

Gelişmiş Bitkilerde Nikel Elementinin Fizyolojik Fonksiyonları ve Nikel Toksisitesi

Ali DOĞRU^{1*}, Hüseyin ALTUNDAĞ², Mustafa Şahin DÜNDAR³

¹ Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, Türkiye

^{2,3} Kimya Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, Türkiye

^{*1} adogru@sakarya.edu.tr, ² haltundag@yahoo.com, ³ dundarms@yahoo.com

(Geliş/Received: 03/09/2020;

Kabul/Accepted: 21/10/2020)

Öz: Nikel bitkiler için bir mikroelementtir ve bitkilerde düşük konsantrasyonlarda birçok önemli role sahiptir. Nikel birçok metaloenzimin aktif bölgesinin bir bileşenidir. Sonuç olarak nikel eksikliği; büyümenin indirgenmesi, senesens ve yaprak klorosisinin induksiyonu, azot metabolizmasında değişiklikler ve demir alınımı ile süperoksit radikalının detoksifikasyonunda indirgenme gibi etkilere sebep olur. Nikel bitkiler için fizyolojik olarak önemli olmasına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda birçok bitki için toksiktir. Nikel toksisitesinin semptomları arasında tohum çimlenmesi, fotosentez ve transpirasyonun inhibisyonu, mineral madde alınımı ve mitotik aktivitede bozukluklar ve farklı bitki organlarında hücresel değişimler sayılabilir. Bu derlemede, nikelin doğada bulunuşu ve kontaminasyonu ile fizyolojik rolü ve nikel toksisitesinin bitkilerdeki etkileri tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Gelişmiş bitkiler, nikel, oksidatif stres, toksisite.

Physiological Functions of Nickel and Nickel Toxicity in Higher Plants

Abstract: Nickel is a micronutrient for plants and fulfills a variety of essential roles in plants at low concentrations. Nickel is a constituent in the active site of several metallo-enzymes. Therefore, Ni deficiency produces some effects on growth and metabolism of plants including reduced growth, induction of senescence and leaf chlorosis, alterations in N metabolism, reduced Fe uptake, reduced scavenging of superoxide free radical. Although Ni is physiologically important in plants, it is toxic to most plant species when present at excessive amount in soil. Toxicity symptoms of nickel are inhibition of seed germination, photosynthesis and transpiration, disruption of mineral uptake and mitotic activity and ultrastructural changes in different plant organs. In this review, occurrence of nickel in nature and its contamination, physiological role and effects of nickel toxicity in plants are discussed.

Key words: Higher plants, nickel, oxidative stress, toxicity.

1. Giriş

Nikel volkanik kayaların yapısında ya serbest metal ya da demir (Fe) ile kompleks oluşturmuş şekilde yaygın olarak bulunur. Yerkabuğunda en fazla miktarda bulunan 22. elementtir [1]. Nikel elementi İsveçli kimyacı Ronstadt tarafından 1751 yılında keşfedilmiştir. Nikelin atom numarası 28, atom ağırlığı 58.71' dir ve birçok oksidasyon durumunda bulunabilir. Ni⁺² formu toprakta geniş bir pH aralığı ve farklı redoks koşulları altında stabildir. Nikelin topraklardaki ve yüzey sularındaki doğal konsantrasyonu genellikle sırasıyla 100 ve 0.005 ppm' dir [2]. Ayrıca döküm işleri, fosil yakıtların kullanılması, motorlu araç emisyonları, ev atıklarının doğaya bırakılması, kentsel ve endüstriyel atıkların kontaminasyonu, madencilik faaliyetleri, tarımsal alanların gübrelenmesi gibi faktörler de toprakların yapısındaki Ni miktarının artmasına neden olabilir [3,4]. Ancak doğadaki Ni kontaminasyonunun temel nedenleri arasında metalürji ve elektrokaplama endüstrisinde kullanılan ham maddeler, kimya ve besin endüstrisinde kullanılan katalizörler ve piller daha ön planda yer alır [5]. Bu sebeplerden dolayı doğadaki Ni kirliliğinin boyutları artış göstermiştir. Örneğin kirlenmiş bölgelerdeki toprakların Ni içeriği 26,000 ppm, yüzey sularında ise 0.2 ppm seviyelerine ulaşmıştır [3,2,6,7]. Bu değerler kirlenmemiş alanlardaki değerlerden yaklaşık olarak 20-30 kat fazladır. Nikel toksisitesi tüm dünyada tarımsal faaliyetleri tehdit eden önemli bir faktör haline gelmiştir. Cd, Pb, Hg, Cu ve Cr gibi diğer elementlerle karşılaştırıldığında Ni, bitkilerdeki toksisite mekanizmasının anlaşılmasını zorlaştıran bazı özelliklerinden dolayı daha az çalışılmış bir elementtir. Nikelin duyarlı bitkilerdeki toksisite eşik değeri kuru ağırlık olarak 10 mg kg⁻¹ [8], orta derecede toleranslı bitkilerde 50 mg kg⁻¹ [9,10], *Alyssum* ve *Thlaspi* gibi hiperakümülatör bitkilerde ise 1,000 mg kg⁻¹ dir [11,12].

