRT2 mutanlığı kloroz göstermez. IRT1'den farklı olarak IRT2 maya hücrelerinde geçici olarak ekspres olduğunda hücre içi vesiküllere lokalize olduğu gözlenmiştir (Vert ve ark., 2009). Bu veriler IRT1'in bitkilerde başlıca demir alımından sorumlu demir taşıyıcısı olduğunu gösterir.

Strateji II: Şelasyon Stratejisi

Buğday, pirinç ve mısır gibi (Gramineae ailesinde yer alan) otsu bitkilerin köklerinden rizosfere salınan fitosidereforlar (PSs) toprakta çözünemeyen Fe^{3+} iyonuna bağlanarak bir kompleks oluştururlar (şelasyon stratejisi) (Şekil 2). Fe^{3+} - PS kompleksi ilk olarak mısırdaki keşfedilen YELLOW STRIPE (YS) taşıyıcısı ailesinden ZmYS1 yardımıyla kök hücrelerinin içine alınır (Takagi, 1976; Takagi ve ark., 1984; Curie ve ark., 2001; Kim ve Guerinot, 2007; Curie ve ark., 2009; Kobayashi ve Nishizawa, 2012). Mugineik asitler (MAs) gibi fitosidereforlar dört sıralı enzimatik reaksiyonlarda L-metiyoninden sentezlenir (Mori ve Nishizawa, 1987; Shojima ve ark., 1990; Ma ve ark., 1999; Bashir ve ark., 2006; Ueno ve ark., 2007). L-metiyonin sülfür asimilasyon yolunun son ürünü olarak üretilir (Ravanel ve ark., 1995; Amir ve ark., 2002; Anjum ve ark., 2008). L-metiyonin SAM sentetaz tarafından S-adenozil-L-metionin (SAM)'e dönüştürülür. SAM'in 3 molekülü öncelikle Nicotianamine Synthase (NAS) olarak isimlendirilen enzim tarafından nikotianamine dönüştürülür, ondan sonra Nicotianamine Aminotransferase (NAAT) tarafından 3'-keto aside ve ardından Deoxymugineic Acid Synthase (DMAS) tarafından 2'-deoksimumugineik aside (DMA) dönüştürülür (Higuchi ve ark., 1999; Takahashi ve ark., 1999; Bashir ve ark., 2006). DMA bugüne kadar karakterize edilmiş dokuz MA tipinin öncüsü olarak kullanılır. Arpa ve çavdarda Iron Deficiency-Specific Clone2 (IDS2) ve IDS3 olarak isimlendirilen iki farklı deoksijenaz mugineik asitleri meydana getirmek için DMA'ya başka hidroksil grupları ekler (Nakanishi ve ark., 2000;

Kobayashi ve ark., 2001). Mugineik asitlerin üretiminde metiyonin sağlamak için Yang döngüsü adı verilen bir geri dönüşüm mekanizması işlev görür (Ma ve ark., 1999). Demir eksikliği MA biyosentetik yolağı, Yang döngüsü ve sülfür asimilasyon yolağında yer alan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu artırır (Kobayashi ve ark., 2005; Nagasaka ve ark., 2009).

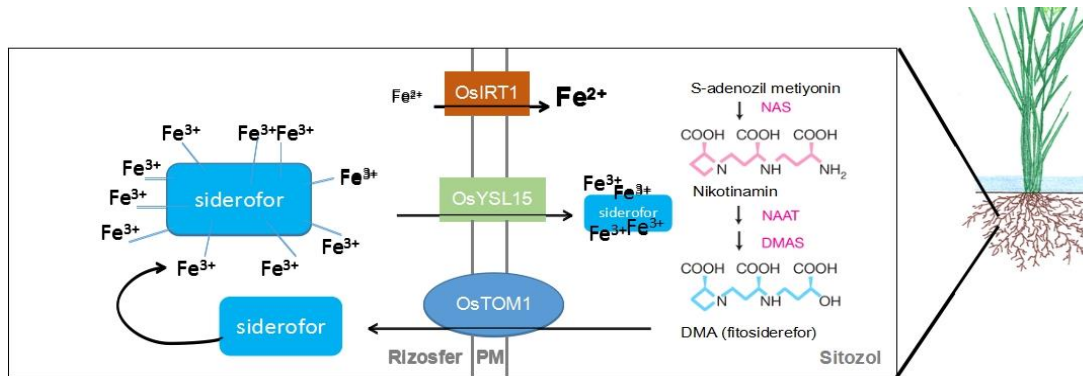
Çeltikte 3 adet *NAS* geni (*OsNAS1-3*), Arabidopsis'te ise 4 adet *NAS* geni (*AtNAS1-4*) bulunmakta olup, bu genler demir alımı ve dağıtımında farklı roller üstlenmektedir (Inoue ve ark., 2003; Klatte ve ark., 2009). Protein yapısına katılmayan bir amino asit olan NA bitkinin kök, yaprak ve filoem sıvısında bulunur ve filoem aracılığıyla bitki içerisinde hareket edebilir (Scholz ve ark., 1992; Schmiedeberg ve ark., 2003). MA üretiminde rol alan *NAS* genlerinin ekspresyonu demir eksikliği altında Gramineae köklerinde indüklenir (Higuchi ve ark., 2001; Inoue ve ark., 2003; Mizuno ve ark., 2003). Çeltikte 6 adet *NAAT* geni (*OsNAAT1-6*) bulunmaktadır (Inoue ve ark., 2008). Bunlardan sadece *OsNAAT1*'in ifade seviyesi demir eksikliği altında indüklenir. Dolayısıyla, *NAAT* aktivitesine sahip fonksiyonel proteini üreten tek genin *OsNAAT1* olduğu düşünülmektedir. *NAAT* mutantlarında DMA'nın üretilmediği ve Fe^{3+} 'ün rizosferden etkili bir biçimde alınmadığı bulunmuştur (Cheng ve ark., 2007).

Çeltik köklerinde üretilen DMA Transporter of Mugineic Acid 1 (*OsTOM1*) isimli bir taşıyıcı sayesinde rizosfere transfer edilir (Nozoye ve ark., 2011). *OsTOM1* taşıyıcısı kök epidermis hücrelerinin plazma membranına lokalize olur ve demir eksikliği altında ifade seviyesi bir hayli indüklenir. *OsTOM1* sirkadiyan ritim tarafından kontrol edilir ve en yüksek seviyesine gece yarısı ulaşır. Bu ritimsel değişim fitosidereför üretimi ve *OsNAS2* ekspresyonu ile de benzerlik gösterir (Takagi ve ark., 1984; Nozoye ve ark., 2004). Dolayısıyla fitosidereför üretimi diüurnal ritimleri kontrol eden mekanizmalar tarafından regüle edilmektedir. Ancak bununla ilgili genel bir çalışma henüz yapılmamıştır. Çeltikte 6 adet TOM bulunmakta olup, *OsTOM2*'de eşleniği gibi DMA'nın hücre dışına taşınmasına yardımcı olur (Nozoye ve ark., 2015). Benzer bir protein (*HvTOM1*) arpada'da keşfedilmiştir (Nozoye ve ark., 2011). Çeltikteki 5 TOM geninden *OsTOM1-3* ve *OsTOM4-6* sırasıyla 11'inci ve

12'inci kromozomlar üzerinde tandem olarak sıralanırlar. Bu da DMA taşınmasının çeltik için önemli olduğunu ve bu yüzden TOM geninin dublikasyon geçirdiğini gösterir. İlginç olarak *OsTOM2* tohum gelişimi ve çimlenme sırasında metal taşınmasından sorumlu dokularda ekspres olur (Nozoye ve ark., 2015). *OsTOM1* ve *HvTOM1*'in bitkilerde yüksek oranda üretilmesi bitkileri demir eksikliğine karşı dayanıklı hale getirir. TOM proteinleri Major Facilitator Superfamily (MFS) isimli taşıyıcı ailesinin üyeleridir (Pao ve ark., 1998). Her ne kadar Arabidopsis'te TOM proteini bulunmasa da en yakın ortoloğu MYB transkripsiyon faktörü tarafından kontrol edilen ve ifade seviyesi demir eksikliği altında artan *At5g16880* kodlu gendir. Bu genle ilgili bir karakterizasyon çalışması henüz yapılmamıştır. Buna ek olarak, *TOM1*'in Arabidopsis'teki diğer bir ortoloğu Zinc-Induced Facilitator 1 (*ZIF1*) isimli Zn^{2+} -NA kompleks taşıyıcısıdır. *ZIF1* koful membranına lokalize olup, sitoplazmadan koful içerisine Zn^{2+} -NA komplekslerini taşır (Haydon ve ark., 2007; Haydon ve ark., 2012).

