



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**NİKEL'İN BROKOLİ (*Brassica oleracea* var. *italica*)
TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ VE
BÜYÜMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Çiğdem BARIŞ
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Programı**

**Danışman
Prof. Dr. Muammer ÜNAL**

Haziran, 2012

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**NİKEL'İN BROKOLİ (*Brassica oleracea* var. *italica*)
TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ VE
BÜYÜMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Çiğdem BARIŞ
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Programı**

**Danışman
Prof. Dr. Muammer ÜNAL**

Haziran, 2012

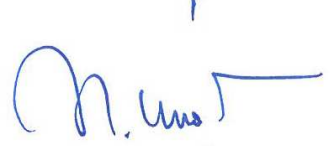
İSTANBUL

Bu çalışma 12/07/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Botanik programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Prof. Dr. Muammer Ünal (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



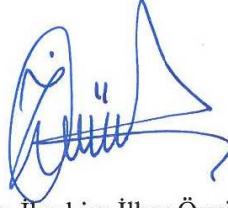
Prof. Dr. Meral Ünal
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi



Prof. Dr. Orhan Küçüker
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Gül Cevahir Öz
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Doç. Dr. İbrahim İlker Özyiğit
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 2265 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca, her konuda destek olduğu, bilgilerini ve deneyimlerini paylaştığı, tezimin hazırlanması esnasında her türlü yardımı gösterdiği için çok kıymetli hocam ve tez danışmanım Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Muammer ÜNAL'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Botanik Anabilim Dalı'nın olanaklarından yararlanmam konusunda yardımcı olan değerli hocam, Botanik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gül CEVAHİR-ÖZ'e çok teşekkür ederim.

Yardım ve desteklerini paylaşan tez izleme komitesindeki jüri üyelerim, Prof. Dr. Meral ÜNAL ve Prof. Dr. Orhan KÜÇÜKER'e, çalışmalarım sırasında bilgilerine başvurduğum Botanik Anabilim Dalı'ndaki tüm HOCALARIMA teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında göstermiş oldukları anlayıştan dolayı Hasan Ali Yücel Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı Başkanımız ve çok değerli hocam Prof. Dr. Gülay KIRBAŞLAR ile yardımları için tüm çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, daima yanımda olduklarını bildiğim arkadaşlarım Eda DALYAN, Elif YÜZBAŞIOĞLU, Mehmet BONA, Sırrı YÜZBAŞIOĞLU ve Taylan KÖSESAKAL'a en içten sevgilerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, yaşamım boyunca maddi ve manevi destekleriyle yolumu aydınlatan, varlıkları için şükrettiğim annem; Nergis ÇİNGİL'a, babam; Mesut ÇİNGİL'a, ablam Gamze ÇİNGİL ÜNAL'a, varlığıyla hayatımı aydınlatan yeğenim Can ÜNAL'a minnet ve şükranlarımla sonsuz teşekkür ederim. Yardımlarını esirgemeyen ve beni her zaman destekleyen kayınvalidem Nurhan BARIŞ ve kayınpederim Mehmet Ali BARIŞ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bana varlıkları ile destek olan, sevgileri ile güç veren çok değerli Eşim; Fatih Kemal BARIŞ ve hayatımın anlamı, canım oğlum Doruk Efe BARIŞ'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Haziran, 2012

Çiğdem ÇİNGİL BARIŞ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİL LİSTESİ	IV
TABLO LİSTESİ	VII
SEMBOL LİSTESİ	IX
ÖZET	X
SUMMARY	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. BİTKİLERDE MİNERAL BESLENME.....	4
2.2. NİKEL (Ni).....	13
2.2.1. Nikelin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	13
2.2.2. Nikelin Doğada Bulunuşu	14
2.2.3. Türkiye’de Nikel Yatakları ve Rezervleri	16
2.2.4. Nikel’in Kullanım Alanları	16
2.3. BİTKİLERDE NİKEL	18
2.3.1. Nikelin Bitkiler Tarafından Alınması ve Taşınması	19
2.3.2. Nikelin Bitkilerdeki Toksik Etkileri.....	23
2.3.3. Nikel Hiperakümülatörleri	25
2.4. TOHUM ÇİMLENMESİ VE NİKELİN ÇİMLENME ÜZERİNE ETKİSİ.....	26
2.5. NİKELİN BİTKİLERDE METABOLİZMA, BÜYÜME VE GELİŞME ÜZERİNE ETKİSİ.....	30
2.6. NİKEL TOKSİSİTESİ VE İNSAN SAĞLIĞINA ETKİLERİ.....	33
3. MALZEME VE YÖNTEM	36
3.1. BİTKİ MATERYALİ VE ÖZELLİKLERİ	36

3.2. ÇİMLENME YÜZDESİ	39
3.3. BİTKİ BÜYÜMESİ	39
3.4. KÖK VE HİPOKOTİL UZUNLUĞUNUN ÖLÇÜLMESİ.....	40
3.5. TAZE VE KURU AĞIRLIK MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ	40
3.6. KLOOROFİL VE KAROTİNOİD TAYİNİ.....	41
3.7. TOTAL PROTEİN MİKTARI TAYİNİ.....	41
3.8. PEROKSİDAZ (POD) AKTİVİTESİNİN SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ.....	42
3.9. LİPİT PEROKSİDASYONUNUN ÖLÇÜLMESİ	42
3.10. NİKEL ANALİZİ	43
3.11. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR.....	44
4. BULGULAR	45
4.1. ÇİMLENME YÜZDESİ	45
4.2. BİTKİ BÜYÜMESİ	46
4.3. TAZE VE KURU AĞIRLIK MİKTARLARI	51
4.4. KLOOROFİL İÇERİĞİ	53
4.5. KAROTİNOİD İÇERİĞİ.....	56
4.6. TOTAL ÇÖZÜNEBİLİR PROTEİN İÇERİĞİ	58
4.7. PEROKSİDAZ (POD) AKTİVİTESİ	62
4.8. MALONDİALDEHİT (MDA) İÇERİĞİ.....	67
4.9. NİKEL İÇERİĞİ	73
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	77
KAYNAKLAR.....	90
ÖZGEÇMİŞ	122

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Bitki dokusundaki mineral madde konsantrasyonu ile bitki büyümesi arasındaki ilişki.	7
Şekil 2.2: Topraktaki artan ağır metal konsantrasyonlarına karşı gösterdikleri tepkilere göre bitki grupları.	13
Şekil 2.3: Nikelin kullanım alanları.	18
Şekil 2.4: Bitkilerde Ni nin alınması ve taşınmasının temel yolu.....	22
Şekil 3.1: Brokoli bitkisinin genel görünümü.	36
Şekil 4.1: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100µM Ni içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli tohumlarının çimlenme yüzdeleri.	46
Şekil 4.2: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları.	47
Şekil 4.3: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin genel görünümleri.	48
Şekil 4.4: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları.	49
Şekil 4.5: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin uygulama öncesi ve uygulama sırasındaki görünümleri.	50
Şekil 4.6: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri total klorofil miktarları.	54
Şekil 4.7: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri total klorofil miktarları.	55
Şekil 4.8: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri karotinoid miktarları.	57

Şekil 4.9: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri karotinoid miktarları.	58
Şekil 4.10: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total protein miktarları.	59
Şekil 4.11: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki total protein miktarları.	61
Şekil 4.12: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerdeki peroksidaz enzim aktivitesi.	62
Şekil 4.13: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin hipokotillerindeki peroksidaz enzim aktivitesi.	63
Şekil 4.14: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz enzim aktivitesi.	64
Şekil 4.15: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerdeki peroksidaz enzim aktivitesi.	65
Şekil 4.16: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin gövdelerindeki peroksidaz enzim aktivitesi.	66
Şekil 4.17: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki peroksidaz enzim aktivitesi.	67
Şekil 4.18: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerdeki malondialdehit (MDA) içeriği.	68
Şekil 4.19: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin hipokotillerindeki malondialdehit (MDA) içeriği.	69

Şekil 4.20: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki malondialdehit (MDA) içeriği.	70
Şekil 4.21: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki malondialdehit (MDA) içeriği.	71
Şekil 4.22: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin gövdelerindeki malondialdehit (MDA) içeriği.	72
Şekil 4.23: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki malondialdehit (MDA) içeriği.	73
Şekil 4.24: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki nikel birikim miktarları.....	75
Şekil 4.25: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki nikel birikim miktarları.	76

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Bitkiler için gerekli olan elementlerin dokudaki yeterli seviyeleri.....	6
Tablo 2.2: Nikel elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	14
Tablo 3.1: Hoagland çözeltisinin içeriği.	38
Tablo 3.2: Nikel konsantrasyon serileri.....	39
Tablo 4.1: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100µM Ni içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli tohumlarının çimlenme yüzdeleri.....	45
Tablo 4.2: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları.	47
Tablo 4.3: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve gövde uzunlukları.....	49
Tablo 4.4: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli bitkisinin kök, hipokotil ve kotiledonlarının taze ve kuru ağırlıkları.	51
Tablo 4.5: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli bitkisinin kök, gövde ve yapraklarının taze ve kuru ağırlıkları.	53
Tablo 4.6: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri total klorofil miktarları.	54
Tablo 4.7: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri total klorofil miktarları.....	55
Tablo 4.8: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri karotinoid miktarları.	56
Tablo 4.9: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO ₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri karotinoid miktarları.	57

Tablo 4.10: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total protein miktarları.	59
Tablo 4.11: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki total protein miktarları.	60
Tablo 4.12: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktivitesi.	62
Tablo 4.13: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki peroksidaz enzimi aktivitesi.	65
Tablo 4.14: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki malondialdehit (MDA) içeriği.	68
Tablo 4.15: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki malondialdehit (MDA) içeriği.	71
Tablo 4.16: Dormant, kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serilerinde 24 saat tutulan tohumlardaki Ni içeriği.	74

SEMBOL LİSTESİ

α	: alfa
Δ	: delta
$^{\circ}\text{C}$	: santigrat derece
μM	: mikromolar
AAS	: atomik absorpsiyon spektrofotometresi
ABA	: absisik asit
Ar	: argon
ATPaz	: adenintrifosfataz
ATP-PRT	: adenozintrifosfat-fosforiboziltransferaz
Cd	: kadmiyum
Co	: kobalt
Cr	: krom
Cu	: bakır
CO_2	: karbon dioksit
EDDS	: etilen diamin disuksinik asit
EDTA	: etilen diamin tetraasetik asit
Fe	: demir
g/cm^3	: gram/santimetreküp
GA	: gibberellik asit
Hg	: civa
His	: histidin
HNO_3	: nitrik asit
H_2SO_4	: sülfirik asit
IAA	: indol-3-asetik asit
ICP-MS	: indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi
MDA	: malondialdehit
mM	: milimolar
MTler	: metallotioneinler
NA	: nikotinamin
Ni	: nikel
NiSO_4	: nikel sülfat
Pb	: kurşun
POD	: peroksidaz
ppm	: milyonda bir kısım (parts per million)
SAT	: serin asetiltransferaz
SDC	: serin dekarboksilaz
TBA	: tiyobarbitürik asit
TCA	: trikloroasetik asit
Zn	: çinko

ÖZET

NİKEL'İN BROKOLİ (*Brassica oleracea* var. *italica*) TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ VE BÜYÜMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Nikel (Ni), bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi için gerekli olan bir mikro elementtir, ancak yüksek konsantrasyonlarda, bitki hücrelerinin fizyolojik, biyokimyasal ve yapısal işlevlerindeki potansiyel inhibe edici etkilerine bağlı olarak toksik bir bileşik olarak kabul edilmektedir. Bu araştırmada, brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) bitkisinin tohum ve fidelerinde değişen konsantrasyonlardaki nikelin etkisi ve birikimi incelenmiştir. Nikel içermeyen Hoagland çözeltisi ile 0,01, 0,1, 1, 10 ve 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland çözeltileri kullanılmıştır. Değişen Ni konsantrasyonlarına bağlı olarak brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) tohumlarında çimlenme yüzdesi, bitkinin kök ve gövde uzunlukları, taze-kuru ağırlık miktarları, farklı kısımlarında klorofil, karotinoid, total çözünebilir protein ile malondialdehit (MDA) içerikleri, peroksidaz (POD) aktiviteleri ve Ni birikimi belirlenmiştir.

100 μM NiSO_4 konsantrasyonunun brokoli tohumlarında çimlenmeyi inhibe ettiği gözlenmiştir. Brokoli fidelerinde ilgili analizler yapılarak değişen Ni konsantrasyonlarının kök ve hipokotil büyümelerini etkilediği, ayrıca taze-kuru ağırlık miktarlarında da değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. 9 günlük fidelerin klorofil içerikleri 1 μM NiSO_4 uygulanan serilerde artarken, 30 günlük fidelerde ise 0,1 μM NiSO_4 içeren serilerde artış tespit edilmiştir. 0,1 ve 1 μM NiSO_4 uygulanan serilerde karotinoid miktarı yüksek bulunmuştur. Brokoli fidelerinin değişik kısımlarındaki total çözünebilir protein içeriğinde 10 ve 100 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında azalışlar gözlenmiştir. 10 ve 100 μM NiSO_4 uygulanan fidelerin POD aktivitesinde artışlar gözlenmiştir. Brokoli fidelerinde ölçülen MDA içeriğinde seriler arasında değişimlerin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, brokoli bitkisinin değişik kısımlarında Ni birikimine bakılmış ve nikelin bitkinin farklı kısımlarında özellikle de köklerde biriktiği belirlenmiştir. Nikelin artan konsantrasyonlarının brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) bitkisinin tohum çimlenmesi ve büyüme-gelişme süreçleri üzerine olan etkileri ile ilgili olarak, düşük konsantrasyonlardan (0,01, 0,1 ve 1 μM NiSO_4) bitki gelişiminin olumlu şekilde etkilendiği, yüksek nikel konsantrasyonlarının ise (10 ve 100 μM NiSO_4) toksik etkilere neden olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar bitki büyüme ve gelişmesi ile ilgili olarak değerlendirilmiştir.

SUMMARY

THE EFFECTS OF NICKEL ON SEED GERMINATION AND GROWTH IN BROCCOLI (*Brassica oleracea* var. *italica*)

Nickel (Ni) is an essential microelement for the normal growth and development of plants, however, at high concentrations, it is also regarded as a toxicant to plant cells due to its potential inhibitory effects against many physiological, biochemical and structural processes. In this study, we examined the effect and accumulation of nickel (Ni) at varying concentration on seeds and seedlings of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Hoagland solutions containing 0,01, 0,1, 1, 10 and 100 μM NiSO_4 and lacking Ni were employed. Depending on varying Ni concentration, germination rate of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) seeds, root and stem length of the plant, fresh-dry weight amounts, contents of chlorophyll, carotenoid, total soluble protein and malondialdehyde (MDA), peroxidase (POD) activities and Ni accumulation were determined.

100 μM NiSO_4 concentrations inhibited germination rates in broccoli seeds. By carrying out the relevant analysis of broccoli seedlings, we found that varying Ni concentrations affected the growth of root and hypocotyls, and additionally resulted in important changes at fresh-dry weight amounts. While chlorophyll content of 9 days old seedlings increased in the series to which 1 μM NiSO_4 was applied, it increased in 30 days old seedlings receiving 0,1 μM NiSO_4 . Carotenoid content was higher in the series exposed to 0,1 ve 1 μM NiSO_4 . Total soluble protein content of different parts of broccoli seedlings to 10 and 100 μM NiSO_4 concentrations decreases were observed. Increases were observed in POD activity of broccoli seedlings to applied 10 and 100 μM NiSO_4 . We determined changes at MDA content, which were measured in broccoli seedlings, among the series. In addition, we examined Ni accumulation in parts of broccoli plants, and found that nickel accumulated in different parts of the plant, especially in roots. In relation to nickel effects on seed germination, growth and development processes of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) plants, plant growth is affected positively in low nickel concentrations (0,01, 0,1 and 1 μM NiSO_4), the high nickel concentrations (10 and 100 μM NiSO_4) were found to cause toxic effects. The results were evaluated with respect to plant growth and development.

1. GİRİŞ

Bitkiler tarafından, topraktan alınan elementler içerisinde yer alan çinko, kobalt, demir, bakır, mangan ve nikel gibi elementlerin rolleri incelenmiş ve bitkiler için mutlak gerekli olduğu kabul edilen ve gelişme ortamında uygun miktarlarda bulunması durumunda bitkiler üzerinde olumlu ve önemli etkiler yapan metaller “esas elementler” olarak tanımlanmıştır (Arnon ve Stout, 1939). Bunların içerisinde nikelin bitkilerdeki yararlılık ve toksisite yönünden etkileri üzerine yapılan çalışmalar ise son zamanlarda yoğunluk kazanmaya başlamıştır. Yapılan çalışmalarda, bu elementin birçok bitkide temel bir element olduğu kabul edilmektedir (Welch, 1981; Eskew ve diğ., 1983; Brown ve diğ., 1987). Bitkiler için çok düşük miktarlarda yararlı etkileri olduğu bildirilen nikelin, artan endüstriyel faaliyetler, mineral ve organik gübreler, kimyasal ilaçlar ile yerleşim yeri ve endüstri atıkları ile ekolojik çevrede miktarının arttığı, bunun sonucunda aşırı konsantrasyonlarda bitkilerde olumsuz etkilerinin olduğu da bilinmektedir (MacNicol ve Beckett, 1985; Marschner, 1995; Mengel ve diğ., 2001).

Ağır metal tanımı, fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm^3 ten daha yüksek olan metaller için kullanılmaktadır (Petrucchi ve Harwood, 1993; Duffus, 2002). Bu gruba Kurşun (Pb), Kadmiyum (Cd), Krom (Cr), Demir (Fe), Kobalt (Co), Bakır (Cu), Nikel (Ni), Civa (Hg) ve Çinko (Zn) olmak üzere 60’tan fazla metal dahildir. Bu elementler doğada genellikle karbonat, oksit, silikat ve sülfür halinde stabil bileşikler olarak ya da silikatların içinde bulunurlar (Kahvecioğlu ve diğ., 2007). Ağır metaller arasında yer alan Mn, Fe, Cu, Zn ve Ni gibi elementler yüksek bitkiler için esas (temel, esansiyel) elementlerdir. Bitki için gerekli olsun ya da olmasın ağır metallerin doku ve organlardaki aşırı birikimi toksik etki yapmakta ve sonunda bitkiyi ölüme götürmektedir.

Nikel (Ni), 1751 yılında keşfedilmiştir (The Merck Index, 1983; Nielson, 1987; Sunderman ve Oskarsson, 1991; Chen ve diğ., 2009). Bu geçiş elementi, günlük hayatta

oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olup pekçok reaksiyonda önemli bir katalizör görevi görmektedir. 1975 yılında, üreyi amonyum ve CO₂'ye çeviren üreaz enziminin aktif merkezinde bulunduğu keşfedilmiştir. Üreaz ve üreazın bitkilerde rol oynadığı fizyolojik olaylar çok uzun zamandan beri bilinmektedir. Nikelin üreazın aktif merkezinde bulunduğu kesinlik kazanmış ve yapılan çalışmalarla Ni nin bitkiler için temel (esas) bir element olduğu kanıtlanmıştır (Dixon ve diğ., 1975; Dixon ve diğ., 1980a; Dixon ve diğ., 1980b).

Topraktaki metal konsantrasyonundan bağımsız olarak, yapraklarında kuru ağırlık bazında %0,1'den fazla Ni, Co, Cu, Cr ya da %1 Zn ve Mn içeren bitkiler “hiperakümülatör bitkiler” olarak isimlendirilirler. Metal biriktiren pekçok tür incelendiğinde bunların çoğunun Brassicaceae familyasına ait olduğu görülmüştür. Bu familyaya ait brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) ve lahanası (*Brassica oleracea* L.) gibi bitkiler büyük bir ticari öneme sahiptir. Materyal olarak seçilen brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), nikel akümülatörü olarak bilinen Brassicaceae familyası üyelerindendir. Brassicaceae familyasına ait olmasına rağmen, brokoli bitkisinde nikel birikimi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Brokolinin insan beslenmesi yönünden önemli olması sebebiyle, yetiştirme ortamındaki nikel konsantrasyonuna bağlı olarak, tohum çimlenmesi, bitki büyüme-gelişmesi ve nikel birikimi incelenmiştir. Bu çalışmadan elde edilecek olan verilerin günümüzdeki araştırmalara farklı bir bakış açısı getirmesi ve böylece daha sonra yapılacak olan araştırmalara da ışık tutacağı ümit edilmektedir. Daha genel ve uzun vadede ise bu araştırmadan elde edilecek olan sonuçların hem ülkemizin Ni kirliliği gösteren bölgelerindeki tarımsal alanları hem de insan sağlığı üzerindeki mevcut bilgilere yeni yaklaşımlar sağlaması hedeflenmiştir.

Tez çalışma konusu, brokolide tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi üzerine nikelin etkisinin incelenmesidir. Tezin “Genel Kısımlar” bölümünde mineral beslenme, esansiyel elementlerden biri olan nikel ve tohum çimlenmesi hakkında genel bilgiler verilmiştir. Nikelin doğada bulunuşu, kimyası, bitkiler tarafından alımı, hareket mekanizması, birikimi, bitkilerin büyüme ve gelişme süreçlerine olan etkilerinden bahsedilmiş ve insan sağlığı açısından önemine değinilmiştir. “Malzeme ve Yöntem” bölümünde tez çalışmasında kullanılan brokoli bitkisi hakkında genel bilgi,

yetiştirilmesi, Ni uygulanması ve deneylerde kullanılan metodlar detaylı olarak anlatılmıştır. Deneyler sonucunda elde edilen veriler “Bulgular” kısmında tablolar ve şekiller ile gösterilmiştir. Tezin “Tartışma ve Sonuç” bölümünde ise bulgular kısmında belirtilen veriler değerlendirilerek bu konuyla ilgili yapılan çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırılıp yorumlanmıştır.

Gelişmiş bitkilerde nesillerin devamı bazı fizyolojik ve biyokimyasal olayları başlatan tohumun çimlenmesi ile mümkündür. Bu nedenle çimlenmenin indirgenmesine neden olacak her türlü faktör bitki gelişimini ve buna bağlı olarak büyüme olaylarını doğrudan etkileyecektir. Yapılan literatür taramalarında farklı Ni konsantrasyonlarını içeren besi ortamlarının brokoli bitkisinin tohum çimlenmesi, bitki büyümesi ve gelişmesi üzerine olan etkileri ile ilgili olarak çok fazla bilgiye rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmanın başlıca amacı, Ni nin brokoli tohumlarının çimlenmesi ve fidelerin büyüme ve gelişme süreçleri üzerine olan olası etkilerini saptamak, bu bitkinin çeşitli organlarındaki birikimlerini belirlemektir. Böylece Ni nin bitkilerin çeşitli fizyolojik süreçlerinde etkin bir rol üstlenebileceği açıklığa kavuşturulmaya çalışılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. BİTKİLERDE MİNERAL BESLENME

Yapay olarak elde edilenlerle beraber sayıları 109’u bulan elementler, metaller ve ametaller olarak ikiye ayrılmaktadır. Elementlerin büyük kısmını oluşturan metaller, tepkimelerde elektron verme eğilimindedirler. Bu elementlerden altın, gümüş, kurşun, civa, arsenik ve uranyumu da kapsayan 60 kimyasal elementten daha fazlasının bitkilerde bulunduğu tespit edilmiştir. Ancak bitkilerde bulunan mevcut elementlerin hepsinin bitki büyüme ve gelişmesinde gerekli olmadığı da açıktır. Bu elementlerin varlığı bitkinin büyüdüğü toprağın bileşiminin bir yansımasıdır. Bitkilerde bulunan elementlerin büyük bir çoğunluğu toprak çözeltilerinden inorganik iyonlar olarak absorbe edilmektedirler. Bitkilerde mevcut olan kimyasal elementlerden bazılarının normal büyüme için gerekli esas elementler oldukları saptanmıştır. Bu elementlerden herhangi birinin yokluğu durumunda bitkilerin yaşam döngülerini tamamlayamadıkları görülmektedir. Bu elementler; karbon, hidrojen, oksijen, potasyum, kalsiyum, magnezyum, azot, fosfor, kükürt, mangan, çinko, bakır, klor, bor, molibden, nikel ve demirdir ve bitki büyümesi için gerekli, esas elementler olarak belirtilmektedirler (Marschner, 1995; Mengel ve diğ., 2001; White ve Brown, 2010). “Esas element” (ya da mineral besin) terimi Arnon ve Stout (1939) tarafından önerilmiştir. Bu araştırmacılar bir elementin esas element olarak kabul edilmesi için, üç kriteri karşılaması gerektiği sonucuna varmışlardır:

1. Bitkinin yaşam döngüsünü tamamlaması için zorunlu oluşu,
2. Elementin bitkilerdeki görevinin başka bir mineral element tarafından yerine getirilememesi,
3. Elementin bitkinin herhangi bir molekülünün ya da bileşeninin bir kısmı olmasıdır (Arnon ve Stout, 1939; Raven ve diğ., 1999).

Bu tanıma göre, diğer elementlerin toksik etkilerinin bertaraf edilmesinde ya da ozmotik basıncın korunması gibi, mineral besinlerin daha az spesifik görevlerinde onların yerine geçen bazı elementlerin bitkiler için temel element olmadığı, ancak yararlı elementler oldukları belirlenmiştir. Sadece belli bitki türleri için ve belirli koşullar altında gerekli olan ya da büyümeyi teşvik eden ancak gerekli olmayan mineral elementler genellikle “yararlı elementler” olarak tanımlanmaktadır Bu tanım, özellikle sodyum, silisyum, alüminyum ve kobalt için geçerlidir (Marschner, 1995).

Genel olarak yoğunluğu 5 g/cm^3 ün üzerinde olan çinko [Zn ($7,1 \text{ g/cm}^3$)], krom [Cr ($7,2 \text{ g/cm}^3$)], kadmiyum [Cd ($8,6 \text{ g/cm}^3$)], nikel [Ni ($8,7 \text{ g/cm}^3$)], bakır [Cu ($8,9 \text{ g/cm}^3$)], kurşun [Pb ($11,4 \text{ g/cm}^3$)], civa [Hg ($13,5 \text{ g/cm}^3$)] gibi metaller “ağır metal” olarak tanımlanmaktadır (Petrucchi ve Harwood, 1993; Duffus, 2002). Metallerin bazıları (Cu , Zn , Fe , Mn , Mo , Ni , Co gibi) bitki ve hayvanların gelişmesi için gerekli mikro elementlerdir. Mikro besin elementi olsun ya da olmasın bütün metaller belli bir konsantrasyonun üzerinde, canlılar için zararlıdır. Temel elementler bitki dokusundaki bulunuş miktarlarına göre genellikle makro elementler ve mikro elementler olarak sınıflandırılırlar. 1 kg kuru ağırlıkta 1000 mg ya da daha fazla bulunan elementler “makro element”, 1 kg kuru ağırlıkta 100 mg a eşit veya daha az bulunan elementler ise “mikro element” olarak isimlendirilmektedir. Tablo 2.1’de yüksek bitkiler için gerekli elementlerin listesi verilmiştir (Salisbury ve Ross, 1992; Taiz ve Zeiger, 2002; Graham ve diğ., 2004).

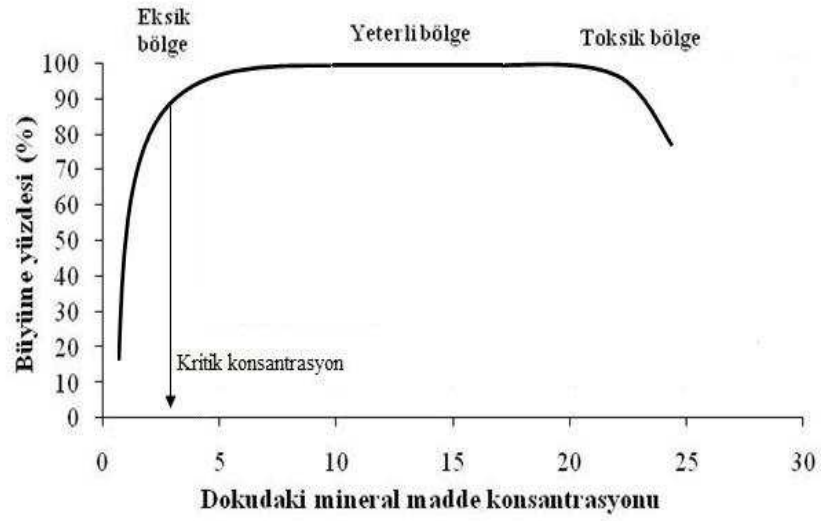
Tablo 2.1’de gösterilen mineral maddeler ve onların dokudaki konsantrasyonları normal bitki büyümesi için yeterli miktarlardır. İlk üç element-hidrojen, karbon ve oksijen-esas olarak su ve karbondioksitten elde edildikleri için mineral besin olarak kabul edilmemektedir. Şekil 2.1’de bitki dokusundaki herhangi bir elementin konsantrasyonunun bitki büyümesine olan etkisi gösterilmiştir. Düşük konsantrasyon aralığı, eksiklik bölgesi olarak adlandırılmaktadır ve burada mineral element eksikliğinden dolayı büyüme ve verimde düşüş gözlenmektedir. Kritik konsantrasyonda dokulardaki mineral madde konsantrasyonu yeterlidir. Yeterli bölge olarak tanımlanan konsantrasyon aralıklarında ise bitki iyi gelişir. Bu sınırlar içerisinde konsantrasyon değişimlerinde dikkate değer büyüme ve gelişme farkı görülmemektedir. Dokudaki mineral madde konsantrasyonu yeterli bölgenin üzerine çıkacak olursa bitkide toksik

etki semptomları görülmekte, bitki büyüme, gelişmesi inhibe edilmekte ve bitkide anomaliler ortaya çıkmaktadır (Salisbury ve Ross, 1992).

Tablo 2.1: Bitkiler için gerekli olan elementlerin dokudaki yeterli seviyeleri (Epstein 1972; Epstein, 1999).

Element	Kimyasal Sembol	Kuru Ağırlıktaki Konsantrasyon (% ya da ppm) ^a
<i>Su ya da CO₂'den elde edilenler</i>		
Hidrojen	H	6
Karbon	C	45
Oksijen	O	45
<i>Topraktan elde edilenler</i>		
<i>Makro Elementler</i>		
Azot	N	1,5
Potasyum	K	1,0
Kalsiyum	Ca	0,5
Magnezyum	Mg	0,2
Fosfor	P	0,2
Kükürt	S	0,1
Silisyum	Si	0,1
<i>Mikro Elementler</i>		
Klor	Cl	100
Demir	Fe	100
Bor	B	20
Mangan	Mn	50
Sodyum	Na	10
Çinko	Zn	20
Bakır	Cu	6
Nikel	Ni	0,1
Molibden	Mo	0,1

^a Mineral olmayan elementlerin (H, C, O) ve makro elementlerin değerleri yüzde (%), mikro elementlerin değerleri ise ppm olarak ifade edilmiştir.



Şekil 2.1: Bitki dokusundaki mineral madde konsantrasyonu ile bitki büyümesi arasındaki ilişki (Salisbury ve Ross, 1992).

Bitki beslenmesinde gerekli olan elementleri bitkideki hareketliliklerine göre mobil ve immobil olmak üzere iki kısımda inceleyebiliriz. Mobil bir elementin eksiklik belirtileri ilk olarak yaşlı yapraklarda gözlenmektedir. Diğer yandan immobil bir elementin eksiklik belirtileri ise, ilk olarak genç yapraklarda ortaya çıkmaktadır. Bu mineral elementleri hareketliliklerine göre sınıflandıracak olursak 6 tane mobil ve 8 tane immobil mineral besin olduğu görülmektedir. Kükürt eksikliğinin derecesine bağlı olarak, mobil ve immobil elementlerin arasında yer alan bir metaldir.

- ✓ **Mobil elementler:** Azot, Potasyum, Magnezyum, Fosfor, Klor, Molibden.
- ✓ **İmmobil elementler:** Kalsiyum, Kükürt, Demir, Bor, Bakır, Çinko, Mangan, Nikel (Taiz ve Zeiger, 2002).

Bitki büyümesi üzerine mineral maddelerin etkileri incelenirken, bitkinin yetiştirildiği kültür ortamına incelenecek olan mineral madde değişik konsantrasyonlarda, diğer mineral maddeler ise yeterli düzeyde uygulanır (Taiz ve Zeiger, 2002).

Ağır metal toksisitesi, hem doğal hem de insan kaynaklı stres faktörleri sonucunda oluşur. Kalamın ve serpentin tipi topraklar; Zn, Pb, Cd (kalamın) ve Ni, Cr, Co (serpentin) ağır metallerini yüksek konsantrasyonlarda içerirler (Greger, 1999).

Evrimsel gelişimleri süresince bu topraklarda yüksek konsantrasyonlarda ağır metale maruz kalmış bitkiler ağır metallere dayanıklılık mekanizmaları geliştirerek yaşamlarını sürdürebilmişlerdir. Esas tehlikeli ve stres yaratan insan kaynaklı olan ağır metal kirlenmesidir. Bu tip kirlenmede ağır metaller çeşitli yollarla bulunduğu bölgenin çok daha uzağına yayılabilmekte ve canlı yaşamını olumsuz yönde etkilemektedir. Endüstriyel kuruluşların atıkları, taşıt kullanımı, deniz taşımacılığı, gübreleme ve ilaçlama gibi tarımsal faaliyetler, kentsel ve ticari atıklar geniş ölçüde ağır metal yayılımına neden olmaktadır (Eick ve diğ., 1999; Macfarlane ve Burchett, 2002; Sharma ve Dubey, 2005; Jabeen ve diğ., 2009).

Bitkilerin, atmosferde bulunan ağır metalleri az miktarda da olsa yaprakları aracılığı ile alabildiklerinin bazı araştırmalarda gösterilmesine rağmen (Harrison ve Chirgawi, 1989; Lindberg ve diğ., 1992; Godzik, 1993; Marschner, 1995), ağır metal alımı büyük ölçüde kökler aracılığı ile yapılmaktadır. Ağır metaller topraklarda, kolloidlere tutunmuş halde, organik maddelere bağlı halde ve toprak çözeltisi içinde iyon halinde bulunurlar. Bitkiler ancak toprak çözeltisinde iyon halinde bulunan ağır metalleri kökleri aracılığıyla alabilirler. Koşulların değişmesi (pH, sıcaklık, organik madde miktarı, diğer metallerin varlığı, mikroorganizmalar vb.) toprak çözeltisi içindeki ağır metal konsantrasyonunu değiştireceğinden ağır metal alımını da etkileyecektir. Örneğin pH'nın düşmesi ortamdaki H^+ iyonlarının artmasına neden olmakta, artan H^+ kasyonları ise ağır metal kasyonları (molibdenin anyon formu da bulunduğu için istisnadır) ile rekabete girerek kolloidlere tutunmasını engellemekte ve böylece serbestleşen ağır metallerin toprak çözeltisindeki konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır (Marschner, 1995; Greger, 1999).

Ağır metal alımı, bitki türlerine bağlı olarak ta değişiklik gösterebilmektedir. Kök yüzey alanı ve kök kasyon değişim kapasitesi gibi özellikler ağır metal alımını etkilemektedir (Davies, 1995). Ayrıca bitkiler rizosfer pH'sını değiştirerek (Jackson ve diğ., 1990; Muranyi ve diğ., 1994), ya da rizosfere malat, sitrat, musilaj gibi maddeler salgılayarak (Greger ve Lindberg, 1986; Morel ve diğ., 1986; Jackson ve diğ., 1990; Puthotá ve diğ., 1991) aldıkları ağır metal miktarını değiştirebilmektedirler. Toprakta bulunan çeşitli mikroorganizmalar da, ağır metalleri absorbe ederek ve/veya biriktirerek, ağır metal alınma miktarını değiştirebilmektedirler. Örneğin, Marschner ve diğ. (1996),

Ektomycorrhiza mikroorganizmasının *Picea abies* L. bitkisinde, Pb ağır metalinin alımını, iletimini ve toksisitesini değiştirdiğini bildirmişlerdir.

Bazı durumlarda bir ağır metal diğer bir ağır metalin alımını arttırabilmekte ya da azaltabilmektedir (He ve diğ., 2005; Lombardi ve Sebastiani, 2005). Pb ve Cd ağır metallerinin topraktaki ve bitkideki konsantrasyonunun artmasının, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn gibi besin elementlerinin alınmasını ve kullanılmasını etkilediği birçok araştırmada gösterilmiştir (Walker ve diğ., 1977; Haussling ve diğ., 1988; Clarkson ve Luttge, 1989; Godbold ve Kettner, 1991; Rivetta ve diğ., 1997; Sharma ve Dubey, 2005). Kuvvetli metal bağlayıcı sentetik kimyasallar [Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ve Etilen diamin disuksinik asit (EDDS) gibi] da metallerin çözünürlüğünü arttırmakta ve metallerin bitkiler tarafından alımını kolaylaştırmaktadırlar (Jarvis ve Leung, 2001; Luo ve diğ., 2005).

Bitkiler tarafından ağır metal alımı ve taşınımı süreci, metal iyonlarının kökler tarafından tutulmasını, köklere girişini ve sonrasında kütle akışı ve difüzyon yoluyla toprak üstü organlara translokasyonunu kapsamaktadır (Jabeen ve diğ., 2009). Ağır metaller köklerden alındıktan sonra ksilem aracılığı ile gövde ve yapraklara iletilmektedirler. Kök içine alınan ağır metaller apoplastik ve/veya simplastik yolla ksileme ulaşırlar. Endodermal hücre tabakası, ksileme apoplastik yoldan ağır metal ulaşımını engelleyen bir bariyer görevi yapmaktadır (Seregin ve Ivanov, 1997; Tester ve Leigh, 2001). Bundan dolayı, genellikle ağır metaller simplastik yoldan bu tabakayı aşarak ksileme ulaşmak zorundadırlar (Tester ve Leigh, 2001). Ksilem ile ağır metal iletimi bitki türüne ve metal çeşidine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Ni, bazı bitkilerin ksileminde Ni-peptit kompleksi şeklinde taşınırken (Cataldo ve diğ., 1978), metal biriktirici (hiperakümülatör) bitkilerde nikelin histidin aminoasiti ile kompleks oluşturarak taşındığı bildirilmiştir (Krämer ve diğ., 1996). Bazı metaller ise (örneğin Cd) iyon halinde ksilemde taşınabilmektedir (Mench ve diğ., 1988). Organik asitlerin de taşınmada rol oynadığı bildirilmiştir (Greger, 1999). Floem aracılığı ile de ağır metal iletiminin olup olmadığını belirlemek için yapılan araştırmalarda, Cd uygulanmış yapraklarda kısmi bir taşınım söz konusu olsa da (Greger ve diğ., 1993), Cd, Cu ve Zn ile yapılan diğer araştırmalarda, bu ağır metallerin yapraklardan köklere uzanan bir iletiminin olmadığı saptanmıştır. Floemin, ağır metalleri bağlayabilen iyon ve

moleküllere sahip protoplazma içermesi nedeniyle ağır metallerin taşınmasını zorlaştırdığı düşünülmektedir (Greger, 1999).

Bir çevrede devamlı olarak ya da arada sırada meydana gelen çok sayıdaki olumsuz fakat hemen öldürücü olmayan koşullar “stres” olarak tanımlanmaktadır. Bir başka yaklaşımla; bitkide metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkileyen ya da engelleyen, uygun olmayan herhangi bir durum ya da madde stres olarak kabul edilir. (Lichtenthaler, 1998; Gürel ve Avcıoğlu, 2001). Tüm canlılar yaşamlarının belirli bir döneminde çeşitli streslere maruz kalabilirler. Hatta stres faktörleri tek başlarına değil çoğunlukla eş zamanlı olarak etkilerini göstermektedirler. Bu faktörler değişik şekillerde sınıflandırılmaktadırlar. Lichtenthaler (1996)’e göre, sınıflandırmada belirleyici olan insandır ve stres kaynakları insan kaynaklı olanlar ve doğal olanlar (insan kaynaklı olmayanlar) olarak ikiye ayrılır. Ağır metal stresi hem doğal kaynaklı (mineral madde eksikliği) hem de insan kaynaklı stres faktörleri içinde bulunmaktadır. Aşırı (toksik konsantrasyonlar) ağır metale maruz kalma, bitkilerde birçok değişikliğe neden olmaktadır. Bu değişikliklerin yol açtığı zararların bir kısmı gözle görülebilir ve ölçülebilir (morfolojik değişiklikler) düzeyde iken, birçoğunun saptanabilmesi ise bazı biyokimyasal analizleri gerektirmektedir. Ağır metal zararının ilk ve en belirgin etkisi köklerde görülmektedir (Tester ve Leigh, 2001; Verma ve Dubey, 2003). Yüksek metal konsantrasyonuna maruz kalmış bitkilerde kökler, normal bitki köklerine göre oldukça kısa kalmakta ve saçak kök sayısında azalma, yan köklerde artma ya da azalma görülebilmektedir. Bunların dışında köklerde lignifikasyon ile epidermis ve hipodermiste bazı yapısal değişiklikler de saptanmıştır. Ağır metal alımı devam ettikçe etkisi gövdede de gözükmemekte ve gövde uzaması da etkilenmektedir. Gerek kök ve gerekse gövdenin taze ve kuru ağırlıklarında azalma meydana gelmekte ve bitki büyümesi yavaşlamaktadır (Punz ve Sieghardt, 1993; Hagemeyer ve Breckle, 1996; Peralta ve diğ., 2001; Sharma ve diğ., 2004; Chaoui ve El Ferjani, 2005; Lombardi ve Sebastiani, 2005). Maruz kalınan ağır metal çeşidine ve konsantrasyonuna bağlı olarak bitki yapraklarında; şekil değişikliği, alan küçülmesi, sararma ve nekrotik leke oluşumu görülebilmektedir (Lagriffoul ve diğ., 1998; Benavides ve diğ., 2005; Lombardi ve Sebastiani, 2005).

Ağır metaller, lipitlere bağlanarak ve/veya aktif oksijen türlerinin (AOT) oluşumunu artırıp lipit peroksidasyonuna neden olarak (Stefanov ve diğ., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Romanowska ve diğ., 2002; Wu ve diğ., 2003; Smeets ve diğ., 2005) membranların (hücre, kloroplast, mitokondri, tilakoid membranları vb.) yapılarının ve işlevlerinin değişmesine sebep olurlar. Lipit peroksidasyonu; çok tehlikeli bir zincir reaksiyonu olarak doğrudan membran yapısına, dolaylı olarakta reaktif aldehytler üretmek suretiyle diğer hücre bileşenlerine zarar vermektedir (Luna ve diğ., 1994).

Peroksidasyonla oluşan, mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkileri ortaya çıkarılan malondialdehit (MDA), iyon alış-verişine etki etmekte, membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna yol açmaktadır (Porter, 1984; Placer ve diğ., 1990; Mercan, 2004; Li ve diğ., 2006). Bu durum, membranın yapısında deformasyona neden olarak iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi önemli hücresel özelliklerin değişimine neden olmaktadır (Smirnoff, 2005; Li ve diğ., 2006; Zhang ve diğ., 2007). Verma ve Dubey (2003) yaptıkları bir çalışmada, 0,5 ve 1 mM Pb uygulamasının, *Oryza sativa* L. bitkisinde lipit peroksidasyonu artırdığını ve bunun aktif oksijen türlerinin artışının bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Zar yapısında meydana gelen değişiklikler hücre membran akışkanlığının değişmesinin yanı sıra, membrana bağlı enzimlerin yapısının ve aktivitelerinin de değişmesine neden olmaktadır. Cu, Ni, Pb ve Cd'un belirli konsantrasyonlarının, bitkilerin hücre membranlarında bulunan adenintrifosfataz (ATPaz) enziminin aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Kennedy ve Gonsalves, 1987; Ros ve diğ., 1990; De Vos ve diğ., 1991; Ros ve diğ., 1992; Fodor ve diğ., 1995).