* Sorumlu yazar: adogru@sakarya.edu.tr. Yazarların ORCID Numarası: ¹ ORCID 0000-0003-0060-4691, ² ORCID 0000-0003-3675-4133, ³ ORCID 0000-0002-5117-7864

Nikel toksisitesinin bitkilerdeki fizyolojik olaylar üzerindeki etkileri bitki türüne, bitkinin o anda içinde bulunduğu büyüme evresine, bitkinin yetiştirildiği ortamın koşullarına, nikel konsantrasyonuna ve bitkinin nikel maruz kalma süresine bağlı olarak değişiklik gösterir [13-17]. Yüksek konsantrasyonlardaki nikelin bitkiler üzerindeki etkileri arasında mitotik aktivitenin inhibisyonu [18], büyümenin yavaşlaması [19], bitki-ortam arasındaki su ilişkilerinin ve fotosentezin olumsuz etkilenmesi [20], enzim aktivitelerinin ve azot metabolizmasının inhibisyonu [21], mineral madde beslenmesinin bozulması [20], oksidatif stresin indüksiyonu sayılabilir [20]. Tüm bu etkiler sonuçta tarımsal bitkilerde fizyolojik olaylarda değişime ve verimin azalmasına neden olur [22].

2. Doğada Nikel

Nikelin doğada en fazla miktarda bulunduğu formu nikel iyonudur (Ni^{+2}). Nikel ayrıca toprakların yapısında hidrate olmuş formda da bulunmaktadır ($Ni(H_2O)_6^{+2}$). Dünya topraklarının yapısındaki nikelin yaklaşık % 20'si Ontario'daki pentlandit bakımından zengin olan topraklardan kaynaklanır. Pentlandit Ni, sülfür, Cu ve Fe bakımından zengin olan bir maden cevheridir. Nikel topraktaki kaynaklarından endüstriyel, kimyasal ve biyolojik vasıtalarla ekstrakte edilir. Sulama yapıldıkça volkanik ve metamorfik kayaların yapısındaki nikel de toprağın yapısına geçer ve genellikle ya kil minerallerine bağlı olarak, ya sulu iyonlar halinde ya da mangan oksitlerle kompleks oluşturmuş halde bulunur. Topraklardaki serbest nikel konsantrasyonu ise öncelikle Mn ve Fe metallere sulu oksitleriyle gerçekleşen çökeltme reaksiyonları ile kontrol edilir.

Nikel aynı zamanda çeşitli su kaynaklarında ve atmosferde de eser miktarlarda bulunur. Kentsel ve endüstriyel atıklar da atığın kaynağına bağlı olarak, toprak ve su kaynaklarındaki nikel konsantrasyonunu artıran faktörlerdir. Bu tip atıklar özellikle yeryüzündeki bazı ırmakların sedimentlerindeki nikel konsantrasyonu toksik seviyelere ulaşmıştır. Örneğin Hindistan'daki Ganj nehrinin yukarı kısımlarında sudaki nikel konsantrasyonunun 35-211 ppm, sedimentteki nikel konsantrasyonunun ise 70,900-511,000 ppm olduğu belirlenmiştir [23]. Nikel atmosfere kirliliğe yol açan çeşitli partiküllerle verilir. Bu partiküllerin kaynağı da bacalardan çıkan dumanlar ve hem maden yatakları hem de çimento cürufurlarının taşınmasını sağlayan hava akımlarıdır [24]. Sonuçta nikel toprak, su ve bitki yüzeylerine ulaşır.