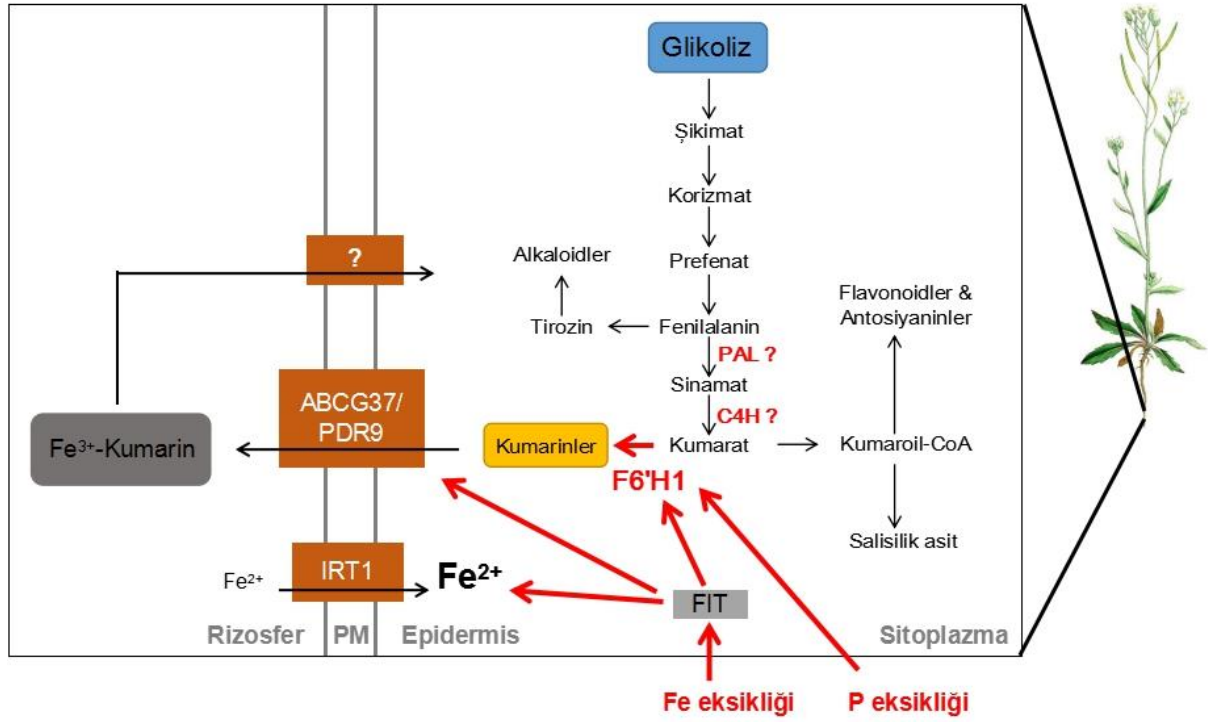
Protein sekansı olarak *TOM1*'e benzeyen ve MFS ailesinin bir üyesi olan Efflux Transporter of Na 1 (*ENA1*) *AtZIF1* ve *AtZIFL2*'ye çok benzerdir. Lokalizasyon tahmin programlarında *OsENA1*'in tıpkı *AtZIF1* gibi koful membranına lokalize olduğu tahmin edilmiştir (Nozoye ve ark., 2011). Dolayısıyla, *AtZIF1*'in çeltik ortoloğu olarak NA aracılığıyla metallere kofula taşınmasında *OsENA1*'in rol alacağı düşünülmektedir.

Yapılan bir çalışmada protokatekuik asit (PCA) taşıyıcısı Phenolics Efflux Zero1 (*PEZ1*)'in çeltikte demir alımına yardımcı olduğu bulunmuştur (Ishimaru ve ark., 2011). Demir eksikliği altında *PEZ1*'in rizosfere PCA ve kafeik asit gibi fenoliklerin taşınmasından sorumlu olduğu bulunmuştur. İlginç bir şekilde *PEZ1* kök vasküler dokusuna lokalize olur ve yüksek miktarda *PEZ1* üreten bitkiler aşırı demir biriktirirler ve bu toksik etkiden dolayı bitkilerde bazı fizyolojik değişiklikler gözlenir (Kobayashi ve ark., 2014). Öte yandan *PEZ1*'in susturulması demir konsantrasyonunu azaltır. *PEZ1*'in çeltik vasküler dokusunda keşfi Gramine olmayan bitkilerdeki benzerlerinin Strateji I demir alımına destek olabileceğini gözler önüne sermektedir.



Şekil 2 Gramineae ailesinde bulunan şelasyon stratejisi (Strateji II).

Gramineae ailesinde yer alan bitkilerin köklerinden rizosfere salınan fitosidereförler (PSs) toprakta çözünemeyen Fe^{3+} 'e bağlanarak bir kompleks oluştururlar (şelasyon stratejisi). Mugineik asitler (MAs) gibi fitosidereförler dört sıralı enzimatik reaksiyonlarda L-metiyoninden sentezlenir. L-metiyonin SAM sentetaz tarafından S-adenozil-L-metiyonin (SAM)'e dönüştürülür. SAM'in 3 molekülünü öncelikle Nicotianamine Synthase (NAS) olarak isimlendirilen enzim tarafından nikotianamine dönüştürülür, ondan sonra Nicotianamine Aminotransferase (NAAT) tarafından 3'-keto aside ve ardından Deoxymugineic Acid Synthase (DMAS) tarafından 2'-deoksimugineik aside (DMA) dönüştürülür. DMA bugüne kadar karakterize edilmiş dokuz MA tipinin öncüsü olarak kullanılır. DMA Transporter of Mugineic Acid 1 (*TOM1*) isimli bir taşıyıcı sayesinde rizosfere transfer edilir. Fe^{3+} 'e bağlanan DMA daha sonra Yellow Stripe-Like (YSL) taşıyıcıları tarafından epidermis içerisine alınır.



Şekil 3 Yeni keşfedilen demir-fenolik kompleksleşme stratejisi (Strateji III)

Demir eksikliği altında Poacea ailesinde yer almayan bitkilerin köklerinden toprağa fenolik maddeler salgılanır. Bunların arasında kumarinlerin olduğu gösterilmiştir. Kumarinler Şikimat yolağında FE²⁺- And 2-Oxoglutaratedependent Dioxygenase (F6'H1) tarafından üretildikten sonra ABCG37/PDR9 taşıyıcısı tarafından rizosfere taşınırlar. Rizosferde çözünemeyen Fe³⁺'ye bağlanan kumarinler daha sonra henüz tanımlanamayan bir taşıyıcı tarafından kök epidermis hücrelerine alınır. Bu strateji FRO2-IRT1 Fe taşıma stratejisine alternatif olarak çalışmakta olup, kumarinlerin sentezlenmemesi FRO2-IRT1 sisteminin çalışmasını engellemez. F6'H1'in Fe ve P eksikliği altında induklendiği gösterilmiştir. PAL: Phenylalanine Ammonia-Lyase, C4h: Cinnamic Acid 4-Hydroxylase, Abcg37/Pad9: Atp-Binding Cassette G37/Pleiotropic Drugresistance 9.