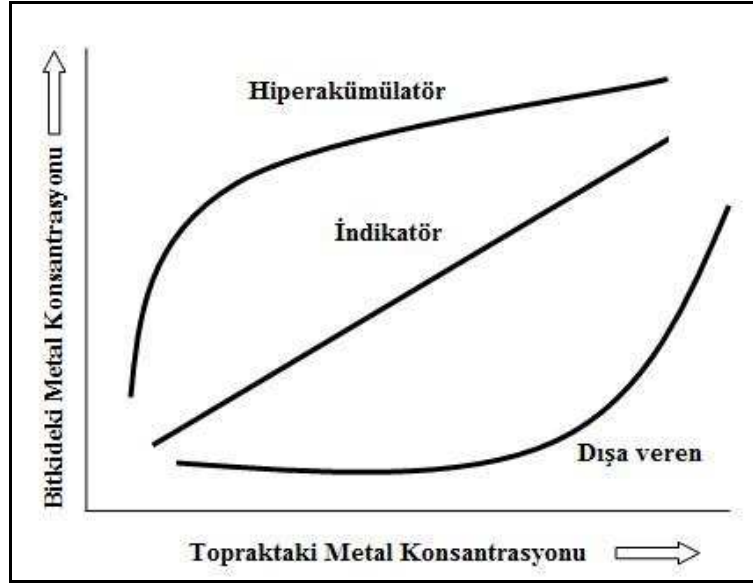
Bitkiler, ağır metal içeren topraklarda büyümek için 3 temel yol geliştirmişlerdir. Buna göre metal almalarıyla ilgili olarak, bitkiler 3 temel gruba ayrılmaktadırlar (Şekil 2.2) (Baker, 1981; Hassinen, 2009):

Metale karşı toleranslı bitkiler: Bu bitkilerde köklerden kısıtlı metal alımı ve/veya köklerden toprak üstü organlara metal taşınmasının sınırlanması nedeniyle, topraktaki metal konsantrasyonu yüksek olsa bile bitkinin toprak üstündeki kısımlarında metal konsantrasyonu oldukça düşüktür (Baker, 1981). Metaller bitki metal homeostazi mekanizmalarının düzgün çalışması durduktan hemen sonra bitki tarafından alınır. Bu

bitkiler membran permeabilitesi ile hücre duvarına metal bağlama kapasitesini değiştirebilmekte ya da daha fazla çelatlayıcı madde (hücre içi metal bağlayıcı bileşikler) yaymaktadırlar (Cunningham, 1995; Ghosh ve Singh, 2005). *Silene vulgaris* bu yolu izleyen bitki türlerinden biridir (Schat ve Ten Bookum, 1992; Hassinen, 2009).

Metal indikatör bitkiler: İndikatör bitkilerde, toprak üstü organlarında bulunan metal miktarı, toprakta bulunan metal miktarını yansıtmaktadır. Bu bitkiler, toprakta varolan metal konsantrasyonlarını çelatlar üreterek tolere etmekte ya da duyarlı olmayan kısımlarında depo ederek metallerin hücre içi bölümlendirilmesini değiştirmektedir (Ghosh ve Singh, 2005). Örneğin, *Populus alba* toprakta metal kirliliğinin takip edilmesinde kullanılan bir Cd/Zn indikatör bitkisidir (Madejon ve diğ., 2004; Hassinen, 2009).

Metal akümülatör (biriktirici) bitkiler: Bu bitki türleri, toprak üstü organlarında, toprakta bulunan metal miktarından daha fazlasını biriktirebilmektedirler. Hiperakümülatörler (aşırı metalbiriktirici) denilen bu bitkiler, çok yüksek seviyelerdeki kirleticileri kök, gövde ve/veya yapraklarında absorbe edebilmektedirler (Baker ve diğ., 1994; Raskin ve diğ., 1994; Cunningham ve Ow, 1996; Ghosh ve Singh, 2005). Baker ve Brooks (1989), kuru maddede; Cu, Cd, Cr, Pb, Ni ve Co yu %0,1 den daha fazla (1000 mg/g) ya da Zn ve Mn yi %1 den fazla (>10,000 mg/g) içeren bitkiler “hiperakümülatör” olarak tanımlamaktadır. Cd ve diğer eser metaller için bu oran kuru ağırlık başına >%0,01 dir. Bugüne kadar 22 familyadan yaklaşık 400 tane hiperakümülatör bitki türü tanımlanmıştır. *Brassicaceae* familyası 11 cinsten 87 tane hiperakümülatör tür içermektedir (Baker ve Brooks, 1989; Ghosh ve Singh, 2005; Hassinen, 2009).



Şekil 2.2: Topraktaki artan ağır metal konsantrasyonlarına karşı gösterdikleri tepkilere göre bitki grupları (Baker, 1981).

2.2. NİKEL (Ni)

2.2.1. Nikelin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

1751’de İsveç’te Axel F. Cronstedt tarafından keşfedilen ve adlandırılan nikel (Ni), yerkabuğunda doğal olarak bulunan 24. elementtir ve periyodik cetvelde 28. sırada yer almaktadır. Nikel, sert, gümüşümsü ve ağır bir metaldir (The Merck Index, 1983; Nielson, 1987; Sunderman ve Oskarsson, 1991; Chen ve diğ., 2009). Nikel, doğada demirle birlikte olmak üzere sülfürler, arsenürler ve silikatlar şeklinde bulunmaktadır (Özcan, 2006). Nikelin klor, kükürt ve oksijenle yapmış olduğu bileşiklerin çoğu, suda kolaylıkla çözünür ve karakteristik olarak yeşil renktedir. Nikel, sulu ortamda Ni^{+2} halinde bulunmaktadır. Nikel ve oluşturduğu bileşikler, karakteristik koku ve tada sahip değildir (Anon., 1990; Tera, 1999). Nikel, XIX. yy dan itibaren birçok ülkede, bakır ve nikel alaşımından para yapımında kullanılmaya başlanmıştır. İlk metalürjik tesis, 1824 yılında Avusturya’da Gersdorff tarafından kurulmuştur. Endüstrinin gelişmesi ile nikelin diğer metaller arasında yer alması, 1865 yılında Yeni Kaledonya’daki nikel yataklarının işletilmesiyle başlamış ve demirden sonra en fazla kullanılan metal haline gelmiştir (Caneb, 1970). Nikelin fiziksel ve kimyasal özellikleri, Tablo 2.2’de verilmiştir (The Merck Index, 1983; El-Dahshan, 1996; Özdemir, 2006).

Tablo 2.2: Nikel elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri (The Merck Index, 1983; El-Dahshan, 1996; Özdemir, 2006).

Sembol	Ni
Atom Numarası	28
Mol kütlesi	58,69 g/mol
Yoğunluğu	8,908 g/cm ³ (20°C)
Rengi	Gümüş renkli
Kaynama sıcaklığı	2913°C
Erime sıcaklığı	1455°C
Elektron dağılımı	[Ar] 3d ⁸ 4s ²

2.2.2. Nikelin Doğada Bulunuşu

Kıtasal (karasal) yer kabuğunun ortalama nikel derişimi 45 mg/kg'dır. Olivin ve serpentine zengin kayaçlarda bu değer >8000 mg/kg'ı bulabilir. Nikel bakımından zengin topraklarda toprak çözeltisinde 3,3 mg/L Ni saptanmıştır. Bu topraklarda yetişen bitkilerde nikel toksisitesi ortaya çıkmaktadır (Özbek ve diğ., 1993). Nikel mineralleri birçok jeolojik ortamda yatak ve kayaçların bileşimine girmektedir. Ancak, ekonomik nikel yatakları başlıca erken magmatik evre nikel sülfid cevherleşmeleri, hidrotermal nikel yatakları ve nikelli lateritler (kalıntı yatakları) olmak üzere üç şekilde bulunmaktadır.

Sülfürlü nikel yatakları magmatik ortamda oluşan birincil nikel yataklarıdır (Reimann ve diğ., 1999). Bu tip yataklanmalar, ultra bazik ve bazik magmatik kayaçların içinde yer almaktadır. Ultra bazik ve bazik magmalar demir ve tali olarak bakır, nikel platin grubu metaller bakımından zengindir. Magmanın soğuması sırasında bu metaller kükürtle birleşerek sülfid damlacıkları meydana getirirler. Magmanın içinde zenginleşen sülfid damlacıklar liküasyon (sıvı halde karışmazlık) süreçleri ile silikatlı kısımdan ayrılarak dibe çökerler. Böylece nikel, bakır ve platinoid metallerinin sülfid mineralleri ince seviyeler halinde yatak oluştururlar. Gabrolarla ilişkili olan Ni-sülfid yatakları yüksek Cu/Ni oranına sahiptirler. Bu tip Cu-Ni-Fe yataklarının oluşabilmesi için magmanın kükürtçe zengin olması ve soğuyan magmanın içinde oluşan sülfid damlacıklarının ani olarak çökmesi gerekmektedir (Zedef, 2005). Bu yatakların

oluşumu sırasında Ni daima bakır cevherinin üzerinde oluşmakta ve nadiren Co içermektedir (Gümüş, 1979). Sülfürlü nikel cevherleri; nikel içerikli pirotit (Fe_7S_8), petlandit ($(\text{Ni,Fe})_9\text{S}_8$) ve kalkopirit (CuFeS_2) içerirler. Diğer içerdiği mineraller ise, manyetit (Fe_3O_4), pirit (FeS_2), millerit (NiS), ilmenit (FeTiO_3), heazlevodit (NiS_3), polidimit (Ni_3S_4), violarit (Ni_2FeS_4)'dir (Göveli, 2006).

Lateritik yataklar yerkabuğunun üzerinde atmosfer veya hidrosferdeki olaylara yani dış kökenli olaylara bağlı olarak gelişen yataklardır. Fe, Ni, Co, Al, Mn yatakları kalıntı olarak gelişirler. Ayrıca asbest, manyezit, kil tuğla, kiremit toprakları (terraroza) sepiyolit vb. yataklar kalıntı yatakları olarak gelişirler. Bu tür yataklar içinde belirli bir cevher yığılmasına sahip olmayan olağan kayaçların tamamen dış etkenlerle ayrışıp faydasız unsur gruplarının ortamdan uzaklaşarak faydalı mineral ve elementlerin toplanmasıyla oluşan yataklardır (Boyalı, 1984).

İklim ve oluşum yaşına bağlı olarak 20 ile 150 m arasında lateritik nikel oluşumları gözlenmektedir. En önemli mineral oluşumları limonit ($(\text{Fe,Ni})\text{OOH}$) ve garniyerit/saprolit ($(\text{Ni,Mg})\text{SiO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$)'tir. Limonitli zonlar %1-2 arasında nikel içerirken, saprolitli-garniyeritli zonlar %1,5-3,5 arasında nikel içermektedirler (Zainol, 2005).

Hidrotermal nikel yatakları, ultramafik kayaçları kesen genç plütonik ve volkanik kayaçlar içerisinde oluşmuş, genellikle damar tipi, rezervleri küçük tenörleri yüksek yataklardır. Genç magmatik yataklarla ilişkili olan hidrotermal çözeltilerin veya kayaçların yakınında bulunan ısınmış yüzeysel kökenli suların çevresindeki ultramafik kayaçlardan çözdükleri nikeli kırık ve çatlaklar boyunca yeniden çöktirmeleri sonucu oluşmuş yataklardır (Gökçe, 1995). Metamorfizma sahalarında oluşan bazı nikel cevherleşmelerinin, metamorfizma sırasında oluşan hidrotermal çözeltilerce yan kayaçlardan nikelin yıkanması ile zenginleştirilmesi şeklinde oluştukları belirtilmektedir (Jensen ve Bateman, 1981).

2.2.3. Türkiye’de Nikel Yatakları ve Rezervleri

Ülkemizde hem lateritik hem de sülfid tipi nikel cevherleşmeleri bulunmaktadır. Yurdumuzun önemli bir kısmı ultramafik kayalarla kaplıdır ve ülkemiz bu kayalardaki lateritik nikel yatakları ve bir ölçüde hidrotermal nikel sülfür yatakları yönünden umut verici görünmektedir. Belirlenmiş ancak üretim yapılmayan başlıca nikel sahaları aşağıda belirtilmiştir (Aslaner, 1979).

- 1- Manisa-Çaldağ Lateritik Nikel Yatağı (Yıldız, 1977; Çağatay ve diğ., 1983).
- 2- Sivas-Güneşköy Hidrotermal Nikel Sülfür Yatağı (Can, 1969).
- 3- Bitlis-Pancarlı Nikel-Bakır Sülfür Yatağı (Çağatay, 1982; Çağatay, 1987).
- 4- Sivas- Dumluca Ni, Co, Bi mineralizasyonu (Bozkurt, 1974).
- 5- Bursa-Orhaneli Yapköydere nikel sülfür yatağı (Sayın ve Yıldız, 1974; Sayın, 1975; İnan, 1988; Erseçen, 1989).
- 6- Eskişehir-Mihalıççık-Yunus Emre Lateritik Nikel Yatağı (İnan, 1988).

Ayrıca, bu yatakların dışında Bolu-Mudurnu-Akçalan ve Hatay-Payas-Dörtöy nikel yatakları bulunmaktadır.

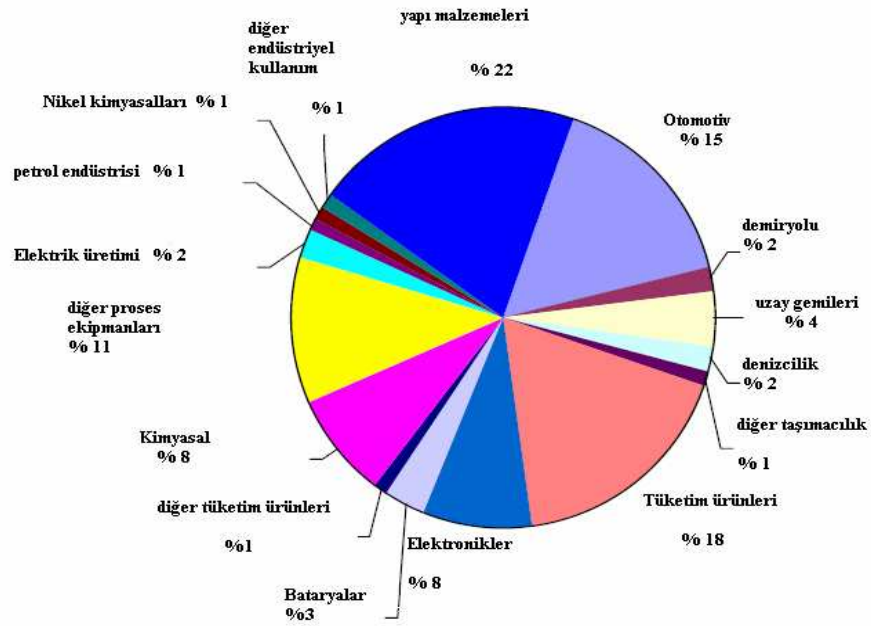
Türkiye’de nikel madenciliği ve üretimi yapılmamaktadır. Bu nedenle, nikel ihtiyacı nikel ürünleri ithalatı yoluyla karşılanmaktadır. Yurtiçi nikel tüketiminde monokatot nikel önemli yer tutmaktadır. Bu ürünün Türkiye’de tüketildiği en önemli alan kaplama sanayii ve az miktarda alaşımlı çelik dökümüdür. Ayrıca, tekstil sanayinde makaralarda az miktarda plaka nikel kullanımı da mevcuttur (Madencilik ÖİK. Raporu, 2001).

2.2.4. Nikel’in Kullanım Alanları

Nikel yer kabuğundaki değerli metallere biri olup, uzun zamandan beri endüstride kullanılmaktadır. Doğada çoğunlukla demirle birlikte olmak üzere sülfürler, arsenürler ve silikatlar (lateritik kökenli) şeklinde bulunur. Nikelin (NiAs), kioantit (NiAs₂), pentlandit [(Fe,Ni)S], millerit (NiS), annabergit [(Ni)₃(AsO₄)₂₈H₂O] en önemli nikel mineralleridir. Dünyadaki en önemli nikel yatakları Kanada, Yeni Kaledonya, Küba,

ABD, Avustralya, Endonezya ve Eski Sovyetler Birliği'nde bulunmaktadır (Madencilik ÖİK Raporu., 2001). Nikelin bilinen kullanım alanları oldukça geniştir. Paslanmaz çelik, kimya ve uzay sanayilerinin gelişmesinde büyük önem taşıyan bir madendir. Ergime sıcaklığının yüksek olması, korozyona karşı yüksek direnç göstermesi, indirgeme katalizörü olarak kullanılması ve kolay alaşım yapması gibi özelliklere sahip olduğundan endüstride büyük bir öneme sahiptir. Dünyada üretilen nikelin yaklaşık %67'si paslanmaz çelik sanayinde kullanılmaktadır. Nikel paslanmaz çeliğin içerisine ilave edildiği zaman, metalin korozyona karşı direncini oldukça artırmaktadır. Nikel metal ve alaşım olarak, kimya sanayiinde, deniz suyu taşıma borularında, çok yüksek basınç altında olan motorlu taşıt aksamalarında ve madeni para yapımı gibi oldukça geniş kullanım alanına sahiptir. Nikel alaşımları, sıcaklığa ve yük altında kırılmaya karşı oldukça dayanıklıdır. Bu üstün özelliklerinden yararlanılarak, korozyon etkisi olan kimyasallar ile sıvı gazların taşınmasında ve depolanmasında kullanılmaktadır. Ayrıca, yüksek sıcaklıklara dirençli olmasından dolayı, uçakların gaz türbinlerinde ve jet motorlarında nikelin alaşımları kullanılmaktadır. Metalik nikel madenleri stratejik bir öneme sahip olup, zırhlı araçlarda, top ve mermi yapımında da kullanılmaktadır. Tane boyutu toz ölçeğine getirilen nikel önemli indirgeme katalizörü olarak sıvı yağların ve sabunun katılaştırılmasında kullanılmaktadır (Zainol, 2005; Göveli, 2006).

Saf nikel, elektron tüplerinde ve kaplama endüstrisinde de kullanılmakta ve demir, bakır, krom, çinko gibi bazı metallerle alaşım oluşturabilmektedir. Demir ve krom alaşımı içeren paslanmaz çelik, %35 oranında nikel içermektedir. Endüstride nikel; nikel arıtma tesisleri, elektrokaplama, paslanmaz çelik ve nikel-kadmiyum pillerin üretiminde yer almaktadır. Nikelin kullanım alanları Şekil 2.3'te verilmiştir (NIPERA, 1997; Cangul ve diğ., 2002).



Şekil 2.3: Nikelin kullanım alanları (NIPERA, 1997; Cangul ve diğ., 2002).

2.3. BİTKİLERDE NİKEL

Bitkisel üretimin her aşamasını olumsuz etkileyen, verim ile kaliteyi düşüren önemli faktörlerden birisi olan ağır metal kirliliği; insanların endüstriyel ve şehirsal atıkları ile havayı kirletici maddelerin iyi yönetilememesi, trafik yoğunluğu, aşırı pestisit ve gübre kullanımına dayalı entansif tarım uygulamaları gibi faaliyetleri ile tarım toprakları, yeraltı ve yerüstü sularında gün geçtikçe artmaktadır (Çokadar ve diğ., 2003; Doğan, 2003; Kumbur ve diğ., 2008). Bitkilerdeki ağır metal çalışmaları, metallerin bitkiler için yararlılığı, mekanizması ve özellikle toleransı üzerine yoğunlaşmıştır. Bu metallerden birisi de nikeldir.

Nikel (Ni), bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi için önemli olan mikro elementlerden bir tanesidir ve birçok metabolik süreçte gereklidir (Eskew ve diğ., 1983; Brown ve diğ., 1987). Nikel bitkiler için üreaz ve hidrogenaz enzimlerinin yapısında ve aktivitesinde yer alan ve azot metabolizması için gereksinim duyulan temel bir elementtir. Bitkilerde çok düşük miktarlarda yararlı olduğu halde; artan endüstriyel faaliyetler, mineral ve

organik gübreler, kimyasal ilaçlar, yerleşim yeri ve endüstri atıkları ile ekolojik çevrede miktarı birikerek artmakta bunun sonucunda pek çok fizyolojik olay üzerine olumsuz etkiler yapmaktadır (Dixon ve diğ., 1975; Brown ve diğ., 1987, Molas, 1997, Zornoza ve diğ., 1999). Nikelin bitkilerdeki olumsuz etkileri, fotosentez ve solunumu engellemesi; hücre zarı geçirgenliğini azaltması; fotosentetik elektron taşınımını engellemesi; hücre de peroksidaz ve üreaz aktivitesini düşürmesi; protein sentezini, klorofil ve azot düzeyini azaltması; hücre su dengesini değiştirmesi gibi fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin aksamamasından kaynaklanmaktadır (Brown ve diğ., 1990; Pandolfini ve diğ., 1992; Gajewska ve Sklodowska, 2005).

Ni bitkiler için gerekli (Eskew ve diğ., 1983; Brown ve diğ., 1987; Ragsdale, 1998) bir element olup bitki türlerinin çoğunda konsantrasyonu oldukça düşüktür (0,05-10 mg/kg kuru ağırlık) (Nieminen ve diğ., 2007). Ayrıca, artan Ni kirliliği ile birlikte bitkilerde eksikliği yerine, daha fazla Ni bulunması sıklıkla görülmektedir (Alloway, 1995; Salt ve diğ., 2000). Bitkilerde Ni nin yüksek konsantrasyonlarının mitotik aktivitenin inhibisyonu (Madhava Rao ve Sresty, 2000), bitki büyümesindeki azalmalar (Molas, 2002), meyva verimi ve kalitesi üzerine olumsuz etkiler (Gajewska ve diğ., 2006) gibi toksik etkileri sıklıkla bildirilmektedir. Topraktaki oldukça yüksek Ni konsantrasyonları, bitkiler, meyvalar ve sebzeler için elverişli olmayan tarım alanları oluşturmaktadır (Duarte ve diğ., 2007).

2.3.1. Nikelin Bitkiler Tarafından Alınması ve Taşınması

Nikel; glioksilazlar, peptid deformilazlar, metil CoM redüktaz ve üreazlar, birkaç süperoksit dismutaz ve hidrogenazları içine alan çok sayıda enzimin bir bileşeni olarak tanımlanmıştır (Ermler ve diğ., 1998; Küpper ve Kroneck, 2007). Bu nedenle Ni üreolizis, hidrojen metabolizması, metan biyogenezi ve asitogenez gibi pekçok metabolik olayda önemli bir rol oynamaktadır. Ni bitki metabolizması için gerekli olduğundan, bitkilerde alınması ve taşınmasında bazı önemli fizyolojik süreçler yer almaktadır (Maier ve diğ., 1993; Collard ve diğ., 1994; Ragsdale, 1998; Mulrooney ve Hausinger, 2003).

Bitkilerde nikelin alınması ağırlıklı olarak pasif difüzyon ve aktif taşıma aracılığı ile kök sistemleri tarafından gerçekleştirilmektedir (Seregin ve Kozhevnikova, 2006). Aktif ve pasif taşınma arasındaki alım oranı türlere, toprak ya da besin çözeltisindeki Ni nin şekline ve konsantrasyonuna göre değişiklik göstermektedir (Dan ve diğ., 2002; Vogel-Mikus ve diğ., 2005).

Bitkiler tarafından Ni nin alınması Ni^{+2} konsantrasyonuna (Cataldo ve diğ., 1978), bitki metabolizmasına (Aschmann ve Zasoski, 1987), toprak ya da solüsyonun asiditesine (McIlven ve Negusanti, 1994; Kukier ve diğ., 2004; Antoniadis ve diğ., 2008), diğer metallerin varlığına (McKenna ve diğ., 1993; Luo ve Rimmer, 1995; Podar ve diğ., 2004) ve organik madde bileşimine (Burke ve diğ., 2000; Jean ve diğ., 2008) bağlıdır. Örneğin *Lathyrus sativus*'ta Ni^{+2} alımının, pH nın 5,0 a kadar artmasıyla arttığı, pH 8,0 a ulaştığında ise azaldığı bildirilmiştir (Panda ve diğ., 2007). *Berkheya coddii* de Ni^{+2} alımının Ca^{+2} ve Mg^{+2} tarafından inhibe edildiği bulunmuştur (Robinson ve diğ., 1999). Bununla birlikte kesik *Hordeum vulgare* (arpa) köklerinde Ca^{+2} ve Mg^{+2} nin her ikisinde Ni^{+2} hareketinin rekabetçi olmayan inhibitörleri olduğu bulunmuştur (Körner ve diğ., 1987). Bu köklerde, Zn^{+2} , Cu^{+2} , Co^{+2} , Cd^{+2} ve Pb^{+2} , Ni^{+2} hareketini inhibe ederken, Mn^{+2} inhibe etmemektedir. Bu iyonlar arasında Zn^{+2} ve Cu^{+2} nun Ni^{+2} ile güçlü rekabetçi, Co^{+2} nun zayıf rekabetçi, Cd^{+2} ve Pb^{+2} nin rekabetçi olmadığı görülmüştür (Körner ve diğ., 1987). *Datura innoxia* de Ni^{+2} adsorpsiyonu, toprak yüzeyine EDTA uygulaması ile artırılmıştır (Jean ve diğ., 2008). Buna ek olarak, mevsim uzunluğu, tohum ekim yöntemi ve toprak jeokimyasal özellikleri gibi diğer faktörler Ni^{+2} alımını etkilemektedir (McGrath ve diğ., 2006; Yanai ve diğ., 2006; Antoniadis ve diğ., 2008).

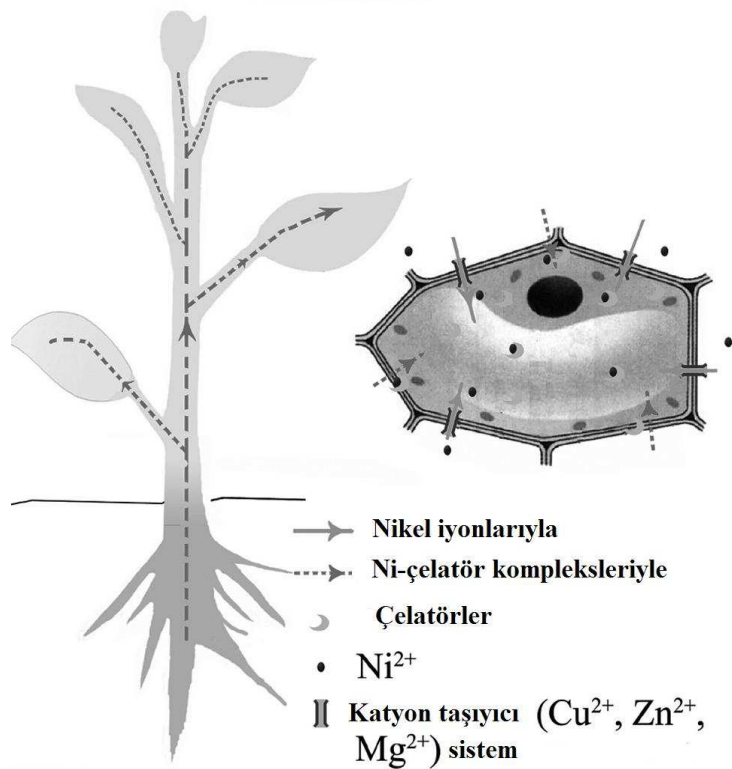
Nikelin iyonik şekli verildiği zaman bitkiler tarafından kolaylıkla absorbe edildiği ancak çelat şeklinde uygulandığında ise absorpsiyonun güç olduğunu gösteren pekçok çalışma bulunmaktadır (Crooke ve diğ., 1954; DeKock, 1956; DeKock ve Mutehell, 1957; Aschmann ve Zasoski, 1987). Crooke ve diğ. (1954), Ni versenat verilen yulaf (*Avena sativa*) bitkilerinin nikel seviyesinde kontrol bitkilere kıyasla önemli ölçüde değişiklik olmazken, bitkilere aynı konsantrasyonda Ni nin iyonik formunun verildiğinde kontrole göre seviyenin 10 kat daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Buradan nikel komplekslerinin absorpsiyonunun meydana gelmediği sonucuna ulaşılmaktadır. Turina (1986) tarafından, çavdar (*Secale cereale*), buğday (*Triticum vulgare*), mısır (*Zea mays*)

gibi bazı monokotil bitkilerde köklerden Ni nin absorpsiyonunun kök şapkası içinden olduğu gösterilmiştir. Nikel alımının; sıcaklık, anaerobik koşullar ve dinitrofenol gibi solunum inhibitörleri tarafından etkilenmesine rağmen aktif bir süreç olduğu görülmüştür (Aschmann ve Zasoski, 1987). Ancak Ni nin alımı çalışmaları sadece Ni nin düşük ve orta konsantrasyonları (0,5-200 μM) ile sınırlı kalmış ve bu çalışmalar alım izoterminin ikili ya da çok yönlü doğasını anlamak için yeterli olmamıştır (Epstein, 1976; Cataldo ve diğ., 1978; Nandi ve diğ., 1987; Pinamonti ve diğ., 1997).

Bitkiler tarafından nikelin alınması çeşitli faktörlere, en önemlisi de iyonik formda olmasına ve ortamdaki Ni konsantrasyonuna bağlıdır (Halstead ve diğ., 1969; Miller, 1961; Dixon ve diğ., 1980a; Roth ve diğ., 1991). Toprak pH değerinin 5,6'nın altında olması Ni absorpsiyonu için tercih edilen bir durumdur. Bu durum büyük ölçüde artan toprak asitliği ile birlikte topraktaki değiştirilebilen Ni içeriğinin artması nedeniyledir (Mizuno, 1968). Toprağın fosfat içeriğinin artması ile Ni absorpsiyonu artış gösterir (Halstead ve diğ., 1969; Polacco, 1976) domates ve salatalık yapraklarına $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ püskürtülmesi de Ni içeriğini artırmaktadır. Torf yüksek Ni içeriğine rağmen, Ni alımını inhibe etmektedir. Arpa (*Hordeum vulgare*) fidelerine Ni sağlamak, torfa nikelce zengin toprak ilavesi ile mümkündür (Morrison ve diğ., 1980). Bu inhibisyon, Ni nin çözünen ve çözünmeyen formlarının kompleksi, ortamdaki diğer metallerle rekabeti ya da her ikisi nedeniyle de olabilir. Toprakta organik madde bulunması, bir ölçüde bitkiler tarafından Ni nin alınmasını inhibe edebilmektedir (Halstead ve diğ., 1969). Gübreler, Ni ve Cu, Zn, Co gibi diğer elementlerin toplam absorpsiyonunu azaltmaktadır (Miller, 1961). Ni ile karşılaştırıldığında diğer elementlerin absorpsiyon oranları, topraktaki değiştirilebilir element içeriğinde elementlerin absorbe edilme reaksiyonlarına bakıldığında azalma göstererek $\text{Cu} > \text{Zn} > \text{Co} > \text{Ni}$ şeklindedir (Miller, 1961). Tiffin (1971), Ni nin bitkilerin ksilem sıvılarında anyonik kompleksler şeklinde taşındığını göstermiştir. Kültür solüsyonundaki soya ve arpada olduğu gibi, diğer iki değerli katyonların varlığında Ni^{+2} alımını etkilemektedir (Klucas ve diğ., 1983; Korner ve diğ., 1987; Lee ve diğ., 1987).

Ni ksilem yoluyla transpirasyon akımı sayesinde (Neumann ve Chamel, 1986) köklerden gövdeye (Peralta-Videa ve diğ., 2002) ve yapraklara (Krüpa ve diğ., 1993) taşınır. Bu temel element, floem aracılığı ile de yaşlı yapraklardan genç yapraklara,

tomurcuklara, meyvalara ve tohumlara taşınmasıyla bitkilerin meristamatik kısımlarına gönderilir (McIlven ve Negusanti, 1994; Welch, 1995; Fismes ve diğ., 2005; Page ve diğ., 2006). Bu taşınma özellikle Ni bağlayan metalligand kompleksleri (Rauser, 1999; Vacchina ve diğ., 2003; Kim ve diğ., 2005; Ma ve diğ., 2005; Pianelli ve diğ., 2005; Haydon ve Cobbett, 2007) ve proteinleri ile düzenlenir (Hausinger, 1997; Colpas ve Hausinger, 2000) (Şekil 2.4). Hücre içi çelatları gibi davranan nikotinamin (NA), histidin (His) ve organik asitler (sitrik asit ve malat iyonları) gibi metal ligandlar, bitkilerde taşınma ve birikim için sitosolde ya da hücre içi kısımlarda Ni yi bağlarlar (Krämer ve diğ., 1996; Krämer ve diğ., 2000; Kerkeb ve Krämer, 2003; Douchkov ve diğ., 2005). *Thlaspi caerulescens* köklerinde (Vacchina ve diğ., 2003) Ni-NA kompleksleri, *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum montanum* ve *Brassica juncea* köklerinde (Joho ve diğ., 1990; Krämer ve diğ., 1996; Kerkeb ve Krämer, 2003) Ni-His ve *Thlaspi goesingense* ile *Thlaspi arvense* yapraklarında (Rauser, 1999; Krämer ve diğ., 2000) Ni-sitrat bulunduğu bildirilmiştir. Sitrik ve malik asitler gibi organik asitler hem çözünürleştirme için proton hem de Ni çelasyonu için bir anyon kaynağı sağlamaktadırlar (Devêvre ve diğ., 1996; Ahonen-Jonnarth ve diğ., 2000; Fomina ve diğ., 2005).



Şekil 2.4: Bitkilerde Ni nin alınması ve taşınmasının temel yolu (Chen ve diğ., 2009).

Bitkiler tarafından absorbe edilen Ni nin %50'den fazlası köklerde muhafaza edilmektedir (Cataldo ve diğ., 1978). Bunun nedeni, ksilem parenkima hücrelerinin duvarındaki katyon değişim bölgelerindeki tutulma ve kök vakuollerindeki immobilizasyondur (Seregin ve Kozhevnikova, 2006). Ayrıca köklerdeki yüksek oranda Ni (%80'in üzeri) vaskular silindirde bulunurken, %20'den daha azı kortekste bulunmaktadır. Bu dağılım ksilem ve floem arasındaki Ni nin yüksek hareketliliğini düşündürmektedir (Marschner, 1995; Page ve Feller, 2005; Riesen ve Feller, 2005). pH ile güçlü bir şekilde etkilenen ksilem sıvısındaki Ni formları dikkat çekicidir. Özellikle, Ni pH 5,0'da sitrat ile çelatlabilir ancak histidin ile pH 6,5'te çelatlaşmaktadır (Riesen ve Feller, 2005). Ni hiperakümülatörlerinin (*Alyssum bertolonii*, *Alyssum lesbiacum*, *Thlaspi goesingense*) gövde ve yapraklarında, Ni nin epidermal dokularda çoğunlukla hücre çeperi yerine vakuolde dağılım gösterdiği bulunmuştur (Küpper ve diğ., 2001). Bununla birlikte, Krämer ve diğ. (2000), *Thlaspi goesingense* yapraklarındaki %67-73 arasında Ni nin hücre çeperi ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir. Gövde ve yapraklardaki Ni nin, sitrat (Sagner ve diğ., 1998; Gendre ve diğ., 2007), malat ve malonat (Pancaro ve diğ., 1978; Brooks ve diğ., 1981) ile ilişkili olarak ağırlıkla vakuollerde, hücre çeperlerinde ve epidermal trikomlarda yerleştiği yönünde fikir birliği bulunmaktadır. Bununla birlikte, hücre içinde farklı organeller ve sitoplazmanın Ni içeriği büyük ölçüde farklı olabilir. Timperly ve diğ. (1973), dört farklı ağaç türünün yaprak hücrelerinde Ni nin %87'den fazlasının sitoplazma ve vakuolde bulunduğunu, kloroplastların %8-9,9, mitokondri ve ribozomlar ise sadece %0,32-2,85 oranında Ni içerdiğini belirlemişlerdir.

2.3.2. Nikelin Bitkilerdeki Toksik Etkileri

Nikelin bitkiler için temel bir metal olması ve bitki metabolizmasında önemli roller oynamasına rağmen (Eskew ve diğ., 1983; Eskew ve diğ., 1984), artan endüstriyel kullanımı nedeniyle Ni toksisitesi ciddi bir endişe yaratmaktadır. Ni stres koşulları altında, bitkilerde pekçok Ni-detoksifikasyon cevapları görülmektedir. Bu cevaplar Ni^{+2} -organik asit ve Ni^{+2} -NA komplekslerinin şekillenmesini (Krämer ve diğ., 2000; Küpper ve diğ., 2001; Persans ve diğ., 2001), NA ve sentazının aşırı üretimi (Vacchina ve diğ., 2003; Becher ve diğ., 2004; Weber ve diğ., 2004) ile serbest histidinin yüksek

seviyelerini (Wycisk ve diğ., 2004) kapsamaktadır. Diğer cevaplar, metallotioneinler (MTler) ile tiyol glutatyon teşviki (Courbot ve diğ., 2004; Bellion ve diğ., 2007), glutatyon, sistein ve O-asetil-L-serin'in yüksek konsantrasyonlarını (Freeman ve diğ., 2004) içermektedir. Ayrıca, serin asetiltransferaz (SAT) ve glutatyon redüktaz gibi bazı enzimlerin aktiviteleri de artırılabilir (Ali ve diğ., 2008).

Toksisiteye karşı bitkinin cevabı, bitkinin türüne, büyüme aşamasına, yetiştirme koşullarına, Ni konsantrasyonu ve metale maruz kalma süresine göre önemli ölçüde farklılık göstermektedir (Sheoran ve diğ., 1990; Krüpa ve diğ., 1993; Xyländer ve Braune, 1994; Marschner, 1995; Kabata-Pendias ve Pendias, 2001; Assunção ve diğ., 2003). Genel olarak kritik toksisite seviyeleri, hassas türlerde >10 mg/kg kuru ağırlık (Kozlow, 2005), orta derecede toleranslı türlerde >50 mg/kg kuru ağırlık (Bollard, 1983), *Alyssum* ve *Thlaspi* türleri gibi Ni hiperakümülatörü bitkilerde ise >1000 mg/kg kuru ağırlıktır (Küpper ve diğ., 2001; Pollard ve diğ., 2002). Hassas türlerde (arpa, ıspanak ve buğday gibi) bir haftadan daha kısa süre ile düşük konsantrasyonlarda Ni ($\geq 0,2$ mM ya da 11,74 ppm) uygulanmasından sonra, yapraklarda klorozis ve nekrozis ortaya çıkabilmektedir (Sun ve Wu, 1998; Rahman ve diğ., 2005; Gajewska ve diğ., 2006). Molas'a göre (2001), *Brassica oleracea*'de fitotoksisite ve birikim, Ni nin farklı kimyasal şekillerinin uygulanmasından sonra şu sırayla azalmıştır: Ni(II)-Glu>NiSO₄.7H₂O>Ni(II)-sitrata>Ni(II)-EDTA. Ni ile kirlenmiş toprak ve ortamlarda yetiştirilen bitkilerde çimlenme gecikmesi (Nedhi ve diğ., 1990), büyüme inhibisyonu (Madhava Rao ve Sresty, 2000; Boominathan ve Doran, 2002; Gajewska ve diğ., 2006), verim azalması (Molas, 1997; Balaguer ve diğ., 1998; Madhava Rao ve Sresty, 2000; Pandey ve Sharma, 2002), yaprak klorozisi ve solma teşviki (Pandey ve Sharma, 2002; Gajewska ve diğ., 2006), fotosentezin kesintiye uğraması (Molas, 1997; Szalontai ve diğ., 1999; Molas, 2002; Gajewska ve diğ., 2006; Gajewska ve Sklodowska, 2007), CO₂ asimilasyonu (Molas, 1997; Kozlow, 2005) ve ayrıca stoma iletkenliğinde azalma (Sheoran ve diğ., 1990; Bethkey ve Drew, 1992) gibi çeşitli cevaplar ile toksisite belirtileri görülmektedir.

2.3.3. Nikel Hiperakümülatörleri

Fitoremediasyon, bitki kullanarak çevreyi temizleme teknolojisidir. Bu teknoloji ile organik ve inorganik maddelerin özellikle son yıllarda gelişen sanayileşmeden dolayı çevreye salınan ağır metallerin neden olduğu kirlilik bitkiler tarafından bertaraf edilebilmektedir (Henry, 2000). Çevre kirliliği ile ilgili endişelerin ve fitoremediasyon çalışmalarına karşı ilginin artması sonucunda, hayatta kalma potansiyeli ve fitotoksosite göstermeksizin dokularında aşırı miktarda Ni tutmaları nedeniyle, Ni hiperakümülatör bitkiler üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır (Baker ve diğ., 2000; Prasad, 2005; Milner ve Kochian, 2008). Acanthaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Meliaceae, Myristicaceae, Ochnaceae, Poaceae, Rubiaceae, Sapotaceae ve Stackhousiaceae (Reeves ve diğ., 1996; Reeves ve Baker, 2000) üyelerini kapsayan 310 türden fazla Ni hiperakümülatörü olduğu tespit edilmiştir (Chaney ve diğ., 1997; Baker ve diğ., 2000; Chaney ve diğ., 2005; Ahmad ve diğ., 2007). Gövde kuru biyokütlesinde %3'ten fazla konsantrasyonda Ni biriktirme yeteneğine sahip 80'den fazla tür Brassicaceae familyasına ait türlerdir (Brooks ve diğ., 1979; Reeves ve Baker, 2000). Bu türler normal bitkilere kıyasla Ni ye daha fazla (örn. 500 mg Ni/kg dan fazla) gereksinim duymaktadırlar. Avustralya'daki otsu bir tür olan *Stackhousia tryonii* Bailey (Stackhousiaceae) nin kuru yapraklarında %4'ü aşan konsantrasyonlarda Ni biriktirdiği gösterilmiştir (Batianoff ve Specht, 1992; Bhatia, 2003). Buna ek olarak, sudan ağır metalleri kaldırma potansiyeline sahip *Typha* (Shutes ve diğ., 2001), *Phragmites* (Scholz ve diğ., 2005; Bragato ve diğ., 2006), *Eichhornia* (El-Gendy ve diğ., 2006), *Azolla* (Mallick ve diğ., 1996) ve *Lemna* (Axtell ve diğ., 2003) gibi su bitkileri dikkat çekicidir (Miretzky ve diğ., 2004; Mishra ve diğ., 2008; Rai, 2008). Bu özel türlerin Ni yi giderme yetenekleri, akümülatör olmayan bitkilere göre %80 daha yüksektir (Shutes ve diğ., 2001; Axtell ve diğ., 2003).

Ni hiperakümülatör türlerinin, türler arasında bitki rekabetini azaltan allelopatiyeye benzer stratejilere sahip oldukları düşünülmektedir (Boyd ve Martens, 1992). Ayrıca bu türler toprak ve/veya sudaki metalleri özel olarak biriktirmesine olanak veren etkili bir kök absorpsiyon mekanizmalarına sahiptirler. Kök absorpsiyonundan sonra Ni, hiperakümülatörlerin gövde ve yapraklarına hızlı bir şekilde taşınır ve sonrasında vakuolde biriktirilir (Milner ve Kochian, 2008). Bu nedenlerle Ni

hiperakümülatörlerinin kirli toprak ve/veya sudan Ni nin kaldırılması için yaygın olarak kullanılmasına “yeşil teknoloji” adı verilmektedir (Boyd ve Martens, 1992; Salt ve diğ., 1995; Boyd, 2004; Chaney ve diğ., 2005).

Analitik tekniklerdeki son gelişmeler, hiperakümülatör bitkilerdeki mekanizmaların araştırılması ve açıklanmasına olanak vermektedir. Örneğin, son derece yüksek endo-DNaz aktivitesinin (Abou-Auda ve diğ., 2002) ve serbest histidin (Haydon ve Cobbett, 2007), serin dekarboksilaz (SDC) (Fujimori ve Ohta, 2003), metallothionein (Schor-Fumbarov, 2005; Bellion ve diğ., 2007) gibi koruyucu amino asit ve proteinlerin artan konsantrasyonlarının çelasyonla ve/veya ksilemde kökten gövdeye Ni taşınmasının kolaylaştırılmasıyla bazı türlerin yüksek Ni toleransına katkıda bulundukları görülmüştür. Ayrıca, ATP-fosforiboziltransferaz (ATP-PRT) anlatımının, bazı türlerde serbest histidin rezervinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur (Ingle ve diğ., 2005).

2.4. TOHUM ÇİMLENMESİ VE NİKELİN ÇİMLENME ÜZERİNE ETKİSİ

Bir grup araştırmacıya göre tohum, döllenme olayından sonra gelişen tohum taslağı içerisindeki embriyo ve besi dokusundan meydana gelen, neslin devamını sağlayan, tohumlu bitkilerin üreme ve yayılma organı şeklinde adlandırılırken (Mayer ve Mayber, 1982; Küçük, 1994), diğer bir grup araştırmacı ise tohumu, tamamen gelişmiş bir embriyodan oluşan ve daha sonraki süreçte olgunlaşarak fideyi veren yapı olarak tanımlamaktadır (Koornneef ve diğ., 2002). Tohum; embryo, testa ve endosperm olmak üzere üç farklı yapıdan, embriyo ise radikula, hipokotil, kotiledon, epikotil ve plumuladan oluşmaktadır (Mayer ve Mayber, 1982). Tohum, çifte döllenmeden sonra embriyo ve endospermin oluşması ile birlikte olgunlaşan tohum taslağından gelişmektedir. Olgun bir tohum, döllenmeden sonra zigotun ardışık mitoz bölünmeleri ile oluşan embriyo, bir ya da iki integümentten gelişen koruyucu bir tohum gömleği (testa) ve primer endosperma nukleusundan köken alan besin depo eden endospermden meydana gelmektedir (Bewley ve Black, 1994). Erkek gametin yumurta hücresi ile birleşmesinden oluşan zigottan embriyo gelişirken ikinci erkek gametin iki kutup

nukleusu ile birleşmesinden ise endosperm oluşmaktadır (Boesewinkel ve Bouman, 1995; Young ve Gallie, 2000). Birleşen üç nukleus haploid olduğundan endosperm de triploid kromozom taşımaktadır. Tohumlu bitkilerin üreme ve yayılma organı olan tohum, perisperm de içerebilmektedir (Bhatnagar ve Sawhney, 1981).