(1)

2.1. Doğadaki Nikel Kontaminasyonunun Sebepleri

Nikel doğaya birçok doğal veya antropojenik kaynaktan kontamine olabilir. Doğaya nikelin verilmesine yol açan endüstriyel kaynaklar arasında kömür, petrol ve diğer fosil yakıtlarının kullanımı oldukça önemlidir. Nikel emisyonuna neden olan diğer endüstriyel kaynaklar ise madencilik aktiviteleri, arıtma prosesleri, çelik imalatı, kaplama işlemleri ve kentsel atıkların yakılmasıdır [25]. Bitkilerin kentsel kanalizasyon atıklarına maruz kalması da doğada metal birikimine neden olur [26].

Nikelin modern toplumlarda birçok kullanım alanı vardır. Nikel alaşım yoluyla üretilen birçok malzemenin imalatında kullanılır. Günümüzde nikel alaşım 3,000'den fazla ürün endüstri, tarım ve günlük yaşantıda kullanılmaktadır [27]. Endüstriyel alanda birçok nikel bileşiği kullanılmaktadır. Örneğin nikel asetat, tekstil endüstrisinde boya sabitleştirici olarak, bitkisel yağ üretiminde hidrojenasyon katalizatörü ve nikel kaplamacılığında yaygın olarak kullanılmaktadır. Nikel hidroksid ise nikel-kadmium içeren yeniden doldurulabilir pil üretimi için gereklidir. Nikel karbonat vakum tüpleri ve transistör kutularında, atık sularındaki organik kontaminantların uzaklaştırılmasında katalizatör olarak, renkli cam imalatında ve nikel kaplamacılığında kullanılır. Kaplama sanayisinde ise nikel okside gereksinim duyulur. Ancak tüm bu faaliyetler sırasında belirli miktarda nikel doğaya kontamine olabilmektedir [28,29].

Nikel emisyonuna yol açan diğer faktörler arasında güç santralleri ve çöplerin yakıldığı tesisler de sayılabilir. Bu gibi faaliyetler sonucu özellikle nikelin atmosfere karışması söz konusudur [30]. Ancak nikelin atmosferden uzaklaştırılması kolay değildir ve uzun zaman alır [31]. Atmosferde birikim gösteren nikel içeren bileşikler ya çökelti olarak ya da yağışlarla toprağın yapısına katılırlar [32]. Ancak sonuçta nikel içeren bileşikler yer altı sularına karışırlar [32]. Doğaya verilen nikel ve nikel içeren bileşikler sedimentlerin veya toprak partiküllerinin yüzeyinde adsorbe edilir ve hareketsiz hale geçer [33,34]. Ancak asidik topraklarda nikelin çözünürlüğü artar ve mobil hale geçer [35] ve nikel yer altı sularına karışır [36]. Bu şekilde farklı kaynaklardan doğaya kontamine olan nikel yaşamları boyunca birçok defa canlı organizmaları etkiler.

3. Nikelin Bitkiler için Önemi

Bir metalin bitkiler için esansiyel element olarak tanımlanması için, bitkinin bu metalin eksikliğinde yaşam döngüsünün tamamlayamaması ve bu metalin eksikliği yüzünden ortaya çıkan metabolik problemlerin başka bir metalle düzeltilmemesi gerekir [37,38]. Bu kriterlere göre nikelin bitkiler için esansiyel bir element olduğu açık bir şekilde kanıtlanmıştır [37,39,40,41]. Nikel ilk olarak 1987 yılında bitkilerde yaşam döngüsünün tamamlanması için gerekli olduğu anlaşıldığından esansiyel bir element olarak tanımlanmıştır. Nikel eksikliğinin arpa bitkisinde embriyo büyümesini ve canlı tohum oluşumunu engellediği belirlenmiştir [39,40]. Ayrıca nikel eksikliğinin embriyonik kök gelişimini kısmen veya tamamen engellediği, endosperm gelişiminde bazı anormalliklere neden olduğu ve dehidrogenaz aktivitesini azalttığı gözlenmiştir. Arpa bitkisinin dokularında ürün miktarını %15 oranında azaltan kritik Ni konsantrasyonunun kuru ağırlık olarak 90 ± 10 ng olduğu belirlenmiştir [40]. Bunun yanı sıra nikel, birçok enzimin önemli bir bileşenidir. Nikel S, O ve tetrapirrol yapıya sahip ligandlarla koordinasyon sağlar [41]. Ancak üreaz, yapısında nikel bulundurduğu belirlenen tek enzimdir [42].