Fe³⁺-MA taşıyıcılarını kodlayan *YELLOW STRIPE 1* (*YS1*) geni ilk mısırdan elde edilmiştir. Mısır *YS1* mutanlığı nedeniyle damar içi kloroz karakteristiğini sunar (Curie ve ark., 2001). *ZmYS1* benzeri çeltik genlerinin (*YS1-LIKE - OsYSL*) ifade seviyelerinin Fe eksikliği altında köklerde ve göve arkede induklendiği son on yıllık çalışmalarda gösterilmiştir (Inoue ve ark., 2009). *ZmYS1*'in Arabidopsis'te 8 adet (*AtYSL1-8*), çeltikte ise 18 adet (*OsYSL1-18*) ortologları bulunur (Curie ve ark., 2001; Koike ve ark., 2004 Murata ve ark., 2006). *YSL* ailesi çeşitli metal-MA ve metal-NA komplekslerinin taşınmasıyla ilgilidir. Örneğin *YS1*, Fe³⁺, Zn²⁺, Cu²⁺ ve Ni²⁺ içeren çeşitli DMA'ya bağlı metalleri ve aynı zamanda NA ile şelatlanmış Ni²⁺, Fe²⁺ ve Fe³⁺ komplekslerini taşır (Schaaf ve ark., 2004). *OsYSL15* ve *OsYSL18* Fe³⁺-DMA'yı taşırken (Inoue ve ark., 2009; Aoyama ve ark., 2009), *OsYSL2* Fe²⁺-NA ve Mn²⁺-NA taşır (Koike ve ark., 2004). *OsYSL16* Fe³⁺-DMA ve Cu²⁺-NA taşır (Kakei ve ark., 2012; Zheng ve ark., 2012). Dahası, *OsYSL* genlerinin kodladığı taşıyıcılar çeltik içerisinde demirin yer değiştirmesinde rol alırlar (Koike ve ark., 2004; Kakei ve ark., 2012). Sitozol içerisine girdikten sonra, Fe³⁺-DMA, askorbat tarafından indirgenerek Fe²⁺-NA'yı oluşturabilir (Weber ve ark., 2008). Bundan dolayı, NA sadece MA'nın biyosentezi için önemli bir ara ürün değil, bundan başka bitkiler içinde demirin yer değiştirmesinde rol alabilen önemli bir metal şelatördür (Takahashi ve ark., 2003). *YS1*, *OsYSL2*, *OsYSL15*, ve *OsYSL16*'nın ifadesi demir eksikliği koşulları altında hem kök hem de göve arkede artarken, *OsYSL18*'in ifadesi demir miktarına bağlı olarak değişmemiştir. *YSL* ailesi taşıyıcıları, metal-MA ve

metal-NA kompleksleri taşınmasıyla dahili metal homeostazında önemli rol oynamaktadır.

Strateji I bitkilerine benzer şekilde, bazı çim bitkileri Fe²⁺ taşıyıcısı yardımıyla Fe³⁺-PS kompleksine ek olarak rizosferden Fe²⁺'de alabilirler. Çeltikte bulunan *IRT1* (*OsIRT1*), Arabidopsis'deki eşdeğerine benzer şekilde Fe²⁺ alımında işlev görür (Ishimaru ve ark., 2006). Çeltik *NAAT* genindeki bir mutasyon, mutant PS'yi sentezleyemese de, Fe²⁺ sağlandığı sürece bitki büyümesini etkilemez (Cheng ve ark., 2007). Bu da çeltiğin demir alımında hem Strateji II'yi hem de Strateji I'i kullandığını ispatlar. İlginç olarak, Strateji I bitkilerinin aksine, pirinç H⁺-ATPaz ve FRO aktivitelemesi demir eksikliği tarafından uyarılmaz. Bu da Fe²⁺'nin bulunduğu yüksek derecede ulaşılabilen bataklık ve havasız koşullarda pirincin büyüme ortamına adaptasyonunu gösterir (Itai ve ark., 2000; Ishimaru ve ark., 2006). Pirinçte gözlenen stratejinin bir benzeri bataklık gibi oksijensiz ortamda yetişmeyen mısır (*Zea mays*) bitkisinde de keşfedilmiştir (Li ve ark., 2016). Genom incelemeleri sonucunda dokuz adet *ZmZIP* geni belirlenmiş, klonlanıp maya deneylerinde demir alımıyla olan ilişkileri ortaya çıkartılmıştır (Li ve ark., 2013). Ayrıca, *ZmIRT1* and *ZmZIP3* taşıyıcılarının Fe²⁺ taşıma yetkinliği bitkilerde gösterilmiştir (Li ve ark., 2015).

Strateji III: Demir-Fenolik Kompleksleşme Stratejisi

Poacea ailesinde yer almayan bitkilerin köklerinden toprağa fenolik maddeler salgıladıkları ve bu fenoliklerin üretiminin mineral eksikliği altında artış gösterdiği uzun zamandır bilinmektedir (Romheld ve Marschner, 1983; Marschner, 1995; Jin ve ark., 2014). Dikotlarda bulunan

indirgenme stratejisine ek olarak köklerde fenolik üretiminin ve rizosfere salımının demirin kök içerisine alınmasında alternatif bir strateji olduğu fikri ise yakın zaman önce ortaya atılmıştır (Curie ve Mari, 2016). Son birkaç yılda Strateji I bitkilerinde yapılan çalışmalarda, Arabidopsis gibi bitkilerin indirgenme stratejisine ek olarak Strateji II benzeri bir mekanizma kullanabilecekleri bildirilmiştir. Bu yeni stratejide dikot bitki köklerinde sentezlenen özel fenolik maddeler rizosfere salınarak Fe^{3+} 'nin çözünürlüğü ve kök epidermis hücrelerine alımını artırdığı bulunmuştur (Şekil 3). Ancak, bu yeni keşfedilen stratejide görev alan metabolitler ve taşıyıcıları hakkında henüz detaylı bir bilgi bulunmamakta olup farklı gruplar konu üzerinde detaylı çalışmalar yürütmektedir. Demir eksikliği uygulanan Arabidopsis köklerinde yapılan bir transkriptomik çalışmada fenilpropanoid sentez yolağındaki genlerin, özellikle de Feruloyl-CoA'dan kumarin üretiminden sorumlu Fe^{2+} ve 2-oksoglutarat bağımlı bir dioksigenaz geni olan FE^{2+} - AND 2-OXOGLUTARATEDEPENDENT DIOXYGENASE ($F6'H1$)'nin ifade seviyelerinin arttığı bulunmuştur (Rodriguez-Celma ve ark., 2013).

Arabidopsis, topraktaki alımından önce Fe^{3+} e bağlanan ve muhtemelen onu indirgeyen fenilpropanoid yolağından türetilen sekonder metabolitler olan kumarinleri salgılar (Rodriguez-Celma ve ark., 2013; Fourcroy ve ark., 2014; Schmid ve ark., 2014; Schmidt ve ark., 2014). Bu sistemin, özellikle nötr ve alkalın koşullar altında Fe alımını sağlamak için IRT1 veya FRO2 proteinlerinden en az biri için substrat temin ederek birlikte çalıştığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, çimler tarafından benimsenen sistemin tersine, Fe-kumarin kompleksinin rizosferden kök epidermisine taşınmasını sağlayan bir protein henüz keşfedilmemiştir. Kumarinlerin gerçekten de Fe eksikliği altındaki köklerde biriktiği ve aynı zamanda kök eksüdasında biriktiği bulunmuştur (Fourcroy ve ark., 2014; Schmidt ve ark., 2014). Fe eksikliği olan bitkilerin kök eksüdasından uzaklaştırarak veya $F6'H1$ genini inaktive ederek kumarinlerin üretimleri engellendiğinde bitkinin rizosferden Fe alımı tehlikeli bir şekilde inhibe olur. $f6'h1$ mutantının mutant olmayan bitkilerle yan yana yetiştirilmesi veya mutanta dışarıdan kumarin uygulaması sonucunda Fe eksikliğinden dolayı yaşayamayan mutantın yaşama ve gelişim kabiliyetinin düzeldiği gözlenmiştir (Rodriguez-Celma ve ark., 2013; Fourcroy ve ark., 2014; Schmid ve ark., 2014; Schmidt ve ark., 2014). Kumarinlerin rizosfere ihraç edilmesi, bir ABC aile taşıyıcısını kodlayan fonksiyonel Atp-Binding Cassette G37/Pleiotropic Drugresistance 9 (ABCG37/PDR9) taşıyıcısını kodlayan genin varlığına bağlıdır. Kumarinin olası rolleri arasında, Fe^{3+} 'ün indirgenmesi veya kök tarafından alınması gereken bir Fe-kumarin kompleksi oluşturulması ileri sürülmüştür. Her ne kadar demir eksikliğine maruz bırakılan bitkilerin köklerinden salgılanan eksüdalardan mutant olmayan bitkilerin Fe eksikliği semptomlarını kurtarırsa, $fro2$ ve $irt1$ mutantlarını kurtaramamıştır (Fourcroy ve ark., 2016). Bu da kumarinlerin yararlı etkisinin gözlenebilmesi için FRO2 redüktaz ve IRT1 Fe taşıyıcısının varlığının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Kumarinlerin demirin bitkiler tarafından alınmasını kolaylaştırma şekli büyük olasılıkla çözünmeyen Fe^{3+} şelatlarındaki demirin