Tohum, olgunlaştıktan ve çevreye yayıldıktan sonra dormansi (uyku hali) olarak adlandırılan bir sürece girmektedir. Dormansi, metabolik hızın çok yavaş, büyüme ve gelişmenin durgun olduğu bir dönemdir. Embriyonun olgunlaşmaması, testanın mekaniksel olarak kuvvetli oluşu, su ya da gazlara geçirgen olmayışı, çimlenme ketvurucularının varlığı gibi iç ya da dış etkenler ile tohumun bir sonraki büyüme mevsimine kadar uygun olmayan koşulların atlatılmasına yardımcı olmak için geçirdiği uyku dönemi dormansidir (Thomas ve diğ. 1973; Mayer ve Mayber, 1982; Bewley, 1997; Finch Savage ve Leubner-Metzger, 2006). Tohum dormansisi olumsuz çevresel koşullarda çimlenmeyi engelleyerek tohumun hayatta kalma şansını artırmaktadır. Bunun yanında, çimlenme sürecinde geçici bir ertelemeye neden olarak tohumun daha uzak mesafelere dağılımında ek bir zaman sağlar. Tohum dormansisi doğada oldukça yaygındır ve doğal populasyonların devamlılıklarını sürdürebilmeleri için son derece önemlidir. Tohum dormansisinin kırılması ışık, sıcaklık ve tohumun içsel gelişiminin tamamlanması gibi ya da çeşitli çevresel faktörler tarafından sağlanabilir ve dormant tohumlar bu faktörlerden bir ya da birkaçına cevap vererek dormansilerini kaybedebilirler (Srivastava, 2002; Taiz ve Zeiger, 2002). Dormansi değişik şekillerde kırılıp ortadan kaldırılabilir. Işık, sıcaklık, yangın, hayvanların sindirimi gibi çevresel faktörler dormansiyi sona erdirebilmektedir. İçsel olarak tohum dormant olabilir, bunun nedeni bitki hormonları olup hücre büyümesini ve çimlenmeyi etkilemektedirler. Bir bitki hormonu olan absisik asit (ABA) dormansiyi uyarmakta, gibberellin ise hem dormansiyi kırıp hem de çimlenmeyi teşvik etmektedir (Raven ve diğ., 2005).

Çimlenme biyolojik anlamda, elverişli koşullarda tohum embriyosundan normal bir bitkiyi meydana getirebilme yeteneğinde olan yapıların ortaya çıkmasıdır. Tohum, çimlenme ve fide aşamasında olumsuz çevre koşullarına karşı son derece duyarlı olup zarar gördüğü takdirde bitki yaşam döngüsü daha başlamadan sona erebilmektedir (Mooring ve diğ., 1971). Tohum gömleğinden su alımı ile radikulanın belirmesi

çimlenme olayının en önemli kriteridir (Bewley ve Black 1994; Önder ve Yentür, 1999). Çimlenme, tohum örtüsünün yarılması ve yeni bitkinin ortaya çıkmasıyla kendini gösteren embriyo büyümesinin başlangıç safhasıdır. Çimlenme sırasında, iç dokuların su alması embriyo büyümesini uyaran enzimleri aktif hale getirmektedir. Kuru tohumda enzim aktivitesi görülmez (Villiers, 1974).

Tohum çimlenmesi, tohumun su alması ile başlayan ve devamında embriyonik eksenin (genellikle radikula) testadan dışarı çıkması ile sonuçlanan bir dizi olaylar olarak tanımlanır (Bewley ve Black, 1994). Tohum çimlenmesinin olabilmesi için kuru ve uyku halindeki tohum, mutlaka su alarak şişmelidir (imbibisyon). Aynı zamanda burada oksijene de gereksinim duyulmaktadır. Öte yandan sıcaklık gereksinimi çok değişkendir. Çimlenme geniş bir sıcaklık aralığında meydana gelebilir. Buna rağmen her bir tür için ortalama bir sıcaklık derecesi ile çimlenme oranının çok düştüğü alt ve üst sıcaklık dereceleri de vardır. Ayrıca bazı tohumlar için ışık miktarı ve kalitesi de çimlenmede büyük önem taşımaktadır. Tohum çimlenmesi dormant haldeki tohum tarafından suyun alındığı evre (I), sonrasında protein sentezinin olduğu evre (II) ve bunu ardışık fide gelişiminin başladığı son evre (III) ile tamamlanan üç evreden meydana gelmektedir. İlk iki evre çimlenme aşamasının başlangıç ve bitiş evreleri olmalarına rağmen son evre fide büyümesinin başladığı evre olarak değerlendirilmektedir. Çimlenme evreleri sırasında önce tohumdaki besin maddeleri yıkılarak büyüyen organlara taşınmakta, sonra da fidelerin kullandığı yedek besin maddeleri dokuların oluşumuna katılmaktadır (Bewley ve Black, 1994; Srivastava, 2002; Kösesakal, 2005).

Radikulanın uzaması ve testadan dışarı çıkması çimlenmenin tamamlandığını göstermektedir. Fide büyümesi çimlenmenin bitmesi ile başlamaktadır. Fide gelişiminde epigeik ve hipogeik olmak üzere iki tip görülmektedir. *Phaseolus vulgaris*, *Lycopersicon esculentum* da olduğu gibi epigeik tipte, hipokotilin uzaması ile kotiledonlar toprak yüzeyinden yukarı doğru çıkarlar ve bir süre sonra fotosentetik hale gelirler. Hipogeik tipte ise hipokotil az uzadığı için kotiledonlar toprak altında kalırlar ve *Vicia faba*, *Zea mays* bitkilerinde görüldüğü gibi epikotilin uzaması ile ilk gerçek yapraklar toprak üzerinde yükselir (Bewley ve Black, 1994; Srivastava, 2002).

Tohum çimlenmesi hem içsel hem de çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Tohumun çimlenmesini etkileyen iç etmenleri olgunlaşmamış embriyolar, mekaniksel olarak dayanıklı ya da geçirgen olmayan testalar ve çimlenme ketvurucuları oluşturmaktadır. Embriyoları ozmotik şok ya da kimyasal teşviklerle uyandırmak mümkün olmaktadır (Plummer ve diğ., 1995). Geçirgen olmayan tohumlarda bu inhibisyonu kaldırmak için testalar çizilmekte ya da bozulmaktadır. Kuru ortamda uzun süre saklama sonucu meydana gelen kabuk çatlama, sıcaklık ve nem değişiklikleri, donma ve tekrar ısınma, nemli bir topraktaki toprak mantarları ve bakterilerin tohum testalarını aşındırarak geçirgenliği artırması doğal koşullarda uzun süreçte gerçekleşmektedir. İç etmenler ortadan kalkınca çimlenmenin gerçekleşebilmesi için su, sıcaklık, ışık ve oksijen gibi koşulların bulunması gerekmektedir. Su, osmoz yolu ile önce tohum örtülerini ıslatmakta böylece su ve gazların geçişini sağlayarak solunumun gerçekleşmesine neden olmaktadır. Ozmotik basıncın artmasıyla dokular turgorunu artırmakta ve hacim artışı meydana gelmektedir. Böylece tohum şişmekte ve bu durum testanın parçalanmasına neden olarak radikulanın dışarı çıkmasını kolaylaştırmaktadır. Çimlenme için diğer gereksinim duyulan sıcaklık isteği türden türe değişmektedir (Simon ve diğ., 1976; Abebe, 1993; Maynard ve Hochmuth, 1997). Optimal koşullardan daha yüksek sıcaklıkta tohumun çimlenememesi termoinhibisyon olarak tanımlanırken, nedeni olarak enzim aktivitelerinin sıcaklıkla değişmesi gösterilmektedir (Nascimento ve diğ., 2000). Bazı tohumlar karanlıkta çimlendikleri halde, bazı tohumlar çimlenmeleri için ışığa gereksinim duymaktadır. Tohumların ışığa karşı oluşan tepkileri kısa süreli ışığa maruz kalmanın etkileri ve uzun süreli ışığa maruz kalmanın etkileri ile meydana gelmektedir. Işık bazı bitkilerin çimlenme güçlerini artırır, bazı tohumlar ışıktaki, bazıları da karanlıkta iyi çimlenmektedir (Shinomura, 1997).

Çimlenmeyi teşvik ediciler arasında; GA, sitokinin, potasyum nitrat, tiyoüre, stigrol, ketvurucular arasında ABA, siyanür, dinitrofenol, hidroksilamin, kumarin, morfaktin, trans-sinamik asit, kafeik asit, ferulik asit, parasorbik asit sayılabilir (Mayer ve Mayber 1982, Srivastava, 2002). Bazı tohumlar meyva içerisinde sulu ortamda bulunmalarına karşı ortamdaki ketvurucu maddeler nedeniyle çimlenememektedir. Elmada mevcut olan amigdalın su ile parçalanmakta, oluşan hidrojen siyanür testanın geçirgen olmamasından dolayı dışarı sızamamakta ve endosperm çürüyene kadar çimlenmeyi önlemektedir (Yentür, 1995).

Tohum çimlenmesi ve erken fide büyümesi, gelecekteki fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri geniş ölçüde yansıtan bir bitkinin hayatındaki ilk olaylardır. Tohum çimlenmesi üzerine Ni nin etkisinin, bitkiye ve ortamdaki Ni konsantrasyonuna bağlı olarak değişebildiği yapılan bazı çalışmalarla gösterilmiştir. 2,0 ppm $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ve NiSO_4 solüsyonlarının *Triticum* danelerinin çimlenmesini hızlandırdığı gözlenmiştir. Düşük seviyedeki $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ in, dormant *Phyllum pratense* tohumlarının çimlenmesini teşvik ettiği, ancak 58,71 ppm Ni iyonunun toksisiteye neden olduğu görülmüştür (Veer, 1988). Ekim öncesinde 2,68 ile 26,3 ppm konsantrasyon aralığında NiSO_4 solüsyonunun uygulanmasının, bezelye (*Pisum sativum*), fasulye (*Phaseolus vulgaris*), buğday (*Triticum*) ve hint yağı (*Ricinus communis*) tohumlarının çimlenmesi üzerine belirgin bir teşvik edici etkisinin olduğu (Underwood, 1971); 26,3 ppm ve daha yüksek konsantrasyonların ise bu tohumların çimlenmesini inhibe ettiği görülmüştür. Düşük konsantrasyondaki NiSO_4 solüsyonlarının *Lupinus albus* bitkisinin çimlenmesi üzerine yararlı etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (Bertrand ve Wolf, 1973).

Singh (1984) tarafından, Ni nin düşük konsantrasyonlarının *Cicer* bitkisinde tohum çimlenmesini teşvik ettiği ileri sürülmüştür. Çimlenme yüzdesi temelinde, Ni ön uygulamasına karşı CV-C 130 kültüvarının CV-H 208'e göre daha dayanıklı olduğu görülmüştür. Tohum çimlenmesi üzerine Ni nin etkisinin, türlere ve ortamdaki Ni konsantrasyonuna bağlı olduğu bu çalışma ile açıkça gösterilmiştir. Tohum çimlenmesi üzerine Ni nin etkilerinin fizyolojisi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. *Oryza* tohumunun çimlenmesi ve fidelerdeki bazı oksidatif enzimlerin aktivitesinin 3 ppm Ni ile teşvik edildiği ortaya çıkarılmıştır (Bushnell, 1966). Welch (1981)'e göre, çimlenmenin Ni tarafından teşvik edilmesinin (Pelosi ve diğ., 1976) üreazın metal bileşeni olarak Ni nin görev almasına dayalı olabileceği rapor edilmiştir.

2.5. NİKELİN BİTKİLERDE METABOLİZMA, BÜYÜME VE GELİŞME ÜZERİNE ETKİSİ

Yüksek bitkiler için nikelin esas element olduğu Brown ve diğ. (1987) tarafından ileri sürülmüş ve bir besin elementi olarak kabul edilmiştir (Gerendás ve diğ., 1999; Sirko ve

Brodzik, 2000; Bloom, 2002; Marschner, 2002). Nikel, Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından gerekli bitki besin elementleri listesine eklenmiştir (Hull, 2003). Ni son zamanlarda, ABD’de Ni gübrelerinin üretimi ve satışı nedeniyle gerekli bir bitki besini olarak tanınmıştır (AAPFCO, 2005).

Simbiyotik azot fiksasyonunun yanı sıra, nitrat/amonyak asimilasyonu içinde Ni nin gerekli olduğu kanıtlanmıştır. Arpada çözünen anyonlar, amino asit ve azot seviyelerinin üzerine nikel eksikliğinin etkileri incelenmiştir. Arpa bitkilerinde nikel eksikliğinin azot metabolizmasının bozulmasına yol açtığı ve arpa kök, gövde ve tanelerinde malat ve çeşitli inorganik anyonların konsantrasyonunu etkilediği sonucuna varılmıştır (Eskew ve diğ., 1984). Nikelin tek azot kaynağı üre olduğu zaman büyümeyi teşvik ettiği, ancak diğer azot kaynakları bulunduğunda etkisinin hafif ya da hiç olmadığı kanıtlanmıştır. Son zamanlarda, azot kaynağı olarak NO_3^- ve NH_4^+ içeren besin solüsyonunda büyüyen *Glycine max* (soya fasulyesi)’ın yaprak uçlarında nekrozların geliştiği gösterilmiştir. Bu nekrotik uçlar %2,5 üre (kuru ağırlık) içermektedir ve kendi azotu için N_2 fiksasyonuna bağlı olan bitkilerde bu nekrozlar daha sık ve daha geniştir (Sengar ve diğ., 2008). Yapılan bu çalışmalara dayanarak, yüksek bitkilerde normal azot metabolizması sırasında ürenin üretildiği ve üreazın bir bileşeni olan Ni nin toksik seviyelerde üre birikimini önlemek için gerekli olduğu ileri sürülmüştür (Dixon ve diğ., 1980a; Dixon ve diğ., 1980b). Görünüşe göre, bitkiler için gerekli olan Ni üre ile birlikte verilmektedir ve üreidler (örn, allantoin) azot metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır (Brown ve diğ., 1990).

Dixon ve diğ. (1980a; 1980b)’nin Ni nin üreaz enziminin önemli bir parçası olduğunu bildirmelerinden bu yana, çeşitli araştırmacılar azot kaynağı olarak sadece üre bulunan ortamlarda büyüyen yüksek bitkiler için, Ni nin gerekli olduğunu göstermişlerdir. Polacco (1976), azot kaynağı olarak sadece üre bulunan süspansiyon kültürlerdeki soya fasulyesi hücrelerinin büyümesinin son derece düşük seviyelerde Ni ye ($0,1 \mu\text{M}$ dan daha az) bağlı olduğunu bildirmiştir.

Yapılan pekçok çalışma, Ni uygulamasının tarım bitkilerinin verimini artırdığını göstermektedir. Mahsul veriminin artışında Ni nin önemi, ilk kez Roach ve Barcloy (1946) tarafından gösterilmiştir. *Pinus* fideleri ile yapılan kültür deneylerinde, Ni nin

büyüme için gerekli bir element olduğu kanıtlanmıştır (Polacco, 1977). *Eragaria* ve *Gossypium* verimindeki artışın, toprağa Ni ilavesi ile olduğu bildirilmiştir (Dixon ve diğ., 1975). Nikel uygulaması, pamuk bitkisinin toprak üstü kısımlarının yanı sıra kök kitlesinide artırmaktadır. Ekim öncesinde 100 ppm konsantrasyonda Ni uygulanmış *Triticum* tohumlarında kök ve gövdenin maksimum büyüme gösterdiği ancak konsantrasyonun 250 ppm den yüksek olduğu durumda büyümenin genellikle inhibe edildiği bulunmuştur (Tsui, 1955). Paprika (*Capsicum frutescens* L.) ve domates (*Lycopersicon esculentum* L.) bitkilerinin büyüme ve gelişmesinin, $1 \mu\text{g L}^{-1}$ den daha az konsantrasyonda Ni uygulaması ile teşvik edildiği, $1 \mu\text{g L}^{-1}$ den daha yüksek konsantrasyonların ise bu bitkiler için toksik olduğu rapor edilmiştir (Pais ve diğ., 1970). Ni uygulamaları soya fasulyesi verimini de artırmaktadır (Brown ve diğ., 1990). Patel ve diğ. (1976), *Ephedra nevadensis* veriminin çöl toprağına 250 ve 500 mg.kg^{-1} Ni uygulaması ile arttığını ve *Ambrosia dumosa andersonii* ve *Larrea tridentata*'ya göre Ni nin yüksek konsantrasyonlarına karşı daha toleranslı olabildiği gösterilmiştir.

Pamuk bitkisine sprej olarak $235 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni nin NiSO_4 solüsyonu şeklinde verildiğinde, tomurcuk ve çiçek sayısı ile koza oluşumu arasında bir artışa neden olduğu görülmüştür (Andreeva ve diğ., 2001). Etiyole bezelye bitkisinin hipokotil kısımlarının ışığa duyarsız büyümesi de Ni tarafından teşvik edilmektedir (Brown ve diğ., 1990). Bazzaz ve diğ. (1974) Ni nin, *Helianthus annuus* hipokotilinin uzamasını ve taze ağırlığını önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Gordon ve diğ. (1978), *Lemna paucicostata* bitkilerini tek azot kaynağı olarak üre bulunan ortamda büyütmüşler ve $2 \mu\text{M}$ 'ın üzerindeki seviyelerde Ni sülfat ilavesinin büyümeyi önemli ölçüde teşvik ettiği ve $50 \mu\text{M}$ Ni sülfatın vejetatif büyüme oranını iki katına çıkardığı görülmüştür. Nikelin aynı zamanda dane olgunlaşması ve bitki senesensinde de temel fonksiyonlara sahip olabildiği rapor edilmiştir (Brown ve diğ., 1987). Bu çalışmalar, Ni nin yüksek bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi üzerinde önemli etkilerinin olduğunu göstermektedir.

2.6. NİKEL TOKSİSİTESİ VE İNSAN SAĞLIĞINA ETKİLERİ

Nikel içeren ürünlerin fazla tüketimi, nikel ve bileşiklerinin üretimi, kullanımı ve geri kazanımında oluşan çevre kirliliği kaçınılmazdır. İnsanlar nikel, solunum yoluyla, ağız yoluyla, içme suyuyla, bazı gıdaların tüketimiyle ya da sigara içilmesiyle maruz kalabilmektedirler. Bu kirlilik, nikelin deriyle temasından oluşan nikel alerjisi, akciğer kanseri, gırtlak kanseri ve böbrek hastalıkları gibi önemli rahatsızlıklara yol açmaktadır (Kasprzak ve diğ., 2003). İnsanda nikel zararlarının görülebileceği hedef bölgeler, nefes alma ile maruziyet sonucu soluk borusu, yine nefes alma ve ağız yoluyla maruz kalma sonucu üreme sistemi ve gelişmekte olan organizma, nefes alma, ağız ve deri teması sonucu bağışıklık sistemidir (Denkhaus ve Salnikow, 2002; ATSDR, 2003).

Nikelin organik formu, inorganik formundan daha zehirleyicidir. Deriyi tahriş etmesinin yanında kalp-damar sistemine çok zararlı ve kanserojen bir metaldir. Zararlı etkilerine rağmen nikel ve tuzlarıyla zehirlenme nadir rastlanan bir vakadır. Nikel yakıtların yanması, madencilik ve rafinasyon işlemleri ve kentsel atıkların küllleştirilmesi ile atmosfere yayılmaktadır. Bunun yanı sıra lağım çamuru karışmış toprakta ve sigarada (0-0,51 $\mu\text{g/sigara}$) bulunmaktadır. Derideki etkileşim nikel içeren takı kullanımında ortaya çıkabilmektedir. Nikel madenciliği ve ergitme endüstrisinde mesleki maruziyet görülmektedir. Kimyasal endüstride ise nikel elektrolitik olarak kaplamada kullanılmaktadır (Denkhaus ve Salnikow, 2002; Kahvecioğlu ve diğ., 2004).

Metalik toz halindeki nikel ve nikelin kimyasal bileşikleri kanser yapıcı maddeler sınıflandırılmasında A₁ (kanserojen) kategorisinde yer almaktadırlar. Solunabilir boyuttaki nikel tozları için TRK (Teknik Standart Konsantrasyon) değeri 0,5 mg/m^3 olarak belirlenmiştir. Nikelin toksikolojik etkileri temel olarak 3 grupta incelenebilmektedir (Emre, 2000). Bunlar, kanserojen etki, solunum sistemine etki ve dermatolojik (alerjik) etkidir. Nikel bileşikleri için çalışma yerlerinde toz olarak havada izin verilen değerler; nikel bazında 0,015 mg/m^3 (TWA-8 saat) iken nikel karbonil için 0,007 mg/m^3 (TWA-8 saat)'dür. Metalik nikel için TWA değeri 1 mg/m^3 ve soluma durumunda TLV değeri 1,5 mg/m^3 'dür (Kahvecioğlu ve diğ., 2004).

Besin olarak toplam nikel alımı, hayvan yiyecekleri ya da bitkilerin tükettikleri miktarlara bağlıdır. Günlük nikel alımının yaklaşık yarısı ekmek, içecek ve tahılların tüketilmesiyle olmaktadır. Günlük tüketilen besinlerin toplam 150 µg dan az nikel içermesi tavsiye edilmektedir. İngiltere’de günlük değer; yetişkinler için 140-150 µg, çocuklar için 14-250 µg, A.B.D’de 69-162 µg, ve Danimarka’da ortalama 130 µg’dır (W.H.O., 1996).

Nikel bileşiklerinin tozlarının (Ni oksit, Ni sülfür, Ni karbonat) solunumla alınması akciğer kanserine neden olabilir. Kömür (10-50 mg Ni/kg), petrol (49-345 mg Ni/kg) ve Ni içeren benzinlerin yanması sonucu meydana gelen nikel karbonil de kısmen kanserojen etkili madde özelliği taşımaktadır (Özbek ve diğ., 1993).

Dış ortam havasındaki nikel derişimi 10-20 ng/m³, günlük solunum kapasitesi 20 m³ kabul edilirse, bir insanın günlük olarak aldığı nikel miktarı kırsal bölgede 0,2 µg, kent havasında 0,4 µg olarak hesaplanır. Tütün kullanımı bu miktarı artırır. Günde iki paket sigara içen bir kişinin günde 3-15 µg nikel alması olasıdır. Solunum yolu ile günlük olarak alınabilecek nikel miktarı 0,05-5 mg limitleri arasında değişim gösterir. Nikelin akciğerlerden emilimi hızla gerçekleşir ve akciğerlerde biriken partiküller yine buradan absorbe edilir (Home Personalisation Discussions Search Site Map, 2002). İçilen suda 5 µg nikel varsa bu sudan 2 L tüketen bir kişinin günlük alabileceği nikel miktarı 10 µg dır. Genelde bitkisel besinler, hayvansal besinlerden daha fazla miktarda nikel içerir. Absorbe olan nikel ilk önce kan dolaşımına geçer. Normal şartlarda insan vücut sıvılarındaki nikel miktarı kanda 4,5 µg/kg, idrarda 2,7 µg/kg, akciğerde 7,4 µg/kg, böbrekte 13,6 µg/kg olarak belirlenmiştir. Emilen nikelin bir kısmı da saçta birikir. Fizyolojik stres ve çeşitli hastalıklar, nikel metabolizma kinetiğini etkiler (Home Personalisation Discussions Search Site Map, 2002).

Dünya Sağlık Örgütü (W.H.O.)’ne göre çeşitli hayvan ve bitki türlerinin yaşam süreçlerinde önemli bir eser element olan nikelin insanlardaki eksikliği ile oluşacak belirtiler hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Absorbe olan nikelin atılması en fazla idrarla olmaktadır. Bunun yanı sıra salya ve ter ile de atılım meydana gelmektedir. Emilmeyen nikel, gastrointestinal sistemden gaita ile atılmaktadır. Nikelin biyolojik yarılanma ömrünün 17-53 saat olduğu belirlenmiştir (Doğan, 2002).

Havadaki nikel bileşiklerinin solunması sonucunda, solunum savunma sistemi ile ilgili olarak trakea tahrişi, immünolojik değişim, alveoler makrofaj hücre sayısında artış, silia aktivitesi ve immünite baskısında azalma gibi anormal fonksiyonlar meydana gelmektedir (Fort ve diğ., 1998). Deri yolu ile absorpsiyonu sonucunda allerjik deri hastalıkları ortaya çıkmaktadır. Havada bulunan nikel uzun süreli karşılaşmanın insan sağlığına etkileri hakkında güvenilir kanıtlar saptanamamışsa da; nikel işinde çalışan insanlarda astım, burun ve gırtlak kanserlerine neden olduğu kanıtlanmıştır (Denkhaus ve Salnikow, 2002; Home Personalisation Discussions Search Site Map, 2002).

Bu tez çalışmasında, ülkemiz ve dünya ekonomisi için büyük öneme sahip olan ve son yıllarda tüketimi oldukça artan *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) bitkisi üzerine nikelin etkileri araştırılacaktır. Bu çalışmanın başlıca amacı, Ni nin brokoli bitkisinin tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi üzerine olan fizyolojik etkilerini saptamak ve bu bitkinin çeşitli organlarındaki nikel birikimlerini belirlemektir. Böylece Ni ve brokolinin, çevre ile insan sağlığı açısından güvenle tüketilebilirliğinin ortaya konması amaçlanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. BİTKİ MATERYALİ VE ÖZELLİKLERİ

Bu çalışmada deney materyali olarak, sistematik tanımlaması aşağıda gösterilen May tohum firmasından (Bursa) elde edilen Jade F1 kodlu *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) tohumları kullanılmıştır. Jade F1 çok erkenci hibrit brokoli çeşididir. Başlar koyu yeşil renkli ve sıkı yapıdadır. Başların ortalama ağırlığı 500-600 g dır. Taze pazar ve derin dondurma için uygun bir çeşittir (Doğrucan, 2005). Brokoli bitkisinin deney materyali olarak seçilmesinde; ekonomik değerinin yüksek olması, kolay yetiştirilmesi, epigeik çimlenme özelliği göstermesi, su kültürü (hidroponik kültür) çalışmalarında yetiştirilmeye elverişli olması, nikel uygulaması sonucunda meydana gelen fizyolojik değişimlerin kolay izlenebilmesi ve brokolide nikel birikimi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olması etken olmuştur.

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)

Bilimsel sınıflandırma

Familiya: Brassicaceae

Cins: *Brassica*

Tür: *Brassica oleracea* L. var. *italica*



Şekil 3.1: Brokoli bitkisinin genel görünümü

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Brassicaceae familyasının bir üyesidir. Brokoli gelişmiş ülkelerde geniş alanlarda yetiştiriciliği yapılan ve tüketiciler tarafından çok sevilen bir sebze olarak bilinmektedir (Vural ve diğ., 2000). Nieuwhof (1969) ve Titley (1987), çeşitleri; erkenci, orta ve geçici olarak gruplandırmaktadır. Bu şekildeki sınıflandırmada; 75-80 günlük bir gelişme döneminde hasadı yapılan çeşitler erkenci, 90 günlük bir gelişme döneminde hasadı yapılan çeşitler orta mevsim ve 100-105 günlük bir gelişme periyodunda olgunlaşan çeşitler ise geçicidir ve kış yetiştirme döneminde olgunlaşarak hasat edilebilen çeşitlerdir.

Çeşitlerin karakterize edilmesinde bitki boyu, yaprak ve tomurcuk rengi, çiçek tomurcukları ve kümelerinin büyüklüğü, taçların sertliği gibi özellikler kullanılmaktadır. Bazı çeşitler büyük bir ana taç ve az sayıda yan taç oluştururken, bazıları küçük bir ana taç ve çok sayıda yan taç oluştururlar. Küçük ana taç ve çok sayıda yan koltuk oluşturan çeşitler erkenci, orta erkenci çeşitlerdir. Sıcak yaz ayları brokoli yetiştiriciliğine pek uygun olmadığından erkenci çeşitler kullanılmaktadır. (Nieuwhof, 1969). Hill (1989) tarafından, brokoli çeşitlerinin yetiştirme yerlerine göre, dikiminden hasadına kadar geçen gün sayısının 59-74 gün arasında değiştiği bildirilmiştir.

Ülkemizde kışlık sebzeler arasında yer alan brokoli son yıllarda üretimi ve tüketimi hızla artan bir lahanagil sebzesi türüdür. Birçok yerde karnabahara benzetilmekte ve karnabahar azmanı olarak bilinmektedir. Brokoli üretimi ülkemizde son yıllarda artmaya başlamıştır. Bu nedenle yeni yeni tanınmaya ve kullanılmaya başlayan bir sebzedir. Anavatanının Akdeniz bölgesi olduğu kabul edilmektedir. Yeşil renkli gelişmemiş çiçek taslakları oluşturan brokoli çeşitlerine calabrese adı verilmektedir. Calabrese sözcüğü İtalya'da bir bölgenin adı olup birçok araştırmacı, brokolinin anavatanının İtalya olduğunu bildirmektedir. Brokoli içerdiği yüksek protein, A ve C vitamini içeriği bakımından önemli bir besin değerine sahiptir. Özellikle yenilen yeşil sürgünleri C vitamini yönünden zengindir. Nitekim 100 g taze ağırlıkta 118 mg kadar C vitamini bulunmaktadır. Tohumlar şekil ve renk bakımından lahana ve karnabahar tohumlarına benzemekte ve normal koşullarda çimlenme güçlerini 5 yıl muhafaza edebilmektedirler. Optimum çimlenme sıcaklığı 20°C'dir. Tohumlar optimum koşullarda 3-4 günde çimlenerek toprak yüzeyine çıkarlar (Anon., 2009).

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) tohumları çimlenme ve gelişmelerinin her aşamasında nikelin (NiSO_4) değişen konsantrasyonlarını içeren Hoagland besi çözeltileri (Hoagland ve Arnon, 1938) ile muamele edilmiştir (Tablo 3.1). Deneylerde kullanılan Ni konsantrasyonları ön denemelerden sonra belirlenmiştir. 100 μM Ni den daha yüksek konsantrasyonlarda tohum çimlenmesinin inhibe edildiği gözlenmiş ve bu nedenle deneylerde kullanılan NiSO_4 konsantrasyonları 0,01, 0,1, 1, 10 ve 100 μM olarak uygulanmıştır (Tablo 3.2). Nikel içermeyen Hoagland besi çözeltisi kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol için seçilen Hoagland çözeltisi, bitkilerde nikelin etkilerinin daha kolay gözlenebilmesi için $\frac{1}{2}$ oranında seyreltilmiştir.

Brokoli tohumları %2-3 sodyum hipoklorit çözeltisinde 5 dakika steril edildikten sonra üç kez distile sudan geçirilmiştir. Tohumlar, kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 ortamlarında 24 saat imbibisyona bırakılmıştır. İmbibisyon ortamlarından alınan tohumlar deney besi çözeltileri ile ıslatılarak (10 ml) nemlendirilmiş çift katlı filtre kağıtları üzerine transfer edilmiştir. Tohumlar 14 cm lik her bir petriye 30'ar tane olmak üzere 1,5 cm aralıklarla ekilmiştir. Her bir konsantrasyon için 5 tekrar yapılmış ve ekim işleminden sonra deney serilerine 2 günde bir 5 ml distile su ilave edilmiştir. Petriler 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotlarında $20 \pm 1^\circ\text{C}$ de ve 8000 lux ışık şiddeti koşullarındaki büyüme odasına yerleştirilmiştir.

Tablo 3.1: Hoagland çözeltisinin içeriği. Tabloda görülen mineral tuzlardan aşağıda belirtilen miktarlarda alınarak son hacim deiyonize su ile 1000 ml ye tamamlanmıştır.

Mineral tuzlar	Konsantrasyon (M)	1 L için alınacak miktar (ml)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1 M	5
KNO_3	1 M	5
MgSO_4	1 M	2
KH_2PO_4	1 M	1
$\text{FeEDTA}^{(*)}$	0,1 M	2
Mikro elementler	Bakınız ^(**)	1

(*) FeEDTA (etilen diamin tetra asetik asitin Fe kompleksi) stok çözeltide 5 mg/ml Fe içerecek şekilde hazırlandı.

(**) Mikro elementleri içeren stok çözeltinin 1 litresinde bulunan mineral tuzlarının miktarları: 2,86 g H_3BO_3 , 1,81 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1,1 g ZnCl_2 , 0,05 g CuCl_2 , 0,025 g Na_2MoO_4 .

Tablo 3.2: Nikel konsantrasyon serileri.

Bitkilere uygulanan nikel	Konsantrasyon (μM)	1 L için alınacak miktar (g)
$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^*$	0,01 μM	$2,628 \cdot 10^{-6}$
	0,1 μM	$2,628 \cdot 10^{-5}$
	1 μM	$2,628 \cdot 10^{-4}$
	10 μM	$2,628 \cdot 10^{-3}$
	100 μM	$2,628 \cdot 10^{-2}$

(*) Nikel serileri tabloda belirtilen miktarlarda $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartılarak $\frac{1}{2}$ oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltileri içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

3.2. ÇİMLENME YÜZDESİ

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 ortamlarında 24 saat imbibisyona bırakılan ve daha sonra petrilere aktarılan brokoli tohumlarından kontrol grubunun çimlenmeleri sabit kalana kadar (1. günden 5. güne kadar) günlük olarak izlenmiş ve çimlenme oranları yüzde olarak ifade edilmiştir. Radikulanın testadan dışarı çıkması çimlenme kriteri olarak alınmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda çimlenme yüzdesinin 5. günden sonra değişmediği saptanmıştır. Bu nedenle tohum çimlenmesi 5 gün süreyle izlenmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir.

3.3. BİTKİ BÜYÜMESİ

Su kültürü deneyleri için kurulan düzenekte % 2-3 sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 dakika boyunca yüzey sterilizasyonuna tabi tutulup distile sudan geçirilen tohumlar $\frac{1}{2}$ Hoagland besi suyu ile ıslatılmış perlit ortamına ekilerek $\frac{1}{2}$ Hoagland besi çözeltisi (Hoagland ve Arnon, 1938) ile sulanmıştır. 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotlarda $20 \pm 1^\circ\text{C}$ de 8000 lux ışık şiddeti koşullarındaki büyüme odalarına yerleştirilmiştir. Çimlenme gününden itibaren perlitte 15 gün tutulan ve hemen hemen birbirine yakın boylarda olan fideler $\frac{1}{2}$ Hoagland besi çözeltisi içeren 7 lt lik su kültürü kaplarına yani hidroponik ortama alınmıştır. 7 gün boyunca hidroponik ortamda

büyütülen bitkiler içinden eşit büyüme evresinde olan örnekler uygulama yapılmak üzere seçilerek kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinin bulunduğu 1 lt'lik polietilen kaplara transfer edilmiştir. Deney süresince su kültürü kaplarında akvaryum motorlarıyla düzenli olarak havalandırma sağlanmıştır. Transpirasyon ve buharlaşma sonucu eksilen besi çözeltilerinin hacimleri günlük distile su ilavesi ile sabit tutulmaya çalışılmıştır. Besi suyundaki madde konsantrasyonlarının fazla değişmesine olanak vermemek için her hafta kaplarda bulunan besi suyu tamamen yenilenmiştir. 30 gün boyunca yetiştirilen brokoli bitkisine Ni uygulaması, her 1 lt'lik polietilen kaba bir bitki olacak şekilde yapılmıştır. Her deney kabı için toplam hacmi 1 lt olacak şekilde hazırlanan $\frac{1}{2}$ Hoagland besi çözeltisine, NiSO_4 çözeltisinden hesaplanan miktarlarda metal ilavesi yapılarak farklı konsantrasyonlarda uygulama ortamı hazırlanmıştır (Tablo 3.2). Ni uygulanmayan kontrol bitkileri için $\frac{1}{2}$ Hoagland besi çözeltisi uygulama ortamı olarak kullanmıştır. 7 günlük metal uygulamasının sonunda kontrol ve deney bitkilerinin, kök, hipokotil, gövde uzunluğu, taze ve kuru ağırlıkları ölçülen fidelerde total klorofil, total protein miktarı, peroksidaz enzim aktivitesi ve MDA analizleri yapılmıştır. Aynı zamanda ICP-MS cihazında kök, hipokotil, gövde, kotiledon ve yapraktaki Ni birikimine bakılmıştır.

3.4. KÖK VE HİPOKOTİL UZUNLUĞUNUN ÖLÇÜLMESİ

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 ve 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları milimetrik taksimatlı cetvel kullanılarak ölçülmüştür.

3.5. TAZE VE KURU AĞIRLIK MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen fideler darası önceden belirlenmiş alüminyum folyo üzerinde tartılarak taze ağırlıkları alındıktan sonra 80°C etüvde ağırlık sabit kalıncaya kadar (3-4

gün) bekletilerek kuru ağırlıkları tespit edilmiştir (Okatan ve diğ., 1981). Taze ve kuru ağırlık miktarları “g” cinsinden ifade edilmiştir.

3.6. KLOROFİL VE KAROTİNOİD TAYİNİ

Klorofil ve karotinoid tayini yapılacak olan bitki kısımlarının (kotiledon ve yaprak) taze ağırlığı alınarak bir miktar CaCO_3 tozu ile %90 aseton içeren havan içerisinde ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstreler 24 saat boyunca $+4^\circ\text{C}$ de bekletildikten sonra 3000 g de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra supernatantların spektrofotometrede 630, 645, 665, 480 ve 750 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri belirlenmiştir (Parsons ve Strickland, 1963). Bu değerlerin birim taze ağırlıktaki klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotinoid içerikleri hesaplanmıştır. Klorofil ve karotinoid miktarları “ $\mu\text{g/g.T.A.}$ ” olarak ifade edilmiştir.

3.7. TOTAL PROTEİN MİKTARI TAYİNİ

Bitki kısımlarındaki total çözünebilir protein miktarının kantitatif tayini için Bradford (1976) metodu kullanılmıştır. Taze ağırlığı alınan materyal 3 ml 0,1 M, pH 7,0 sodyum fosfat tamponunda soğuk havanda ekstre edilmiştir. Ependorf tüplere alınan homojenatlar 13.000 devir/dakika 30 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj sonunda suda çözünen proteinleri içeren üst sıvı (supernatant) alınmıştır. Daha önce Coomassie Brilliant Blue G-250 ile hazırlanan Bio-Rad, $\frac{1}{4}$ sulandırılarak 5 ml sinin içerisine 0,1 ml supernatant konulmuştur. Blank için 5 ml tampona 0,1 ml distile su uygulaması yapılarak örnekler ve blank karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin 595 nm dalga boyundaki absorpsiyonu spektrofotometrede ölçülmüştür. Elde edilen absorpsiyon değerleri önceden hazırlanan bovine serum albumin (BSA) protein standartına göre hesaplanarak total çözünebilir protein miktarı belirlenmiştir. Stok BSA protein standartı hazırlamak için 10 mg/ml olacak şekilde BSA tartılarak distile suda çözülmüştür. Stok çözeltiden distile su ile

solandırma yapılarak mililitresinde 8, 6, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 ve 0,1 mg BSA bulunan solüsyonlar elde edilmiştir. Bu solüsyonlardan $\frac{1}{4}$ sulandırılan Bio-Rad içerisine (5 ml tampona) 0,1 ml konularak karanlıkta 20 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır. Bulunan absorpsiyon değerleriyle bir standart hazırlanmış ve deneylerde total çözünebilir protein miktarını belirlemek için bu standart kullanılmıştır. Total protein miktarı “ $\mu\text{g/ml}$ ” türünden ifade edilmiştir.

3.8. PEROKSİDAZ (POD) AKTİVİTESİNİN SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ

Taze ağırlığı alınan materyal protein izolasyonunda anlatıldığı şekilde sodyum fosfat tamponu (pH 7,0) ile ekstraksiyon yapılarak santrifüj edilmiştir. POD aktivitesinin belirlenebilmesi için 0,1 M sodyum fosfat tamponu üzerine 5 mM H_2O_2 ve 15 mM guaiakol ilave edilmesi ile tampon taze olarak hazırlanmıştır. POD aktivitesinin spektrofotometrik ölçümü için bu tamponun 1 ml sine 100 μl enzim ekstraktı konulmuş ve 10 saniye aralıklarla 2 dakika boyunca 470 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır (Shimadzu UV-1601) (Birecka ve diğ., 1973). Elde edilen absorbans değerlerine göre POD enzim aktivitesi “ $\Delta\text{A/g.T.A.dk.}$ ” cinsinden ifade edilmiştir.

3.9. LİPİT PEROKSİDASYONUNUN ÖLÇÜLMESİ

Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehid (MDA) gibi ürünlerin ölçümü Heath ve Packer (1968) yöntemine göre yapılmıştır. Kök, gövde ve yaprak kısımlarının taze ağırlıkları yaklaşık 100 mg olacak şekilde alındıktan sonra 2 ml %5 trikloroasetik asit (TCA) içeren soğuk havanda homojenize edilmiştir. Ekstraktlar 10000 rpm de 15 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilmişlerdir. Eşit hacimlerde alınan 1 er ml supernatant üzerine 4 ml %0,5 tiyobarbitürik asit (TBA) içeren %20 TCA eklenmiş, karışım 96°C de 30 dakika inkübe edildikten sonra çok hızlı bir şekilde buz banyosunda soğutulmuş ve 10000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatantların absorbansı

532 nm de ölçülmüştür. Herhangi bir bulanıklıktan kaynaklanan ölçüm değerlerinin elimine edilmesi amacıyla 600 nm deki absorbans alınarak önceki absorbanstan çıkarılmıştır. %0,5 TBA içeren %20 TCA çözeltisi kör olarak kullanılmıştır. MDA içeriğinin tespiti için kullanılan molar soğurma değeri $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ dir. Lipit peroksidasyon ürünleri bu şekilde MDA yöntemiyle ölçülerek sonuçlar “nmol MDA g⁻¹ taze ağırlık” olarak ifade edilmiştir.

$$\text{MDA (nmol MDA g}^{-1} \text{ T.A.)} = \frac{(A_{532} - A_{600}) / (155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1})}{\text{Taze yaprak ağırlığı (mg)}} \times 10^6$$

3.10. NİKEL ANALİZİ

Büyüme odasında hidroponik ortamda kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 uygulanarak yetiştirilen 9 ve 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki nikel miktarının saptanması için EPA (1994) metodu kısmen değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Kuru olarak muhafaza edilen parçalara ayrılmış bitki numuneleri porselen havanda ezilerek metal içeriğinin homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. 1 g kuru ağırlık olarak alınan numuneler 2 ml %65 lik HNO_3 (parçalama işlemi için) ve 1 ml H_2O_2 (numuneyi berrak hale getirebilmek için) ile çözünme işlemine tabi tutulmuştur. ICP-MS katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, hassas ve doğru biçimde, niteliksel, niceliksel ya da yarı-niceliksel olarak ölçülmesine olanak sağlayan ileri teknoloji ürünü bir elementel analiz tekniğidir. Teknik elektromanyetik indüksiyonla 6000–10000 K sıcaklığa ulaştırılan argon plazması tarafından örneğin iyonize edilmesi; iyonize elementlerin karakteristik dalga boyunda yaydığı ışığa göre ayrıştırılması ve element derişimlerinin standartlara karşı kalibre edilerek bulunması aşamalarını içermektedir. Kolay iyonlaşabilmesi ve inert olması nedeniyle, ICP tekniğindeki plazma, argon gazı ile oluşturulmaktadır. Numunelerdeki Ni birikim miktarı “mg/kg kuru ağırlık” olarak ifade edilmiştir.