Soya bitkisinde üreaz enziminin aktivitesinin, bu enzimin nikel elementine bağlanması ile ilgili olduğu ve bu bağlanmanın iki gen (*Eu2* ve *Eu3*) tarafından regüle edildiği belirlenmiştir. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar ise üreaz aktivitesinin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bu genlerden *Eu3*, 32 kDa'lık bir proteini kodlar ve bu protein de *Eu2*'nin kodladığı proteinle etkileşime girerek embriyonik üreaz enziminin aktive olmasını sağlar. Bu iki proteinin etkileşimi sonucunda nikelin üreaz enzimine bağlanması ve bu enzimin aktivite kazanması sağlanır. Ancak *Eu3* geninin ürününün inaktif hale geçmesi, nikelin enzime bağlanmasını engeller. Bu sonuçlar üreazın aktive olabilmesi için yeterli miktarda nikelin bulunması gerektiğini göstermektedir [43,44]. Farklı bitki türleriyle yapılan bazı çalışmalar nikel elementi ile üreaz enziminin bitkiler için oldukça önemli olduğunu göstermiştir. Örneğin nikel eksikliği ve düşük üreaz aktivitesi, azot metabolizmasının bozulmasına ve bitki gövdelerindeki üre birikiminin toksik seviyelere ulaşmasına neden olmuştur. Bu tip metabolik problemler de yaşlı yaprakların uç kısımlarında fenotipik olarak nekrotik bölgelerin oluşumuna yol açmıştır [45,37,46,47,48,49,50]. Topraktaki üre miktarının azalması da yaprak uçlarında benzer nekrotik bölgelerin oluşmasına neden olmuştur. Bitkilere üreaz inhibitörlerinin verilmesi sonucu nekroz oluşumunun azalması, nekroz olayına amonyağın değil ürenin yol açtığını göstermektedir [51]. Bu tip yaprak hasarları özellikle azot fikse eden bakterilerle simbiyotik yaşam birliği oluşturabilen bitki türlerinde gözlenmiştir. Bu bitki türlerinde köklerdeki nodül oluşumu 2-3 gün gecikmeli olarak meydana gelmiştir [37]. Büyüme ortamına düşük miktarda nikel verildiğinde bu semptomların azaldığı ortaya çıkarılmıştır. Ortama verilen Al, Cd, Sn, V, Cr ve Pb iyonlarının bu semptomların iyileşmesinde herhangi bir etkisi olmamıştır [52]. Bazı baklagillerde az miktarda nikel köklerdeki nodüllerin oluşumu ve hidrogenaz enziminin aktivasyonu için gereklidir. Azot fiksasyonunun etkinlik derecesi büyük ölçüde hidrogenaz aktivitesine bağlıdır. Çünkü hidrojenin oksidasyonu azotun amonyağa indirgenmesi için gerekli olan ATP enerjisinin oluşmasını sağlar. Nikel eksikliğinin nodüllerdeki hidrogenaz aktivitesini azalttığı bilinmektedir. Örneğin soya bitkileri 1 mM NiCl₂ içeren besin çözeltisi ile sulandığında, büyümenin 52. gününde nodüllerdeki hidrogenaz aktivitesinin kontrole göre %45 oranında artmasına neden olmuştur. Ancak denemenin 100. gününde nikel toksisitesinden dolayı bu etki ortadan kalkmıştır [49]. Nikel eksikliğine maruz bırakılan bitkilerin yapraklarında; üreid katabolizmasında, amino asit metabolizmasında ve ornitin döngüsünde meydana gelen anomaliler sonucunda azot metabolizmasının bozulduğu belirlenmiştir [53]. Nikel eksikliği altındaki bitkilerde üreid katabolizmasındaki anomaliler sonucunda; ksantin, allantoinik asit ve üreidglikolat birikimi görülür. Ancak üreid ve üre miktarı ile üreaz aktivitesi azalmaktadır. Nikel eksikliği bitkilerde amino asit metabolizmasının da bozulmasına yol açar. Sonuç olarak bu bitkilerin yaprak dokularında glisin, valin, izolösin, tirozin, triptofan, arjinin ve toplam serbest amino asit miktarı artarken; histidin ve glutamik asit miktarı azalmaktadır. Nikel eksikliği aynı zamanda bitkilerdeki sitrik asit döngüsünü de bozar ve sitrat miktarını azaltır. Bu bitkilerde karbon metabolizmasının bozulması da laktik asit ve okzalik asit birikimine ve en sonunda önemli bir morfolojik semptom olan fare kulağı görünümünün oluşumuna yol açar [53]. Birçok enzimin aktivitesinin nikel iyonlarına bağlı olması, kabak, kolza, pamuk, biber, domates, patates ve kenevir gibi bitkilerde nikelin düşük konsantrasyonlarda büyüme ve gelişmeyi olumlu etkilediğini göstermektedir [45,47,48,54]. Pamuk bitkisinin 234.8 ppm NiSO₄'ün foliar olarak uygulanması sonucu tomurcuk ve çiçek sayısı ile tohumlardaki yağ miktarı % 4.6 oranında artmıştır [38]. Bu sonuçlar nikel elementinin tohum çimlenmesinden vejetatif büyüme evresine ve tohum oluşumuna kadar birçok evredeki fizyolojik olaylar üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca bitkiler uygun miktarda nikel verilmediği sürece yaşam döngülerini tamamlayamamaktadır. Bu nedenlerden dolayı nikel elementi bitkiler için esansiyel bir mikro elementtir [41].