mobilizasyonunu artırmak şeklindedir. b-glucosidase BGLU42 tarafından hidrolizasyon sonucunda üretilen kök eksüdalarında ağırlıklı olarak Fe^{3+} 'ye bağlanma özelliklerine sahip olan katekol benzeri gruplar içeren aglikon kumarinleri bulunur (Zamioudis ve ark., 2014). Feruloyl-CoA 60-hidroksilaz $F6'H1$ gibi kumarin biyosentetik yolundaki basamaklara aracılık eden enzimleri kodlayan birkaç genin ekspresyonu, IRT1 ve FRO2'nin ekspresyonunu kontrol eden önemli bir transkripsiyon faktör olan Fer-Like Iron Deficiency-Induced Transcription Factor (FIT)'in kontrolü altındadır. $F6'H1$ ve ABCG37/PDR9'un (MYB72 yoluyla) aynı zamanda FIT'in kontrolü altında olduğu bulgusu, bunların Fe eksikliğine olan kök yanıtının ayrılmaz bir parçası olduğunu teyit eder (Rodriguez-Celma ve ark., 2013; Schmid ve ark., 2014; Zamioudis ve ark., 2014). Kumarinlerin salgılanması, Fe'nin alımını, rizosferdeki Fe 'nin talebi ve varlığına yanıt olarak ayarlayan FIT kontrollü Fe regülatörünün bir parçasıdır (Colangelo & Guerinot, 2004; Jakoby ve ark., 2004).

İlginç bir şekilde, Fe eksikliği olan bitkilerde gözlemlenen duruma benzer şekilde, $F6'H1$ 'in ifadesi, bitkilerin fosfat (Pi) eksikliğine yanıtında indüklenir (Morcuende ve ark., 2007; Lan ve ark., 2012). Bu, Pi eksikliği olan bitkilerde demirin alımından sorumlu IRT1 ve FRO2 gibi genlerin kuvvetli represyonuna tamamen zıt bir bilgi olmasından dolayı mantığa aykırıdır. Daha şaşırtıcı bir şekilde, Fe^{3+} için yüksek afiniteli bir kumarin olan eskületin salınımı ve Fe'nin rizosferden köklere alımında kanıtlanmış bir rolünün hem Fe, hem de Pi eksikliğine tepki olarak arttığı bulunmuştur (Schmid ve ark., 2014; Ziegler ve ark., 2016). Bu keşif Fe ve Pi eksikliği altında Fe kazancında kumarinlerin rolünü destekler. Dolayısıyla, kumarin üretiminin düzenlenmesinin Fe eksikliğine verilen diğer cevaplardan farklı olabileceği ve Pi yetersiz koşullar altında kumarin üretiminin ayrı bir kontrol mekanizması altında olduğunu düşündürür.

Birçok Strateji I bitkisi topraktaki demir eksikliğine yanıt olarak köklerinden büyüme ortamına flavin salgılar (Welkie, 2000; Rodriguez-Celma ve ark., 2011b). Flavinin kökten salgılanması bilinen taksonomik kategorileri takip etmez. Test edilen Amaranthaceae türlerinin tümünde (*Beta vulgaris* dahil) salgılanma meydana gelirken, Fabaceae ailesinde *Medicago truncatula*'da meydana gelirken *Lupinus albus*'ta görülmez. Bugüne kadar *A. thaliana*'yı da içeren Brassicaceae türlerinde kökten rizosfere flavin salgısı hiç bildirilmemiştir. Flavin konsantrasyonu Fe^{3+} -oksitten Fe^{3+} 'e indirgeme hızını kontrol etmek için kritik bir öneme sahiptir. Halbuki aynı konsantrasyonda (hem kökler, hem de NADH varlığında) kullanıldığında ribofilavin (Rbfl) ve Rbfl-sülfatlar benzer şekilde Fe^{3+} -oksit redüksiyon hızlarına neden olurken, flavin konsantrasyonlarındaki artış redüksiyon hızlarında belirgin bir yükselmeye neden olur. Demir eksik bitkilerin kökleri ve kök eksüdalarında bulunan en yaygın flavin riboflavindir. *B. vulgaris*'deki Rbfl 30- ve 50-sülfatlar ve *M. truncatula*'da 7-karboksi- ve 7-hidroksi-Rbfl'yide içeren başka türevleride rapor edilmiştir (Rodriguez-Celma ve ark., 2011b). *B. vulgaris* ve *M. truncatula*'daki flavinler çevresel pH düşük olduğunda besin solüsyonuna salınırken, yüksek çevresel pH altında flavinler distal kök

kısımlarında (kök apeksinden 0-5 mm) birikir (Susin ve ark., 1993, 1994; Lopez-Millan ve ark., 2000; Rodriguez-Celma ve ark., 2011b). Her iki türde de demir eksikliğine maruz bırakılmış köklerde yapılan transkriptomik ve / veya proteomik çalışmalar, Rbfl biyosentezine katılan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonlarının yüksek derecede artışı ve ayrıca Rbfl biyosentez yolağı ile demir alım mekanizmasının çekirdek genleri arasındaki bağlantısını ortaya koymuştur (Rellan-Alvarez ve ark., 2010; Rodriguez-Celma ve ark., 2011a, 2013). Fe eksikliğine maruz kalan köklerdeki flavinlerin, ferrik redüktaz (FRO) için elektron donörleri veya kofaktörleri olarak rol oynayabileceğı, ancak rizosfere salgılanan flavinlerin hücre dışı Fe çözünürlüğüne aracılık edebileceğı ve / veya antimikrobiyal ajanlar olarak hareket edebileceğı hipotezi ileri sürülmüştür (Jordan ve ark., 1992; Gonzalez-Vallejo ve ark., 1998; Higa ve ark., 2010).

Fe eksikliğine maruz bırakılan *Beta vulgaris* bitkilerinin köklerinden yetiştirildikleri besin çözeltilisine salgıladıkları flavinlerin uzaklaştırılması bitki demir beslenme durumu üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir (Sisó-Terraza ve ark., 2016). Besleyici solüsyondan flavinlerin uzaklaştırılması, *B. vulgaris*'deki Fe eksikliğini indüklediğı klorozun artmasına neden olmuştur. Bitkiler düşük flavin ortamında büyütüldüğü zaman, yaprak demir içeriğı ve toplam biyoküttele belirgin düşüş gözlenmiştir. Bununla birlikte, flavinin besiyerinden uzaklaştırılması diğer Strateji I kök cevaplarını etkilememiştir; çünkü kök FRO ve ATPaz aktivitelerinin ortamda flavinin varlığında Fe eksikliği çeken bitkilerde bulunanlara benzediğı bulunmuştur. Daha önce Arabidopsis'de Fe eksikliğine bağlı olan kumarin tipi fenolikler, Fe eksikliğine maruz kalan *B. vulgaris* bitkilerinin besleyici solüsyonları ve kök eksüdalarında gözlenmemiştir. Bu sonuç, *M. truncatula* (bir flavin üreticisi) ve Arabidopsis (bir fenolik üretici) örneklerinde yakın zamanda gösterildiğı gibi Fe eksikliğıyle uyarılan fenoliklerin ve flavinlerin kök üretiminin çok özel ve yeni bir demir alım stratejisi olabileceğı görüşünü büyük ölçüde desteklemektedir (Rodriguez-Celma ve ark., 2013). Benzer şekilde dikot olan zeytinin ksilem sıvısında ve yapraklarında da DMA ve NA ölçülmüştür (Suzuki ve ark., 2016). Zeytin ağacının yapraklarında yapılan transkriptomik çalışmada ise SAM'dan DMA üretiminden sorumlu NA sentaz, NA aminotrenasferaz ve aldo-keto redüktaz enzimlerini sentezleyen pütatif genler ile YSL taşıyıcılarını kodlayan pütatif genler belirlenmiştir (Suzuki ve ark., 2016).