3.11. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR

Bu araştırmada yapılan deneyler en az üç tekrar şeklinde yapılmış olup, standart sapmalar aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen tüm ölçümleri istatistiksel olarak anlamlandırmak için Student's t-testi uygulanmıştır. $p < 0,0001$ ve $p < 0,05$ düzeyindeki farklılıklar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

$$\bar{X} = \sum X_i / N$$

$\bar{X}$: Aritmetik ortalama

$\sum X_i$: Değerlerin toplamı (birinciden N.'ye kadar değişkenin bütün değerlerinin toplamı)

N: Tekrarlanan deney sayısı

$$s = \sqrt{\sum X_i / N}$$

s: Standart sapma

X_i : Sapma değeri

Standart Hata: $s / \sqrt{N}$

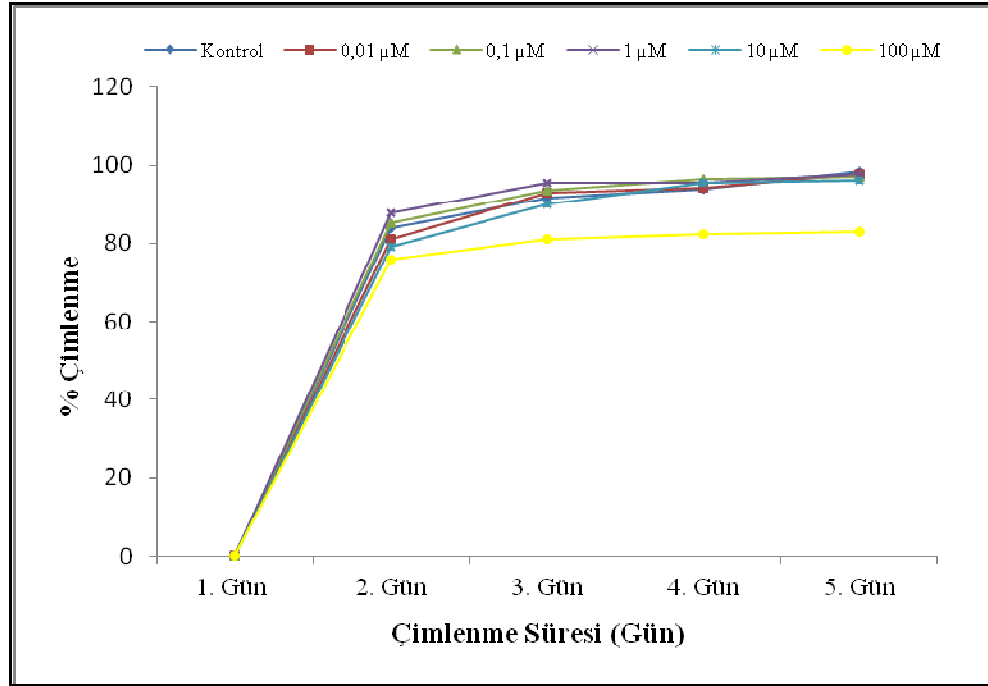
4. BULGULAR

4.1. ÇİMLENME YÜZDESİ

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltileri içerisinde oda sıcaklığında 24 saat imbibisyona bırakılan brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) tohumları, deney besi çözeltileri ile ıslatılmış filtre kağıdı bulunan petri kaplarına transfer edilerek $25\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta büyüme odalarında çimlenmeye bırakılmışlardır. Kontrol ve değişen NiSO_4 konsantrasyonu içeren petrilere 1. günde çimlenme meydana gelmediği ve bütün petrilere çimlenmenin 2. günden itibaren başladığı izlenmiştir. Kontrol grubunda çimlenme oranının 5. günde %98,46 olduğu ve çimlenme yüzdesinin maksimum değere ulaştığı görülmüştür. 0,01, 0,1 ve 1 μM Ni içeren besi çözeltilerindeki tohumların çimlenme yüzdeleri kontrol grubuna yakın bulunmuş olup artan Ni konsantrasyonları ile birlikte tohumların 5. günde çimlenme yüzdesinin azaldığı görülmüştür. En düşük çimlenme yüzdesinin 100 μM Ni konsantrasyonunda olduğu ve 5. günde çimlenmenin %82,91 oranında kaldığı görülmüştür. Çimlenme sonuçları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM Ni içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli tohumlarının çimlenme yüzdeleri.

Günlere Göre Çimlenen Ortalama Tohum Yüzdesi (%)					
Seriler	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
Kontrol (H)	0	83,84	91,53	93,84	98,46
0,01 μM	0	80,98	92,95	94,36	97,88
0,1 μM	0	85,21	93,66	96,47	97,18
1 μM	0	87,76	95,68	95,68	97,84
10 μM	0	79,23	90,00	95,38	96,15
100 μM	0	75,94	81,01	82,27	82,91



Şekil 4.1: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100µM Ni içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli tohumlarının çimlenme yüzdeleri.

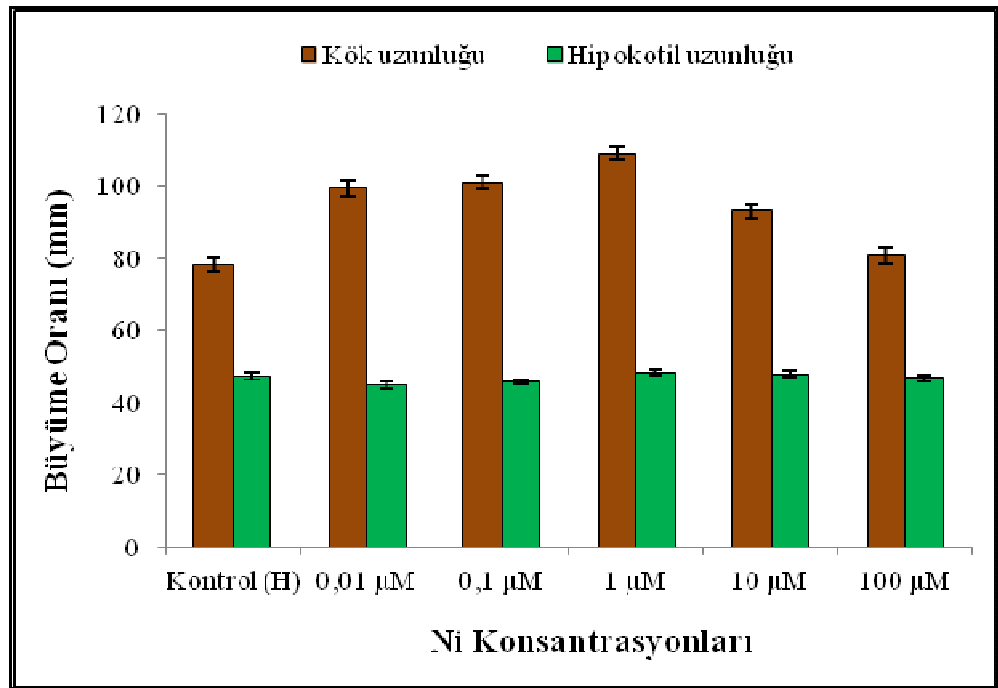
4.2. BİTKİ BÜYÜMESİ

İmbibisyonu ardışık olarak 9. güne kadar kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltileri içerisinde çimlendirilen ve yetiştirilen brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) fidelerinin 9. gündeki kök ve hipokotil uzunlukları milimetrik taksimatlı cetvel kullanılarak ölçülmüştür. Kök uzunluğu ölçümünde primer kökler kullanılırken; hipokotil uzunluğu kökün bittiği yer ile kotiledonların çıktığı kısım olarak ifade edilmiştir. Tablo 4.2 ve Şekil 4.2’de, 9. gündeki genel görünimleri ise Şekil 4.3’te gösterilmiştir.

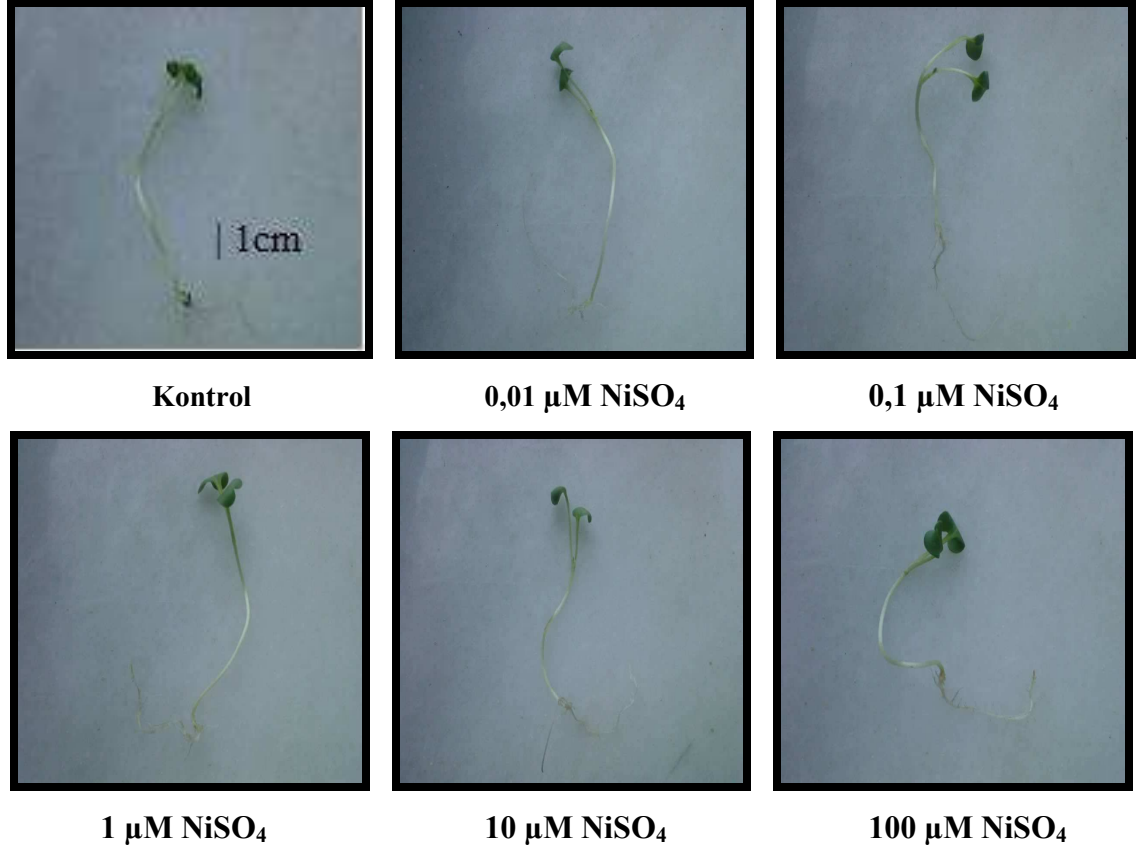
Tablo 4.2: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları (mm) ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Kök uzunluğu (mm)	Hipokotil uzunluğu (mm)
Kontrol (H)	78,25 $\pm$ 1,71	47,33 $\pm$ 0,87
0,01 μM	99,16 $\pm$ 2,25 ^a	44,73 $\pm$ 0,97 ^a
0,1 μM	100,85 $\pm$ 1,82	45,64 $\pm$ 0,73
1 μM	108,86 $\pm$ 1,75 ^a	48,31 $\pm$ 0,65 ^a
10 μM	92,88 $\pm$ 2,02 ^b	47,85 $\pm$ 0,83 ^b
100 μM	80,60 $\pm$ 2,20 ^b	46,68 $\pm$ 0,91 ^b

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.2: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları (mm).



Şekil 4.3: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin genel görünüşleri.

9 günlük brokoli fidelerinde kontrole kıyasla bütün konsantrasyonların kök büyümesini teşvik ettiği görülmüş ve bu büyümenin en fazla %39 oranı ile 1 µM NiSO₄ içeren besi ortamında yetişen fidelerde olduğu belirlenmiştir. 0,01, 0,1 ve 100 µM NiSO₄ içeren besi ortamında çimlenen tohumların hipokotil uzunluklarının ise, kontrole göre az bir oranda inhibe edildiği görülmüştür. En fazla artışın %48,31 oranı ile 1 µM konsantrasyonda meydana geldiği tespit edilmiştir. Değişen Ni konsantrasyonları ile azalan hipokotil uzunlukları 0,01 µM NiSO₄ uygulamasında en az değeri vermiş ve kontrole göre %5'lik bir azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1 ve Şekil 4.2). Ayrıca 100 µM NiSO₄ den daha yüksek konsantrasyonlarda tohumlar çimlense bile, hipokotil ve kök büyümesi izlenememiş ve bitkilerin öldükleri görülmüştür.

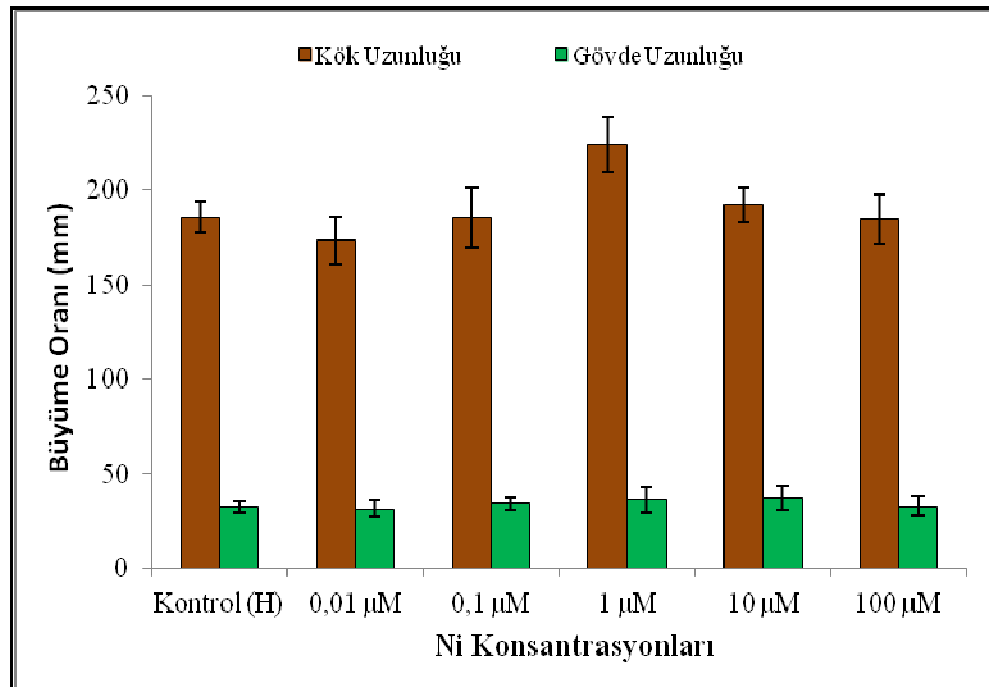
Çimlenme gününden itibaren 15 gün boyunca perlit ortamında büyütülen brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) fideleri daha sonra ½ Hoagland besi çözeltisi içeren ve akvaryum motoru ile havalandırılan 7 lt'lik su kültürü kaplarına aktarılmıştır. 7 gün

boyunca hidroponik ortamda büyütülen bitkiler içinden eşit büyüme evresinde olan örnekler seçilerek, kontrol, 0,01, 0,1, 1, 10 ve 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinin bulunduğu 1 lt lik polietilen kaplara transfer edilmiştir. Brokoli fidelerinin 30. gündeki kök ve gövde uzunlukları milimetrik taksimatlı cetvel kullanılarak ölçülerek Tablo 4.3 ve Şekil 4.4’de, 30. gündeki genel görünüşleri ise Şekil 4.5’te gösterilmiştir.

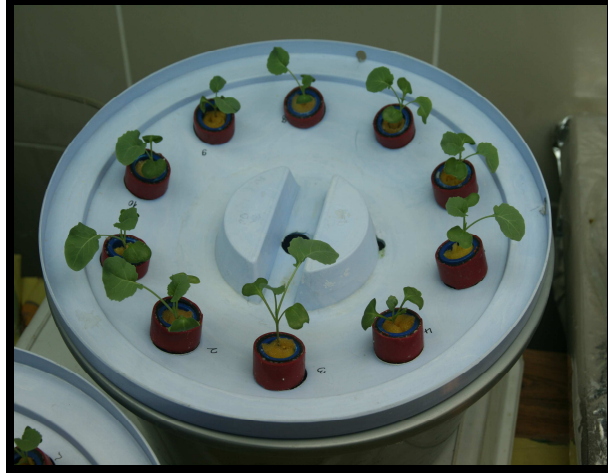
Tablo 4.3: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve gövde uzunlukları (mm) ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Kök uzunluğu (mm)	Gövde uzunluğu (mm)
Kontrol (H)	185,60 $\pm$ 8,08	32,53 $\pm$ 3,04
0,01 μM	173,27 $\pm$ 12,27 ^b	31,25 $\pm$ 4,37 ^b
0,1 μM	185,53 $\pm$ 16,17	34,15 $\pm$ 3,50
1 μM	224,00 $\pm$ 14,74 ^a	36,00 $\pm$ 6,41
10 μM	192,00 $\pm$ 9,44	37,20 $\pm$ 6,54 ^b
100 μM	184,63 $\pm$ 12,79	32,72 $\pm$ 5,17

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.4: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları (mm).



Şekil 4.5: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin uygulama öncesi ve uygulama sırasındaki görüntüleri.

Kontrol ve NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin 1 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde kök uzunluğunun en yüksek değerde olduğu tespit edilmiştir. 10 μM NiSO_4 içeren besi çözeltisinde yetiştirilen fidelerde artan gövde uzunluğunun, 0,01 μM NiSO_4 konsantrasyonunda azaldığı gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre 1 μM NiSO_4 uygulamasında kök uzunluğunda %20'lik bir artışın olduğu tespit edilmiştir. Minimum kök uzunluğu ise 0,01 μM NiSO_4 serisinde ölçülmüş ve %14'lük bir azalma belirlenmiştir. Maksimum gövde uzunluğu 10 μM NiSO_4 konsantrasyonunda saptanmış ve kontrole kıyasla %14 oranında bir artış kaydedilmiştir. Minimum gövde uzunluğu 0,01 μM NiSO_4 uygulamasında olup kontrole yakın bir değer gösterdiği gözlenmiştir (Tablo 4.3 ve Şekil 4.4).

4.3. TAZE VE KURU AĞIRLIK MİKTARLARI

Kontrol ve NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarının taze ve kuru ağırlık miktarları tespit edilerek Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli bitkisinin kök, hipokotil ve kotiledonlarının taze ve kuru ağırlıkları (g) (± değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Taze Ağırlık (g)			
Seriler (µM)	Kök	Hipokotil	Kotiledon
Kontrol (H)	0,0081 ± 0,0002	0,0124 ± 0,002	0,0121 ± 0,0005
0,01 µM	0,0088 ± 0,0002 ^b	0,0126 ± 0,003	0,0131 ± 0,0004 ^a
0,1 µM	0,0095 ± 0,0003 ^b	0,0128 ± 0,006 ^a	0,0123 ± 0,0004
1 µM	0,0086 ± 0,0006	0,0118 ± 0,002	0,0125 ± 0,0009
10 µM	0,0081 ± 0,0002	0,0115 ± 0,007 ^a	0,0124 ± 0,0001 ^b
100 µM	0,0078 ± 0,0005	0,0118 ± 0,007	0,0118 ± 0,0009

Kuru Ağırlık (g)			
Seriler (µM)	Kök	Hipokotil	Kotiledon
Kontrol (H)	0.00037 ± 0,0009	0,00395 ± 0,0002	0,00066 ± 0,0002
0,01 µM	0,00038 ± 0,0008	0,00449 ± 0,0003 ^b	0,00070 ± 0,0007 ^b
0,1 µM	0,00041 ± 0,0003	0,00416 ± 0,0006	0,00065 ± 0,0006
1 µM	0,00039 ± 0,0001	0,00404 ± 0,0001	0,00066 ± 0,0006
10 µM	0,00036 ± 0,0001	0,00252 ± 0,0001	0,00069 ± 0,0002
100 µM	0,00023 ± 0,0004 ^b	0,00252 ± 0,0007 ^a	0,00055 ± 0,0006 ^a

a: p<0,0001 ve b: p<0,05 değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.

Fidelerin köklerinde taze ağırlık miktarları 1 µM NiSO₄ konsantrasyonu dışında diğer tüm serilerde kontrole yakın değerler verdiği görülmüştür. 1 µM NiSO₄ konsantrasyonunda kontrole göre %17 oranında artış tespit edilmiştir. Hipokotillerdeki

maksimum taze ağırlık 1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda gözlenmiş ve kontrole göre bu artışın %3 oranında olduğu bulunmuştur. 10 μM NiSO_4 uygulamasında ise hipokotilde %7'lik bir azalışın olduğu belirlenmiştir. 0,01 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarının taze ağırlık miktarlarının maksimum değerde olduğu saptanmış ve kontrole göre %8 oranında bir artış kaydedilmiştir. Minimum taze ağırlık değerinin ise 100 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında olduğu %3 oranındaki azalışla tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Genel olarak değişen NiSO_4 konsantrasyonlarında 9 günlük fidelerin kök, hipokotil ve kotiledonlarının kuru ağırlık miktarlarına bakıldığında, kök kuru ağırlığında minimum kuru ağırlık miktarı 1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda bulunmuş ve %38 oranında bir azalma kaydedilmiştir. En yüksek kök kuru ağırlığı ise 1 μM NiSO_4 konsantrasyonu uygulanan fidelerde ve kontrole göre %5 oranında olduğu tespit edilmiştir. Hipokotilde ise en düşük kuru ağırlık miktarı 10 ve 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda belirlenmiş ve kontrole kıyasla %36'lık bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Fidelerin kotiledonlarında ise en yüksek kuru ağırlık miktarı 0,01 μM NiSO_4 konsantrasyonun gözlenmiştir ve kontrole göre %6 oranında artan kuru ağırlık miktarının 100 μM NiSO_4 da %17 oranında azaldığı saptanmıştır (Tablo 4.4).

Kontrol ve NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarının taze ve kuru ağırlık miktarları tespit edilerek Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

1 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kök, gövde ve yapraklarının taze ağırlık değerlerinin kontrol ve diğer Ni içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerden daha fazla olduğu bulunmuştur. 1 μM NiSO_4 uygulaması yapılmış fidelerin taze ağırlık miktarlarında köklerde %17, gövdede %14 ve yapraklarda %21'lik artışların olduğu saptanmıştır. Kuru ağırlık miktarlarına bakıldığında en yüksek kuru ağırlığın yine 1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. Bu artışların sırasıyla kökte %15, gövdede %19 ve yaprakta ise %10 oranlarında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli bitkisinin kök, gövde ve yapraklarının taze ve kuru ağırlıkları (g) ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Taze Ağırlık (g)			
Seriler (μM)	Kök	Gövde	Yaprak
Kontrol (H)	0,0247 $\pm$ 0,004	0,0176 $\pm$ 0,004	0,0489 $\pm$ 0,0003
0,01 μM	0,0220 $\pm$ 0,006	0,0162 $\pm$ 0,004	0,0445 $\pm$ 0,0007 ^b
0,1 μM	0,0246 $\pm$ 0,006	0,0168 $\pm$ 0,001	0,0430 $\pm$ 0,0006 ^b
1 μM	0,0289 $\pm$ 0,0001 ^b	0,0200 $\pm$ 0,005	0,0593 $\pm$ 0,0009 ^a
10 μM	0,0188 $\pm$ 0,0001 ^b	0,0168 $\pm$ 0,004	0,0453 $\pm$ 0,0003 ^b
100 μM	0,0222 $\pm$ 0,0001	0,0166 $\pm$ 0,003	0,0267 $\pm$ 0,0008 ^a

Kuru Ağırlık (g)			
Seriler (μM)	Kök	Gövde	Yaprak
Kontrol (H)	0.00142 $\pm$ 0,0002	0,00133 $\pm$ 0,0003	0,0049 $\pm$ 0,0008
0,01 μM	0,00127 $\pm$ 0,0001	0,00132 $\pm$ 0,0003	0,0046 $\pm$ 0,0009
0,1 μM	0,00132 $\pm$ 0,0002	0,00144 $\pm$ 0,0003	0,0048 $\pm$ 0,0005
1 μM	0,00163 $\pm$ 0,0002	0,00158 $\pm$ 0,0005	0,0054 $\pm$ 0,0007
10 μM	0,00137 $\pm$ 0,0003	0,00146 $\pm$ 0,0002	0,0051 $\pm$ 0,0005
100 μM	0,00139 $\pm$ 0,0004 ^b	0,00145 $\pm$ 0,0006	0,0043 $\pm$ 0,0004

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.

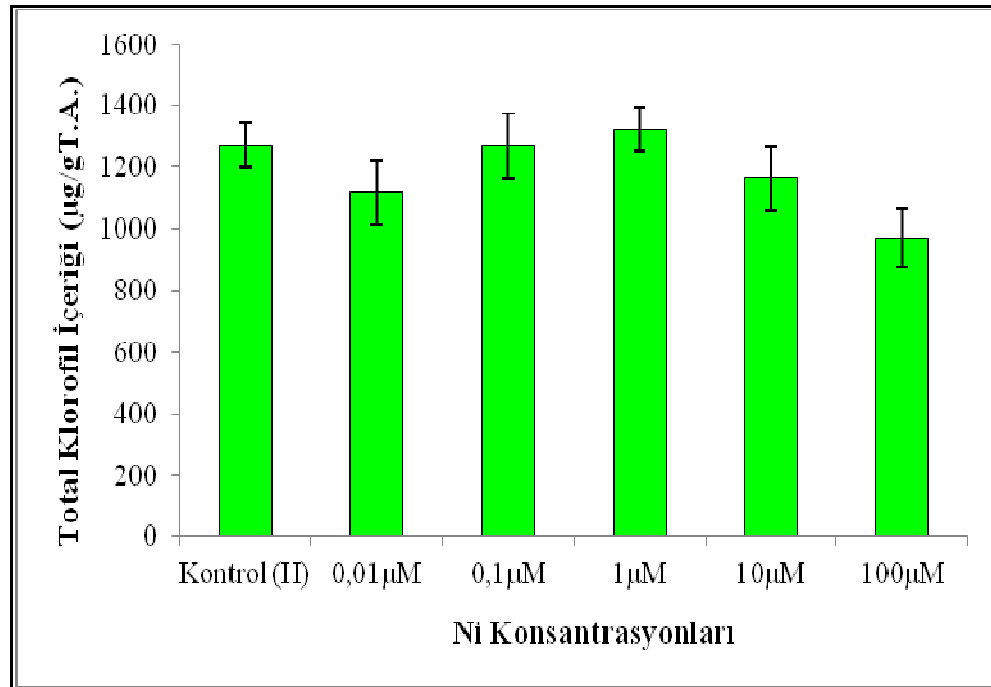
4.4. KLOROFİL İÇERİĞİ

Kontrol ve NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarları Tablo 4.6 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri total klorofil miktarları. Klorofil içeriği ($\mu\text{g/gT.A}$) olarak verilmiştir ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Klorofil a	Klorofil b	Total klorofil
Kontrol (Hoagland)	1016,28 $\pm$ 60,37	256,06 $\pm$ 16,56	1272,34 $\pm$ 75,59
0,01 μM	886,80 $\pm$ 83,49 ^a	230,69 $\pm$ 22,12 ^a	1120,10 $\pm$ 105,09 ^b
0,1 μM	1016,08 $\pm$ 85,85	254,06 $\pm$ 20,67	1270,14 $\pm$ 105,12
1 μM	1054,10 $\pm$ 56,65	268,78 $\pm$ 16,40 ^b	1324,75 $\pm$ 69,58
10 μM	920,06 $\pm$ 80,07 ^b	244,79 $\pm$ 21,66	1164,86 $\pm$ 101,61 ^b
100 μM	777,21 $\pm$ 77,86 ^a	193,54 $\pm$ 20,16 ^a	970,76 $\pm$ 94,28 ^a

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.6: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri total klorofil miktarları.

En yüksek klorofil a içeriği kontrol grubu bitkilerde, en yüksek klorofil b içeriğinin ise 1 μM NiSO_4 uygulaması yapılmış fidelerde olduğu görülmüştür. 1 μM NiSO_4 uygulaması yapılmış fidelerin klorofil a içeriği kontrole yakın bir değerde bulunmuştur. En düşük klorofil a ve klorofil b içeriğinin ise 100 μM NiSO_4 uygulanmış fidelerde meydana geldiği ve kontrole kıyasla sırasıyla %23 ve %24 oranlarında azalma olduğu gözlenmiştir. Maksimum total klorofil içeriğinin 1 μM NiSO_4 uygulaması yapılmış fidelerde ve kontrole göre %4 oranında artış olduğu belirlenmiştir. En düşük total

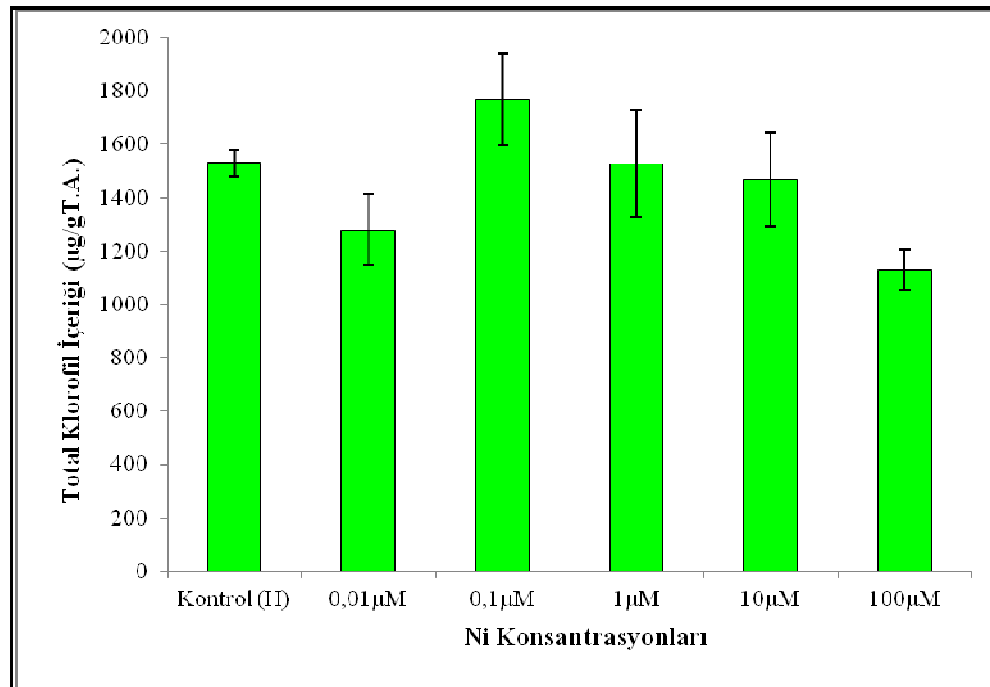
klorofil içeriğinin ise %24 oranında bir azalışla 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.6).

Kontrol ve NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarları Tablo 4.7 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri total klorofil miktarları. Klorofil içeriği ($\mu\text{g/gT.A.}$) olarak verilmiştir ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Klorofil a	Klorofil b	Total klorofil
Kontrol (Hoagland)	1114,62 $\pm$ 50,07	359,88 $\pm$ 2,88	1529,88 $\pm$ 49,57
0,01 μM	957,57 $\pm$ 116,94 ^b	322,30 $\pm$ 24,46	1279,88 $\pm$ 132,37 ^b
0,1 μM	1304,38 $\pm$ 140,60	463,24 $\pm$ 35,13 ^a	1767,63 $\pm$ 171,59
1 μM	1151,96 $\pm$ 145,46	361,36 $\pm$ 59,90	1527,53 $\pm$ 201,49
10 μM	1109,55 $\pm$ 127,71	359,48 $\pm$ 48,64	1469,04 $\pm$ 175,05
100 μM	872,29 $\pm$ 66,04 ^b	256,93 $\pm$ 21,72 ^b	1129,22 $\pm$ 75,98 ^a

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.7: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri total klorofil miktarları.

Kontrol ve NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriklerine bakıldığında, 0,01 µM NiSO₄ serisindeki azalmanın ardından 0,1 µM NiSO₄ serisindeki artışı diğer serilerdeki kademeli olarak düşüş takip etmiştir. Maksimum klorofil miktarı değerleri 0,1 µM NiSO₄ uygulaması yapılmış fidelerin yapraklarında gözlenmiş ve kontrole göre klorofil a miktarının %17, klorofil b miktarının %29 ve total klorofil miktarının ise %15 oranlarında artış olduğu belirlenmiştir. En düşük klorofil içerikleri ise 100 µM NiSO₄ konsantrasyonunda bulunmuştur. Bu konsantrasyondaki azalışların klorofil a içeriğinde %21, klorofil b içeriğinde %28, total klorofil içeriğinde ise %26 oranlarında olduğu saptanmıştır (Tablo 4.7).

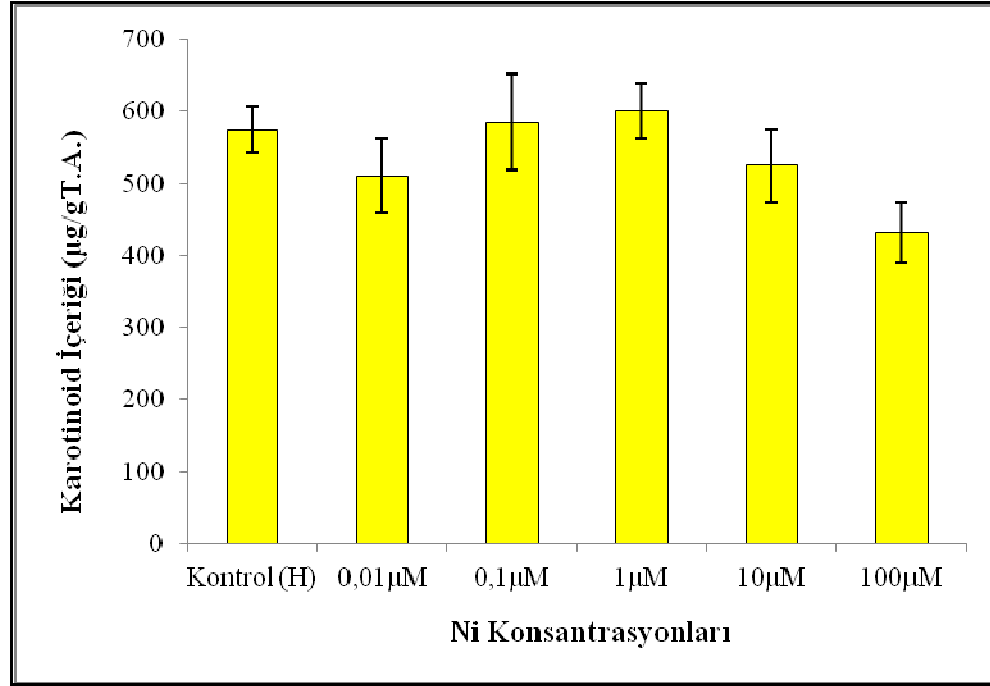
4.5. KAROTİNOİD İÇERİĞİ

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki karotinoid miktarları Tablo 4.8 ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.8: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri karotinoid miktarları. Karotinoid içeriği (µg/gT.A) olarak verilmiştir (± değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (µM)	Karotinoid
Kontrol (Hoagland)	575,16 ± 32,40
0,01 µM	510,33 ± 52,14 ^a
0,1 µM	585,74 ± 67,28 ^a
1 µM	600,83 ± 39,36 ^a
10 µM	525,00 ± 50,25 ^a
100 µM	431,63 ± 42,01 ^a

a: p<0,0001 ve **b:** p<0,05 değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.8: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri karotinoid miktarları.

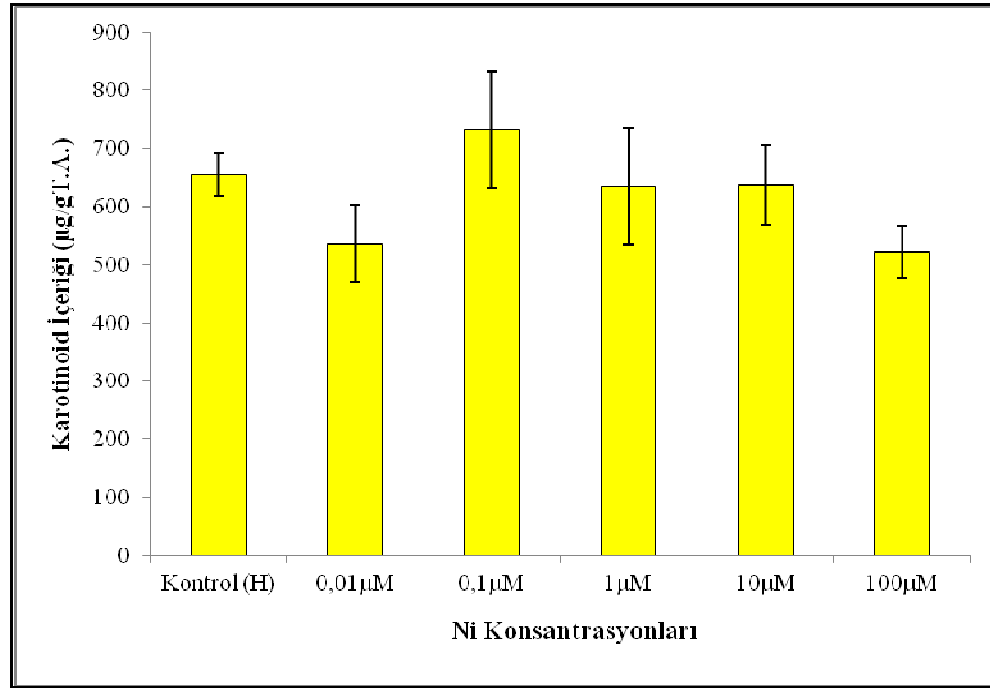
Bulgulardan da anlaşıldığı üzere, en yüksek karotinoid içeriğinin 1 μM NiSO_4 uygulaması yapılmış fidelerde ve bu artışın kontrole göre %5 oranında olduğu belirlenmiştir. 100 μM NiSO_4 uygulanan deney grubundaki miktarın ise kontrolün içerdği karotinoid miktarından düşük olduğu ve %25 oranında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki karotinoid miktarları Tablo 4.9 ve Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri karotinoid miktarları. Karotinoid içeriği ($\mu\text{g/gT.A.}$) olarak verilmiştir ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Karotinoid
Kontrol (Hoagland)	654,72 $\pm$ 36,87
0,01 μM	536,08 $\pm$ 66,63 ^b
0,1 μM	731,79 $\pm$ 101,10 ^a
1 μM	634,56 $\pm$ 100,36
10 μM	637,30 $\pm$ 68,20
100 μM	522,65 $\pm$ 44,39 ^b

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.9: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri karotinoit miktarları. Karotinoit içeriği (µg/g T.A.) olarak verilmiştir.

Kontrol ve NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki karotinoit içeriklerine bakıldığında, 0,1 µM NiSO₄ konsantrasyonunda artan karotinoit içeriğinin, diğer NiSO₄ serilerinde kontrole yakın değerler verdiği saptanmıştır. Yapraklardaki maksimum karotinoit içeriği 0,1 µM NiSO₄ uygulamasında gözlenirken, minimum değer 0,01 µM NiSO₄ konsantrasyonunda belirlenmiştir. 0,1 µM NiSO₄ serisindeki artış kontrole göre %12'dir. 0,01 µM NiSO₄ konsantrasyonundaki azalış miktarının ise %18 oranında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

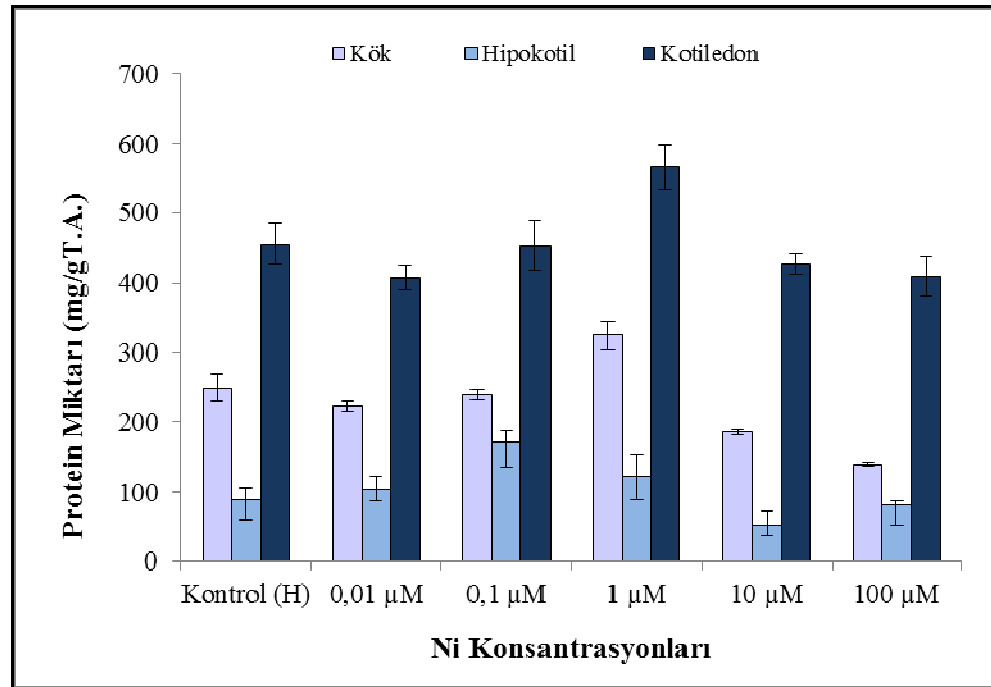
4.6. TOTAL ÇÖZÜNEBİLİR PROTEİN İÇERİĞİ

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total protein miktarları Tablo 4.10 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total protein miktarları. Protein miktarları (mg/g T.A) olarak verilmiştir ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Kök	Hipokotil	Kotiledon
Kontrol (Hoagland)	249,68 $\pm$ 19,05	88,19 $\pm$ 16,72	455,96 $\pm$ 29,45
0,01 μM	222,94 $\pm$ 7,39	104,15 $\pm$ 18,80	407,67 $\pm$ 17,77 ^b
0,1 μM	238,91 $\pm$ 7,53	170,94 $\pm$ 16,52 ^a	453,61 $\pm$ 35,89
1 μM	324,23 $\pm$ 19,07 ^a	121,82 $\pm$ 29,76 ^b	565,93 $\pm$ 33,25 ^b
10 μM	185,67 $\pm$ 4,28 ^a	51,57 $\pm$ 19,87 ^a	427,53 $\pm$ 14,83
100 μM	139,92 $\pm$ 2,65 ^a	81,01 $\pm$ 5,53	409,63 $\pm$ 28,92 ^b

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.10: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total protein miktarları.

Kontrol ve NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, kotiledon ve hipokotillerindeki protein miktarlarına bakıldığında, 0,01 ve 0,1 μM NiSO_4 konsantrasyonlarındaki fidelerin köklerindeki total çözünabilir protein içeriğinde kontrole göre çok az bir azalma tespit edilmiştir. En yüksek protein içeriğinin 1 μM NiSO_4 uygulaması yapılan fidelerin köklerinde olduğu ve bu artışın kontrole kıyasla %29 oranında olduğu belirlenmiştir. En düşük protein içeriği ise 100 μM NiSO_4 konsantrasyonundaki fidelerin köklerindedir ve bu azalmanın kontrole göre %43

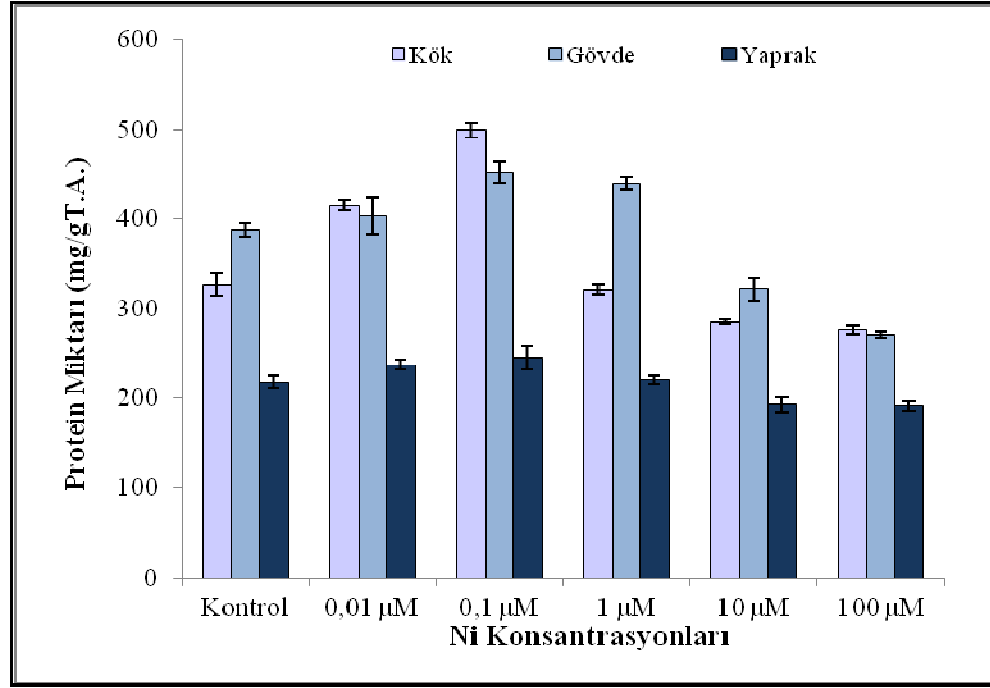
oranında olduğu saptanmıştır. Kontrol ile deney grupları karşılaştırıldığında ise en düşük protein içeriğinin 10 μM NiSO_4 konsantrasyonundaki hipokotillerde olduğu belirlenirken (%42 azalma), en yüksek içeriklerin 0,1 ve 1 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında olduğu saptanmıştır. 0,1 μM NiSO_4 uygulamasında %93 oranında, 1 μM NiSO_4 uygulamasında ise %38 lik artışların olduğu kaydedilmiştir. Total protein içeriği en az 0,01 μM NiSO_4 serisi fidelerinin kotiledonlarında bulunmuştur (kontrole göre %10 azalış). Değişen NiSO_4 konsantrasyonlarına bağlı olarak kontrole göre protein içeriklerinde artışlar olmuştur ve 1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda protein içeriklerinin en yüksek değere ulaştığı saptanmıştır. Maksimum protein içeriği tespit edilen 1 μM NiSO_4 uygulamasında kontrole göre %24 oranında bir artışın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki total protein miktarları Tablo 4.11 ve Şekil 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki total protein miktarları. Protein miktarları (mg/g T.A) olarak verilmiştir ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Kök	Gövde	Yaprak
Kontrol (Hoagland)	326,96 $\pm$ 12,82	387,95 $\pm$ 8,07	217,86 $\pm$ 6,66
0,01 μM	415,21 $\pm$ 5,78 ^a	403,28 $\pm$ 19,96	237,41 $\pm$ 5,33 ^b
0,1 μM	499,59 $\pm$ 8,15 ^a	451,85 $\pm$ 11,97 ^b	245,68 $\pm$ 13,18 ^b
1 μM	321,55 $\pm$ 5,53	440,37 $\pm$ 6,87 ^a	220,42 $\pm$ 4,88
10 μM	285,17 $\pm$ 2,41 ^b	321,99 $\pm$ 12,36 ^b	193,08 $\pm$ 8,88 ^b
100 μM	276,52 $\pm$ 5,20 ^b	270,52 $\pm$ 4,04 ^a	192,01 $\pm$ 5,85 ^b

a: $p < 0,0001$ ve **b:** $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



Şekil 4.11: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki total protein miktarları.