4. Nikelin Bitkilerde Kullanılabilirliği ve Alınımı

Topraktaki nikel bitki kökleri ile pasif veya aktif mekanizma ile alınır [55,20]. Ancak nikelin pasif veya aktif transport mekanizması ile alınımı bitki türüne, topraktaki nikelin formuna ve nikelin konsantrasyonuna bağlı olarak değişir [56]. Örneğin çözümlü nikel bileşikler öncelikle pasif mekanizma ile ve bir katyon transport sistemi ile alınmaktadır. Şelatlanmış nikel bileşikler ise permeazlar gibi nikel için spesifik olarak bağlanan bazı proteinlerin yardımıyla sekonder aktif transport mekanizması ile alınır [57,58]. Ancak çözümlülük özelliği olmayan nikel bileşikler bitki hücrelerine endositoz ile girerler [59].

Nikelin biyolojik olarak kullanılabilirliğini ve bitkiler tarafından alınımını etkileyen faktörler arasında topraktaki nikel konsantrasyonu [60], toprak veya toprak çözeltisinin asiditesi [61,62], nikel ile rekabete girebilecek diğer metallerin topraktaki varlığı [63] ve toprağın organik kompozisyonu bulunur [64,65]. Bunlar arasında nikelin çözümlülüğünü ve bitkiler tarafından alınabilirliğini etkileyen en önemli faktör toprağın pH değeridir [66,67,62]. Ancak toprağın pH değerini değiştirebilecek antropojenik prosesler nikelin topraktaki çözümlülüğünü etkiler. Örneğin pH değeri düşük olan asidik topraklarda nikelin çözümlülüğü ve mobilitesi yüksektir [35]. Bu koşullar altında asidik topraklarda, ortama başka bir metal ilave edilmese bile, bitkilerde metal toksisitesi ile ilgili semptomlar gözlenebilir [68].