Sonuç

Düşük asiditeye sahip topraklarda yetiştirilen bitkiler sürekli demir eksikliğine maruz kaldıklarından bu bitkilerde büyük ölçüde kloroz ve dolayısıyla da verim kayıpları gözlenir. Demir eksikliğini giderilmesine yönelik olarak demir gübrelere farklı formları topraktan ve/veya yapraktan uygulanmaktadır. Demir gübre uygulaması hem üretim maliyetini arttırmakta, hem de uygulama sonucunda istenen verim alınamamaktadır. Bunun en büyük nedeni, bitkilerin demiri topraktan almak için kullandıkları stratejilerin tam olarak anlaşılammış olmasıdır.

Son otuz yılda yapılan çalışmalarda birisi indirgenme, diğeri ise şelatlama olmak üzere bitkilerin topraktan demiri almak için iki farklı strateji kullandıkları bulunmuştur. Bu stratejilerden indirgenme stratejisi dikotlarda gözlenirken, şelatlama stratejisi Graminelerde bulunmaktadır. Ancak, çeltik ve akabinde yoncada yapılan çalışmalarda indirgenme stratejisinin Graminelerde de kullanıldığı gösterilmiştir. İndirgenme stratejisinde bitkiler Fe³⁺'yi Fe²⁺'ye indirgedikten sonra Fe²⁺ taşıyıcıları sayesinde kök içerisine alırken, şelatlama stratejisinde Fe³⁺ ile kompleksleşebilen fitosidereforlar rizosfere salgılanır ve kompleks taşıyıcıları sayesinde kök içerisine alınır. Fitosidereforların demir gübresi olarak kullanılmaları önerilmiştir ancak üretilmelerinin yüksek maliyetli olmasından dolayı gübre olarak kullanılmaları bugünkü teknoloji ile mümkün değildir.

Daha da ilginç, yapılan son çalışmalarda her iki bitki grubunda da bilinen demir alım stratejilerine ek yeni bir stratejinin olabileceğı öne sürülmüştür. Bu yeni stratejide bitkiler tıpkı fitosidereforlar gibi Fe³⁺ ile kompleks oluşturabilen flavin ve fenilpropanoidleri rizosfere salgırlar. Bu stratejide hangi tür ikincil metabolizma kimyasallarının daha önemli olduğu, bitkilerin bu kimyasallara karşı verdiği tepkiler, bu stratejide görev alan taşıyıcı ve regülatörler keşfedilmesi gereken eksik konulardır. Ayrıca, ilerleyen yıllarda flavin ve fenilpropanoidler gibi üretim maliyeti düşük ikincil metabolizma ürünlerinin demir gübresi olarak kullanılması da söz konusu olabilir.

Kaynaklar

- Amir R, Hacham Y, Galili G. 2002. Cystathionine γ -synthase and threonine synthase operate in concert to regulate carbon flow towards methionine in plants. *Trends in Plant Science* 7: 153-156.
- Anjum NA, Umar S, Singh S, Nazar R, Khan NA. 2008. Sulfur assimilation and cadmium tolerance in plants. *In* Sulfur assimilation and abiotic stress in plants. Springer, Netherlands. pp. 271-302.
- Aoyama T, Kobayashi T, Takahashi M, Nagasaka S, Usuda K, Kakei Y, Ishimaru Y, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2009. OsYSL18 is a rice iron (III)-deoxymugineic acid transporter specifically expressed in reproductive organs and phloem of lamina joints. *Plant Molecular Biology* 70: 681-692.
- Bashir K, Inoue H, Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2006. Cloning and characterization of deoxymugineic acid synthase genes from graminaceous plants. *Journal of Biological Chemistry* 281: 32395-32402.
- Blair MW, Knewton SJ, Astudillo C, Li CM, Fernandez AC, Grusak MA. 2010. Variation and inheritance of iron reductase activity in the roots of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and association with seed iron accumulation QTL. *BMC Plant Biology* 10(1): 215.
- Buckhout TJ, Yang TJ, Schmidt W. 2009. Early iron-deficiency-induced transcriptional changes in Arabidopsis roots as revealed by microarray analyses. *BMC Genomics*. 10: 147.
- Cheng L, Wang F, Shou H, Huang F, Zheng L, He F, Li J, Zhao F-J, Ueno D, Ma JF. 2007. Mutation in nicotianamine aminotransferase stimulated the Fe (II) acquisition system and led to iron accumulation in rice. *Plant Physiology* 145: 1647-1657.
- Colangelo EP, Gueriot ML. 2004. The essential basic helix-loop-helix protein FIT1 is required for the iron deficiency response. *Plant Cell* 16: 3400-3412.