Kontrol ve artan NiSO₄ serileri uygulanmış 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki protein miktarlarında dikkate değer artışlar gözlenmiştir. Maksimum total protein içeriğinin 0,1 µM NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelede olduğu ve bu oranın %53 olduğu tespit edilmiştir. En düşük total protein içeriğinin 100 µM NiSO₄ uygulanan serilerde olduğu ve kontrole göre %15 oranında bir azalma bulunmuştur. Kontrol ve Ni serileri uygulanmış brokoli fidelerinin gövdelerindeki protein miktarlarına bakılacak olursa, 0,1 µM NiSO₄ konsantrasyonunda kontrole göre %16 artan protein içeriği, 100 µM NiSO₄ uygulanan seride %30 azalarak kontrolün altında bir değer vermiştir. Total protein içeriğinin 0,01 ve 1 µM NiSO₄ konsantrasyonlarında da artışlar görülmüş ve 0,1 µM daki değere yakın sonuçlar verdiği saptanmıştır. Bulgular incelendiğinde değişen NiSO₄ konsantrasyonlarında yetiştirilen fidelelerin yapraklarında, en yüksek protein içeriğinin 0,1 µM NiSO₄ içeren besi çözeltilisinde olduğu saptanmıştır. 10 ve 100 µM NiSO₄ konsantrasyonlarında kontrol grubu ile hemen hemen yakın değerlerde olan protein miktarının 0,1 µM NiSO₄ uygulamasında protein içeriğinin %13 oranında artış ile maksimum değer gösterdiği kaydedilmiştir (Şekil 4.11).

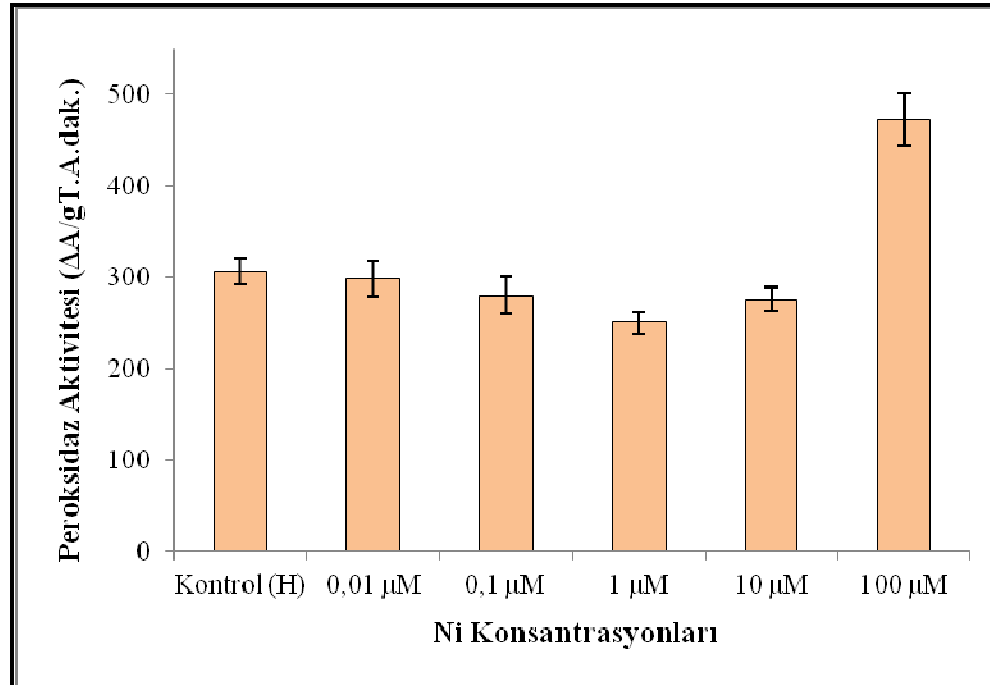
4.7. PEROKSİDAZ (POD) AKTİVİTESİ

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz (POD) enzimi aktiviteleri ile ilgili veriler Tablo 4.12 ve Şekil 4.12-14'te verilmiştir.

Tablo 4.12: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktivitesi. Peroksidaz enzimi aktivitesi ($\Delta\text{A/g T.A. dakika}$) olarak verilmiştir ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

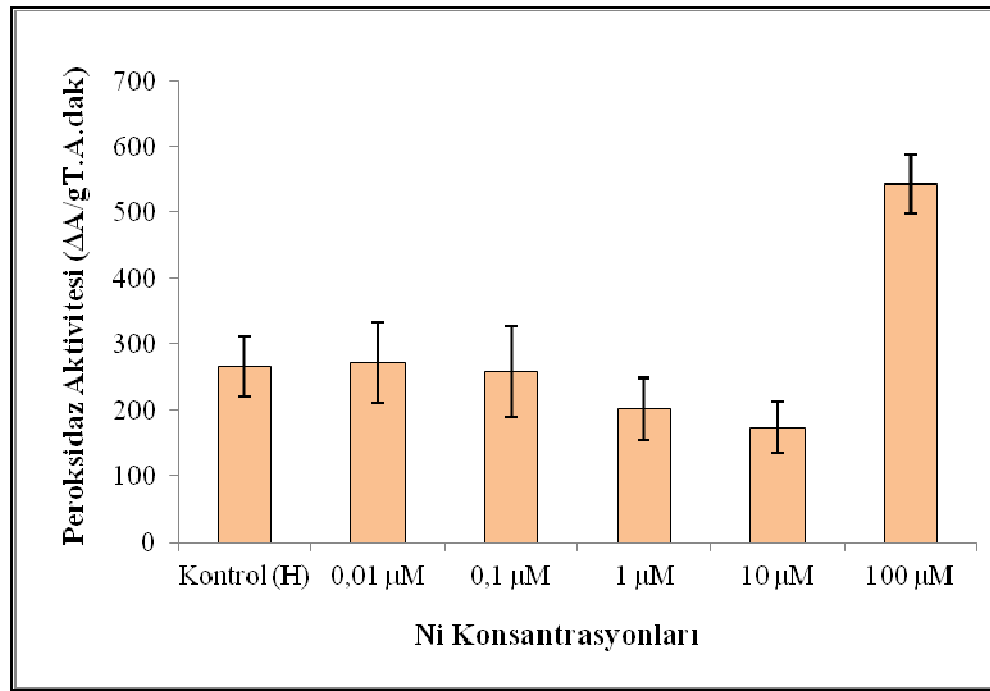
Seriler (μM)	Kök	Hipokotil	Kotiledon
Kontrol (Hoagland)	306,68 $\pm$ 14,06	266,04 $\pm$ 45,55	211,29 $\pm$ 15,49
0,01 μM	299,16 $\pm$ 19,89	272,12 $\pm$ 62,05	130,98 $\pm$ 15,09 ^a
0,1 μM	280,61 $\pm$ 20,61	259,15 $\pm$ 69,69	132,56 $\pm$ 29,66 ^b
1 μM	250,80 $\pm$ 11,84	201,04 $\pm$ 47,32 ^b	219,19 $\pm$ 3,46
10 μM	276,42 $\pm$ 13,67	174,03 $\pm$ 38,24 ^a	310,22 $\pm$ 42,74 ^b
100 μM	473,14 $\pm$ 28,13	543,56 $\pm$ 45,55 ^a	275,03 $\pm$ 39,20 ^b

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



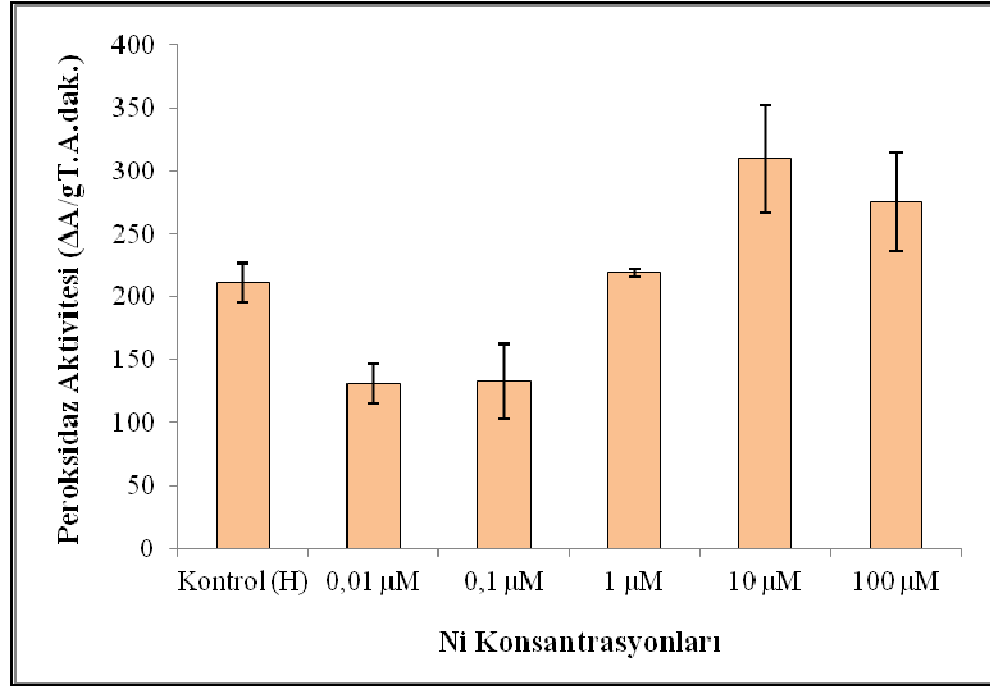
Şekil 4.12: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki peroksidaz enzim aktivitesi.

Elde edilen bulgulara göre, 100 μM NiSO_4 içeren bitkiler dışında, diğer tüm konsantrasyonların köklerindeki POD aktivitesinin kontrol bitkilerine kıyasla düşük olduğu görülmüştür. 100 μM NiSO_4 içeren deney grubu bitkilerin köklerindeki POD aktivitesinin kontrole göre %54 artmış olduğu saptanmıştır. En düşük aktivitenin 1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda olduğu tespit edilmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında %18 oranında bir azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.13: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin hipokotillerindeki peroksidaz enzim aktivitesi.

Bulgulara göre, 10 μM NiSO_4 grubu hipokotillerindeki POD aktivitesi diğer serilere göre düşük bulunmuştur. Bu azalmanın, kontrol bitkilerin hipokotillerindeki POD aktivitesi ile karşılaştırıldığında %34 oranında olduğu tespit edilmiştir. 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelede maksimum değere ulaşan POD aktivitesinin %104'lük bir artış gösterdiği belirlenmiştir. 0,01-0,1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda kontrole yakın değerlerde olduğu gözlenen aktivitenin, 1 μM NiSO_4 uygulamasında biraz azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.14: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz enzim aktivitesi.

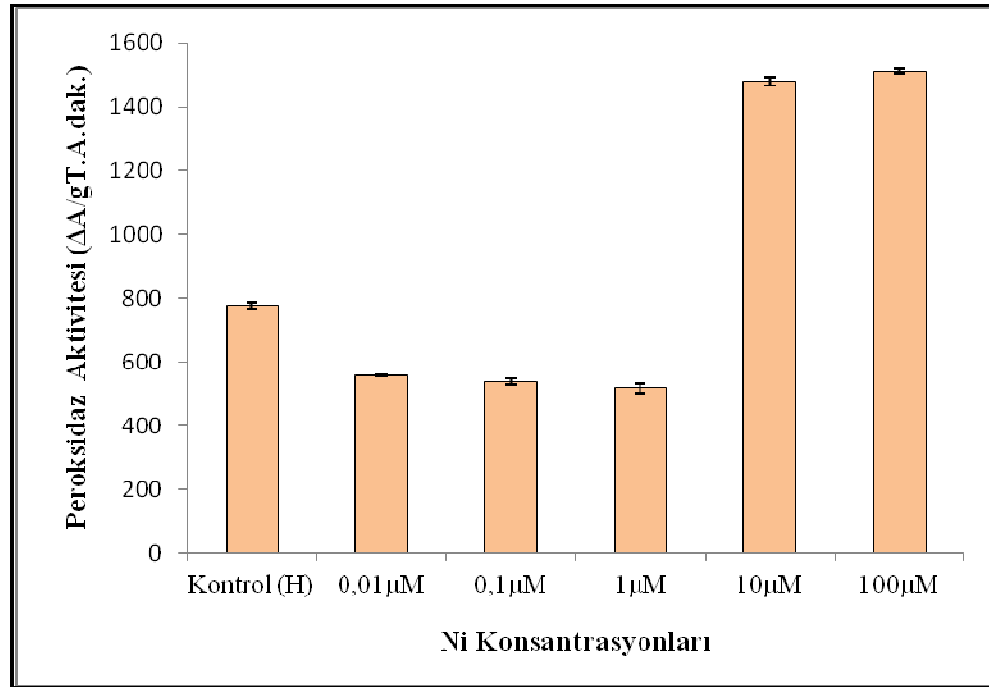
Şekilden de görüldüğü gibi, kontrol grubu bitkilerinin kotiledonlarındaki POD aktivitesi değeri deney serilerinin arasında bir değer almış, 0,01-0,1 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında azalmış, 1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda hemen hemen eşit değer vermiş ve 10-100 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında ise tekrar artmıştır. Kotiledonlardaki en düşük enzim aktivitesi 0,01 μM NiSO_4 uygulamasında belirlenmiş ve kontrole göre %38 oranında bir azalma, en yüksek enzim aktivitesi ise 10 μM NiSO_4 uygulamasında saptanmış ve kontrole kıyasla %47'lik bir artış tespit edilmiştir (Şekil 4.14).

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki peroksidaz (POD) enzimi aktiviteleri ile ilgili veriler Tablo 4.13 ve Şekil 4.15-17'de verilmiştir.

Tablo 4.13: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki peroksidaz enzimi aktivitesi. Peroksidaz enzimi aktivitesi ($\Delta\text{A/g T.A. dakika}$) olarak verilmiştir ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

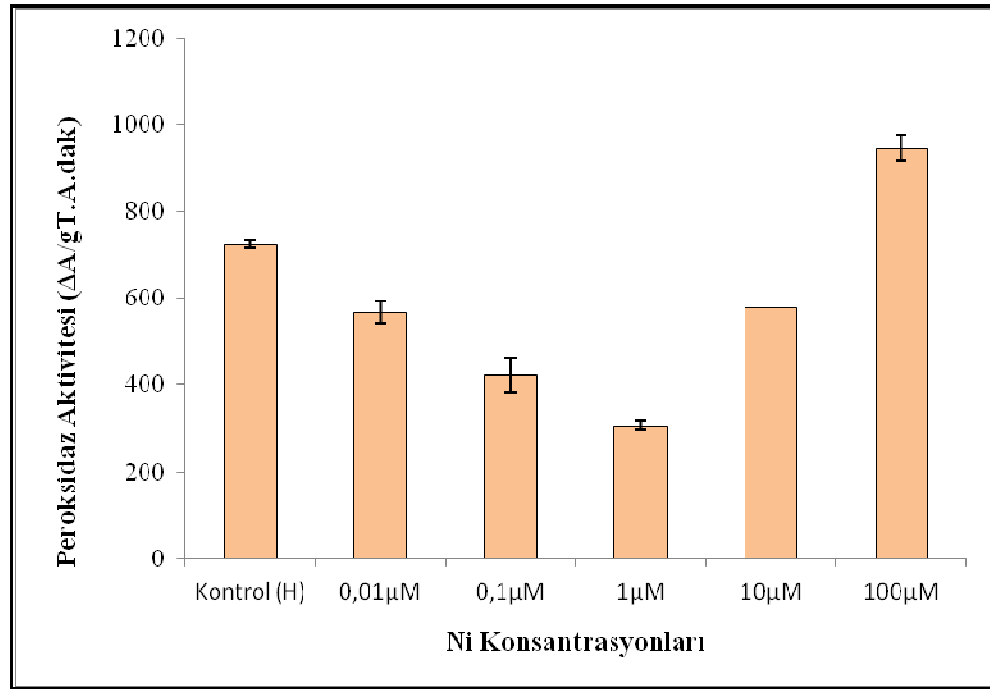
Seriler (μM)	Kök	Gövde	Yaprak
Kontrol (Hoagland)	776,79 $\pm$ 8,64	722,72 $\pm$ 8,56	15,62 $\pm$ 1,70
0,01 μM	556,76 $\pm$ 2,97 ^b	566,85 $\pm$ 25,70	1,52 $\pm$ 0,15 ^b
0,1 μM	537,95 $\pm$ 10,93 ^a	422,08 $\pm$ 40,35 ^b	11,01 $\pm$ 1,31 ^b
1 μM	517,87 $\pm$ 16,07	307,15 $\pm$ 12,40 ^b	11,63 $\pm$ 2,62
10 μM	1479,78 $\pm$ 12,98 ^b	578,70 $\pm$ 1,15 ^b	8,48 $\pm$ 5,39 ^b
100 μM	1513,65 $\pm$ 7,91 ^b	945,77 $\pm$ 28,52 ^a	86,90 $\pm$ 6,36 ^b

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



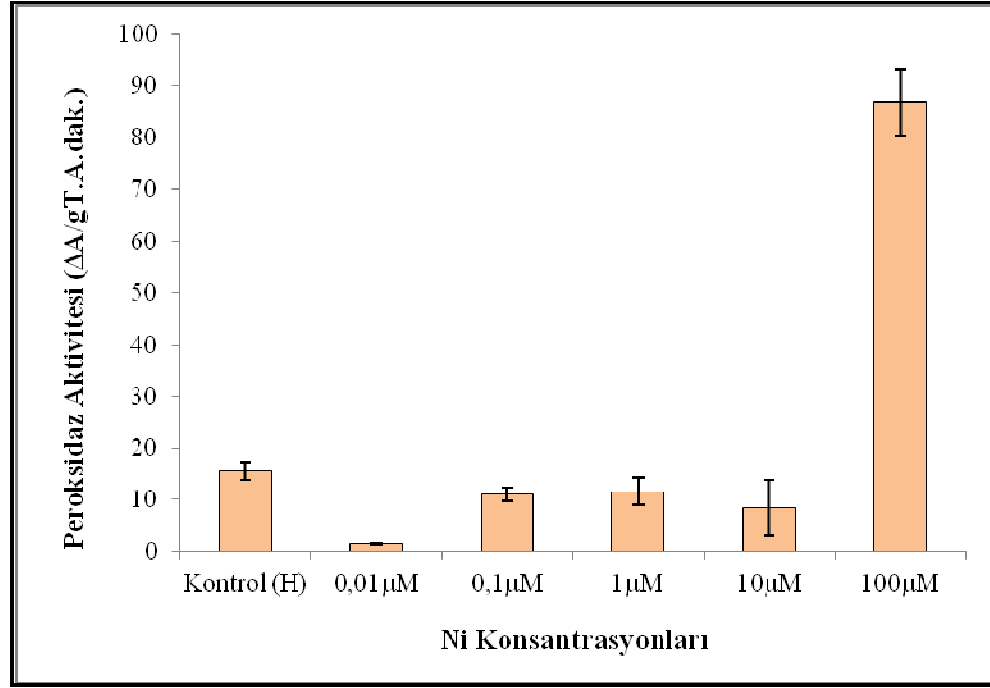
Şekil 4.15: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki peroksidaz enzim aktivitesi.

0,01-1 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında kontrole göre azalan peroksidaz enzim aktivitesi, 10 ve 100 μM NiSO_4 uygulanan fidelerin köklerinde belirgin şekilde artışlar göstermiştir. 1 μM NiSO_4 konsantrasyonunda kontrole göre %33 oranında azalan aktivitenin, 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda maksimum değere ulaştığı ve kontrole kıyasla %95 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.16: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin gövdelerindeki peroksidaz enzim aktivitesi.

100 μM NiSO_4 uygulanan fidelerin gövdeleri dışında, uygulanan diğer tüm konsantrasyonlardaki fidelerin peroksidaz enzim aktivitesi değer olarak kontrolün altında kalmıştır. 1 μM NiSO_4 uygulanan fidelerdeki enzim aktivitesi minimum değer vererek kontrole göre %57'lik bir azalma göstermiştir. En yüksek enzim aktivitesinin ise %31 oranında bir artış ile 100 μM NiSO_4 serisinde yetişen fidelerin gövdelerinde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.17: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki peroksidaz enzim aktivitesi.

Kontrol grubunda da düşük olan peroksidaz aktivitesi 0,01-10 μM NiSO_4 serilerinde daha da azalmış, ancak 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda kritik bir şekilde artış göstermiştir. Maksimum aktivite değeri gösteren 100 μM NiSO_4 serisinde kontrole göre %456 oranında artışın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.17).

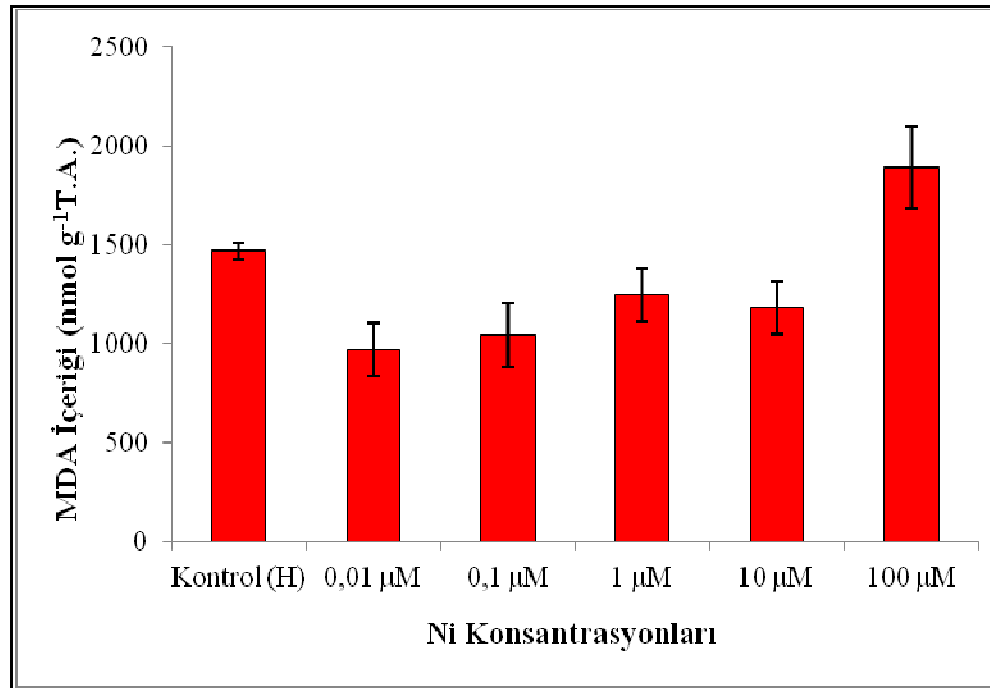
4.8. MALONDİALDEHİT (MDA) İÇERİĞİ

Nikel uygulamalarının brokoli fidelerinin çeşitli kısımlarındaki lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri yıkım ürünlerinden birisi olan malondialdehit (MDA) miktarının ölçülmesi ile tespit edildi. Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki malondialdehit (MDA) içeriği ile ilgili veriler Tablo 4.14 ve Şekil 4.18-20’de verilmiştir.

Tablo 4.14: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki malondialdehit (MDA) içeriği. (nmol MDA g^{-1} taze ağırlık) ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

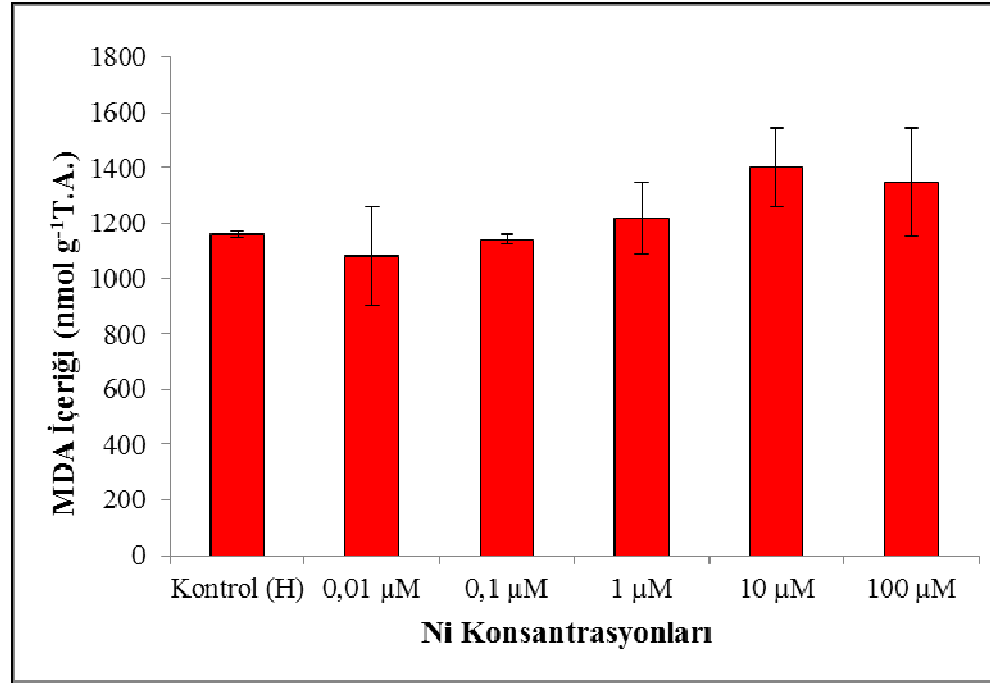
Seriler (μM)	Kök	Hipokotil	Kotiledon
Kontrol (Hoagland)	1466,118 $\pm$ 42,47	1160,65 $\pm$ 9,34	3571,55 $\pm$ 675,61
0,01 μM	968,77 $\pm$ 136,54 ^b	1080,40 $\pm$ 177,46 ^b	2122,68 $\pm$ 211,29 ^b
0,1 μM	1042,22 $\pm$ 159,81 ^b	1141,96 $\pm$ 16,97 ^b	2324,82 $\pm$ 270,89 ^b
1 μM	1244,80 $\pm$ 137,12	1216,73 $\pm$ 131,61 ^b	3545,21 $\pm$ 287,95
10 μM	1177,40 $\pm$ 135,28 ^b	1401,73 $\pm$ 142,16	4504,86 $\pm$ 533,36 ^b
100 μM	1891,73 $\pm$ 206,36	1348,50 $\pm$ 192,99	4482,74 $\pm$ 346,25 ^b

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



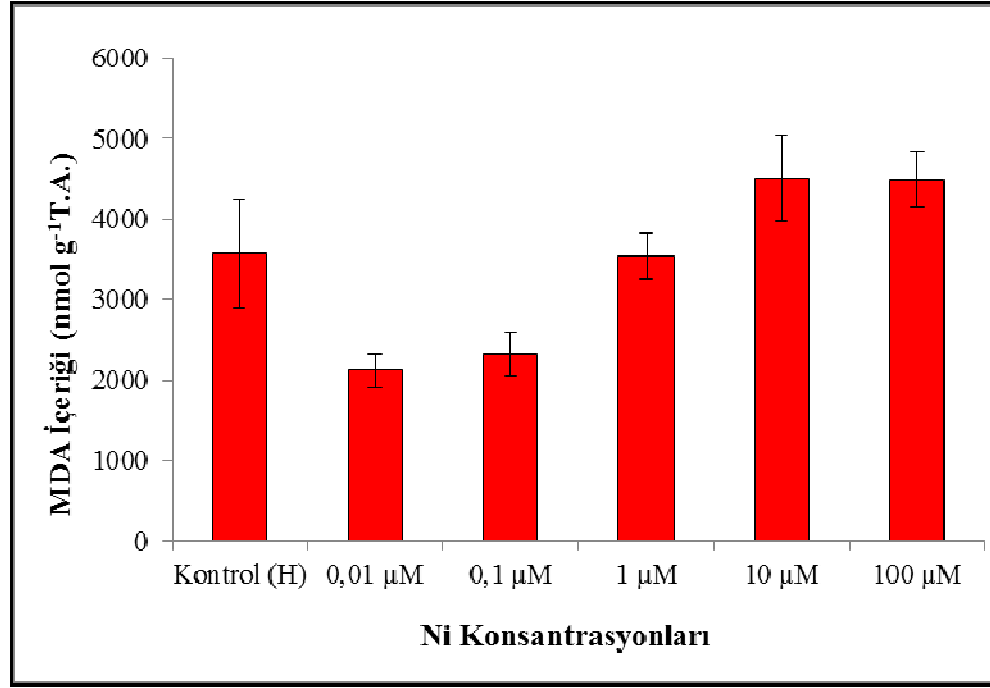
Şekil 4.18: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki malondialdehit (MDA) içeriği.

Elde edilen bulgulara göre, 100 μM NiSO_4 içeren bitkiler dışında, diğer tüm konsantrasyonların köklerindeki MDA içeriğinin kontrol bitkilerine kıyasla düşük olduğu görülmüştür. 100 μM NiSO_4 içeren deney grubu bitkilerin köklerindeki MDA içeriğinin kontrole göre %29 artmış olduğu saptanmıştır. En düşük MDA içeriğinin 0,01 μM NiSO_4 konsantrasyonunda olduğu tespit edilmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında %34 oranında bir azalmanın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.19: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin hipokotillerindeki malondialdehit (MDA) içeriği.

Bulgulara göre, 0,01 µM NiSO₄ grubu hipokotillerinde MDA içeriği diğer serilere göre düşük bulunmuştur. Bu azalmanın, kontrol bitkilerin hipokotillerindeki MDA içeriği ile karşılaştırıldığında %7 oranında olduğu tespit edilmiştir. 10 µM NiSO₄ içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde maksimum değere ulaşan MDA içeriğinin %21'lik bir artış sergilediği belirlenmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.20: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki malondialdehit (MDA) içeriği.

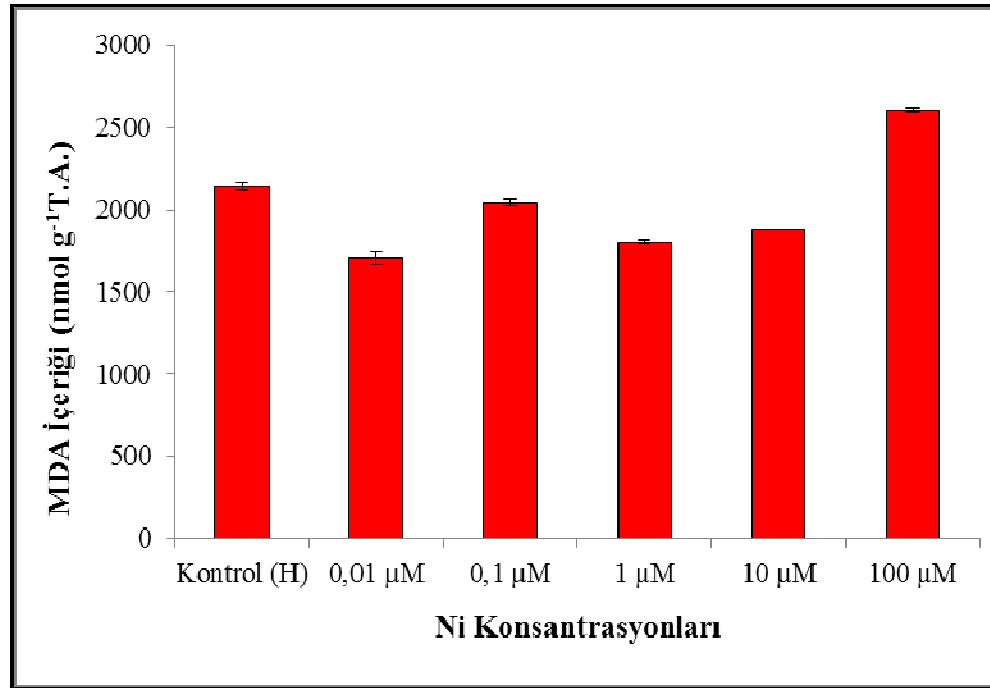
Şekilden de görüldüğü gibi, kontrol grubu bitkilerinin kotiledonlarındaki MDA içeriği deney serilerinin arasında bir değer almış, 0,01-0,1 µM NiSO₄ konsantrasyonlarında azalmış ve 1-100 µM NiSO₄ konsantrasyonlarında ise tekrar artmıştır. Kotiledonlardaki en düşük MDA 0,01 µM NiSO₄ uygulamasında belirlenmiş ve kontrole göre %40 oranında bir azalma, en yüksek MDA içeriği ise 10 µM NiSO₄ uygulamasında saptanmış ve kontrole kıyasla %26'lık bir artış tespit edilmiştir (Şekil 4.20).

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki malondialdehit (MDA) içeriği ile ilgili veriler Tablo 4.15 ve Şekil 4.21-23'te verilmiştir.

Tablo 4.15: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki malondialdehit (MDA) içeriği. (nmol MDA g^{-1} taze ağırlık) ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

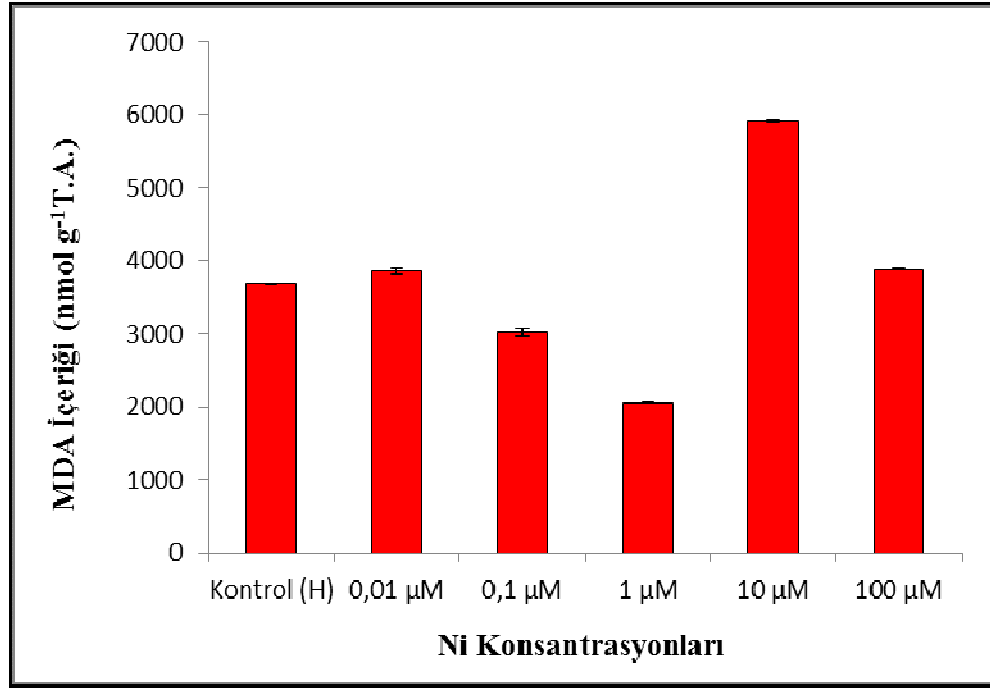
Seriler (μM)	Kök	Gövde	Yaprak
Kontrol (Hoagland)	2142,19 $\pm$ 28,36	3678,10 $\pm$ 12,06	4386,46 $\pm$ 1,71
0,01 μM	1705,62 $\pm$ 38,23 ^a	3855,32 $\pm$ 30,55 ^a	2370,31 $\pm$ 20,17 ^a
0,1 μM	2041,92 $\pm$ 18,55 ^a	3012,80 $\pm$ 59,78 ^a	3566,40 $\pm$ 5,46 ^a
1 μM	1804,43 $\pm$ 10,35 ^a	2055,89 $\pm$ 16,08 ^a	4821,36 $\pm$ 9,00 ^a
10 μM	1876,11 $\pm$ 2,39 ^a	5915,06 $\pm$ 20,08 ^a	7394,10 $\pm$ 4,58 ^a
100 μM	2604,43 $\pm$ 13,40 ^b	3885,51 $\pm$ 8,38 ^a	6475,26 $\pm$ 9,71 ^a

a: $p < 0,0001$ ve b: $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.



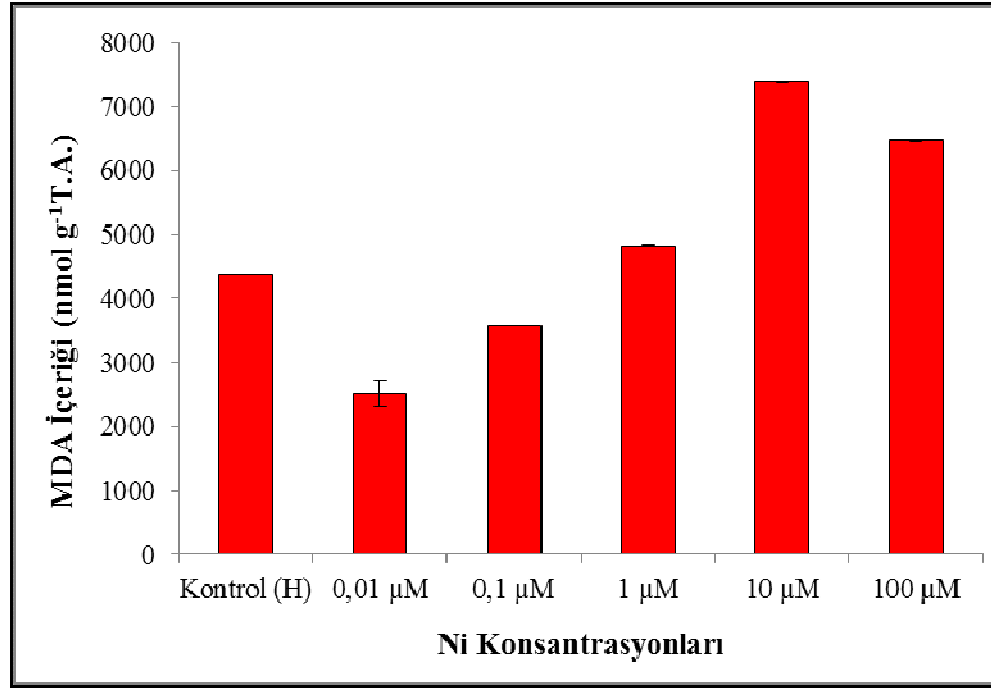
Şekil 4.21: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki malondialdehit (MDA) içeriği.

Şekilden de görüldüğü gibi, köklerdeki en yüksek MDA içeriğinin 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda olduğu saptanmıştır. 0,01 μM NiSO_4 konsantrasyonunda kontrole göre %20 oranında azalan MDA'nın, 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda maksimum değere ulaştığı ve kontrole kıyasla %21 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.22: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin gövdelerindeki malondialdehit (MDA) içeriği.

1 µM NiSO₄ konsantrasyonunda azalan MDA içeriği, 10 µM NiSO₄ uygulanan fidelerin gövdelerinde belirgin bir şekilde artış göstermiştir. 1 µM NiSO₄ konsantrasyonunda kontrole göre %44 oranında azalan MDA'nın, 10 µM NiSO₄ konsantrasyonunda maksimum değere ulaştığı ve kontrole kıyasla %61 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.23: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki malondialdehit (MDA) içeriği.

0,01 ve 0,1 µM NiSO₄ düşük olan MDA içeriği 1, 10 ve 100 µM NiSO₄ konsantrasyonlarında artış göstermiştir. 0,01 µM NiSO₄ konsantrasyonunda kontrole göre %46 oranında azalan MDA'nın, en yüksek değerinin 10 µM NiSO₄ serisinde ve kontrole göre %68 oranında artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.23).

4.9. NİKEL İÇERİĞİ

Nikel içeriği, dormant (imbibisyon olmadan), kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland besi çözeltilerinde 24 saat tutulan brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) tohumlarında belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.16'da verilmiştir.

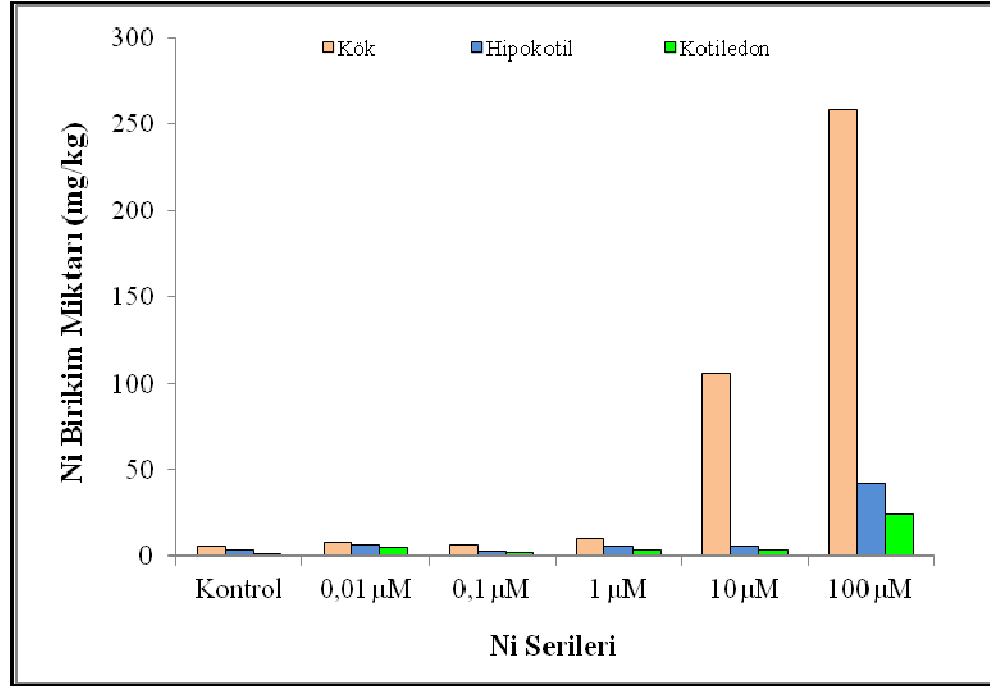
Tablo 4.16: Dormant, kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serilerinde 24 saat tutulan tohumlardaki Ni içeriği (mg/kg kuru ağırlık) ($\pm$ değerler, standart sapmayı göstermektedir).

Seriler (μM)	Ni İçeriği (mg/kg kuru ağırlık)
Dormant Tohum	$5,25.10^{-6} \pm 3,77.10^{-6}$
Kontrol (Hoagland)	$4,75.10^{-6} \pm 2,87.10^{-6}$
0,01 μM	$1,66.10^{-5} \pm 6,02.10^{-6}^{\text{a}}$
0,1 μM	$2,15.10^{-5} \pm 1,30.10^{-5}^{\text{a}}$
1 μM	$6,22.10^{-5} \pm 5,72.10^{-5}^{\text{a}}$
10 μM	$3,64.10^{-4} \pm 3,81.10^{-5}^{\text{a}}$
100 μM	$5,16.10^{-3} \pm 1,68.10^{-3}^{\text{a}}$

a: $p < 0,0001$ ve **b:** $p < 0,05$ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.

Kullandığımız *Brassica oleracea* L. var. *italica* tohumlarında $5,25.10^{-6}$ mg/kg kuru ağırlık Ni bulunmuştur. Dormant ve kontrol grubu brokoli tohumlarında nikel içeriği neredeyse birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, uygulama yapılan brokoli tohumlarında artan nikel konsantrasyonuna paralel olarak biriken Ni miktarı da artış göstermiştir. En düşük Ni miktarı kontrol (Hoagland) grubu bitkilerin tohumlarında, en yüksek Ni birikim miktarının ise 100 μM NiSO_4 serisinde olduğu tespit edilmiştir.