5. Nikelin Bitkilerdeki Taşınımı ve Dağıtımını

Nikel ve bazı metaller köklerden gövdeye [69] ve oradan da yapraklara [13] ksilemler ve transpirasyon akımı ile taşınır [70]. Nikelin bitkilerdeki mobilitesi oldukça yüksektir ve yaşlı yapraklardan genç yapraklara kolayca taşınabilir [71,72]. Esansiyel bir element olduğu için nikel floem yoluyla tomurcuklar, meyveler ve tohumlar gibi yeni oluşan bazı organlara ve dokulara da taşınır [61,73,74,75]. Bu tip taşınım olayları nikotianamin, histidin ve organik asitler [76-79] gibi metal-ligand kompleksleri ve spesifik olarak nikel için bağlanıp taşıyan proteinlerle regüle edilir [80,81].

Bitki kökleri tarafından alınan nikelin yaklaşık olarak yarısı köklerde tutulur [60]. Bunun nedeni nikelin trake borularının, ksilem parankima hücrelerinin çeperlerindeki katyon değişim bölgelerinde tutulması veya köklerdeki immobilizasyonundan kaynaklanabilir [55]. Ayrıca köklerdeki vasküler silindirde oldukça fazla miktarda nikel bulunurken, nikelin az bir kısmı korteks bölgesinde bulunur. Bu dağılım, nikelin ksilem ve floem dokularındaki mobilitesinin iyi olduğunu göstermektedir [15,82,83]. Ancak nikelin gövde ve yapraklardaki dağılımı farklılık göstermektedir. Örneğin nikel çeperlerden çok epidermal hücrelerde ve muhtemelen de vakuollerde bulunur [11]. Nikelin yaprak organellerinde ve sitoplazmadaki dağılımı da farklılık gösterir. Bu noktada nikelin sitoplazmik sıvıdaki ve vakuollerdeki dağılımı oldukça yüksektir (%87' den fazla), kloroplastlarla (%8-9.9), mitokondri ve ribozomlarda (%0.32-2.85) ise daha düşüktür [84].

Nikel meyve ve tohum gibi organlara floem yoluyla taşınır [61,73,74,75]. Ancak nikelin bir tohum içerisindeki dağılımı bitki türüne, patojen ve böceklerin varlığına bağlı olarak değişiklik gösterir [85]. Örneğin hiperakümülatör bir tür olan *Stackhousia tryonii* tohumlarında nikel özellikle perikarpta bulunurken, endosperm ve kotiledonlardaki nikel miktarı düşüktür. Ancak perikarpta yüksek konsantrasyonda nikelin bulunması bu bitki türünde tohum çimlenmesi üzerinde herhangi bir etkiye sahip değildir [86]. Nikelin embriyonik dokulardan dışarı verilmesi, metal bakımından zengin topraklarda büyüyen hiperakümülatör türlerde yüksek bir reproduktif başarı sağlayabilir.

6. Bitkilerde Nikel Toksikitesi

Bitkiler normal büyüme ve gelişme için birçok elemente gereksinim duyarlar. Bu elementler birçok redoks reaksiyonu ve hücre fonksiyonu için gereklidir. Ancak nikelin de içinde bulunduğu bu elementlerin topraktaki miktarı belli bir değeri aştığı zaman birçok hücre fonksiyonu bozulur ve normal metabolizma değişir. Sonuçta meydana gelen hücre hasarları bitkilerin ölümüne bile sebep olabilir. Yapılan birçok toksikolojik ve biyokimyasal analiz, yüksek nikel konsantrasyonları sonucu yapı ve aktivitesi inhibe edilen, modifiye edilen veya artan birçok hedef molekülün belirlenmesini sağlamıştır.

Ochiai (1977), nikel gibi geçiş (ağır) metallerinin bitkilerde toksik etkiler oluşturması ile ilgili önemli roller oynayan en azından 3 kavramın bulunduğunu bildirmiştir [87]. Bunlar biyomoleküllerdeki önemli bileşenlerin bu metallerle yer değiştirmesi, moleküllerdeki önemli biyolojik fonksiyonel grupların bloke edilmesi, enzim ve proteinlerle plazma membranı ve/veya membran taşıyıcılarının yapı ve fonksiyonlarındaki modifikasyonlardır. Bu

enzim ve proteinler metallerle şelasyon sağlayacak olan birçok merkaptoligandları içerirler ve sonuçta fonksiyonel özelliklerini kaybederler. Bunun yanı sıra ağır metaller bitki dokularında serbest radikallerin oluşumuna ve oksidatif strese yol açarlar [88,89]. Nikelin neden olduğu toksisite semptomları arasında klorosis, nekrosis, kök ve gövde büyümesinin inhibisyonu ile yaprak alanının azalması sayılabilir [90].