- Connolly EL, Campbell NH, Grotz N, Prichard CL, Guerinot ML. 2003. Overexpression of the FRO2 ferric chelate reductase confers tolerance to growth on low iron and uncovers posttranscriptional control. *Plant Physiology* 133: 1102-1110.
- Connolly EL, Fett JP, Guerinot ML. 2002. Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. *Plant Cell* 14: 1347-1357.
- Conte SS, Walker EL. 2011. Transporters contributing to iron trafficking in plants. *Molecular Plant* 4: 464-476.
- Curie C, Cassin G, Couch D, Divol F, Higuchi K, Jean M, Misson J, Schikora A, Czernic P, Mari S. 2009. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Annals of Botany* 103: 1-11.
- Curie C, Mari S. 2017. New routes for plant iron mining. *New Phytologist* 214(2): 521-525.
- Curie C, Panaviene Z, Loulergue C, Dellaporta SL, Brait JF, Walker EL. 2001. Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe³⁺ uptake. *Nature* 409:346-349.
- Driessen P, Deckers J, Spaargaren O, Nachtergaele F. 2000. Lecture notes on the major soils of the world. Food and Agriculture Organization (FAO).
- Eide D, Broderius M, Fett J, Guerinot ML. 1996. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 5624-5628.
- Feng H, An F, Zhang S, Ji Z, Ling H-Q, Zuo J. 2006. Light-regulated, tissue-specific, and cell differentiation-specific expression of the Arabidopsis Fe (III)-chelate reductase gene AtFRO6. *Plant Physiology* 140: 1345-1354.
- Gonzalez-Vallejo EB, Susin S, Abadía A, Abadía J. 1998. Changes in sugar beet leaf plasma membrane Fe(III)-chelate reductase activities mediated by Fe deficiency, assay buffer composition, anaerobiosis and the presence of flavins. *Protoplasma* 205: 163-168.
- Gross J, Stein RJ, Fett-Neto AG, Fett JP. 2003. Iron homeostasis related genes in rice. *Genetics and Molecular Biology* 26: 477-497.
- Grotz N, Guerinot ML. 2006. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* 1763: 595-608.
- Grusak MA, Welch RM, Kochian LV. 1990. Physiological characterization of a single-gene mutant of *Pisum sativum* exhibiting excess iron accumulation I. Root iron reduction and iron uptake. *Plant Physiology* 93(3): 976-981.
- Guerinot ML. 2010. Iron. In R Hell, R-R Mendel, eds, *Cell Biology of Metals and Nutrients*. Springer Science. pp 75-94.
- Fourcroy P, Sisó-Terraza P, Sudre D, Savirón M, Rey G, Gaymard F, Abadía A, Abadía J, Álvarez-Fernández A, Briat JF. 2014. Involvement of the ABCG37 transporter in secretion of scopoletin and derivatives by Arabidopsis roots in response to iron deficiency. *New Phytologist* 201(1): 155-167.
- Fourcroy P, Tissot N, Gaymard F, Briat JF, Dubos C. 2016. Facilitated Fe nutrition by phenolic compounds excreted by the Arabidopsis ABCG37/PDR9 transporter requires the IRT1/FRO2 high-affinity root Fe²⁺ transport system. *Molecular Plant* 9(3): 485-488.
- Haydon MJ, Cobbett CS. 2007. A novel major facilitator superfamily protein at the tonoplast influences zinc tolerance and accumulation in Arabidopsis. *Plant Physiology* 143(4): 1705-1719.
- Haydon MJ, Kawachi M, Wirtz M, Hillmer S, Hell R, Krämer U. 2012. Vacuolar nicotianamine has critical and distinct roles under iron deficiency and for zinc sequestration in Arabidopsis. *The Plant Cell* 24(2): 724-737.
- Heazlewood JL, Tonti-Filippini JS, Gout AM, Day DA, Whelan J, Millar AH. 2004. Experimental analysis of the Arabidopsis mitochondrial proteome highlights signaling and regulatory components, provides assessment of targeting prediction programs, and indicates plant-specific mitochondrial proteins. *The Plant Cell* 16: 241-256.
- Hell R, Stephan UW. 2003. Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta* 216: 541-551.
- Henriques R, Jasik J, Klein M, Martinoia E, Feller U, Schell J, Pais MS, Koncz C. 2002. Knock-out of Arabidopsis metal transporter gene IRT1 results in iron deficiency accompanied by cell differentiation defects. *Plant Molecular Biology* 50: 587-597.
- Higa A, Mori Y, Kitamura Y. 2010. Iron deficiency induces changes in riboflavin secretion and the mitochondrial electron transport chain in hairy roots of *Hyoscyamus albus*. *Journal of Plant Physiology* 167: 870-878.
- Higuchi K, Suzuki K, Nakanishi H, Yamaguchi H, Nishizawa N-K, Mori S. 1999. Cloning of nicotianamine synthase genes, novel genes involved in the biosynthesis of phytosiderophores. *Plant Physiology* 119: 471-480.
- Higuchi K, Watanabe S, Takahashi M, Kawasaki S, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S. 2001. Nicotianamine synthase gene expression differs in barley and rice under Fe-deficient conditions. *The Plant Journal* 25(2): 159-167.
- Inoue H, Higuchi K, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2003. Three rice nicotianamine synthase genes, OsNAS1, OsNAS2, and OsNAS3 are expressed in cells involved in long-distance transport of iron and differentially regulated by iron. *The Plant Journal* 36(3): 366-381.
- Inoue H, Takahashi M, Kobayashi T, Suzuki M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2008. Identification and localization of rice nicotianamine aminotransferase OsNAAT1 expression suggests the site of phytosiderophore synthesis in rice. *Plant Mol. Biol.* 66: 193-203.
- Inoue H, Kobayashi T, Nozoye T, Takahashi M, Kakei Y, Suzuki K, Nakazono M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2009. Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron (III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings. *Journal of Biological Chemistry* 284: 3470-3479.
- Ishimaru Y, Kakei Y, Shimo H, Bashir K, Sato Y, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa NK. 2011. A rice phenolic efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele. *Journal of Biological Chemistry* 286(28): 24649-24655.
- Ishimaru Y, Kim S, Tsukamoto T, Oki H, Kobayashi T, Watanabe S, Matsubashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S. 2007. Mutational reconstructed ferric chelate reductase confers enhanced tolerance in rice to iron deficiency in calcareous soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104: 7373-7378.
- Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsubashi S, Takahashi M. 2006. Rice plants take up iron as an Fe³⁺-phytosiderophore and as Fe²⁺. *The Plant Journal*. 45: 335-346.
- Itai R, Suzuki K, Yamaguchi H, Nakanishi H, Nishizawa NK, Yoshimura E, Mori S. 2000. Induced activity of adenine phosphoribosyltransferase (APRT) in iron-deficient barley roots: a possible role for phytosiderophore production. *Journal of Experimental Botany*. 51: 1179-1188.
- Ivanov R, Brumbarova T, Bauer P. 2012. Fitting into the harsh reality: regulation of iron-deficiency responses in dicotyledonous plants. *Molecular Plant*. 5: 27-42.
- Jakoby M, Wang HY, Reidt W, Weisshaar B, Bauer P. 2004. FRU (BHLH029) is required for induction of iron mobilization genes in Arabidopsis thaliana. *FEBS Letters*. 577: 528-534.