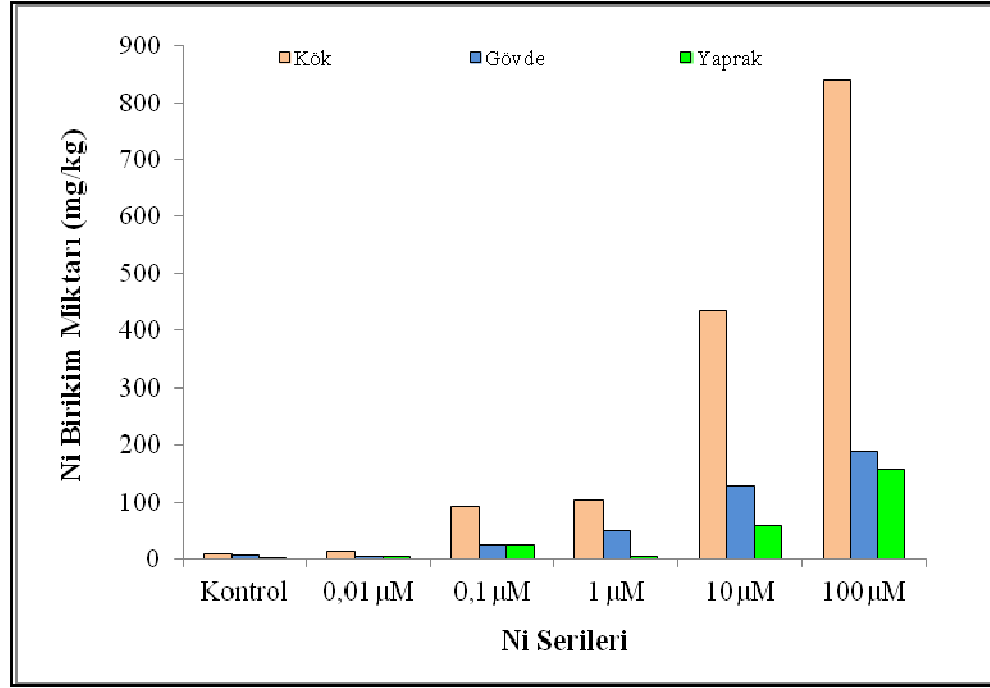
Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki Ni birikim miktarları ile ilgili veriler Şekil 4.24'te verilmiştir.



Şekil 4.24: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki nikel birikim miktarları (mg/kg kuru ağırlık).

Şekil 4.24'teki verilere göre, nikelin en çok köklerde birikim gösterdiği ve içeriğinin kontrolde hipokotilden 1,8 kat, kotiledonlardan ise yaklaşık 6 kat fazla olduğu saptanmıştır. Her bir bitki kısmında konsantrasyona bağlı olarak artan nikel içeriğinin en fazla 258,3 mg/kg kuru ağırlık olmak üzere 100 μM NiSO_4 uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerinde bulunduğu belirlenmiştir. Nikelin, 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda kontrole göre sırasıyla köklerde 44,6 kat, hipokotilde 13,3 kat, kotiledonlarda ise 25,18 kat artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.24).

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki Ni birikim miktarları ile ilgili veriler Şekil 4.25'te verilmiştir.



Şekil 4.25: Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO₄ içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki nikel birikim miktarları (mg/kg kuru ağırlık).

Şekil 4.25'teki verilere göre, 30 günlük brokoli fidelerinde, 9 günlük bitkilerde olduğu gibi nikelin en çok köklerde birikim gösterdiği ve içeriğinin kontrolde gövdeden 1,4 kat, yapraklardan ise yaklaşık 3,2 kat fazla olduğu saptanmıştır. Nikel içeriğinin en fazla 839,1 mg/kg kuru ağırlık olmak üzere 100 µM NiSO₄ uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerinde bulunduğu belirlenmiştir. Nikelin, 100 µM NiSO₄ konsantrasyonunda kontrole göre sırasıyla köklerde 81,5 kat, gövdede 27,18 kat, yapraklarda ise 48,11 kat artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, 100 µM NiSO₄ konsantrasyonunda gövde ve yapraktaki Ni birikim oranlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür (Şekil 4.25).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkilerin büyüme ve gelişmeleri için belli elementlerin mutlak gerekli olduğu saptanmıştır (Arnon ve Stout, 1939). Bitkinin eser miktarda ihtiyaç duyduğu mikro elementler arasında yer alan bakır (Cu), çinko (Zn), mangan (Mn), demir (Fe), molibden (Mo), nikel (Ni) enzimatik reaksiyonlar için gerekli olan ağır metallerdir ve bitki büyümesi için gerekli, esas elementler olarak tanımlanmaktadır (Arnon ve Stout, 1939; Welch, 1995). Bu elementlerden herhangi birinin yokluğu durumunda bitkilerin yaşam döngülerini tamamlayamadıkları görülmektedir. Ni, bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi için önemli olan mikro elementlerden bir tanesidir (Welch, 1981; Eskew ve diğ., 1983; Brown ve diğ., 1987) ve birçok metabolik süreçte gerekli olduğu bilinmektedir. Bitkiler için çok düşük miktarlarda yararlı etkileri olduğu bildirilen Ni nin (Mishra ve Kar, 1974), artan endüstriyel faaliyetler, mineral ve organik gübreler, kimyasal ilaçlar ve endüstri atıkları vb. sebepler ile çevrede miktarlarının arttığı (Zornoza ve diğ., 1999), bunun sonucunda yüksek Ni konsantrasyonlarının bitkilerde olumsuz etkilere neden olduğu bilinmektedir (Mishra ve Kar, 1974; Pandolfini ve diğ., 1992; Piccini ve Malavolta, 1992; Parida ve diğ., 2003). Bitki için esas element olsun ya da olmasın ağır metallerin doku ve organlardaki birikimleri toksik etki yapmakta ve sonunda bitkiyi ölüme götürmektedir (Moustakas ve diğ., 1994; Ouzounidou, 1994). Nikel normal konsantrasyonlarda bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gerekli bir mikro element olmasına karşın, yüksek konsantrasyonlarının bitkilerde transpirasyonu (Costa ve diğ., 1994), fotosentezi (Lidon ve diğ., 1993; Chugh ve Sawhney, 1993), bazı enzimlerin aktivitesini (Chugh ve Sawhney, 1993), çimlenmeyi (Munzuroğlu ve Geçgil, 2002), protein sentezini (Mohan ve Hosetti, 1997) olumsuz yönde etkilediği yapılan birçok çalışmayla anlaşılmıştır. Ayrıca membranlarda hasar ve bitkide hormonal dengenin bozulması gibi bazı fizyolojik olaylar üzerine de önemli etkileri gösterilmiştir (Kennedy ve Gonsalves, 1987).

Yüksek yapılı bitkilerin yaşam döngüsü, yeni döllerin sürekliliğini sağlayan tohumun çimlenmesi ile başlamaktadır. Ana bitkiden ayrılan tohumun depo maddeleri, dinlenme

periyodunun ardından uygun koşullar sağlandıktan sonra çimlenme sürecinde kullanılmakta ve fide gelişmesi ile yeni bir bitki meydana gelmektedir (Mayer ve Mayber, 1982; Bewley ve Black, 1994; Bewley, 1997; Önder ve Yentür, 1999). Ağır metaller aşırı konsantrasyonlarda bitkilerde önemli zararlar meydana getirmektedir. Tohum çimlenmesi, büyüme ve gelişme gerilikleri, çiçeklenme, meyve tutumunda ve verimde azalma, ürün kalitesinde bozulma bu zararlardan bazılarıdır (Moustakas ve diğ., 1994; Ouzounidou, 1994). Tarım sektöründe ekonomik değeri olan brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) bitkisinin çimlenme ve fide evresindeki kök, gövde ve yapraklarındaki nikel birikimi ve bunun büyüme, gelişme ve pigment içeriği üzerindeki etkileri fizyolojik yönden incelenmiştir.

Bitkiler tohum çimlenmesi ve erken fide gelişmesi döneminde değişen çevre koşullarına karşı son derece duyarlı olup zarar gördüğü takdirde bitki yaşam döngüsü daha başlamadan sona erebilmektedir (Mooring ve diğ., 1971; Munzuroğlu ve Geçkil, 2002; Akıncı ve Akıncı, 2011). Bu nedenle, bitkilerin ağır metallere toleransını belirlemede çimlenme ve erken fide gelişimi ile ilgili özelliklerin kullanılması, sonuca kısa zamanda ulaşılması açısından pratik olabilmektedir. Toprak altında tohumlar ağır metallerin ilk hedeflerindendir ve tohum kabuğu metaller için genel bir bariyer olabilmektedir (Seregin ve Kozhevnikova, 2005). Tohum kabukları sahip olduğu fiziksel ve kimyasal özellikleriyle ve absorbe edilen metale göre tohum çimlenmesi üzerine birbirinden farklı etkiler göstermektedirler. Mekanizmada metallerin tohum kabuğuna çok düşük düzeylerde sızması söz konusudur. Ağır metaller tohum kabuğunu aşması ile embriyoya girmekte ve bu aşamada radikula uzaması aşamasına kıyasla daha toksik olabilmektedirler (Seregin ve Kozhevnikova, 2005). Ağır metallerin bitki hücresi ve dokularında dağılımı ortamdaki konsantrasyonlarına, etki sürelerine, fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre değişmektedir (Li ve diğ., 2005; Seregin ve Kozhevnikova, 2005). Marschner (1995) tarafından, aşırı nikel konsantrasyonlarının, bitkilerde çimlenme aşamasından başlayarak bitkinin büyüme ve gelişme dönemlerinde çeşitli toksik etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir. *Brassica oleracea* L. var. *italica* bitkisinde artan NiSO_4 konsantrasyonlarına bağlı olarak çimlenme yüzdesinin azaldığı saptanmıştır. 5. günde kontrol grubunda %98,46 olan çimlenme yüzdesinin, 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda bulunan tohumlarda kontrole göre %84 oranında azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar, brokolide tohum çimlenmesinin NiSO_4 'ün düşük

konsantrasyonlarından fazla etkilenmezken; 1 μM NiSO_4 konsantrasyonundan sonra çimlenmede inhibisyonların meydana geldiğini ortaya koymaktadır. Bu düşüşün konsantrasyona bağlı olarak giderek arttığı kaydedilmiştir (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1). Tohum çimlenmesi üzerine nikelin toksik etkilerine dair pekçok çalışma bulunmaktadır. Espen ve diğ. (1997) tarafından *Raphanus sativus* ile yaptıkları bir çalışmada tohumlara 48 saat boyunca artan (0, 80, 100, 200 ve 400 μM) konsantrasyonlarda nikel uygulamasının, çimlenme üzerindeki etkileri incelenmiş ve çalışmada konsantrasyon artışına paralel olarak, çimlenmenin yanı sıra bitkinin büyüme ve gelişmesinin de olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada, *Brassica juncea* tohumlarının çimlenmesinin nikel uygulaması ile önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Sharma ve diğ., 2008). Citterio ve diğ. (2003) tarafından yapılan başka bir çalışmada, yüksek oranda nikel bulunan ortamda çimlenen *Cannabis sativa* (hint keneviri) tohumlarında, çimlenmenin azaldığı saptanmıştır. Nikelin artan dozlarının, ayçiçeği (*Helianthus annuus*) bitkisinde çimlenmeyi olumsuz yönde etkilediği yapılan bir araştırmada gösterilmiştir (Jadia ve Fulekar, 2008). Bununla birlikte, *Oryza sativa* L. (Das ve diğ., 1978) ve *Medicago sativa* L. (Peralta ve diğ., 2001) bitkilerinde nikelin düşük dozlarının çimlenmeyi teşvik edici ama artan dozlarının geriletici etkileri de rapor edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda (20 mg L^{-1} e kadar) Ni uygulamasının *Helianthus annuus* fidelerinde çimlenme oranını önemli ölçüde teşvik ettiği gösterilmiştir (Ahmad ve diğ., 2009). *Echinochloa colona* ile yapılan bir çalışmada, Ni bulunan ortamlarda yetişen bitkilerin çimlenme ve büyüme oranının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Rout ve diğ., 2000). Çalışmamızda da, *Brassica oleracea* L. var. *italica* bitkisinde nikelin 1 μM NiSO_4 den yüksek konsantrasyonlarda çimlenmede inhibisyonlar meydana getirdiği ve buna bağlı olarak çimlenmeyi etkileyebileceği söylenebilir (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1).

Metallerin farklı mekanizmalarla kök, gövde ve yaprak büyümesine engel olduğu, bu durumun bitki türüne ve gelişme şartlarına göre değiştiği rapor edilmiştir (Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu, 2004). Ortamdaki solüsyonla doğrudan temasta olan köklerin, gövde ve yaprak büyümesine göre daha fazla etkilenmesi normal bir durumdur. Bitkilerin ağır metal stresini hafifletmek için çeşitli tolerans ve direnç mekanizmaları geliştirdiği, bunlardan bir tanesinin metalin köklerde tutulması ve gövdeye dağılımının engellenmesi olduğu rapor edilmiştir (Hogan ve Rauser, 1981; MacNair, 1981; Lolkema

ve diğ., 1984; Fernandes ve Henriques, 1991). 9 günlük *Brassica oleracea* L. var. *italica* fidelerinde nikelin bütün konsantrasyonlarının kök büyümesini teşvik ettiği görülmüş ve bu büyümenin en fazla 1 μM NiSO_4 içeren besi ortamında yetişen fidelerde olduğu belirlenmiştir. Hipokotil uzunluklarında ise, en fazla artışın 1 μM konsantrasyonda meydana geldiği tespit edilmiştir. Değişen NiSO_4 konsantrasyonları ile hipokotil uzunlukları en az değeri 0,01 μM NiSO_4 uygulamasında verdiği belirlenmiştir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.2). Ayrıca 30 günlük brokoli fidelerinde, kök uzunluğunun en yüksek değerinin 1 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde olduğu tespit edilmiştir. En fazla gövde uzunluğu 10 μM NiSO_4 konsantrasyonunda saptanmıştır. En düşük kök ve gövde uzunluğunun ise 0,01 μM NiSO_4 serisinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.3 ve Şekil 4.4).

Nikel bitki kökleri tarafından kolayca absorbe edilip (Cataldo ve diğ., 1978a; Cataldo ve diğ., 1978b; Soon ve diğ., 1980), konsantrasyon artışına bağlı olarak kök büyümesini ve sürgün gelişimini sınırlamaktadır (Mishra ve Kar, 1974). Fidelerin gövde büyümelerindeki azalmaların genellikle, doğrudan Ni toksisitesi ile Fe ya da bazı diğer temel elementlerin teşvik ettiği Ni eksikliği olmak üzere iki unsura bağlı olduğu düşünülmektedir (Hewitt, 1948; Vergnano ve Hunter, 1953; DeKock, 1956; Mishra ve Kar, 1974). *Brassica oleracea* L. var. *italica* fidelerinde artan nikel konsantrasyonlarının büyüme üzerine olan olumsuz etkileri daha önce yapılmış birçok çalışmadaki bulgularla benzerlik göstermektedir. *Cannabis sativa*'da tohum çimlenmesi, sürgün-kök uzunlukları, sürgün-kök taze ağırlıklarında inhibisyonların olduğu (Citterio ve diğ., 2003); *Silene paradoxa*'da (Gonnelli ve diğ., 2001), *Zea mays*'ta (Seregin ve diğ., 2003) ve *Zea mays*, *Glycine max* ve *Triticum* bitkilerinin (Lavado ve diğ., 2001) kök büyümesinde önemli derecede inhibisyonların olduğu yönünde bulgular vardır. Yang ve diğ. (1996)'nin bulguları, Ni nin *Brassica oleracea* L. ve *Lolium perenne* L. bitkilerinde gövde ve kök büyümesini aynı derecede azaltırken, *Zea mays* ve *Trifolium repens* L.'in köklerinin artan Ni konsantrasyonlarına karşı gövdeden daha duyarlı olduklarını göstermektedir. Ayrıca bu bulguların aksine Rahmatullah ve diğ. (2001) tarafından, nikelin *Lycopersicon esculentum*'un sürgün ve kök büyümesini teşvik ettiği gösterilmiştir. Çalışmamıza göre de değişen NiSO_4 konsantrasyonlarının brokoli fidelerinin büyümesini etkilediği söylenebilir.

Arabis paniculata, *Brassica juncea* gibi ağır metallere karşı toleranslı olan bitkiler dışında bazı ağır metallerin bitki büyümesini azalttığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır (Kupper ve diğ., 2000; Milone ve diğ., 2003; Clemens, 2006). 100 μM NiSO_4 içeren seride yetiştirilen 9 günlük *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarının taze ağırlık miktarlarının diğer serilerden düşük çıkması yapılan çalışmalarda sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Gajewska ve diğ. (2006), bitki ağırlığındaki azalmanın kısmen içsel su dengesindeki bozukluklar ve bitki dokularının su içeriğindeki azalma ile bağlantılı olabileceğini belirtmişlerdir. Taze ağırlık miktarlarındaki bu azalmanın yüksek ağır metal konsantrasyonlarındaki su içeriğindeki azalmanın yanı sıra protein yıkımının teşvik edilmesinden kaynaklandığı da düşünülmektedir (Luna ve diğ., 2004; Cuypers ve diğ., 2005; Perales-Vela ve diğ., 2007). Aynı zamanda fidelerin kök ve hipokotillerinde 10 ve 100 μM NiSO_4 serilerinde kuru ağırlık miktarlarının azaldığı, kotiledonlarında ise 100 μM NiSO_4 serisinde azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.4). Bu sonuçlar, Athar ve Ahmad'ın (2002) yüksek konsantrasyonda Ni uygulanan buğday fidelerindeki büyüme ile ilgili yaptıkları çalışmadan elde ettikleri veriler ile benzerlik göstermektedir. 10 ve 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin taze ağırlık miktarları kontrole göre düşük bulunmuş, yapraklar haricinde kuru ağırlık miktarlarının 1 μM NiSO_4 konsantrasyonu dışında diğer serilerde azaldığı kaydedilmiştir (Tablo 4.5). Rahman ve diğ. (2005)'nin arpa bitkileriyle ilgili yaptıkları bir çalışmada, Ni-eksik bitkiler ile karşılaştırıldığında, bitkilerin kuru ağırlığı 10 μM Ni konsantrasyonuna kadar artmıştır, ancak en yüksek değerler 1 μM Ni de elde edilmiştir ve bu veriler ışığında 1-10 μM Ni nin arpa bitkilerinin optimum büyümesi için gerekli olduğu düşünülmüştür. Elde ettiğimiz bulgular yapılan bu çalışma ve Brown ve diğ. (1987b) nin sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bu bulgular, ağır metaller tarafından hücre bölünmesinin ya da hücre uzamasının inhibe edilmesi ya da her ikisinin birlikte kombinasyonu ile doğrudan kök ve sürgün büyümesinin inhibe edildiğini göstermektedir (Mocquot ve diğ., 1996; El-Sheekh ve diğ., 2003; Vijayarangan ve Dhanavel, 2005). Sonuç olarak, büyüme parametreleri dikkate alındığında, 10 ve 100 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında bitki büyüme ve gelişmesinin inhibe edildiği görülmüştür (Tablo 4.4 ve Tablo 4.5).

Ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla en sık yapılan çalışmalardan birisi bitkideki klorofil içeriğinin belirlenmesidir (Medvedava, 1972;

Mishra ve diğ., 1973; Mishra ve Kar, 1974; Ewais, 1997; Ali ve diğ., 2003; Rahman ve diğ., 2005; Gajewska ve diğ., 2006). Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 serileri uygulanan 9 ve 30 günlük *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) fidelerinin kotiledon ve yapraklarındaki klorofil a, klorofil b, total klorofil ve total karotinoid miktarları incelenmiş ve nikel konsantrasyonu artışının pigment içeriği üzerinde önemli etkileri olduğu gözlenmiştir. 9 günlük brokoli fidelerinde en yüksek klorofil a içeriğinin kontrol grubu bitkilerde, en yüksek klorofil b içeriğinin ise 1 μM NiSO_4 uygulaması yapılmış fidelerde olduğu görülmüştür. Fidelerin klorofil a ve klorofil b içeriği üzerine 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunun toksik etkiler meydana getirdiği gözlenmiştir. Fide gelişiminin en iyi olduğu konsantrasyonun 1 μM NiSO_4 olduğu belirlenmiştir. En düşük total klorofil içeriğinin ise 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.6 ve Şekil 4.6). 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriklerine bakıldığında ise, 0,01 μM NiSO_4 serisindeki azalmanın ardından 0,1 μM NiSO_4 serisindeki en yüksek artışı diğer serilerde kademeli olarak düşüş takip etmiştir. En düşük klorofil a, klorofil b ve total klorofil içerikleri ise 100 μM NiSO_4 konsantrasyonunda bulunmuştur (Tablo 4.7 ve Şekil 4.7). Bazı araştırmacılar tarafından nikel bağli olarak, farklı bitki türlerinde klorofil miktarının azaldığı rapor edilmiştir. Cu-Ni içeren topraklarda yetişen *Empetrum nigrum*'un klorofil miktarının kontrol bitkilerine göre azalma gösterdiği kaydedilmiştir (Monni ve diğ., 2001). Yapılan bir çalışmada, *Raphanus sativus* bitkisine artan nikel sülfat konsantrasyonları uygulandığı zaman, klorofil a, klorofil b ve karotinoid içeriklerinde önemli azalmaların olduğu gösterilmiştir (Helmy-Latif, H., 2010). Bu durum, yüksek bitkilerde klorofil biyosentezinin metaller tarafından inhibe edildiğini göstermektedir (Prasad ve Prasad, 1987). Fotosentetik pigmentler üzerine ağır metallerin etkisi, kloroplast membranlarının peroksidasyonu ile oksidatif stres ve sonrasında hasara neden olan lokal olarak yaprak kloroplastlarında aşırı biriken ağır metaller nedeniyle olabilmektedir (Clemens ve diğ., 2002). Ayrıca, ağır metaller, doğrudan enzimlerin -SH gruplarına bağlanarak kloroplastın yapısı ve fonksiyonunu tahrip edebilirler ve klorofil biyosentezini etkileyebilirler (Baker, 1981). Ağır metal stresine bağli olarak klorofil içeriğinde görülen azalma, klorofil biyosentez yolunda iş gören enzimlerin ağır metaller tarafından engellenmesinin bir sonucu olabilir. Ağır metallerin serbest radikal oluşumuna neden olduğu ve bu yolla tilakoid membran lipidlerinin oksidatif yıkımına sebep olduğu anlaşılmıştır (Sandmann ve Böger, 1980;

Maksymiec ve diğ., 1994; Ciscato ve diğ., 1997). Bu ve benzeri durumlarda klorofil yıkımının artması ya da sentezinin engellenmesi ile klorofil miktarının azalmış olabileceği düşünülmektedir (Luna ve diğ., 1994). Diğer yandan nikelin klorofil içeriğini artırdığına yönelik çalışmalarda mevcuttur. *Albizia lebbek* bitkisinde nikelin, kök ve sürgün büyümesi, yaprak alanı ve biyokütlesi ile yapraklardaki klorofil, protein, karbonhidrat ve şeker üzerine teşvik edici etkilerinin olduğu Tripathi ve diğ. (1999) tarafından gösterilmiştir. Mısır ve yulaf bitkilerine ekim öncesinde 100-200 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ni uygulamasının total klorofil ve karotinoid miktarlarında artışa neden olduğu gözlenmiştir (Efimov ve diğ., 1967; Kashin, 1968; Mishra ve Kar, 1974). Ekim öncesinde düşük konsantrasyonlarda Ni uygulanan patates tuberlerinde klorofil, karotin ve ksantofil sentezinin arttığı tespit edilmiştir (Lapa ve diğ., 1963; Lapa ve diğ., 1969; Mishra ve Kar, 1974).

Karotinoidler antioksidan özelliği olan, hücreyi stres ile oluşan sitotoksik radikallerin oksidatif zararlarından koruyan düşük molekül ağırlıklı pigmentlerdir (Bartley ve Scolnik, 1995; Kösesakal, 2005). Ayrıca fotosentetik membranı da fotooksidasyondan korumaktadır. Antioksidan savunma sisteminde önemli yeri olan karotinoid pigmenti miktarının belirlenmesi bitkinin strese karşı cevabında önemli olup, 9 günlük *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) fidelerinin kotiledonlarının karotinoid içeriklerinin 0,1 ve 1 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında arttığı, 0,01, 10 ve 100 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında ise azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.8 ve Şekil 4.8). 30 günlük fidelerin yapraklarının karotinoid içeriklerine bakıldığında ise, en fazla artışın 0,1 μM NiSO_4 uygulanan fidelerde olduğu görülmüştür. En düşük karotinoid içeriği ise yine 9 günlük bitkilerde olduğu gibi 100 μM NiSO_4 uygulanan brokoli fidelerinde tespit edilmiştir (Tablo 4.9 ve Şekil 4.9). Bu artışlar, Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu'nun (2005) Ni uygulanmış fasulye fidelerinin yapraklarındaki karotinoid içeriğindeki artış ve bezelye bitkilerinde Ni uygulaması ile karotinoid oluşumunun teşvik edildiğinin gösterildiği (Mishra ve Samal, 1971) çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar ile ilgili olarak, farklı konsantrasyonlarda Ni uygulanmış 9 ve 30 günlük fidelerin kotiledon ve yapraklarında ölçülen karotinoid içeriklerinin bitkinin organlarına ve Ni konsantrasyonuna bağlı olarak değişebileceği söylenebilir.

Ni uygulanan 9 ve 30 günlük *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) fidelerinin farklı kısımlarındaki protein miktarları da analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre 9 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki total protein içeriğinin 0,01 ve 0,1 μM NiSO_4 serilerinde azaldığı, 1 μM NiSO_4 serisinde arttığı, 10 ve 100 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında ise tekrar azaldığı belirlenmiştir. 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki total protein içeriğinin ise 0,01 ve 0,1 μM NiSO_4 serilerinde arttığı, 1 μM NiSO_4 serisinde kontrole yakın olduğu, 10 ve 100 μM NiSO_4 konsantrasyonlarında ise tekrar azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11). 9 günlük fidelerin hipokotil bulgularına göre, 0,01, 0,1 ve 1 μM NiSO_4 serilerinde artış görülürken, 10 ve 100 μM NiSO_4 besi çözeltilerinde protein içeriğinde azalmaların olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10). 30 günlük fidelerin gövde bulgularının, 9 günlük bitkilerin hipokotil bulguları ile benzer olduğu görülmüştür. 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdiği protein içeriği köklerdeki bulgularla benzer olup 1 μM NiSO_4 konsantrasyonu dışında diğer tüm serilerde azalmalar kaydedilmiştir. Değişen NiSO_4 uygulamalarında 30 günlük fidelerin yapraklarındaki protein içeriklerine göre, 0,01, 0,1 ve 1 μM NiSO_4 serilerinde yetişen fidelerin yapraklarında artış görülürken, 10 ve 100 μM NiSO_4 besi çözeltilerindeki fidelerin yapraklarında protein içeriğinde azalmaların olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10). Total çözünebilir protein içeriğinin bitkilerde ölçülmesi, ağır metal toksisitesi gibi çeşitli stres koşulları altında hücrelerin fizyolojik durumlarının belirlenmesinde önemli bir kriterdir (Davies, 1987; Fernandes ve diğ., 1990; Palma ve diğ., 2002; Cuypers ve diğ., 2005). Ni eksikliği sırasında gözlenen fizyolojik anormallikler Ni nin birçok fizyolojik olayda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bununla ilgili olarak Ni nin metabolik etkiler ile bağlantılı olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Brown ve diğ., 1987; Sagner ve diğ., 1998). Ni nin en belirgin etkilerinden biri protein metabolizması üzerinedir. Nikel mısır ve yulaf bitkilerinde total protein ve total azot içeriğini artırmıştır (Mishra ve Kar, 1974; Welch, 1981). 5-6 yaprak aşamasındaki *Alyssum* bitkisine NiSO_4 çözeltisi püskürtüldüğünde yapraklarının serbest amino asit içeriğinin arttığı görülmüştür (Brooks ve diğ., 1981). Senesens geçiren kesik pirinç yapraklarında, Mishra ve Samal (1971), NiCl_2 nin protein yıkımının durdurulmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları incelendiğinde, ortamda ağır metal artışına bağlı olarak bitkilerde düşük metal konsantrasyonlarında protein miktarında artış olurken, artan konsantrasyonla protein sentezinin engellendiği, buna bağlı olarak protein içeriğinde düşüş meydana geldiği

gözlenmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bizim bulduğumuz sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Peroksidaz (POD) enzimi antioksidan bir enzimdir ve stres koşullarında aktivitesi artmaktadır (Hayat ve diğ., 2007). Peroksidaz (POD, EC 1.11.1.7.), hücre metabolizmasının toksik radikallerini ortadan kaldırmakta (Priestley, 1986) ve fenolik bileşikler gibi bazı indirgeyici maddeleri kullanarak H_2O_2 yi azaltmaktadır (Gaspar ve diğ., 1991). Bitki peroksidazlarının büyüme ve gelişme (Riquelme ve Cardemil, 1993), hücre çeperlerindeki lignin biyosentezi (Bruce ve West, 1989) ve çevresel streslere verilen cevaplarda rol oynadığı bilinmektedir (Markkola ve diğ., 1990; Cippolini, 1998). Ağır metalleri içeren farklı stres faktörlerine karşı bitkilerin cevabında, POD aktivitesinin teşvik edildiği gözlenmiştir (Pandolfini ve diğ., 1992; Diaz ve diğ., 2001; Šimonovičová ve diğ., 2004). Bu enzimin bitkilerde öldürücü metal toksisitesi için olası bir belirteç olduğu ileri sürülmektedir (Mocquot ve diğ., 1996). *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) fidelerinde yapılan analizlerde, 9 günlük fidelerin kök ve hipokotillerinde kontrole göre en yüksek POD aktivitesinin $100 \mu M$ $NiSO_4$ konsantrasyonunda olduğu, en düşük aktivitenin ise kökte $1 \mu M$ $NiSO_4$ de, hipokotilde ise $10 \mu M$ $NiSO_4$ de olduğu belirlenmiştir. 9 günlük bitkilerin kotiledonlarında ise POD aktivitesinin $10 \mu M$ $NiSO_4$ konsantrasyonunda arttığı görülmüştür. 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve gövdelerindeki POD aktivitesi 9 günlük bitkilerin kök ve hipokotillerindeki bulgularla benzerlik göstermekte ve en yüksek aktivitenin $100 \mu M$ $NiSO_4$ konsantrasyonunda, her ikisi için de en düşük aktivitenin $1 \mu M$ $NiSO_4$ konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. 30 günlük brokoli bitkilerinin yapraklarına bakıldığında, yine en yüksek aktivitenin $100 \mu M$ $NiSO_4$ de olduğu, en düşük aktivitenin ise $0,01 \mu M$ $NiSO_4$ uygulanan fidelerde olduğu görülmüştür. Gajewska ve diğ. (2006)'nin yaptıkları bir çalışmada 10 ve $200 \mu M$ Ni uygulamasına maruz kalan *Triticum* bitkilerinin gövdelerindeki POD aktivitesi $10 \mu M$ da azalırken, $200 \mu M$ konsantrasyonda birkaç kat artış göstermiştir. Ni içeren ağır metallerin bitkilere uygulanmasından sonra enzim aktivitesinde görülen artış daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Pandolfini ve diğ., 1992; Díaz ve diğ., 2001; Šimonovičová ve diğ., 2004). Metal stresi altında POD aktivitesinin artması, H_2O_2 nin bertaraf edilmesi gibi (Tewari ve diğ., 2002) hücre içine giren toksik metallere karşı fiziksel bariyer oluşturulmasındaki rolü ile açıklanmaktadır (Díaz ve diğ., 2001). Çalışmadaki POD

aktivitesinin teşviki, Diaz ve diğ. (2001) tarafından elde edilen sonuçlarla uyumludur. Cu ya maruz kalan biber fidelerinde POD un katalizlediği lignifikasyon tarafından hücre duvarı plastisitesinin azaltılmasında ve bunun sonucunda büyüme inhibisyonunda POD un yer aldığı düşünülmektedir. Ayrıca, deney esnasında POD faaliyetindeki artışın, Gabbrielli ve diğ. (1999) tarafından bildirilen bitki dokularındaki Ni nin teşvik ettiği senesens ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Genel olarak peroksidaz (POD) aktivitesindeki artış, stres altındaki bitki yapraklarında hücre membran bütünlüğünün korunmaya çalışıldığını ve hücre çeperinin mekaniksel özelliklerinin düzenlendiğini göstermektedir (Ekmekçi ve Terzioğlu, 2005). *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) fidesinin farklı kısımlarında artan Ni konsantrasyonlarına karşı gelişen savunma cevabında POD aktivitelerinin 10 ve 100 μM konsantrasyonlarında artış gösterdiği söylenebilir.

Kontrol (Hoagland) ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO_4 serilerinde yetiştirilen 9 ve 30 günlük *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) fidelerinin farklı organlarının membranlarında meydana gelen lipid peroksidasyonu belirlemek için peroksidasyon sonucu oluşan ürünlerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarları ölçülmüştür (Porter, 1984; Placer ve diğ., 1990; Mercan, 2004). 0,01 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilisinde yetiştirilmiş 9 günlük fidelerin köklerinde MDA içeriğinin minimum düzeyde olduğu 100 μM NiSO_4 uygulamasında ise miktarının arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.18). 0,1 μM NiSO_4 uygulanmış fidelerin hipokotillerinde MDA içeriğinin arttığı gözlenmiş, 0,01 μM NiSO_4 serisinde ise kontrole göre azalma olduğu izlenmiştir (Şekil 4.19). 9 günlük bitkinin kotiledonlarında ise 10 μM NiSO_4 uygulamasında MDA içeriği artarken, 0,01 ve 0,1 μM NiSO_4 serilerinde azalmaların olduğu saptanmıştır (Şekil 4.20). 30 günlük fidelerin köklerinde 100 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilerinde artan MDA içeriği, 0,01 μM NiSO_4 besi çözeltilisinde azalmıştır (Şekil 4.21). Gövdelerde ise, 1 μM NiSO_4 içeren besi çözeltilisinde yetiştirilmiş fidelerin MDA içeriğinin minimum düzeyde olduğu, 10 μM NiSO_4 uygulamasında ise miktarının arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.22). Yapraklarda en yüksek MDA içeriğinin 10 μM NiSO_4 , en düşük MDA içeriğinin ise 0,1 μM NiSO_4 uygulamasında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.23). Nikel uygulanan bitki gruplarında MDA içeriğindeki artış, lipid peroksidasyonunun artışının bir belirtisidir. Genel olarak 10 ve 100 μM NiSO_4 uygulanan bitkilerde MDA içeriğinin kontrole kıyasla daha yüksek çıktığı görülmektedir. Bu durum 10 ve 100 μM NiSO_4

konsantrasyonlarının lipid peroksidasyonunu artırdığını göstermektedir. Çeşitli stres koşullarına karşı artan peroksidaz aktivitesi, bitkilerin genel olarak gösterdiği bir cevaptır (Pandolfini ve diğ., 1992; Díaz ve diğ., 2001; Gülen ve Eriş, 2004; Šimonovičová ve diğ., 2004). Buna bağlı olarak, 10 ve 100 μM NiSO_4 uygulanan gruplarda kontrole kıyasla antioksidan bir enzim olan peroksidazın uyarıldığı ve aktivitesinin arttığı da görülmektedir. Genel olarak 0,01, 0,1 ve 1 μM NiSO_4 uygulanan bitkilerde kontrole kıyasla MDA içeriğinde bir azalma vardır ve bu durum ise ilgili serilerin lipid peroksidasyonunu azalttığına bir işarettir. Azalan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak peroksidaz aktivitesi de azalmıştır. Bu sonuçlara göre, MDA içeriği ve peroksidaz (POD) aktivitesi arasında bir ilişki olduğu ilgili literatürlerle paralellik göstermektedir (Pandolfini ve diğ., 1992; Luna ve diğ., 1994; Weeks ve Clijsters, 1996; Chaoui ve diğ., 1997; Mazhoudi ve diğ., 1997; Weeks ve Clijsters, 1997). Pigment sistemi de stres koşullarından etkilenmektedir. Karotinoid seviyesindeki azalma membran lipidlerinin peroksidasyonuna yol açmakta ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun artmasına neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonun artması membranı peroksidasyondan koruyan antioksidan enzimlerin indüklenmesine neden olmaktadır (Candan ve Tarhan, 2003). Yapılan bir çalışmada, Zn ve Ni toksisitesinin *Cajanus cajan* L. bitkisinin kök ve gövdesinde MDA birikimini artırdığı gösterilmiştir (Madhava Rao ve Sresty, 2000). Diğer bazı çalışmalarda, *Brassica napus* ve *Brassica oleracea* bitkilerinde, artan dozda uygulanan (0, 10, 25, 50 μM) kadmiyum sonucu yapraklardaki MDA miktarının arttığı (Nouairi ve diğ., 2009), çinko stresine bağlı olarak klorofil ve karotinoid içeriğinin azaldığı bunun sonucunda da lipid peroksidasyonun arttığı (Candan ve Tarhan, 2003) bildirilmiştir. Yine ağır metal uygulaması sonucu malondialdehit miktarında artışların gözlemlendiği başka çalışmalar da mevcuttur (Khan ve diğ., 2009; Janas ve diğ., 2010). Bu çalışmaların sonuçları ile elde edilen bulgular birbiriyle paralellik göstermektedir. Sonuçlar incelendiğinde, MDA içeriğindeki artışların, uygulanan yüksek dozdaki nikelin (10 ve 100 μM NiSO_4) brokoli bitkisinde lipid peroksidasyonuna neden olarak membran hasarına ve membran bütünlüğünün bozulmasına yol açabileceğini ve bu değişimlerin bitki tarafından tolere edilmesi güç olan toksik seviyeler olabileceğini düşündürmektedir.

Genel olarak artan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak organlardaki nikel birikiminde de artışların olduğu kaydedilmiştir. Nikelin daha çok köklerde biriktiği, böylece aşırı

miktardaki nikelin gövde ve yapraklara geçişinin engellendiği belirlenmiştir (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25). 9 ve 30 günlük *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) bitkisinde, nikelin en çok köklerde depo edildiği ve 10 μM NiSO_4 den itibaren köklerdeki nikel birikiminin oldukça yüksek bir artış gösterdiği görülmüştür. Uygulanan konsantrasyonlarda bitkideki birikim değerlerinin kontrole göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Verilere göre, her bir bitki kısmında konsantrasyona bağlı olarak artan nikel içeriğinin en fazla 100 μM NiSO_4 uygulanan fidelerin köklerinde bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25). Birçok araştırmacı, hareketlilikleri farklı olsa da metallerin genellikle köklerde, toprak üstü organlara göre daha fazla biriktirildiğini bildirmişler ve bunun nedenini; kök hücrelerine geçen metallerin merkezi silindire ulaşmasının, bariyer gibi davranan endodermis hücreleri tarafından büyük oranda engellenmesi ve bitkinin diğer kısımlarına taşınmasının kısıtlanması (Seregin ve Ivanov, 1997; Tester ve Leigh, 2001; Ramos ve diğ., 2002; Verma ve Dubey, 2003) şeklinde açıklamışlardır. Lavado ve diğ. (2001) tarafından *Zea mays*, *Glycine max* ve *Triticum* bitkilerindeki metal konsantrasyonları ve dağılımlarını inceledikleri bir çalışmanın sonuçlarına göre, bitki türlerinin farklı organlarında farklı metalleri biriktirme eğiliminde olduğu bildirilerek nikelin en fazla birikim gösterdiği bitki organının kök olduğu tespit edilmiştir.

Nikel en az birkaç hayvan türü, mikro-organizmalar ve bitkiler için gerekli temel besin elementidir ve bu nedenle çok az ya da çok fazla nikel alındığında sırasıyla eksiklik ya da toksisite belirtileri meydana gelmektedir. Nikelin hücresel etkilerinin belirlenmesine rağmen, insanlardaki eksikliği durumu henüz tanımlanmamıştır (Bencko, 1983; Klaassen, 1996; Uthus ve Poellot, 1996; Scott-Fordsmand, 1997; Barceloux, 1999). Yapılan bazı çalışmalar, nikel alımının son derece değişken olduğunu ancak bu metalin günlük alımının bir çok ülkede 100-300 $\mu\text{g/gün}$ gıda aralıklarında belirlendiğini göstermektedir (Clayton ve Clayton, 1994; Grandjean, 1984; Collery ve diğ., 1996). Dünya Sağlık Örgütü (W.H.O.)’de nikelin günlük alım miktarını 100-300 μg arasında önermektedir (W.H.O., 1994). Bu nedenle son yıllarda oldukça güncel ve ticari değere sahip olan brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) gibi sıkça tüketilen bitkilerin ne miktarda ağır metal biriktirdiğini bilmemiz faydalı olacaktır. Nikelin brokoli bitkisinin gövde ve yaprak gibi toprak üstü organlarından çok özellikle köklerinde birikim gösteriyor olması da bitkinin güvenli bir şekilde tüketilmesi yönünde umut vericidir.

Sonuç olarak, bitkiler için temel bitki besin elementi olduğu kabul edilen, bununla birlikte çok küçük miktarlarda bile toksik etki gösteren nikelin artan konsantrasyonlarının brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) bitkisinin tohum çimlenmesi ve büyüme-gelişme süreçleri üzerine olan etkileri ile ilgili bulgular incelendiğinde, düşük konsantrasyonlarda (0,01, 0,1 ve 1 μM NiSO_4) bitki gelişiminin olumlu şekilde etkilendiğı, yüksek nikel konsantrasyonlarının ise (10 ve 100 μM NiSO_4) toksik etkilere neden olduğı tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- AAPFCO, 2005, Association of American Plant Food Control Officials, Model for Fertilizer Regulation in North America, <http://www.aapfco.org/aapfcorules.html> (December 15, 2010).
- ABEBE, Y., 1993, *Improving Tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) Seed Germination under High Temperature by Seed Priming, Scarification, Heatshock and Light*, MSc Thesis, Hort. Sci. Dept. Univ. of Florida.
- ABOU AUDA, M.M., SYMEONIDIS, L., HATZISTAVROU, E. ve YUPSANIS, T., 2002, Nucleolytic Activities and Appearance of a New DNase in Relation to Nickel and Manganese Accumulation in *Alyssum murale*, *J. Plant Physiol.*, 159, 1087-1095.
- AHMAD, M.S.A., HUSSAIN, M., SADDIQ, R. ve ALVI, A.K., 2007, Mungbean: A Nickel Indicator, Accumulator or Excluder?, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 78, 319-324.
- AHMAD, M.S.A., ASHRAF, M., AHMED, R. ve ASHRAF, M.Y., 2009, Effect of Nickel on Seed Germinability of Some Elite Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Cultivars, *Pak. J. Bot.*, 41, 1871-1882.
- AHONEN-JONNARTH, U., VAN HEES, P.A.W., LUNDSTROM, U.S. ve FINLAY, R.D., 2000, Organic Acids Produced by Mycorrhizal *Pinus sylvestris* Exposed to Elevated Aluminium and Heavy Metal Concentrations, *New Phytol.*, 146, 557-567.
- AKINCI, S. ve AKINCI, İ.E., 2011, Nikelin Ispanakta (*Spinacia oleracea*) Çimlenme ve Bazı Fide Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi, *Ekoloji*, 20, 79, 69-76.
- ALI, M.B., VAJPAYEE, P., TRIPATHI, R.D., RAI, U.N., SINGH, S.N. ve SINGH, S.P., 2003, Phytoremediation of Lead, Nickel, and Copper by *Salix acmophylla* Boiss. Role of Antioxidant Enzymes and Antioxidant Substances, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70, 462-469.
- ALI, B., HAYAT, S., FARIDUDDIN, Q. ve AHMAD, A., 2008, 24-Epibrassinolide Protects Against the Stress Generated by Salinity and Nickel in *Brassica juncea*, *Chemosphere*, 72, 1387-1392.
- ALLOWAY, B. J., 1995, In *Heavy Metal in Soils* (Ed: B. J. Alloway), 2nd ed., Blackie Academic and Professional, London, pp. 25-34.