- Jeong J, Cohu C, Kerkeb L, Pilon M, Connolly EL, Guerinot ML. 2008. Chloroplast Fe (III) chelate reductase activity is essential for seedling viability under iron limiting conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105: 10619-10624.
- Jeong J, Connolly EL. 2009. Iron uptake mechanisms in plants: Functions of the FRO family of ferric reductases. *Plant Science*. 176: 709-714.
- Jin CW, Ye YQ, Zheng, SJ. 2014. An under ground tale: contribution of microbial activity to plant iron acquisition via ecological processes. *Annals of Botany* 113: 7-18. doi:10.1093/aob/mct249.
- Jordan CM, Wakeman RJ, Devay JE. 1992. Toxicity of free riboflavin and methionine-riboflavin solutions to *Phytophthora infestans* and the reduction of potato late blight disease. *Canadian Journal of Microbiology*. 38: 1108-1111.
- Kakei Y, Ishimaru Y, Kobayashi T, Yamakawa T, Nakanishi H, Nishizawa NK. 2012. OsYSL16 plays a role in the allocation of iron. *Plant Molecular Biology* 79(6): 583-594.
- Kim SA, Guerinot ML. 2007. Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *Febs Letters*. 581: 2273-2280.
- Klatte M, Schuler M, Wirtz M, Fink-Straube C, Hell R, Bauer P. 2009. The Analysis of Arabidopsis Nicotianamine Synthase Mutants Reveals Functions for Nicotianamine in Seed Iron Loading and Iron Deficiency Responses. *Plant Physiology*. 150: 257-271.
- Klein MA, López-Millán AF, Grusak MA. 2012. Quantitative trait locus analysis of root ferric reductase activity and leaf chlorosis in the model legume, *Lotus japonicus*. *Plant and Soil* 351(1-2): 363-376.
- Kobayashi T, Nakanishi H, Nishizawa NK. 2010. Recent insights into iron homeostasis and their application in graminaceous crops. *Proceedings of the Japan Academy Series B-Physical and Biological Sciences*. 86: 900-913.
- Kobayashi T, Nakanishi H, Takahashi M, Kawasaki S, Nishizawa N-K, Mori S. 2001. In vivo evidence that *Ids3* from *Hordeum vulgare* encodes a dioxygenase that converts 2'-deoxymugineic acid to mugineic acid in transgenic rice. *Planta*. 212: 864-871.
- Kobayashi T, Nishizawa NK. 2012. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*. 63: 131-152.
- Kobayashi T, Suzuki M, Inoue H, Itai RN, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2005. Expression of iron-acquisition-related genes in iron-deficient rice is coordinately induced by partially conserved iron-deficiency-responsive elements. *Journal of Experimental Botany*. 56: 1305-1316.
- Kobayashi T, Itai RN, Nishizawa NK. 2014. Iron deficiency responses in rice roots. *Rice* 7:27.
- Koike S, Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2004. OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem. *The Plant Journal*. 39: 415-424.
- Lan P, Li WF, Wen TN, Schmidt W. 2012. Quantitative phosphoproteome profiling of iron-deficient Arabidopsis roots. *Plant Physiology* 159: 403-417.
- Li L, Cheng X, Ling H-Q. 2004. Isolation and characterization of Fe (III)-chelate reductase gene LeFRO1 in tomato. *Plant Molecular Biology*. 54: 125-136.
- Li W, Santi S, Tan C, W. S. 2007. Dissecting P-type H⁺-ATPase-mediated proton extrusion in Arabidopsis. *In* 18th International Conference on Arabidopsis Research. Beijing, China.
- Li S, Zhou X, Huang Y, Zhu L, Zhang S, Zhao Y, Guo J, Chen J, Chen R. 2013. Identification and characterization of the zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like protein (ZIP) gene family in maize. *BMC Plant Biol*. 13:114.
- Li S, Zhou X, Li H, Liu Y, Zhu L, Guo J, Liu X, Fan Y, Chen J, Chen RR. 2015. Overexpression of *ZmIRT1* and *ZmZIP3* enhances iron and zinc accumulation in transgenic Arabidopsis. *PLoS One* 10(8): e0136647.
- Li S, Zhou X, Chen J, Chen R. 2016. Is there a strategy I iron uptake mechanism in maize? *Plant Signaling and Behavior* <http://dx.doi.org/10.1080/15592324.2016.1161877>
- Lopez-Millan AF, Morales F, Andaluz S, Gogorcena Y, Abadia A, De Las Rivas J, Abadia J. 2000. Responses of sugar beet roots to iron deficiency. Changes in carbon assimilation and oxygen use. *Plant Physiology*. 124: 885-897.
- Ma JF, Taketa S, Chang YC, Iwashita T, Matsumoto H, Takeda K, Nomoto K. 1999. Genes controlling hydroxylations of phytosiderophores are located on different chromosomes in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta* 207(4): pp.590-596.
- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. London, UK: Academic Press.
- Marschner H, Marschner P. 2011. Marschner's mineral nutrition of higher plants, Vol 89. Elsevier.
- Marschner H, Romheld V. 1994. Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant and Soil*. 165: 261-274.
- Mizuno D, Higuchi K, Sakamoto T, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2003. Three nicotianamine synthase genes isolated from maize are differentially regulated by iron nutritional status. *Plant Physiology* 132(4): 1989-1997.
- Mori S, Nishizawa N. 1987. Methionine as a dominant precursor of phytosiderophores in Gramineae plants. *Plant Cell Physiol*. 28:1081-92.
- Morcuende R, Bari R, Gibon Y, Zheng W, Pant BD, BLÄSING O, Usadel B, Czechowski T, Udvardi MK, Stitt M, Scheible WR. 2007. Genome-wide reprogramming of metabolism and regulatory networks of Arabidopsis in response to phosphorus. *Plant, Cell & Environment* 30(1): 85-112.
- Mukherjee I, Campbell NH, Ash JS, Connolly EL. 2006. Expression profiling of the Arabidopsis ferric chelate reductase (FRO) gene family reveals differential regulation by iron and copper. *Planta* 223: 1178-1190 *Plant, Cell & Environment*. 30: 85-112.
- Murata Y, Ma JF, Yamaji N, Ueno D, Nomoto K, Iwashita T. 2006. A specific transporter for iron (III)-phytosiderophore in barley roots. *The Plant Journal*. 46: 563-572.
- Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi-Itai R, Bashir K, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2009. Time course analysis of gene expression over 24 hours in Fe-deficient barley roots. *Plant Molecular Biology*. 69: 621-631.
- Nakanishi H, Yamaguchi H, Sasakuma T, Nishizawa NK, Mori S. 2000. Two dioxygenase genes, *Ids3* and *Ids2*, from *Hordeum vulgare* are involved in the biosynthesis of mugineic acid family phytosiderophores. *Plant Molecular Biology*. 44: 199-207.
- Nozoye T, Itai RN, Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. 2004. Diurnal changes in the expression of genes that participate in phytosiderophore synthesis in rice. *Soil Science and Plant Nutrition* 50(7): 1125-1131.
- Nozoye T, Nagasaka S, Kobayashi T, Takahashi M, Sato Y, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa NK. 2011. Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants. *Journal of Biological Chemistry* 286(7): 5446-5454.
- Nozoye T, Nagasaka S, Kobayashi T, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa NK. 2015. The phytosiderophore efflux transporter TOM2 is involved in metal transport in rice. *Journal of Biological Chemistry* 290(46): 27688-27699.
- Oki H, Kim S, Nakanishi H, Takahashi M, Yamaguchi H, Mori S, Nishizawa NK. 2004. Directed evolution of yeast ferric reductase to produce plants with tolerance to iron deficiency in alkaline soils. *Soil Science and Plant Nutrition*. 50: 1159-1165.

- Palmer CM, Guerinot ML. 2009. Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Nat Chem Biol*. 5: 333-340.
- Pao SS, Paulsen IT, Saier MH. 1998. Major facilitator superfamily. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62(1): 1-34.
- Puig S, Andres-Colas N, Garcia-Molina A, Penarrubia L. 2007. Copper and iron homeostasis in *Arabidopsis*: responses to metal deficiencies, interactions and biotechnological applications. *Plant Cell and Environment*. 30: 271-290.
- Ravel S, Droux M, Douce R. 1995. Methionine Biosynthesis in Higher-Plants. I. Purification and Characterization of Cystathionine γ -Synthase from Spinach Chloroplasts. *Archives of Biochemistry And Biophysics*. 316: 572-584.
- Rellan-Alvarez R, Giner-Martinez-Sierra J, Orduna J, Orera I, Rodriguez-Castrillon JA, Garcia-Alonso JJ, Abadia J, Alvarez-Fernandez A. 2010. Identification of a tri-iron(III), tri-citrate complex in the xylem sap of iron-deficient tomato resupplied with iron: new insights into plant iron long-distance transport. *Plant Cell Physiol*. 51: 91-102.
- Rellán-Álvarez R, Andaluz S, Rodríguez-Celma J, Wohlgemuth G, Zocchi G, Álvarez-Fernández A, Fiehn O, López-Millán AF, Abadía J. 2010. Changes in the proteomic and metabolic profiles of *Beta vulgaris* root tips in response to iron deficiency and resupply. *BMC Plant Biology* 10(1): 120.
- Robinson NJ, Procter CM, Connolly EL, Guerinot ML. 1999. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature*. 397: 694-697.
- Rodríguez-Celma J. 2013. Mutually exclusive alterations in secondary metabolism are critical for the uptake of insoluble iron compounds by *Arabidopsis* and *Medicago truncatula*. *Plant Physiology* 162: 1473-1485.
- Rodríguez-Celma J, Lattanzio G, Grusak MA, Abadía A, Abadía J, Lopez-Millan AF. 2011a. Root responses of *Medicago truncatula* plants grown in two different iron deficiency conditions: changes in root protein profile and riboflavin biosynthesis. *Journal of Proteome Research*. 10: 2590-2601.
- Rodríguez-Celma J, Vazquez-Reina S, Orduna J, Abadía A, Abadía J, Alvarez-Fernandez A, Lopez-Millan AF. 2011b. Characterization of flavins in roots of Fe-deficient Strategy I plants, with a focus on *Medicago truncatula*. *Plant and Cell Physiology*. 52: 2173-2189.
- Rodríguez-Celma J, Lin WD, Fu GM, Abadía J, Lopez-Millan AF, Schmidt W. 2013. Mutually exclusive alterations in secondary metabolism are critical for the uptake of insoluble iron compounds by *Arabidopsis* and *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*. 162: 1473-1485.
- Romheld V. 1987. Different strategies for iron acquisition in higher-plants. *Physiologia Plantarum*. 70: 231-234.
- Romheld V, Marschner H. 1983. Mechanism of iron uptake by peanut plants. I. FeIII reduction, chelate splitting, and release of phenolics. *Plant Physiology*. 71: 949-954.
- Santi S, Schmidt W. 2009. Dissecting iron deficiency-induced proton extrusion in *Arabidopsis* roots. *New Phytol*. 183: 1072-1084.
- Schaaf G, Ludewig U, Erenoglu BE, Mori S, Kitahara T, von Wirén N. 2004. ZmYS1 functions as a proton-coupled symporter for phytosiderophore- and nicotianamine-chelated metals. *Journal of Biological Chemistry* 279(10): 9091-9096.
- Schagerlöff U, Wilson G, Hebert H, Al-Karadaghi S, Hägerhäll C. 2006. Transmembrane topology of FRO2, a ferric chelate reductase from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*. 62: 215-221.
- Schmid NB, Giehl RF, Döll S, Mock HP, Strehmel N, Scheel D, Kong X, Hider RC, von Wirén N. 2014. Feruloyl-CoA 6'-hydroxylase1-dependent coumarins mediate iron acquisition from alkaline substrates in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 164(1): 160-172
- Schmidt W. 1999. Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. *New Phytologist*. 141: 1-26.
- Schmidt W, Buckhout TJ. 2011. A hitchhiker's guide to the *Arabidopsis* ferrome. *Plant Physiol Biochem*. 49: 462-470.
- Schmidt H, Günther C, Weber M, Spörlein C, Loscher S, Böttcher C, Schobert R, Clemens S. 2014. Metabolome analysis of *Arabidopsis thaliana* roots identifies a key metabolic pathway for iron acquisition. *PLoS One* 9(7): e102444.
- Schmiedeberg L, Krüger C, Stephan UW, Bäumlein H, Hell R. 2003. Synthesis and proof-of-function of a [¹⁴C]-labelled form of the plant iron chelator nicotianamine using recombinant nicotianamine synthase from barley. *Physiologia Plantarum* 118(3): 430-438.
- Scholz G, Becker R, Pich A, Stephan UW. 1992. Nicotianamine-a common constituent of strategies I and II of iron acquisition by plants: A review. *Journal of Plant Nutrition* 15(10): 1647-1665.
- Shojima S, Nishizawa NK, Fushiya S, Nozoe S, Irifune T, Mori S. 1990. Biosynthesis of phytosiderophores: in vitro biosynthesis of 2'-deoxymugineic acid from L-methionine and nicotianamine. *Plant Physiol*. 93:1497-503.
- Sisó-Terraza P, Rios JJ, Abadía J, Abadía A, Álvarez-Fernández A. 2016. Flavins secreted by roots of iron-deficient *Beta vulgaris* enable mining of ferric oxide via reductive mechanisms. *New Phytologist* 209(2): 733-745.
- Susin S, Abian J, Sanchez-Baeza F, Peleato ML, Abadía A, Gelpi E, Abadía J. 1993. Riboflavin 30- and 50-sulfate, two novel flavins accumulating in the roots of iron-deficient sugar-beet (*Beta vulgaris*). *Journal of Biological Chemistry*. 268: 20 958-20 965.
- Susin S, Abian J, Peleato ML, Sanchez-Baeza F, Abadía A, Gelpi E, Abadía J. 1994. Flavin excretion from roots of iron-deficient sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Planta*. 193: 514-519.
- Suzuki M, Nozoye T, Nagasaka S, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S. 2016. The detection of endogenous 2'-deoxymugineic acid in olives (*Olea europaea* L.) indicates the biosynthesis of mugineic acid family phytosiderophores in non-graminaceous plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 62(5-6): 481-488.
- Takagi S. 1976. Naturally occurring iron-chelating compounds in oat-and rice-root washings: I. Activity Measurement and Preliminary Characterization. *Soil Science And Plant Nutrition* 22: 423-433.
- Takagi Si, Nomoto K, Takemoto T. 1984. Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *Journal of Plant Nutrition*. 7: 469-477.
- Takahashi M, Yamaguchi H, Nakanishi H, Shioiri T, Nishizawa N-K, Mori S. 1999. Cloning two genes for nicotianamine aminotransferase, a critical enzyme in iron acquisition (Strategy II) in graminaceous plants. *Plant Physiology*. 121: 947-956.
- Takahashi M, Terda Y, Nakai I, Nakanishi H, Yoshimura E, Mori S, Nishikawa NK. 2003. Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development. *Plant Cell*. 15:1263-1280.
- Thomine S, Lanquar V. 2011. Iron Transport and Signaling in Plants. In *Transporters and Pumps in Plant Signaling*: 99-131.
- Thomine S, Vert G. 2013. Iron transport in plants: better be safe than sorry. *Current Opinion in Plant Biology* 16(3): 322-327
- Tsai HH, Schmidt W. 2017. One way. Or another? Iron uptake in plants. *New Phytologist* 214(2): 500-505.
- Ueno D, Rombola AD, Iwashita T, Nomoto K, Ma JF. 2007. Identification of two new phytosiderophores secreted by perennial grasses. *New Phytol*. 174:304-310.
- Varotto C, Maiwald D, Pesaresi P, Jahns P, Salamini F, Leister D. 2002. The metal ion transporter IRT1 is necessary for iron homeostasis and efficient photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*. 31: 589-599.

- Vasconcelos M, Eckert H, Arahana V, Graef G, Grusak MA, Clemente T. 2006. Molecular and phenotypic characterization of transgenic soybean expressing the Arabidopsis ferric chelate reductase gene, FRO2. *Planta*. 224: 1116-1128.
- Vert G, Barberon M, Zelazny E, Seguela M, Briat JF, Curie C. 2009. Arabidopsis IRT2 cooperates with the high-affinity iron uptake system to maintain iron homeostasis in root epidermal cells. *Planta*. 229: 1171-1179.
- Vert G, Briat JF, Curie C. 2001. Arabidopsis IRT2 gene encodes a root-periphery iron transporter. *The Plant Journal*. 26: 181-189.
- Vert G, Grotz N, Dedaldechamp F, Gaymard F, Guerinot ML, Briat JF, Curie C. 2002. IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell*. 14: 1223-1233.
- Waters BM, Blevins DG, Eide DJ. 2002. Characterization of FRO1, a pea ferric-chelate reductase involved in root iron acquisition. *Plant Physiology*. 129: 85-94.
- Waters BM, Lucena C, Romera FJ, Jester GG, Wynn AN, Rojas CL, Alcantara E, Perez-Vicente R. 2007. Ethylene involvement in the regulation of the H⁺-ATPase CsHA1 gene and of the new isolated ferric reductase CsFRO1 and iron transporter CsIRT1 genes in cucumber plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 45: 293-301.
- Weber G, von Wrien N, Hayen H. 2008. Investigation of ascorbate-mediated iron release from ferric phytosiderophores in the presence of nicotianamine. *Biometals*. 21:503-513.
- Welch RM. 1995. Micronutrient Nutrition of Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 14: 49-82.
- Welkie GW. 2000. Taxonomic distribution of dicotyledonous species capable of root excretion of riboflavin under iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*. 23: 1819-1831.
- White JP. 2012. Ion Uptake Mechanisms of Individual Cells and Roots: Short-distance Transport. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, Ed 3rd. Academic Press, London; Waltham, MA, pp 7-47.
- White PJ, Brown PH. 2010. Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of Botany*. 105: 1073-1080.
- Wu H, Li L, Du J, Yuan Y, Cheng X, Ling H-Q. 2005. Molecular and biochemical characterization of the Fe (III) chelate reductase gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*. 46: 1505-1514.
- Yi Y, Guerinot ML. 1996. Genetic evidence that induction of root Fe(III) chelate reductase activity is necessary for iron uptake under iron deficiency. *Plant Journal*. 10: 835-844.
- Zamioudis C, Hanson J, Pieterse CM. 2014. β -Glucosidase BGLU42 is a MYB72-dependent key regulator of rhizobacteria-induced systemic resistance and modulates iron deficiency responses in Arabidopsis roots. *New Phytologist* 204(2): 368-379.
- Zheng L, Yamaji N, Yokosho K, Ma JF. 2012. YSL16 is a phloem-localized transporter of the copper-nicotianamine complex that is responsible for copper distribution in rice. *The Plant Cell* 24(9): 3767-3782.
- Ziegler J, Schmidt S, Chutia R, Müller J, Böttcher C, Strehmel N, Scheel D, Abel S. 2016. Non-targeted profiling of semi-polar metabolites in Arabidopsis root exudates uncovers a role for coumarin secretion and lignification during the local response to phosphate limitation. *Journal of Experimental Botany*. 67: 1421-1432.