- ANDREEVA, I.V., GOVORINA, V.V., VINOGRADOVA, S.B. ve YAGODIN, B.A., 2001, Nickel in Plants, *Agrokhimiya*, 3, 82-94.
- ANONİM, 1990, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 49, *Chromium, Nickel and Welding*, IARC, Lyon, France, pp. 257-446.
- ANONİM, 2009, Brokkoli Yetiştiriciliği [http: // www .izmir-tarim. gov. tr /organik/organik.asp](http://www.izmir-tarim.gov.tr/organik/organik.asp) (Erişim tarihi: 03.01.2011).
- ANTONIADIS, V., ROBINSON, J.S. ve ALLOWAY, B.J., 2008, Effects of Short-term pH Fluctuations on Cadmium, Nickel, Lead, and Zinc Availability to Ryegrass in a Sewage Sludge-amended Field, *Chemosphere*, 71, 759-764.
- ARNON, D.I. ve STOUT, P.R., 1939, The Essentiality of Certain Elements in Minute Quantity for Plants with Special Reference to Copper, *Plant Physiol.*, 14, 371-375.
- ASCHMANN, S.G. ve ZASOSKI, R.J., 1987. Nickel and Rubidium Uptake by Whole Oat Plant in Solution Culture, *Physiol. Plant.*, 71, 191-196.
- ASHER, C.J., 1991, *Micronutrients in Agriculture*, 2nd ed., Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 703-723.
- ASLANER, M., 1979, Nikel Yatakları ve Türkiye Nikel Olanaklarına Toplu ve Yeni Bir Bakış, *Jeoloji Mühendisliği Dergisi*, 8, 25-36.
- ASSUNÇÃO, A.G.L., BOOKUN, W.M.T., NELISSEN, H.J.M., VOOIJS, R., SCHAT, H. ve ERNST, W.H.O., 2003, Differential Metal-specific Tolerance and Accumulation Patterns among *Thlaspi caerulescens* Populations Originating from Different Soil Types, *New Phytol.*, 159, 411-419.
- ATHAR R. ve AHMAD, M., 2002, Heavy Metal Toxicity: Effect on Plant Growth and Metal Uptake by Wheat, and on Free Living *Azotobacter*, *Water Air Soil Pollut*, 138, 165-180.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2003, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, *Draft toxicological profile for nickel*, Atlanta, Georgia, 23-168.
- AXTELL, N., STERNBERG, S. ve CLAUSSEN, K., 2003, Lead and Nickel Removal Using Microspora and *Lemna minor*, *Bioresour. Technol.*, 89, 41-48.
- BAKER, A.J.M., 1981, Accumulators and Excluders, Strategies in the Response of Plants to Heavy Metals, *Journal of Plant Nutr.*, 3, 643-654.
- BAKER A.J.M. ve BROOKS R.R., 1989, Terrestrial Higher Plants which Hyperaccumulate Metallic Elements, A Review of their Distribution, Ecology and Phytochemistry, *Biorecovery*, 1, 81-126.

- BAKER, A.J.M., MCGRATH, S.P., SIDOLI, C.M.D. ve REEVES, R.D., 1994, The Possibility of in situ Heavy Metal Decontamination of Polluted Soils Using Crops of Metal-accumulating Plants, *Resour. Conserv. Recycl.*, 11, 41-49.
- BAKER, A.J.M., MCGRATH, S.P. ve REEVES, R.G., 2000, in *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water* (Eds.: T. Norman, B. Gary), CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 85-107.
- BALAGUER, J., ALMENDO, M.B., GOMEZ, I., NAVARRO-PEDRENO, J. ve MATAIX, J., 1998, Tomato Growth and Yield Affected by Nickel Presented in the Nutrient Solution, *3RF DX.*, 458, 269-272.
- BARCELOUX, D.G., 1999, Nickel, *Clin. Toxicol.*, 37, 239.
- BARTLEY, G.E. and SCOLNIK, P.A., 1995, Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction and Human Health, *The Plant Cell*, 7, 1027-1038.
- BATIANOFF, G.N. ve SPECHT, R.L., 1992, in *The Ecology of Ultramafic (Serpentine) Soils*, Intercept Ltd., Andover, UK, pp. 109-128.
- BAZZAZ, F.A., CARLSON R.B. ve ROLFE, G.L., 1974, The Effect of Heavy Metals on Plants, I Inhibition of Gas Exchange in Sunflower by Pb, Cd, Ni and Ti, *Environ. Pollut.*, 7, 241-246.
- BECHER, M., TALKE, I.N., KRALL, L. ve KRÄMER, U., 2004, Cross-species Microarray Transcript Profiling Reveals High Constitutive Expression of Metal Homeostasis Genes in Shoots of the Zinc Hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*, *Plant J.*, 37, 251-268.
- BELLION, M., COURBOT, M., JACOB, C., GUINET, F., BLAUDEZ, D. ve CHALOT, M., 2007, Metal Induction of a *Paxillus involutus* Metallothionein and Its Heterologous Expression in *Hebeloma cylindrosporum*, *New Phytol.*, 174, 151-158.
- BENAVIDES, M.P., GALLEG0, S.M. ve TOMARO, M.L., 2005, Cadmium Toxicity in Plants, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1), 21-34.
- BENCKO, V., 1983, Nickel: A Review of its Occupational and Environmental Toxicology, *J. Hyg. Epidem. Micro. Immun.*, 27, 237.
- BERTRAND, D. ve DE WOLF, A., 1973, Importance in Nickel, Comme Okigoelement Pour les *Rhizobium* des Nodules Leguminueses, *C.R. Hend. Acad. Sci.*, Paris, 79, 1855-1858.
- BETHKEY, P.C. ve DREW, M.C., 1992, Stomatal and Non-stomatal Components to Inhibition of Photosynthesis in Leaves of *Capsium annum* during Progressive Exposure to NaCl Salinity, *Plant Physiol.*, 99, 219-226.

- BEWLEY, J.D. ve BLACK, M., 1994., *Seeds: Physiology of Development and Germination*, 2nd edition, Plenum Pres, New York.
- BEWLEY J.D., 1997, Seed germination and dormancy, *Plant Cell*, 9, 1055-1066.
- BHATIA, N.P., 2003, *Ecophysiology of Nickel Hyperaccumulation in Stackhousia tryonii Bailey*, PhD Thesis, Central Queensland University, Australia.
- BHATNAGAR, S.P. ve SAWHNEY, V., 1981, Endosperm–its Morphology, Ultrastructure and Histochemistry, *Int. Rev. Cytol.*, 73, 55-102.
- BIRECKA, H., BRIBER, K.A. ve CATALFAMO, J.L., 1973, Comparative Studies on Tobacco Pit and Sweet Potato Root Isoperoxidases in Relation to Injury, Indolaceticacid and Ethylene effects, *Plant Physiol.*, 52, 43-49.
- BLOOM, A.J., 2002, *Mineral Nutrition*, In: *Plant Physiology*, Taiz, L. and E. Zeiger (Eds.). Sinauer Associates, Sunderland, MA, pp: 67-86.
- BOESEWINKEL, F.D. ve BOUMAN, F., 1995, *Seed Morphology and Development*, J. Kigel and G. Galili, editors, Seed Development and Germination, Marcel Dekker, New York.
- BOLLARD, E.G., 1983, in *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, 15B (Eds.: A. Lauchli, R. L. Bielecki), Springer-Verlag, Berlin, pp. 695-755.
- BOOMINATHAN, R. ve DORAN, P.M., 2002, Ni-induced Oxidative Stress in Roots of the Ni Hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*, *New Phytol.*, 156, 205-215.
- BOYALI, İ., 1984, *Yunusemre-Karaçam-Doğray-Karkın-Karaburhan-Dümrek (Mihalıççık, Sivrihisar, ESKİŞEHİR) Yöresi Nikel–Kobalt Prospeksiyon Raporu*, MTA Genel Müd., Ankara.
- BOYD, R.S. ve MARTENS, S.N., 1992, in *The Vegetation of Ultramafic (Serpentine) Soils* (Eds: A. J. M. Baker, J. Proctor, R. D. Reeves), Intercept Ltd., Andover, UK, pp. 279-289.
- BOYD, R.S. ve MARTENS, S.N., 1998, The Significance of Metal Hyperaccumulation for Biotic Interactions, *Chemoecology*, 8, 1-7.
- BOYD, R.S., 2004, Ecology of Metal Hyperaccumulation, *New Phytol.*, 162, 563-567.
- BOZKURT, R., 1974, *Dumluca (Sivas) Köyü Ni, Co, Bi, Mineralizasyonunun Metalojenik ve Yakın Yöresinin Petrografik Etüdü*, Doktora Tezi, K. T. Ü. Yayını, Trabzon, 1445.
- BRADFORD, M.M., 1976, A rapid and Sensitive Method for the Quantization of Microgram Quantities of Protein Utilising the Principle of Protein–dye Binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248–254.

- BRAGATO, C., BRIX, H. ve MALAGOLI, M., 2006, Accumulation of Nutrients and Heavy Metals in *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel and *Bolboschoenus maritimus* L. Palla in a Constructed Wetland of the Venice Lagoon Watershed, *Environ. Pollut.*, 144, 967-975.
- BROOKS, R.R., MORRISON, R.S., REEVES, R.D., DUDLEY, T.R. AKMAN Y., 1979, Hyperaccumulation of nickel by *Alyssum linnaeus* (Cruciferae), *Proc. R. Soc. London Sect. B*, 203, 387-403.
- BROOKS, R.R., SHAW, S. ve MARFIL, A.A., 1981, The Chemical Form and Physiological Function of Nickel in Some Iberian *Alyssum* species, *Physiol. Plant.*, 51, 167-170.
- BROWN, P.H., WELCH, R.M., CARY, E.E. ve CHECKAI, R.T., 1987b, Beneficial Effects of Nickel on Plant Growth, *Journal of Plant Nutrition*, 10, 2125-2135.
- BROWN, P.H., WELCH, R.M. ve CARY, E.E., 1987, Nickel a Micronutrient Essential for All Higher Plants, *Plant Physiology*, 85, 801-803.
- BROWN, P.H., WELCH, R.M. ve MADISON, J., 1990, Effect of Nickel Deficiency on Soluble Anion, Amino Acid and Nitrogen Levels in Barley, *Plant and Soil*, 125, 19-27.
- BRUCE, R.J. ve WEST, C.A., 1989, Elicitation of Lignin Biosynthesis, Isoperoxidase Activity by Pectic Fragments in Suspension Culture of Castor Bean, *Plant Physiol.*, 91, 889-897.
- BURKE, D.J., WEIS, J.S. ve WEIS, P., 2000, Release of Metals by the Leaves of the Salt Marsh Grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*, *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 51, 153-159.
- BUSHNELL, W.P., 1966, Delay of Senescence in Wheat Leaves by Cytokinins, Nickel and other substances, *Can. J. Bot.*, 44, 1485-1493.
- CAN, A., 1969, *Sivas-Divriği-Güneş-Soğucak Köyleri Nikel Zuhuru Jeolojik Etüdü*, M.T.A., Rep: 1119, Ankara.
- CANDAN, N. ve TARHAN, L., 2003, Changes in Chlorophyll-carotenoid Contents, Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation Levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*, *Turk J. Chem.*, 27, 21-30.
- CANEB, G., 1970, Nikel, Madencilik, *TMMOB Maden Müh. Od. Derg.*, Cilt:9, Sayı:5.
- CANGUL, H., BRODAY, L., SALNIKOW, K., SUTHERLAND, J., PENG, W., ZHANG, Q., PLTARATSKY, V., YEE, H., ZORODDU, M.A. ve COSTA, M., 2002, Molecular Mechanisms of Nickel Carcinogenesis, *Toxicology Letters*, 127, 69-75.

- CATALDO, D.A., GERLAND, T.R. ve WILDBURG, R.E., 1978a, Nickel in Plants. I. Uptake Kinetics Using Intear Soybean Seedlings, *Plant Physiol.*, 62, 563-565.
- CATALDO, D.A., GERLAND, T.R. ve WILDBURG, R.E., 1978b, Nickel in Plants. II. Distribution and Chemical form in Soybean Plants, *Plant Physiol.*, 62, 566-570.
- CHAN, C., HUANG, D. ve LIU, J., 2009, Function and Toxicity of Nickel in Plants: Recent Advances and Future Prospects., *Clean-Soil, Air, Water*, 37, 304-313.
- CHANEY, R. L., MALIK, M., LI, Y.M., BROWN, S.L., BREWER, E.P., SCOOTT-ANGEL, J. ve BAKER, A.J.M., 1997, Phytoremediation of Soil Metals, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 279-284.
- CHANEY, R.L., ANGLE, J.S., MCINTOSH, M.S., REEVES, R.D., LI, Y.M., BREWER, E.P., CHEN, K.Y., ROSEBERG, R.J., PERNER, H., SYNKOWSKI, E.C., BROADHURST, C.L., WANG, S. ve BAKER, A.J., 2005, Using hyperaccumulator plants to phytoextract soil Ni and Cd, *Z. Naturforsch.*, 60, 190-198.
- CHAOUI, A., MAZHOUDI, S., GHORBAL, M.H. ve EL FERJANI, E., 1997, Cadmium and Zinc Induction of Lipid Peroxidation and Effects on Antioxidant Enzyme Activities in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Plant Sci.*, 127, 139-147.
- CHAOUI, A. ve EL FERJANI, E., 2005, Effects of Cadmium and Copper on Antioxidant Capacities, Lignification and Auxin Degradation in Leaves of Pea (*Pisum sativum* L.) seedlings, *CR. Biol.*, 328, 23-31.
- CHEN, C., HUANG, D. ve LIU, J., 2009, Functions and Toxicity of Nickel in Plants: Recent Advances and Future Prospects, *Clean*, 37, 304-313.
- CHUGH, L.K. ve SAWHNEY, S.K., 1993, Effect of Cadmium on Activities of Some Enzymes of Glycolysis and Pentose Phosphate Pathway in Pea, *Biologia Plantarum*, 42 (3), 401-407.
- CIPPOLINI, D.F. JR., 1998, The Induction of Soluble Peroxidase Activity in Bean Leaves by Wind-Induced Mechanical Perturbation, *American Journal of Botany*, 85, 1586-1591.
- CISCATO, M., VALCKE, R., VAN LOVEN, K., CLIJSTERS, H. ve NAVARI-IZZO, F., 1997, Effects of *in vivo* Copper Treatment on the Photosynthetic Apparatus of Two *Triticum durum* Cultivars with Different Stress Sensitivity, *Physiol. Plant.*, 100, 901-908.
- CITTERIO, S., SANTAGOSTINO, A., FUMAGALLI, P., PRATO, N., RANALLI, P. ve SGORBATI, S., 2003, Heavy Metal Tolerance and Accumulation of Cd, Cr, and Ni by *Cannabis sativa* L., *Plant and Soil*, 256, 243-252.
- CLARKSON, D.T. ve LUTTGE, U., 1989, Mineral Nutrition, Divalent Cations, Transport and Compartmentalization, *Prog. Bot.*, 51, 93-112.

- CLAYTON, G.D. ve CLAYTON, F.E., 1994, *Patty's Industrial Hygiene Toxicology*, 4th ed.; A Wiley-Interscience Publication: New York, pp 2157-2173.
- CLEMENS, S., PALMGREN, M.G. ve KRAMER, U., 2002, A Long Way a Head: Understanding and Engineering Plant Metal Accumulation, *Trends Plant Sci.*, 7, 309.
- COLLARD, J.M., CORBISIER, P., DIELS, L., DONG, Q., JEANTHON, C., MERGEAY, M., TAGHAVI, S., VAN DER LELIE, D., WILMOTTE, A. ve WUERTZ, S., 1994, Plasmids for Heavy Metal Resistance in *Alcaligenes eutrophus* CH34: Mechanisms and Applications, *FEMS Microbiol. Rev.*, 14, 405-414.
- COLLERY, P.H., CORBELL, A.J., DOMINGO, J.L., ETIENNE, J.C., UOBET, J., 1996, *Metal Ions in Biology and Medicine*, vol 4; John Libbey Eurotext: Paris, pp 172-174.
- COLPAS, G.J. ve HAUSINGER, R.P., 2000, In vivo and In vitro Kinetics of Metal Transfer by the *Klebsiella aerogenes* Urease Nickel Metallochaperone, UreE, *J. Biol. Chem.*, 275, 10731-10737.
- COSTA, G. MICHAUT, J.C. ve MOREL, J.L., 1994, Influence of Cadmium on Water Relations and Gas Exchanges in Phosphorus Deficient *Lupinus alba*, *Plant Physiol. Biochem.*, 32, 105.
- COURBOT, M., DIEZ, L., RUOTULO, R., CHALOT, M. ve LEROY, P., 2004, Cadmium-responsive Thiols in the Ectomycorrhizal Fungus *Paxillus involutus*, *Appl. Environ. Microb.*, 70, 7413-7417.
- CROOKE, W.M., HUNTER, J.G. ve VERGNANO, O., 1954. The Relationship between Nickel Toxicity and Iron Supply, *Ann. Applied Biol.*, 41, 311-324.
- CUNNINGHAM, S., 1995, In *Proceedings/Abstracts of the Fourteenth Annual Symposium*, Current Topics in Plant Biochemistry, – Physiology, and Molecular Biology Columbia, pp. 47-48.
- CUNNINGHAM, S.D. ve OW, D.W., 1996, Promises and Prospects of Phytoremediation, *Plant Physiol.*, 110, 715-719.
- CUYPERS, A., KOISTINEN, K.M., KOKKO, H., KÄRENLAMPI, S., AURIOLA, S. ve VANGRONSVELD, J., 2005, Analysis of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Proteins Affected by Copper Stress, *Journal of Plant Physiology*, 162, 383-392.
- ÇAĞATAY, N.M., 1982, *Pancarlı (Bitlis) Nikel-Bakır Sülfid Cevherleşmesinin Jeoloji, Mineroloji ve Jeokimyası*, Doçentlik Tezi, ODTÜ Müh. Fak. Jeol. Müh. Böl., 105 sayfa.

- ÇAĞATAY, A., ALTUN, Y. ve ARMAN, B., 1983, Çaldağ (Manisa-Turgutlu) Lateritik Demir, Nikel-Kobalt Yatağının Mineralojisi, *M. T. A. Dergisi*, Sayı: 95-96, 124-139.
- ÇAĞATAY, N.M., 1987, The Pancarlı Nickel-Copper Sulfide Mineralization, Eastern Turkey, *Mineralium Deposita*, 22(3), 163-171.
- DAN, T.V., KRISHNARAJ, S. ve SAXENA, P.K., 2002, Cadmium and Nickel Uptake and Accumulation in Scented Geranium (*Pelargonium* sp. Frensham), *Water Air Soil Pollut.*, 137, 355–364.
- DAS, P.K., KAR, M. ve MISHRA, D., 1978, Nickel Nutrition of Plants: Effect of Nickel on Some Oxidase Activities during Rice (*Oryza sativa* L.) Seed Germination, *Z. Pflanzenphysiol.*, 90, 225-233.
- DAVIES, K.J.A., 1987, Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals, *J. Biol. Chem.*, 292, 9895-9901.
- DAVIES, B.E., 1995, Lead and Other Heavy Metals in Urban Areas and Consequences for the Health of their Inhabitants, *Environmental Contaminants, Ecosystems and Human Health*. Majumdar, S.K., Miller, E.W., and Brenner, F.J., (eds), The Pennsylvania Academy of Science, Easton P.A., USA., pp.287-307.
- DEKOCK, P.C., 1956, Heavy Metal Toxicity and Iron Chlorosis, *Ann. Bot.*, 20, 133-141.
- DEKOCK, P.C. ve MITCHELL, R.L., 1957. Absorption of metal chelates by plants. *Soil Sci.*, 84, 55-62.
- DENKHAUS, E ve SALNIKOW, K., 2002, Nickel Essentiality, Toxicity, and Carcinogenicity, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42, 35-56.
- DEVÊVRE, O., GARBAYE, J. ve BOTTON, B., 1996, Release of Complexing Organic Acids by Rhizosphere Fungi as a Factor in Norway spruce yellowing in acidic soils, *Mycol. Res.*, 100, 1367-1374.
- DE VOS, C.H.R., SCHAT, H., DE WALL, M.A.M., VOOIJS, R. ve ERNST, W.H.O., 1991, Increased Resistance to Copper – Induced Damage of the Root Cell Plasmalemma in Copper Tolerant *Silene cucubalus*, *Physiol. Plantarum*, 82, 523-528.
- DIAZ, J., BERNAL, A., POMAR, F. ve MERINO, F., 2001, Induction of Shikimate Dehydrogenase and Peroxidase in Pepper (*Capsicum annuum* L.) Seedlings in Response to Copper Stress and its Relation to Lignification, *Plant Sci.*, 161, 179-188.
- DIXON, J.E., GAZZOLA, C., BLAKELY, R.B. ve ZERNER, B., 1975, Jack-bean Urease (EC 3.5.1.5.3). A Metalloenzyme, A Simple Biological Role for Nickel, *J. Am. Chem. Soc.*, 97, 4131-4133.

- DIXON, N.E., GAZZOLA, C., ASHER, C.J., LEE, D.S.W., BLAKELY R.L. ve ZERNER, B., 1980a, Jackbean Urease (EC 3.5, 1.5) II. The Relationship between Nickel, Enzymatic Activity and the Abnormal: Ultraviolet Spectrum, The Nickel Content of Jack Beans, *Can. J. Biochem.*, 58, 474-480.
- DIXON, N.E., HINDS, J.A. FIELLY, A.K., GAZOLA, C., WINZER, D.A., BLACKELY, R.L. ve ZERNER, B., 1980b, Jack Bean Urease (EC 3.5.1.5) IV. The Molecular Size and the Mechanism of Inhibition by Hydroxamic Acids Spectrophotometric Titration of Enzymes with Reversible Inhibitors, *Can. J. Biochem.*, 58, 1323-1334.
- DOĞAN, M., 2002, Sağlıklı Yaşamın Kimyası, *Popüler Bilim Dergisi*, 32-34.
- DOĞRUCAN, E., 2005, *Tekirdağ koşullarında açıkta ve örtü altında brokkoli (Brassica oleraceae var. italica) yetiştiriciliğinde geç ekimin gelişme ve verim üzerine etkisi*, Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- DOUCHKOV, D., GRYCZKA, C., STEPHAN, U.W., HELL, R. ve BÄUMLEIN, H., 2005, Ectopic Expression of Nicotianamine Synthase Genes Results in Improved iron Accumulation and Increased Nickel Tolerance in transgenic tobacco, *Plant Cell Environ.*, 28, 365-374.
- DPT, 2001, *Madencilik Özel İhtisas Komisyonu, Metal Madenler Alt Komisyonu Diğer Metal Madenler Çalışma Grubu Raporu*, Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, DPT, Ankara.
- DUARTE, B., DELGADO, M. ve CAÇADOR, I., 2007, The Role of Citric Acid in Cadmium and Nickel Uptake and Translocation in *Halimione portulacoides*, *Chemosphere*, 69, 836-840.
- DUFFUS, J.H., 2002, "Heavy Metals"-A Meaningless Term?, *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793-807.
- EFIMOV, M.V., KASHIN, V.K. ve BAKHANOVA, S.G., 1967, Effect of Iodine and Nickel on The Physiological Indexes of Corn, *Mikroelem. Biosfere Ikh Primen. Sel. Khoz. Med. Sib. Dal'nego Vostoka*, Dokl. Sib. Knof. 2nd 1964, 289-297, Edited by Olan-Ude, USSR.
- EICK, M.J., PEAK, J.D., BRADY, P.V. ve PESEK, J.D., 1999. Kinetics of Lead Adsorption and Desorption on Goethite: Residence Time Effect, *Soil. Sci.*, 164, 28-39.
- EKMEKÇİ, Y. ve TERZİOĞLU, S., 2005, Effects of Oxidative Stress Induced by Paraquat on Wild Cultivated Wheats, *Pesticide Biochemistry Physiology*, 83, 69-81.
- EL-DASHAN, M.E., 1996, *Fundamentals of Extractive Metallurgy*, King Saud University, 362, 13-21.

- EL-GENDY, A.S., BISWAS, N. ve BEWTRA, J.K., 2006, Municipal Landfill Leachate Treatment for Metal Removal Using Water Hyacinth in a Floating Aquatic System, *Water Environ. Res.*, 78, 951-964.
- EL-SHEEKH, M.M., EL-NAGGAR, A.H. ve OSMAN, M.E.H., 2003,. Effect of Cobalt on Growth, Pigment and the Photosynthetic Electron Transport in *Monoraphidium minutum* and *Nitzhia perminuta*, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 15, 159.
- EMRE, M., 2000, *Nikelli ve Nikelsiz Altın Alaşımlarının Geniş Bir Bileşim Aralığında Fiziksel, Kimyasal, Mekanik ve Alerjen Özelliklerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- EPA, 1994, Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Method 3051, *Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods*, 3rd ed: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response. U.S. Government Printing Office: Washington DC, 1986; SW. 846.
- EPSTEIN, E., 1972, *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*, Wiley, New York.
- EPSTEIN, E., 1976, Kinetics of Ion Transport and the Carrier Concept. In: *Encyclopedia Plant Physiology*, Luttge, U. and M.G. Pitman (Eds.). Berlin, Springer Verlag, UK., pp: 70-94.
- EPSTEIN, E., 1999, Silicon, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 50, 641-664.
- ERMLER, U., GRABARSE, W., SHIMA, S., GOUBEAUD, M. ve THAUER, R.K., 1998, Active Sites of Transition-metal Enzymes with a Focus on Nickel, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 8, 749-758.
- ERSEÇEN, N., 1989, *Türkiye'nin Bilinen Maden ve Mineral Kaynakları*, M.T.A. Yayınları, No: 185, 28-29.
- ESKEW, D.L., WELCH, R.M. ve NORVELL, W.A., 1983, Nickel, an Essential Micronutrient for Legumes and Possibly All Higher Plants, *Science*, 222, 621-623.
- ESKEW, D.L., WELCH, R.M. ve NORVELL, W.A., 1984, Nickel in Higher Plants: Further Evidence for an Essential Role, *Plant Physiol.*, 76, 671-693.
- ESPEN, L., PIROYANO, L., COCUCCI, S.M., 1997. Effect of Ni During the Early Phases of Radish (*Raphanus sativus*) Seed Germination, *Environmental and Experimental Botany*, 38, 187-197.
- EWAIS, E.A., 1997, Effects of Cadmium, Nickel and Lead on Growth, Chlorophyll Content and Proteins of Weeds, *Biol. Plant.* 39, 403-410.
- FERNANDES-BANARES, F., DOLZ, C., MINGORANCE, M.D., CABRE, E., LACHICA, M., ABAD-LACRUZ, A., GIL, A., ESTEVE, M., GINE, J.J. ve

- GASSULL, M.A., 1990, Low Serum Selenium Concentration in a Healthy Population Resident in Catalunya: A Preliminary Report, *Eur. J Clin. Nutr.*, 44, 225-229.
- FERNANDES, J.C. ve HENRIQUES, F.S., 1991, Biochemical, Physiological and Structural Effect of Excess Copper in Plants, *The Bot. Revi.*, 57, 246-273.
- FINCH-SAVAGE, W.E. ve LEUBNER-METZGER, G., 2006, Seed Dormancy and the Control of Germination, *New Phytologist*, 171, 501-523.
- FISMES, J., ECHEVARRIA, G., LECLERC-CESSAC, E. ve MOREL, J.L., 2005, Uptake and Transport of Radioactive Nickel and Cadmium into Three Vegetables After Wet Aerial Contamination, *J. Environ. Qual.*, 34, 1497-1507.
- FODOR, A., SZABÓ-NAGY, A. ve ERDEI, L., 1995, The Effects of Cadmium on the Fluidity and H⁺-ATPase Activity of Plasma Membrane from Sunflower and Wheat Roots, *J. Plant Physiol.*, 14, 787-792.
- FOMINA, M.A., ALEXANDER, I.J., COLPAERT, J.V. ve GADD, G.M., 2005, Solubilization of Toxic Metal Minerals and Metal Tolerance of Mycorrhizal Fungi, *Soil Biol. Biochem.*, 37, 851-866.
- FORT, D.J., STOVER, E.L., BANTLEJ, A., FINCH, R.A., LINDER GDUMONT, J.N. ve KING, M.K., 1998, Phase III Interlaboratory Study of FETAX, Part 2: Interlaboratory Validation of an Exogenous Metabolic Activation System for Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX), *Drug and Chemical Toxicology*, 21(1):1-14.
- FREEMAN, J.L., PERSANS, M.W., NIEMAN, K., ALBRECHT, C., PEER, W., PICKERING, I.J. ve SALT, D.E., 2004, Increased Glutathione Biosynthesis Plays a Role in Nickel Tolerance in *Thlaspi* Nickel Hyperaccumulators, *Plant Cell*, 16, 2176-2191.
- FUJIMORI, K. ve OHTA, D., 2003, Heavy Metal Induction of *Arabidopsis* Serine Decarboxylase Gene Expression, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67, 896-898.
- GABBRIELLI, R., PANDOLFINI, T., ESPEN, L. ve PALANDRI, M.R., 1999, Growth, Peroxidase Activity and Cytological Modifications in *Pisum sativum* Seedlings Exposed to Ni²⁺ Toxicity, *J. Plant Physiol.*, 155, 639-645.
- GAJEWSKA E. ve SKŁODOWSKA, M., 2005, Antioxidative Responses and Proline Level in Leaves and Roots of Pea Plants Subjected to Nickel Stress, *Acta Physiologia Plantarum*, 27(3), 329-339.
- GAJEWSKA E., SKŁODOWSKA, M., SŁABA, M. ve MAZUR, J., 2006, Effect of Nickel on Antioxidative Enzyme Activities, Proline and Chlorophyll Contents in Wheat Shoots, *Biol. Plant.*, 50, 653-659.

- GAJEWSKA, E. ve SKŁODOWSKA, M., 2007, Effect of Nickel on ROS Content and Antioxidative Enzyme Activities in Wheat Leaves, *BioMetals*, 20, 27-36.
- GASPAR, T., PENEL, C., HAGEGE, D. ve GREPPIN, H., 1991, Peroxidases in Plant Growth, Differentiation, and Development Processes, In: Łobarzewski, J., Greppin, H., Penel, C., Gaspar, T. (ed.), *Biochemical, Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*, Pp. 249-280, University M. Curie-Skłodowska, Lublin.
- GERENDÁS, J., POLACCO, J., FREYERMUTH, S.K. ve SATTELMACHER, B., 1999., Significance of Nickel for Plant Growth and Metabolism, *Z. Pflanzenernaehr Bodenkd*, 162, 241-256.
- GHOSH, M. ve SINGH, S.P., 2005, A Review on Phytoremediation of Heavy Metals and Utilization of its Byproducts, *App. Ecology and Environmental Research*, 3(1), 1-18.
- GODBOLD, D.L. ve KETTNER, C., 1991, Lead Influences Root Growth and Mineral Nutrition of *Picea abies* seedlings, *J. Plant Physiol.*, 139, 95-99.
- GODZIK, B., 1993, Heavy Metal Contents in Plants from Zinc Dumps and Reference Area, *Pol. Bot. Stud.*, 5, 113-132.
- GONNELLI, C., GALARDI, F., GABBRIELLI, R., 2001. Nikel and Copper Tolerance and Toxicity in Three Tuscan Populations of *Silene paradoxa*, *Physiologia Plantarum*, 113, 507-514.
- GORDON, W.R., SCHWEMMER S.S. ve HILLMAN, W.S., 1978, Nickel and the Metabolism of Urea by *Lemna paucicostata* Hegelm. 6746, *Planta*, 140, 265-268.
- GÖKÇE, A., 1995, Maden Yatakları, *Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları*, No:59, s: 246-247, Sivas.
- GÖVELİ, A., 2006, *Nickel Extraction From Gördes Laterites by Hydrochloric Acid Leaching*, The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, MSc Thesis, p: 102, Ankara.
- GRANDJEAN, P., 1984, Human Exposure to Nickel, *IARC Sci. Publ.*, 53, 469-485.
- GRAHAM, L.E., GRAHAM, J.L. ve WILCOX, L.W., *Bitki Fizyolojisi*, Çev. Ed. IŞIK, K., 2004, , Palme Yayıncılık, Ankara, 975-8624-90-3.
- GREGER, M., ve LINDBERG, S., 1986, Effects of Cd^{+2} and EDTA on Young Sugar Beets (*Beta vulgaris*), I. Cd^{+2} Uptake and Sugar Accumulation, *Physiol. Plant.*, 66, 69-74.
- GREGER, M., JOHANSSON, M., STIHL, A. ve HAZMA, K., 1993, Foliar Uptake of Cd by Pea (*Pisum sativum*) and Sugar Beet (*Beta vulgaris*), *Physiol. Plantarum*, 88, 563-570.

- GREGGER, M., 1999, Metal Availability and Bioconcentration in Plants. Heavy Metal Stress in *Plants: from molecules to ecosystem*, Prasad, M.N.V., and Hagemeyer, J., (eds.), Springer-Verlag, Berlin. pp. 1-27.
- GÜLEN H. ve ERİŞ, A., 2004, Effect of Heat Stress on Peroxidase Activity and Total Protein Content in Strawberry Plants, *Plant Science*, 166, 739-744.
- HAGEMEYER, J. ve BRECKLE, S.W., 1996, *Growth under Trace Element Stress. Plant Roots*, the hidden half. 2nd edition, Waisel, Y., Eshel, A., and Kafkafi, U., (eds.), Dekker, New York. pp.415-433.
- HALSTEAD, R.L., FINN B.J. ve MCLEAN, A.J. 1969. Extractibility of Nickel Added to the Soils and Its Concentration in Plants, *Can. J. Soil. Sci.*, 49, 335-342.
- HASSINEN, V., 2009, Search for Metal-Responsive Genes in Plants, Kuopio Univ., *Publ. C. Nat. and Environ. Sci.*, 252, 1-84.
- HARRISON, R.M., ve CHIRGAWI, M.B., 1989, The Assessment of Air and Soil as Contributors of some Trace Metals to Vegetable Plants I. Use of a Filtered Air Growth Cabinet, *Sci. Total Environ.*, 83, 13-34.
- HAUSINGER, R.P., 1997, Metallocenter Assembly in Nickel-containing Enzymes, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2, 279-286.
- HAUSSLING, M., JORNS, C.A., LEHMBECKER, G., HECHT-BUCHHOLZ, C. ve MARSCHNER, H., 1988, Ion and Water Uptake in Relation to Root Development of Norway Spruce (*Picea abies* L. Karst), *J. Plant Physiol.*, 133, 486-491.
- HAYAT, S., ALI, B., AIMAN, H.S. ve AHMAD, A., 2007, Brassinosteroids enhanced antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*, *Environ. Exp. Bot.*, 60, 33-41.
- HAYDON, M.J. ve COBBETT, C.S., 2007, Transporters of Ligands for Essential Metal Ions in Plants, *New Phytol.*, 174, 499-506.
- HE, Z., LI, J., ZHANG, H. ve MA, M., 2005, Different Effects of Calcium and Lanthanum on the Expression of Phytochelatin Synthase Gene and Cadmium Absorption in *Lactuca sativa*, *Plant Sci.*, 168, 309-318.
- HEATH, R.L. ve PACKER, L., 1968, Photoperoxidation in Isolated Chloroplast. I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation, *Arch. Biochem. Biophys.*, 125, 189-198.
- HELMY-LATIF, H., 2010, The Influence of Nickel Sulphate on Some Physiological Aspects of Two Cultivares of *Raphanus sativus* L. Arch., *Biol. Sci. Belgrade*, 62(3), 683-691.

- HENRY, J., 2000, An Overview of the Phytoremediation of Lead and Mercur, U.S. Epa, Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office, p., 51.
- HEWITT, E.J., 1948, Experiments on Iron Metabolism in Plants, I. Some Effects of Metal Induced Iron Deficiency, Long Ashton Res. Stn., *Annu. Rep.*, 1948: 6680.
- HILL, D.E., 1995, Broccoli and Cauliflower Trials 1993-1994, Connecticut Agricultural Experiment Station, Box 1106 New Haven, CT 06504, USA, *Bulletin-Connecticut Agricultural Experiment Station*, No.930, 16 pp.
- HOAGLAND, D.R. ve ARNON, D.I., 1938, The Water-culture Method for Growing Plants without Soil, Univ. Calif. Coll., *Agric. Exp. Sta. Circ.*, 347, 1-32.
- HOGAN, G.D. ve RAUSER, W.E., 1981, Role of Copper Binding, Absorption and Translocation in Copper Tolerance of *Agrostis gigantea* Roth, *J. Exp. Bot.*, 32, 27-36.
- HOME PERSONALISATION DISCUSSIONS SEARCH SITE MAP, 2002, Exposure Standart Cadmium and Compounds., Contact HISTORY home >OHS Information >Databases >Exposure Standart.
- HULL, R.J., 2003, How do Turfgrasses Use Nickel? www.turfgrass.com (August 22, 2005).
- INGLE, R.A., MUGFORD, S.T., REES, J.D., CAMPBELL, M.M. ve SMITH, J.A., 2005, Constitutive High Expression of the Histidine Biosynthetic Pathway Contributes to Nickel Tolerance in Hyperaccumulator Plants, *Plant Cell*, 17, 2089-2106.
- İNAN, A., 1988, *Demir Dışı Metal Madenleri Raporu*, D.P.T. Raporu, 325-349.
- JABEEN, R., AHMAD, A. ve IQBAL, M., 2009, Phytoremediation of Heavy Metals: Physiological and Molecular Mechanisms, *Botanical Review*, 75, 339-364.
- JACKSON, P.J., UNKEFER, P.J., DELHAIZE, E. ve ROBINSON, N.J., 1990, Mechanisms of Trace Metal Tolerance in Plants, *Environmental Injuruy to Plants*, Katterman, F., (ed.), Academic Press, San Diego. pp. 231-258.
- JADIA, C.D. ve FULEKAR, M.H., 2008, Phytoremediation: The Application of Vermicompost to Remove Zinc, Cadmium, Copper, Nickel and Lead by Sunflower Plant, *Environ. Engineering and Management Journal*, 7(5), 547-558.
- JANAS, K.M., ZIELINSKA-TOMASZEWSKA, J., RYBACZEK, D., MASZEWZKI, J., POSMYK, M.M., AMAROWICZ, R. ve KOSINSKA, A., 2010, The Impact of Copper Ions on Growth, Lipid Peroxidation, Phenolic Compound Accumulation, Localization in Lentil (*Lens culinaris* Medic.) Seedlings, *Journal of Plant Physiology*, 167, 270-276.

- JARVIS, M.D. ve LEUNG, D.W.M., 2002, Chelated Lead Transport in *Pinus radiata*: an Ultrastructural Study, *Environ. Exp. Bot.*, 48, 21-32.
- JEAN, L., BORDAS, F., MOUSSARD, C.G., VERNAY, P., HITMI, A. ve BOLLINGER, J.C., 2008, Effect of Citric Acid and EDTA on Chromium and Nickel Uptake and Translocation by *Datura innoxia*, *Environmental Pollution*, 153, 555-563.
- JENSEN, M.L. ve BATEMAN, A.M., 1981, *Economic Mineral Deposits*, John Wiley&Sons, 593 s.
- JOHO, M., INOUE, M., TOHOYAMA, H. ve MURAYAMA, T.A., 1990, Possible Role of Histidine in a Nickel Resistant Mechanism in *Saccharomyces cerevisiae*, *FEMS Microbiol. Lett.*, 66, 333–338.
- KABATA-PENDIAS, A. ve PENDIAS, H., 2001, *Trace Elements in Soils and Plants*, 3rd ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 413.
- KAHVECİOĞLU, Ö., KARTAL, G., GÜVEN, A. ve TİMUR, S., 2004, *Metallerin Çevresel Etkileri I-II*, İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü (Seminere çalışması 24s).
- KAHVECİOĞLU, Ö., KARTAL, G., GÜVEN, A. ve TİMUR, S., 2007, Metallerin Çevresel Etkileri –I. (erişim adresi: www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf, erişim tarihi: 13.05.2011).
- KASHIN, V.K., 1968, Physiological Role of Nickel in Living Organisms, *Mikroelem. Sib.*, 6, 78-87.
- KASPRZAK, K.S., SUNDERMAN, JR. F.W. ve SALNIKOW, K., 2003, Nickel Carcinogenesis, *Mutation Research*, 533, 67-97.
- KENNEDY, C.D. ve GONSALVES, F.A.N., 1987, The Action of Divalent Zinc, Cadmium, Mercury, Copper and Lead on the Trans-root Potential and Efflux of Excised Roots, *J. Exp. Bot.*, 38, 800-817.
- KERKEB, L. ve KRÄMER, U., 2003, The Role of Free Histidine in Xylem Loading of Nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea*, *Plant Physiol.*, 131, 716–724.
- KHAN, I., AHMAD, A. ve IQBAL, M., 2009, Modulation of Antioxidant Defence System for Arsenic Detoxification in Indian Mustard, *Ecotoxicology Environmental Safety*, 72, 626-634.
- KHOSRAVI, M., RAKHSHAEI, R. ve GANJI, M.T., 2005, Pre-treatment Processes of *Azolla filiculoides* to Remove Pb(II), Cd(II), Ni(II) and Zn(II) from Aqueous Solution in the Batch and Fixed-bed Reactors, *J. Hazard Mater.*, 127, 228-237.
- KIM, S., TAKAHASHI, M., HIGUCHI, K., TSUNODA, K., NAKANISHI, H., YOSHIMURA, E., MORI, S. ve NISHIZAWA, N.K., 2005, Increased

- Nicotianamine Biosynthesis Confers Enhanced Tolerance of High Levels of Metals, in Particular Nickel, to Plants, *Plant Cell Physiol.*, 46, 1809–1818.
- KIRBAĞ-ZENGİN, F. ve MUNZUROĞLU, Ö., 2004, Effects of Lead and Copper on the Growth of Root, Shoot and Leaf of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seedlings, *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 17(3), 1-10.
- KLAASSEN, C.D., 1996, *Casarett and Doull's Toxicology*, The Basic Science of Poisons, 5th ed.; International Edition, pp 712-714.
- KLUCAS, R.V., HANUS R.J., RUSSEL S.A. ve EVANS, H.J., 1983, Nickel a Micronutrient Element for Hydrogen Dependent Growth of *Rhizobium japonicum* and for Expression of Urease Activity in Soybean Leaves, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80, 2253-2257.
- KOORNNEEF, M., BENTSIK, L. ve HILHORST, H., 2002, Seed dormancy and germination, *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 33-36.
- KORNER, L.E., MOLLER I.M. ve JENSEN, P., 1987, Effects of Ca^{2+} and other Divalent Cations on Uptake of Ni^{2+} by Excised Barley Roots, *Physiol. Plant.*, 71, 49-54.
- KOZLOW, M.V., 2005, Pollution Resistance of Mountain Birch, *Betula pubescens* subsp. *czerepanovii*, near the Copper-nickel Smelter: Natural Selection or Phenotypic Acclimation?, *Chemosphere*, 59, 189-197.
- KÖSESAKAL, T., 2005, *Domateste (Lycopersion esculentum Mill.) Tohum Çimlenmesi ve Bitki Büyümesi Üzerine Çinkonun Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- KRÄMER, U., COTTER-HOWELLS, J.M., CHARNOCK, J.M., BAKER, A.J.M., ve SMITH, A.C., 1996, Free Histidine as a Metal Chelator in Plants that Accumulate Nickel, *Nature*, 379, 635-638.
- KRÄMER, U., PICKERING, I.J., PRINCE, R.C., RASKIN, I., ve SALT, D.E., 2000, Subcellular Localization and Speciation of Nickel in Hyperaccumulator and Nonaccumulator *Thlaspi* species, *Plant Physiol.*, 122, 1343–1353.
- KRÜPA, Z., SIEDLEKA, A., MAKSYMIEC, W. ve BASZYNSKI, T., 1993, In vivo Response of Photosynthetic Apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to Nickel Toxicity, *J. Plant Physiol.*, 142, 664–668.
- KUKIER, U., PETERS, C.A., CHANEY, R.L., ANGLE, J.S. ve ROSEBERG, R.J., 2004, The Effect of pH on Metal Accumulation in Two *Alyssum* Species, *J. Environ. Qual.*, 32, 2090-2102.
- KUPPER, H., LOMBI, E., ZHAO, F.J., WIESHAMMER, G. ve MCGRATH, S.P., 2001, Cellular Compartmentation of Nickel in the Hyperaccumulators *Alyssum*

- lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*, *J. Exp. Bot.*, 52, 2291–2300.
- KUPPER, H. ve KRONECK P.M.H, 2007, *In Metal Ions in Life Sciences* (Eds: A. Sigel, H. Sigel, R. K. O. Sigel), Vol. 2, John Wiley & Sons, Chichester, UK, pp. 31-62.
- KÜÇÜKER, O., 1994, *Tıbbi Biyologlar için Botanik Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Rektörlük No:3833, Fakülte No: 186.
- LAGRIFFOUL, A., MOCQUOT, B., MENCH, M. ve VANGRONSVELD, J., 1998, Cadmium Toxicity Effects on Growth, Mineral and Chlorophyll Contents, and Activities of Stress Related Enzymes in Young Maize Plants (*Zea mays* L.), *Plant Soil*, 200, 241-250.
- LAPA, V.G., ROMANCHUK, P.S., SKURATOVSKAYA, M.Z. ve LEVINA, N.I., 1963, Effect of Trace Elements on Potato Yield in the Pole's Region, *Pochv. Usloviya i Effektivnost Udobr.*, 1, 131-141.
- LAPA, V.G., PRILUTSKII, G.M., SKURATOVSKAYA, M.Z. ve TRIBEL, N.K., 1969, Effect of Trace Elements Copper, Zinc, Nickel and Cobalt on Biosynthesis in Potatoes and Harvest Qualities of Tubers, *Nauch. Tr. Zhitomir. Sel'skokhoz. Inst.*, 16, 120-123.
- LAVADO, S.R., PORCELLI, A.C. ve ALVAREZ, R., 2001, Nutrient and Heavy Metal Concentration and Distribution in Corn, Soybean and Wheat as Affected by Different Tillage Systems in the Argentina Pamps, *Soil and Tillage Research*, 62, 55-60.
- LEE, J., REEVES, R.D., BROOKS, R.R. ve JEFFRE, T., 1987, The Relation between Nickel and Citric Acid in Some Nickel Accumulating Plants, *Photochemistry*, 17, 1033-1035.
- LI, W., KHAN, M.A., YAMAGUCHI, S. ve KAMIYA, Y., 2005, Effects of Heavy Metals on Seed Germination and Early Seedling Growth of *Arabidopsis thaliana*, *Plant Growth Regulation*, 46, 45-50.
- LI, M., HU, C., ZHU, Q., CHEN, L., KONG, Z. ve LIU, Z., 2006, Copper and Zinc Induction of Lipid Peroxidation and Effects on Antioxidant Enzyme Activities in the Microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae), *Chemosphere*, 62(4), 565-572.
- LICHTENTHALER, H.K., 1996, Vegetation Stress: An Introduction to the Stress Concept in Plants, *J. Plant Physiol.*, 148, 4-14.
- LICHTENTHALER, H.K., 1998, The Stress Concept in Plants: An Introduction, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 851, 187-198.
- LIDON, F.C., RAMALHO, J. ve HENRIQUES, F.S., 1993, Copper Inhibition of Rice Photosynthesis, *J. Plant Physiol.*, 142, 12-17.

- LINDBERG, S., MEYERS, T.P., TAYLOR G.E.J., TURNER, R.R., ve SCHROEDER, W.H., 1992, Atmosphere-surface Exchange of Mercury in a Forest: Results of Modeling and Gradient Approaches, *J. Geophys. Res.*, 97, 2519-2528.
- LOLKEMA, P.C., DONKER, M.H., SCHOUTEN, A.J. ve ERNST, W.H.O., 1984, The Possible Role of Metallothioneins in Copper Tolerance of *Silene cucubalus*, *Planta*, 162, 174-179.
- LOMBARDI, L. ve SEBASTIANI, L., 2005, Copper Toxicity in *Prunus cerasifera*: Growth and Antioxidant Enzymes Responses of In vitro Grown Plants, *Plant Sci.*, 168, 797-802.
- LUNA, C.M., GONZALEZ, C.A. ve TRIPPI, V.S., 1994, Oxidative Damage Caused by Excess of Copper in Oat Leaves, *Plant Cell Physiol.*, 35, 11-15.
- LUO, Y. ve RIMMER, D.L., 1995, Zinc-Copper Interaction Affecting Plant Growth on a Metal-Contaminated Soil, *Environ. Pollut.*, 88, 79-83.
- LUO, C., SHEN, Z. ve LI, X., 2005, Enhanced Phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS, *Chemosphere*, 59, 1-11.
- MA, J.F., UENO, D., ZHAO, F.J. ve MCGRATH, S.P., 2005, Subcellular Localisation of Cd and Zn in the Leaves of a Cd-hyperaccumulating Ecotype of *Thlaspi caerulescens*, *Planta*, 220, 731-736.
- MACFARLANE, G.R. ve BURCHETT, M.D., 2001, Photosynthetic Pigments and Peroxidase Activity as Indicators of Heavy Metal Stress in the Grey Mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh., *Mar. Pollut. Bull.*, 42, 233-240.
- MACNAIR, M.R., 1981, The Uptake of Copper by Plants of *Mimulus guttatus* Differing Primarily at a Single Major Copper Tolerance Locus, *New Phytol.*, 88, 723-730.
- MACNICOL, R.D. ve BECKETT, P.H.T., 1985, Critical Tissue Concentrations of Potentially Toxic Elements, *Plant and Soil*, 85, 107-129.
- MADEJON P., MARANON, T., MURILLO, J.M. ve ROBINSON, B., 2004, White Poplar (*Populus alba*) as a Biomonitor of Trace Elements in Contaminated Riparian Forests, *Environmental Pollution*, 132, 145-155.
- MADENCİLİK ÖİK RAPORU, 2001, *Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı*, Genel Endüstri Mineralleri II. (Mika, Zeolit, Lületaş), Çalışma Grubu Raporu, Ankara.
- MADHAVA RAO, K.V. ve SRESTY, T.V., 2000, Antioxidative Parameters in the Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses, *Plant Sci.*, 157, 113-128.

- MAIER, T., JACOBI, A., SAUTER, M. ve BOCK, A., 1993, The Product of the hypB gene, which is Required for Nickel Incorporation into Hydrogenases, is a novel guanine nucleotide protein, *J. Bacteriol.*, 175, 630-635.
- MAKSYMIEC, W., RUSSA, R., URBANIK-SYPNIEWSKA, T. ve BASZYNSKI, T., 1994, Effect of Excess Cu on the Photosynthetic Apparatus of Runner Bean Leaves Treated at Two Different Growth Stages, *Physiologia Plantarum*, 91, 715-721.
- MALLICK, N. ve SHARDENDU RAI, L.C., 1996, Removal of Heavy Metals by Two Free Floating Aquatic Macrophytes, *Biomed. Environ. Sci.*, 9, 399-407.
- MARKKOLA, A.M., OHTONEN, R. ve TARVAINEN, O., 1990, Peroxidase Activity as an Indicator of Pollution Stress in the Fine Roots of *Pinus sylvestris*, *Water Air Soil Pollution*, 52, 149-156.
- MARSCHNER, H., 1995, *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed., Academic Press, London, pp 889.
- MAYER, A.M. ve MAYBER, A., 1982, *The Germination of Seeds*, 3rd edition, Pergamon Pres Ltd., U.K., 0-08-028854-5.
- MAYNARD, D.N. ve HOCHMUTH, G.J., 1997, *Knott's Handbook for Vegetable Growers*, 4th Ed. Wiley, New York.
- MAZHOUDI, S., CHAOUI, A., GHORBAL, M.H. ve EL FERJANI, E., 1997, Response of Antioxidant Enzymes to Excess Copper in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), *Plant Sci.*, 127, 129-137.
- MCGRATH, S.P., LOMBI, E., GRAY, C.W., CAILLE, N., DUNHAM, S.J. ve ZHAO, F.J., 2006, Field Evaluation of Cd and Zn Phytoextraction Potential by the Hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*, *Environ. Pollut.*, 141, 115-125.
- MCILVEEN W.D. ve NEGUSANTI J.J., 1994, Nickel in the Terrestrial Environment, *Sci. Total Environ.*, 148, 109-138.
- MCKENNA, I.M., CHANEY, R.L. ve WILLIAMS F.M., 1993, The Effects of Cadmium and Zinc Interactions on the Accumulation and Tissue Distribution of Zinc and Cadmium in Lettuce and Spinach, *Environ. Pollut.*, 79, 113-120.
- MEDVEDAVA, E.A., 1972, Effect of Nickel on the Anthocyanin Level in Petunia Flowers, *Cokl. Akad. Nauk. Todzh. SSR.*, 115, 59-61.
- MENCH, M., MOREL, J.L., CUCKERT, A. ve GUILLET, B., 1988, Metal Binding with Root Exudates of Low Molecular Weight, *J. Soil Sci.*, 33, 521-527.
- MENGEL, K., KIRKBY, E.A., KOSEGARTEN, H. ve APPEL, T., 2001, *Principles of Plant Nutrition*, Dordrecht: Kluwer Academic.

- MERCAN, U., 2004, Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *YYU Vet. Fak. Derg.*, 15(1-2), 91-96.
- MILLER, C.P., 1961, Plant and Soil Prospecting for Nickel, *Trans. AMIE*, 220, 255-260.
- MILNER, M.J. ve KOCHIAN, L.V., 2008, Investigating Heavy-metal Hyperaccumulation Using *Thlaspi caerulescens* as a Model System, *Ann. Bot.*, 102, 3-13.
- MIRETZKY, P. SARALEGUI, A. ve FERNANDEZ CIRELLI, A., 2004, Aquatic Macrophytes Potential for the Simultaneous Removal of Heavy Metals (Buenos Aires, Argentina), *Chemosphere*, 57, 997-1005.
- MISHRA, D. ve SAMAL, B., 1971, Interaction of Benzimidazole and Nickel in Delaying the Senescence of Detached Rice Leaves, *Z. Naturforsch*, 26: 1377-1380.
- MISHRA, D, KAR, M. ve PRADHAN, P.K., 1973, Chemical Regulation of Acid Inorganic Pyrophosphates Activity during Senescence of Detached Leaves, *Exp. Gerantol.*, 8, 165-167
- MISHRA, D. ve KAR, M., 1974, Nickel in Plant Growth and Metabolism, *Bot. Rev.*, 40, 395-452.
- MISHRA, S., SRIVASTAVA, S., TRIPATHI, R.D., KUMAR, R., SETH, C.S. ve GUPTA, D.K., 2006, Lead Detoxification by Coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) Involves Induction of Phytochelatins and Antioxidant System in Response to its Accumulation, *Chem.*, 65, 1027-1039.
- MISHRA, V.K., UPADHYAYA, A.R., PANDEY, S. K. ve TRIPATHI, B.D., 2008, Heavy Metal Pollution Induced Due to Coal Mining Effluent on Surrounding Aquatic Ecosystem and Its Management through Naturally Occurring Aquatic Macrophytes, *Bioresour. Technol.*, 99, 930-936.
- MIZUNO, N., 1968, Interaction between Iron and Nickel and Copper and Nickel in Various Plant Species, *Lett. Nature*, 219, 1271-1272.
- MOCQUOT, B., VANGRONSVELD, J., CLIJESTRES, H. ve MENCH, M., 1996, Copper Toxicity in Young Maize (*Zea mays* L.) Plants: Effects on Growth, Mineral and Chlorophyll Contents and Enzyme Activities, *Plant Soil*, 182, 287-300.
- MOHAN, B.S. ve HOSETTI, B.B., 1997, Potential Phytotoxicity of Lead and Cadmium to *Lemna minor* Grown in Sewage Stabilization Ponds, *Environ. Pollut.*, 98, 233-238.

- MOLAS, J., 1997, Changes in Morphological and Anatomical Structure of Cabbage (*Brassica oleracea* L.) Outer Leaves and in Ultrastructure of Their Chloroplasts Caused by an in vitro Excess of Nickel, *Photosynthetica*, 34 (4), 513-522.
- MOLAS, J., 2001, Comparison of Nickel Toxicity and Resistance Strategies of Cabbage Plants Grown in Soil with Addition of Inorganic and Organic Ni (II) Complexes, *Dev. Plant Soil Sci.*, 92, 464-465.
- MOLAS, J., 2002, Changes of Chloroplast Ultrastructure and Total Chlorophyll Concentration in Cabbage Leaves Caused by Excess of Organic Ni (II) Complexes, *Environ. Exp. Bot.*, 47, 115-126.
- MONNI, S., UHLIG, C., HANSEN, E. ve MAGEL, E., 2001, Ecophysiological Responses of *Empetrum nigrum* to Heavy Metal Pollution, *Environ. Pollut.*, 112, 121-129.
- MOORING, M.T., COOPER, A.W. ve SENACA, E.D., 1971, Seed Germination Response and Evidence for Height Ecophenes in *Spartina alterniflora* from North Carolina, *American Journal of Botany*, 58, 48-55.
- MOREL, J.L., MENCH, M. ve GUCKERT, A., 1986, A Measurement of Pb, Cu, Cd Binding with Mucilage Exudates from Maize (*Zea mays* L.) Roots, *Biol. Fert. Soils*, 2, 29-34.
- MORRISON, R.S., BROOKS R.R. ve REEVES, R.D., 1980. Nickel Uptake by Alyssum species, *Plant Sci. Lett.*, 17, 451-457.
- MOUSTAKAS, M., LANARAS, T., SYMEONIDIS, L. ve KARATAGLIS, S., 1994, Growth and Some Photosynthetic Charecteristics of Field Grown *Avena sativa* under Copper and Lead Stress, *Photosynthetica*, 30, 389-396.
- MULROONEY, S.B. ve HAUSINGER, R. P., 2003, Nickel Uptake and Utilization by Microorganisms, *FEMS Microbiol. Rev.*, 27, 239-261.
- MUNZUROĞLU, Ö. ve GEÇKİL, H., 2002, Effects of Metals on Seed Germination, Root Elongation and Coleoptile and Hypocotyl Growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*, *Environ. Cont. and Toxi.*, 43, 203-213.
- MURANYI, A., SEELING, B., LADEWIG, E. ve JUNGK, A., 1994, Acidification in the Rhizosphere of Rape Seedlings and in Bulk Soil by Nitrification and Ammonium Uptake, *Z. Pflanzenernähr Bodenkd.*, 157, 61-65.
- NANDI, S.K., PANT R.C. ve NISSEN, P., 1987, Multiphasic Uptake of Phosphate by Corn Roots, *Plant Cell Environ.*, 10, 463-471.
- NASCIMENTO, W.M., CANTLIFFE, D.J. ve HUBER, D.J., 2000, Thermotolerance in Lettuce Seeds: Association with Ethylene and Endo- β -mannanase, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 125, 518-524.

- NEDHI, A., SINGH, L.J. ve SINGH, S.I., 1990, Effect of Cadmium and Nickel on Germination, Early Seedling Growth and Photosynthesis of Wheat and Pigeon Pea, *Int. J. Trop. Agr.*, 8, 141-147.
- NEUMANN, P.M. ve CHAMEL, A., 1986, Comparative Phloem Mobility of Nickel in Nonsenescent Plants, *Plant Physiol.*, 81, 689-691.
- NIELSON, F.H., 1987, in *Trace Elements in Human and Animal Nutrition* (Ed: W. Mertz), Academic Press, San Diego, CA, 245-273.
- NIEMINEN, T.M., UKONMAANAHO, L., RAUSCH, N. ve SHOTYK, W., 2007, Biogeochemistry of Nickel and Its Release into the Environment, *Met. Ions Life Sci.*, 2007, 2, 1-30.
- NIEUWHOF, M., 1969, *Cole Crops*, The University Pres Aberdeen, London, Institute of Horticultural Plant Breeding Wageningen, Holland, p.87-91.
- NIPERA, 1997, *Internal Draft Document to URS Corporation*, Included in URS.
- NOUAIIRI, I., AMMAR, W.B., YOUSSEF, N.B., MILED, D.D.B., GHORBAL, M.H. ve ZARROUK, M., 2009, Antioxidant Defense System in Leaves of Indian Mustard (*Brassica juncea*), Rape (*Brassica napus*) under Cadmium Stress, *Acta Physiol Plant*, 31, 237-247.
- OKATAN, Y., KAHANAK, G.M. ve NOODEN, L.D., 1981, Characterization and Kinetics of Soybean Maturation and Monocarpic Senescence, *Physiol. Plant.*, 52, 330-338.
- OUZOUNIDOU, G., 1994, Copper Induced Changes on Growth Metal Content and Photosynthetic Functions of *Alyssum montanum* L. Plant, *Env. Exp. Bot.*, 34, 165-172.
- ÖNDER, N. ve YENTÜR, S., 1999, *Bitkilerin Büyüme, Gelişme, Farklılaşma ve Hareket Fizyolojisi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 975-404-516-X.
- ÖZBEK, H., KAYA, Z., GÖK, M. ve KAPTAN, H., 1993, *Toprak Bilimi*, Çeviri: Schachtschabel P., Ç. Ü., Ziraat Fak. Genel Yayınları, Adana, 816.
- ÖZCAN, S., GÜREL, E. ve BABAOĞLU, M., 2001, *Bitki Biyoteknolojisi*, S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya, 456s.
- ÖZCAN, H.İ., 2006, *Nikel Yatakları Semineri*, Selçuk Üniv., Jeoloji Müh. Böl., Konya, s.13.
- ÖZDEMİR, V., 2006, *Hydrometallurgical Extraction of Nickel and Cobalt From Çaldağ Laterite Ores*, Msc Thesis. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, p:80, Ankara.

- PAGE, V. ve FELLER, U., 2005, Selective Transport of Zinc, Manganese, Nickel, Cobalt and Cadmium in the Root System and Transfer to the Leaves in Young Wheat Plants, *Ann. Bot.*, 96, 425-434.
- PAGE, V., WEISSKOPF, L. ve FELLER, U., 2006, Heavy Metals in White Lupin: Uptake, Root-to-shoot Transfer and Redistribution within the Plant, *New Phytol.*, 171, 329-341.
- PAIS, I., SOMOS, A., DUDA, L., TARJANYI, F. ve NAGYMIHALY, F., 1970, Trace Elements Experiments with Tomato and Paprika, *I. Kiserletugyi Kozlem*, 62, 25-40.
- PALMA, J.M., SANDALINO, L.M., CORPAS, F.J., ROMERO-PUERTAS, M.C., MCCARTHY, I. ve DEL RIO, L.A., 2002, Plant Proteases, Protein Degradation and Oxidative Stress: Role of Peroxisomes, *Plant Physiol. Biochem.*, 40, 521-530.
- PANCARO, L., PELOSI, P., VERGNANO-GAMBINO, O. ve GALOPPINI, C., 1978, Further Contribution on the Relationship between Nickel and Malic and Malonic Acids in *Alyssum*, *Giornale Botanico Italiano*, 112, 141-146.
- PANDA, G.C., DAS, S.K., BANDOPADHYAY, T.S. ve GUHA, A.K., 2007, Adsorption of Nickel on Husk of *Lathyrus sativus*: Behavior and Binding Mechanism, *Colloids Surf. B*, 57, 135-142.
- PANDEY, N. ve SHARMA, C.P., 2002, Effect of Heavy Metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on Growth and Metabolism of Cabbage, *Plant Sci.*, 163, 753-758.
- PANDOLFINI, T., GABBRIELLI R. ve COMPARINI C., 1992, Nickel Toxicity and Peroxidase Activity in Seedlings of *Triticum aestivum* L., *Plant Cell and Environment*, 15, 719-725.
- PARIDA, B.K., CHIBBA, I.M. ve NAYYAR, V.K., 2003, Influence of Nickel-Contaminated Soils on Fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) Growth and Mineral Composition, *Scientia Horticulturae*, 98, 113-119.
- PARSONS, T.R. ve STRICKLAND, J.D.H., 1963, Discussion of Spectrophotometric Determination of Marine Pigments, with Revised Equations for Ascertaining Chlorophylls and Carotenoids, *J Mar. Res.*, 21, 115-163.
- PATEL, P.M., WALLACE A. ve MUELLER, R.T., 1976, Some Effects of Copper, Cobalt, Cadmium, Zinc, Nickel and Chromium on Growth and Mineral Element Concentration in Chrysanthemum, *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 101, 553-558.
- PELOSI, P., FIORENTINI R. ve GALOPPINI, C., 1976, On the Nature of Nickel Compounds in *Alyssum bertoloni* desv.-II, *Agric. Biol. Chem.*, 40, 1641-1642.
- PERALTA, J.R., GARDEA-TORRESDEY, J.L., TIEMANN, K.L., GOMEZ, E., ARTEAGA, S., RASCON, E. ve PARSONS, J.G., 2001, Uptake and Effects of Five Heavy Metals on Seed Germination and Plant Growth in Alfalfa (*Medicago*

- sativa* L.), *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(6), 727-734.
- PERALTA, J.R., GARDEA TORRESDEY, J.L., TIEMANN, K.J., GOMEZ, E., ARTEAGA, S., RASCON, E. ve PARSONS, J.G., 2001, Uptake and Effects of Five Heavy Metals on Seed Germination and Plant Growth in Alfalfa (*Medicago sativa*) L., *Bull. of Environmental Cont. and Toxic.*, 66(6), 727-734.
- PERALTA-VIDEA, J.R., GARDEA-TORRESDEY, J.L., GOMEZ, E., TIEMANN, K.J., PARSONS J.G. AND CARRILLO, G., 2002, Effect of Mixed Cadmium, Copper, Nickel and Zinc at Different pHs upon Alfalfa Growth and Heavy Metal Uptake, *Environ. Pollut.*, 119, 291-301.
- PERSANS, M.W., NIEMAN, K. ve SALT, D.E., 2001, Functional Activity and Role of Cation-efflux Family Members in Ni Hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98, 9995–10000.
- PETRUCCI, R.H. ve HARWOOD, W.S., 1993, *General Chemistry: Principles and Modern Applications*, 6th edition. Macmillan Publishing Company, New York.
- PIANELLI, K., MARI, S., MARQUES, L., LEBRUN, M. ve CZERNIC, P., 2005, Nicotianamine Over-accumulation Confers Resistance to Nickel in *Arabidopsis thaliana*, *Transgenic. Res.*, 14, 739-748.
- PICCINI, D.F. ve MALAVOLTA, E., 1992, Effect of Nickel on Two Common Bean Cultivars, *Journal of Plant Nutrition*, 15, 2343-2356.
- PINAMONTI, F., STRINNARI, G., GASPERI F. ve ZORZI, G., 1997, Heavy Metal Levels in Apple Orchards after the Application of Two Composts, *Soil Sci. Plant Anal.*, 28, 1403-1419.
- PLACER, C.A., CUSHMAN, L.L. ve JOHNSON, B.C., 1990, Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malondy Dialdehyde) in Biochemical Systems, *Anal. Biochem.*, 16, 259-264.
- PLUMMER, J.A., CRAWFORD, A.D. ve TAYLOR, S.K., 1995, Germination of *Lomandra sonderi* (Dasypogonaceae) Promoted by Pericarp Removal and Chemical Stimulation of the Embryo, *Australian Journal of Botany*, 43(2), 223-230.
- PODAR, D., RAMSEY, M.H. ve HUTCHINGS, M. J., 2004, Effect of Cadmium, Zinc and Substrate Heterogeneity on Yield, Shoot Metal Concentration and Metal Uptake by *Brassica juncea*: Implications for Human Health Risk Assessment and Phytoremediation, *New Phytol.*, 163, 313-324.
- POLACCO, J.C., 1976, Nitrogen Metabolism in Soybean Tissue Culture, I. Assimilation of Urea, *Plant Physiol.*, 58: 350-357.

- POLACCO, J.C., 1977, Is Nickel a Universal Component of Plant Urease?, *Plant Sci. Lett.*, 10, 249-255.
- POLLARD, A.J., POWELL, K.D., HARPER, F.A. ve SMITH, J.A.C., 2002, The Genetic Basis of Metal Hyperaccumulation in Plants, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 21, 539-566.
- PORTER, N.A., 1984, Chemistry of Lipid Peroxidation, *Methods Enzymol.*, 105, 273-283.
- PRASAD, D.D.K. ve PRASAD, A.R.K., 1987, Effect of Lead and Mercury on Chlorophyll Synthesis in Mung Bean Seedlings, *Phytochemistry*, 26, 881.
- PRASAD, M.N.V., 2005, Nickelophilous Plants and their Significance in Phytotechnologies, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17, 113-128.
- PRIESTLEY, D.A., 1986, *Seed Aging*, Cornell University Press, London.
- PUNZ, W.F. ve SIEGHARDT, H., 1993, The Response of Roots of Herbaceous Plant Species to Heavy Metals, *Environ. Exp. Bot.*, 33, 85-93.
- PUTHOTÁ, V., CRUZ-ORTEGA, R., JOHNSON, J. ve OWNBY, J., 1991, An Ultrastructural Study of the Inhibition of Mucilage Reaction in the Wheat Root Cap by Aluminium, *Plant-Soil Interactions at Low pH*, Wright, R.J., Baligar, V.C., and Murrmann, R.P. (eds.), Kluwer, Dordrecht. pp.779-787.
- RAGSDALE, S.W., 1998, Nickel Biochemistry, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2, 208-215.
- RAHMAN, H., SABREEN, S., ALAM, S. ve KAWAI, S., 2005, Effects of Nickel on Growth and Composition of Metal Micronutrients in Barley Plants Grown in Nutrient Solution, *J. Plant Nutr.*, 28, 393-404.
- RAHMATULLAH, B.U.Z., SALIM, M. ve HUSSIN, K., 2001, Influences of Ni Supply on Tomato Growth and N Uptake, *International Journal of Agriculture and Biology*, 3(2), 320-323.
- RAI, P.K., 2008, Heavy Metal Pollution in Aquatic Ecosystems and Its Phytoremediation Using Wetland Plants: An Ecosustainable Approach, *Int. J. Phytoremediation*, 10, 131-158.
- RAMOS, I., ESTEBAN, E., LUCENA, J.J. ve GARATE, A., 2002, Cadmium Uptake and Subcellular Distribution in Plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction, *Plant Sci.*, 162, 761-767.
- RASKIN, I., KUMAR, P.B.A.N., DUSHENKOV, S. ve SALT, D., 1994, Bioconcentration of Heavy Metals by Plants, *Current Opinion Biotechnology*, 5, 285-290.

- RAUSER, W.E., 1999, Structure and Function of Metal Chelators Produced by Plants – the Case for Organic Acids, Amino Acids, Phytin, and Metallothioneins, *Cell Biochem. Biophys.*, 31, 19-48.
- RAVEN, P.H., RAY, F.E. ve SUSAN, E., 2005, *Biology of Plants*, 7th ed., W.H. Freeman and Company Publishers, New York.
- REEVES, R.D., BAKER, A.J.M., BORHIDI, A. ve BEREZAIN, R., 1996, Nickel-Accumulating Plants from the Ancient Serpentine Soils of Cuba, *New Phytol.*, 133, 217-224.
- REEVES, R.D. ve BAKER, A.J.M., 2000, in *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment* (Eds: I. Raskin and B. D. Ensley), John Wiley & Sons, New York, pp. 193-229.
- REIMANN, M.A, O’KANE, P.T ve CRUZ, E.D., 1999, *Nickel Laterites, An Increasingly Economic Resource*, Geostar Metals Inc. <http://www.geostarmetals.com/nickel.html>.
- RIQUELME, A. ve CARDEMIL, L., 1993, Peroxidases in the Cell Walls of Seed , Seedlings of *Araucaria araucana*, *Phytochemistry*, 32, 15-20.
- RIESEN, O. ve FELLER, U., 2005, Redistribution of Nickel, Cobalt, Manganese, Zinc and Cadmium via the Phloem in Young and in Maturing Wheat, *J. Plant Nutr.*, 28, 421-430.
- RIVETTA, A., NEGRINI, N. ve COCUCCHI, M., 1997, Involvement of Ca^{2+} Calmodulin in Cd^{2+} : Toxicity during the Early Phases of Radish (*Raphanus sativus* L.) Seed Germination, *Plant Cell Environ.*, 20, 600-608.
- ROBINSON, B.H., BROOKS, R.R. ve CLOTHIER, B.E., 1999, Soil Amendments Affecting Nickel and Cobalt Uptake by *Berkheya coddii*: Potential Use for Phytomining and Phytoremediation, *Ann. Bot.*, 84, 689-694.
- ROS, R., COOKE, D.T., BURDEN, R.S. ve JAMES, C.S., 1990, Effect of Herbicide MCPA, and the Heavy Metals, Cadmium and Nickel, on the Lipid Composition, Mg-ATPase Activity and Fluidity of Plasma Membranes from Rice, *Oryza sativa* cv. Bahia shoots, *J. Exp. Bot.*, 41, 457-467.
- ROS, R., MORALES, A., SEGURA, J. ve PICAZO, I., 1992, In vivo and In vitro Effects of Nickel and Cadmium on the Plasmalemma ATPase from Rice (*Oryza sativa* L.) Shoots and Roots, *Plant Sci.*, 83, 1-6.
- ROTH, J.A., WILLIHAN E.F. ve SHARPLESS, R.G., 1991, Uptake by Oats and Soybean of Copper and Nickel Added to a Peat Soil, *Soil Sci.*, 112, 338-342.
- ROUT, G.R., SAMANTARY, S. ve DAS, P., 2000, Effects of Chromium and Nickel on Germination and Growth in Tolerant and Non-Tolerant Populations of *Echinochloa colona*, *Chemosphere*, 40, 855-859.

- SAGNER, S., KNEER, R., WANNER, G., COSSON, J.P., DEUS-NEUMANN, B. ve ZENK, M.H., 1998, Hyperaccumulation, Complexation and Distribution of Nickel in *Sebertia acuminata*, *Phytochemistry*, 47, 339-347.
- SALISBURY, F.B. ve ROSS, C.W., 1992, *Plant Physiology*, 4th ed., Wadsworth Publishing Company, California, 0-534-15162-0.
- SALT, D.E., BLAYLOCK, M., KUMAR, P.B.A.N., DUSHENKOV, V., ENSLEY, B.D., CHET, L. ve RASKIN, L., 1995, Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants, *BioTechnology*, 13, 468-474.
- SALT, D.E., KATO, N., KRÄMER, U., SMITH, R.D. ve RASKIN, I., 2000, The Role of Root Exudates in Nickel Hyperaccumulation and Tolerance in Accumulator and Nonaccumulator Species of *Thlaspi*, In *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, Eds. N Terry and G Bañuelos., pp 189–200, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- SANDMANN, G. ve BÖGER, O., 1980, Copper-mediated Lipid Peroxidation Processes in Photosynthetic Membranes, *Plant Physiol.*, 66, 797-800.
- SAYIN, Ş.A. ve YILDIZ, M., 1974, *Orhaneli–Harmancık (Bursa) ve Dursunbey (Balıkesir) Civarının Nikel-Krom Prospeksiyonu*, M.T.A. Etüt Dairesi Rep:5765, Ankara.
- SAYIN, Ş.A., 1975, *Orhaneli (Bursa) ve Tavşanlı (Kütahya) Civarının Nikel-Krom Prospeksiyonu*, M.T.A. Etüt Dairesi Rep: 6617, Ankara.
- SCHAT, H. ve TEN BOOKUM, W., 1992, Genetic Control of Copper Tolerance in *Silene vulgaris*, *Heredity*, 68, 219-229.
- SCHOLZ, M., ANDERSON, P. ve FORMAN, B.I., 2005, Treatment of Gully Pot Liquor Containing Heavy Metals with Constructed Wetlands in Scotland, *Water Sci. Technol.*, 51, 251-258.
- SCHOR-FUMBAROV, T., GOLDSBROUGH, P.B., ADAM, Z. ve TEL-OR, E., 2005, Characterization and Expression of a Metallothionein Gene in the Aquatic Fern *Azolla filiculoides* under Heavy Metal Stress, *Planta*, 223, 69-76.
- SCOTT-FORDSMAND, J.J., 1997, Toxicity of Nickel to Soil Organisms in Denmark, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 148, 1-34.
- SENGAR, R.S., GUPTA, S., GAUTAM, M., SHARMA, A. ve SENGAR, K., 2008, Occurrence, Uptake, Accumulation and Physiological Responses of Nickel in Plants and Its Effects on Environment, *Res. J. Phytochem.*, 2, 44-60.
- SEREGIN, I.V. ve IVANIOV, V.B., 1997, Histochemical Investigation of Cadmium and Lead Distribution in Plants, *Fiziol. Rast.*, 44, 915-921.

- SEREGIN, I.V., KOZHEVNIKOVA, A.D., KAZYUMINA, E.M. ve IVANOV, V.B., 2003, Nickel Toxicity and Distribution in Maize Roots, *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(5), 711-717.
- SEREGIN, I.V. ve KOZHEVNIKOVA, A.D., 2005, Distribution of Cadmium, Lead, Nickel, and Strontium in Imbibing Maize Caryopses, *Russian Journal of Plant Physiol.*, 52, 4, 565-569.
- SEREGIN, I.V. ve KOZHEVNIKOVA, A.D., 2006, Physiological Role of Nickel and Its Toxic Effects on Higher Plants, *Russ. J. Plant Physiol.*, 53, 257-277.
- SHARMA, S.S., KAUL, S., METWALLY, A., GOYAL, K.C., FINKEMEIER, I. ve DIETZ, K.J., 2004, Cadmium Toxicity to Barley (*Hordeum vulgare*) as Affected by Varying Fe Nutritional Status, *Plant Sci.*, 166, 1287-1295.
- SHARMA, P., ve DUBEY, R.S., 2005, Lead Toxicity in Plants, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1), 35-52.
- SHARMA P, BHARDWAJ R., ARORA, N., ARORA, H.K. ve KUMAR, A., 2008, Effects of 28-homobrassinolide on Nickel Uptake, Protein Content and Antioxidative Defence System in *Brassica juncea*, *Biol Plant.*, 52, 767-770.
- SHEORAN, I.S., SINGAL, H.R. ve SINGH, R., 1990, Effects of Cadmium and Nickel on Photosynthesis and the Enzymes of the Photosynthetic Carbon Reduction Cycle in Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.), *Photosynth. Res.*, 23, 345-351.
- SHINOMURA, T., 1997, Phytochrome Regulation of Seed Germination Phytochrome Regulation of Seed Germination, *Journal of Plant Research*, 110(1), 151-161.
- SHUTES, R.B.E., REVITT, D.M., SCHOLE, L.N.L., FORSHAW, M. ve WINTER, B., 2001, An Experimental Constructed Wetland System for the Treatment of Highway Runoff in the U.K., *Water Sci. Technol.*, 44, 571-578.
- SIMON, E.W., MINCHIN, A., MCMENAMIN, M.M. ve SMITH, J.M., 1976, The Low Temperature Limit for Seed Germination, *New Phytologist*, 77(2), 301-311.
- SINGH, S.N., 1984. Effects of Nickel on Germination, Growth, Total Nitrogen and Phosphate Levels of *Cicer arietinum* L. Seedlings, *Trop. Ecol.*, 25, 90-94.
- SIRKO, A. ve BRODZIK, R., 2000, Plant Ureases: Roles and Regulation, *Acta Biochim. Pol.*, 47, 1189-1195.
- SMIRNOFF, N., 2005, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, Blackwell Publishing, Oxford.
- SOON, Y.K., BATES, T.E. ve MOYER, J.R., 1980, Land Application of Chemically Treated Sewage Sludge, III. Effects on Soil and Plant Heavy Metal Content, *J. Environ. Qual.*, 9, 497-504.

- SRIVASTAVA, L.M., 2002, *Plant Growth and Development, Hormones and Environment*, Academic Press, California, 0-12-660570-X.
- SUN, E.J. ve WU, F.Y., 1998, Along-vein Necrosis as Indicator Symptom on Water Spinach Caused by Nickel in Water Culture, *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 39, 255-259.
- SUNDERMAN, F.W. ve OSKARSSON, A., 1991, in *Metals and Their Compounds in the Environment* (Ed: E. Merian), VCH, Weinheim, 1101-1126.
- SZALONTAI, B., HORVATH, L.I., DEBRECZENY, M., DROPPA, M. ve HORVATH, G., 1999, Molecular Rearrangements of Thylakoids after Heavy Metal Poisoning, as Seen by Fourier Transform Infrared (FTIR) and Electron Spin Resonance (ESR) Spectroscopy, *Photosynth. Res.*, 61, 241-252.
- TAIZ, L. ve ZEIGER, E., 2002, *Plant Physiology*, 3rd ed., Sinauer Associates, USA, 0-87893-823-0.
- TESTER, M. ve LEIGH, R.A., 2001, Partitioning of Nutrient Transport Processes in Roots, *J. Exp. Bot.*, 52, 445-457.
- TERA, 1999, *Toxicological Review of Soluble Nickel Salts*, Prepared for: Metal Finishing Association of Southern California, Inc., US Environmental Protection Agency and Health Canada. Prepared by Toxicology Excellence for Risk Assessment (TERA) under subcontract in part with Science Applications International Corporation (SAIC).
- THE MERCK INDEX, 1983, 10th ed. Rahway, New Jersey, Merck Co., Inc., 932.
- THOMAS, H., WEBB, D.P. ve WAREING, P.F., 1973, Seed dormancy in Acer: maturation in relation to dormancy in *Acer pseudoplatanus* L., *Journal of Experimental Botany*, 24, 958-967.
- TIFFIN, L.O., 1971, Translocation of Nickel in Xylem Exudates of Plants, *Plant Physiol.*, 48, 273-277.
- TIMPERLEY, M.H., BROOKS, R.R. ve PETERSON, P.J., 1973, The Distribution of Nickel, Copper, Zinc, and Iron in Tree Leaves, *J. Exp. Bot.*, 24, 889-895.
- TITLEY, M.E., 1987, The Scheduling of Fresh Market Broccoli in Southeast Queens. Land for Exporting to Southeast Asian Markets from May to September, *Acta Horticulture*, 198, 235-242.
- TRIPATHI, A.K., SADHNA, T. ve TRIPATHI, S., 1999, Changes in Some Physiological and Biochemical Characters in *Albizia lebbek* as Bio-indicators of Heavy Metal Toxicity, *J. Environ Biol.*, 20, 93-98.
- TSUI, C., 1955, Effect of Seed Treatment with Micro-elements on the Germination and Early Growth of Wheat, *Scientia Sinica*, 4, 129-135.

- TURINA, B., 1968, Absorption of Selenium, Sulfur, Potassium, Magnesium, Iron, Nickel and Chromium Ions by Plant Roots, *Agron. Glas.*, 30, 919-950.
- UNDERWOOD, E.J., 1971, *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 3rd Edn., Academic Press, New York, pp: 461-479.
- UTHUS, E.O. ve POELLOTT, R.A., 1996, Dietary Folate Affects the Response of Rats to Nickel Deprivation, *Biol. Trace Elem. Res.*, 52, 23.
- VACCHINA, V., MARI, S., CZERNIC, P., MARQUÈS, L., PIANELLI, K. ve SCHAUMLOFFEL, D., 2003, Speciation of Nickel in a Hyperaccumulating Plant by High Performance Liquid Chromatography-inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Electrospray MS/MS Assisted by Cloning Using Yeast Complementation, *Anal. Chem.*, 75, 2740-2745.
- VEER, B., 1988, Effect of Phasic Treatment of Ni on Seedling Growth and Activities of Certain Hydrolytic Enzymes of Seeds, *J. Ind. Bot. Soc.*, 5, 351-354.
- VERGNANO, O. ve HUNTER, J.G., 1953, Nickel and Cobalt Toxicities in Oat Plants, *Ann. Bot.*, 17, 317-328.
- VERMA, S. ve DUBEY, R.S., 2003, Lead Toxicity Induces Lipid Peroxidation and Alters the Activities of Antioxidant Enzymes in Growing Rice Plants, *Plant Sci.*, 164, 645-655.
- VIJAYARENGAN, P. ve DHANAVEL, D., 2005, Effects of Nickel on Chlorophyll Content of Black Gram Cultivars, *Adv. Plant Sci.*, 18, 253.
- VILLIERS, T.A., 1974, Seed Aging: Chromosome Stability and Extended Viability of Seeds Stored Fully Imbibed, *Plant Physiology*, 53, 75-878.
- VOGEL-MIKUS, K., DROBNE, D. ve REGVAR, M., 2005, Zn, Cd and Pb Accumulation and Arbuscular Mycorrhizal Colonization of Pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the Vicinity of a Lead Mine and Smelter in Slovenia, *Environ. Pollut.*, 133, 233-242.
- VURAL, H., EŞİYOK, D. ve DUMAN, İ., 2000, *Kültür Sebzeleri*, 142, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova-İzmir.
- WALKER, W.M., MILLER, J.E. ve HASSETT, J.J., 1977, Effect of Lead and Cadmium upon the Calcium, Magnesium, Potassium and Phosphorus Concentration in Young Corn Plants, *Soil Sci.*, 124, 145-151.
- WEBER, M., HARADA, E., VESS, C., ROEPENACK-LAHAYE, E.V. ve CLEMENS, S., 2004, Comparative Microarray Analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* Roots Identifies Nicotianamine Synthase, a ZIP Transporter and Other Genes as Potential Metal Hyperaccumulation factors, *Plant J.*, 37, 269-281.

- WECKX, J.E.J. ve CLIJSTERS, H.M.M., 1996, Oxidative Damage and Defense Mechanisms in Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris* as a Result of Root Assimilation of Toxic Amounts of Copper, *Physiol. Plant.*, 96, 506-512.
- WECKX, J.E.J. ve CLIJSTERS, H.M.M., 1997, Zn Phytotoxicity Induces Oxidative Stress in Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris*, *Plant Physiol. Biochem.*, 35(5), 405-410.
- WELCH, R.M., 1981, The Biological Significance of Nickel, *J. Plant Nutr.*, 3, 345-356.
- WELCH, R.M., 1995, Micronutrient Nutrition of Plants, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 14, 49-82.
- WHITE, P.J. ve BROWN, P.H., 2010, Plant Nutrition for Sustainable Development and Global Health, *Ann. of Bot.*, 105(7), 1073-1080.
- W.H.O., 1994, World Health Organization, *Quality directive of potable water*, WHO 2nd ed., 197.
- W.H.O., 1996, *Trace Elements In Human Nutrition and Health*, World Health Organization, (Congress Book: V : 12 , P: 6-12) Geneva.
- WYCISK, K., KIM, E.J., SCHROEDER, J.I. ve KRÄMER, U., 2004, Enhancing the First Enzymatic Step in the Histidine Biosynthesis Pathway Increases the Free Histidine Pool and Nickel Tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *FEBS Lett.*, 578, 128-134.
- XYLANDER, M. ve BRAUNE, W., 1994, Influence of Nickel on the Green Alga *Haematococcus lacustris* Rostafinski in Phases of Its Life Cycle, *J. Plant Physiol.*, 144, 86-93.
- YANAI, J., ZHAO, F.J., MCGRATH, S.P. ve KOSAKI, T., 2006, Effect of Soil Characteristics on Cd Uptake by the Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*, *Environ. Pollut.*, 139, 167-175.
- YANG, X., BALIGAR, V.C., MARTENS, D.C. ve CLARK, R.B., 1996, Plant Tolerance to Nickel Toxicity: II. Nickel Effects on Influx and Transport of Mineral Nutrients in Four Plant Species, *J. Plant Nutr.*, 19, 265-279.
- YENTÜR, S., 1995, *Bitki Anatomisi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 975-404-351-5.
- YILDIZ, M., 1977, *Manisa İli Turgutlu İlçesi Çaldağ Civarının Nikel-Kobalt Etüt ve Arama Raporu*, MTA, Maden Etüt Dairesi Rep., 1707, 39 p., Ankara.
- YOUNG, T.E. ve GALLIE, D.R., 2000, Programmed Cell Death during Endosperm Development, *Plant Molecular Biology*, 44, 283-301.

- ZAINOL, Z., 2005, *The Development of a Resin-in-pulp Process for the Recovery of Nickel and Cobalt from Laterite Leach Slurries*, MSc thesis, Murdoch University, Western Australia, p:258.
- ZEDEF, V., 2005, *Maden Yatakları, Ders Notları*, S.Ü. Müh. Mim. Fak., Yayın no: 58, Konya.
- ZENGİN, F.K. ve MUNZUROĞLU, Ö., 2005, Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Bazı Ağır Metallerin (Ni^{++} , Co^{++} , Cr^{+++} ve Zn^{++}) Etkileri, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1), 164-172.
- ZHANG, F.Q., WANG, Y.S., ZHI-PING LOU, Z.P. ve DONG, J.D., 2007, Effect of Heavy Metal Stress on Antioxidative Enzymes and Lipid Peroxidation in Leaves and Roots of Two Mangrove Plant Seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorhiza*), *Chemosphere*, 67(1), 44-50.
- ZORNOZA, P., ROBLES, S. ve MARTIN, N., 1999, Alleviation of Nickel Toxicity by Ammonium Supply to Sunflower Plants, *Plant and Soil*, 208, 221-226.

ÖZGEÇMİŞ

05.05.1979 tarihinde İstanbul’da doğdum. 1995 yılında İstanbul Şehremini Lisesi’nden mezun oldum. 1997 yılında İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü’ne girdim ve 2001 yılında bu bölümden mezun oldum. 2001 yılında İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında Yüksek Lisans eğitimime başladım. Yrd. Doç. Dr. Serap Sağlam-Çağ danışmanlığında “*Glycine max* L.’da Görülen Sırsal Yaprak Senesensine Brassinosteroidlerin Etkisi” başlıklı tezime başladım ve 2005 yılında tezimi vererek yüksek lisans eğitimimi tamamladım. 2005 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında doktora eğitimime ve Prof. Dr. Muammer Ünal danışmanlığında “Nikel’in Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) Tohumlarının Çimlenmesi ve Büyümesi Üzerine Etkileri” başlıklı tezime başladım. 2002 yılı Aralık ayında İstanbul Üniversitesi, Hasan Ali Yücel Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilimdalı’na Araştırma Görevlisi olarak atandım ve halen görevime devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.