6.1. Nikel Toksikitesi ve Bitkilerde Büyüme-Gelişme

Bitkilerde büyüme ve gelişme türlerin varlığını sürdürmeleri açısından önemli bir süreçtir. Büyüme ve gelişme sürekli bir olaydır ve hem topraktaki hem de atmosferdeki bazı faktörlere bağlıdır. Büyüme içsel ve dışsal faktörlere bağlı olup, öncelikli olarak genotip ve çevrenin bir fonksiyonu olarak ifade edilir. Dış ortamda bulunan aşırı miktardaki nikel bitkilerde büyüme ve gelişme modelini değiştirebilir.

6.2. Nikel Toksikitesi, Tohum Çimlenmesi ve Fide Büyümesi

Tohum çimlenmesi ve bunu izleyen fide büyümesi bir bitkinin yaşam döngüsünün ilk evreleridir ve daha sonraki evrelere meydana gelecek olan fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri belirleyici etkiye sahiptir. Tohum çimlenmesi evresi bitkilerde ağır metal toksisitesine en dayanıklı olan evredir [55]. Nikel toksisitesinin bitkilerde tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerindeki etkileri ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Bir nikel hiperakümülatörü olan *Alyssum murale*'nin yapraklarının döküldüğü topraklardaki diğer bitkilerin tohumlarının çimlenmesinin inhibe olduğu bildirilmiştir [94]. *Cajanus cajan* tohumlarının çimlenmesi 1.5 mM Ni uygulaması sonucunda %20 oranında azalmış ve inhibisyon oranı nikel konsantrasyonuna bağlı olarak azalma göstermiştir [18]. 42 günlük lahana bitkilerine uygulanan 0.5 mM nikel çözeltisi 8 gün boyunca büyümede önemli bir değişime neden olmamış, ancak daha sonraki dönemde büyüme yavaşlamıştır [95].

Mısır bitkilerinde ise fide büyümesi artan nikel konsantrasyonlarına paralel olarak yavaşlamıştır [96]. Buğday bitkisine uygulanan 100 ve 200 µM nikel gövde ağırlığını sırasıyla %20 ve %26 oranında inhibe etmiştir [97]. *Brassica juncea*'da ise 25, 50 ve 100 mg dm⁻³ konsantrasyonlarında uygulanan nikel, tohum çimlenmesini ve fide büyümesini önemli oranda azaltmıştır [98]. 0.43 mM'lık nikel uygulaması tütün bitkisinde 7-10 gün içinde köklerde kararmaya ve büyümenin inhibe edilmesine yol açmıştır [99]. Nikelin tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerindeki toksik etkileri, nikelin birçok metabolik olay üzerindeki olumsuz etkilerinden, hücre çeperlerindeki elastisitenin bozulmasından, hücre çoğalmasındaki anormalliklerden ve hidrolitik enzimlerin aktivitelerindeki inhibisyonundan kaynaklanmaktadır [100,55,46].

6.3. Nikel Toksikitesi ve Kök Büyümesi

Kökler metal anyonlarının primer hedefi olduğu için, kök büyümesi toprak üstü organlarla karşılaştırıldığında ağır metallerden daha olumsuz etkilenir [95]. Nikeli çoğunlukla köklerinde biriktiren dışlama mekanizmasına sahip olan bitki türlerinde, kök büyümesi gövde büyümesine göre daha olumsuz etkilenir [101,102] ve sonuç olarak ağır metalleri de içeren toksik bileşiklerin olumsuz etkilerini belirlemek için yaygın olarak kök testleri kullanılır [103,55]. Kök büyümesinin tersine, lateral kök oluşumu birçok ağır metale oldukça dirençlidir [103,104]. Bunun nedeni olarak endodermisin bir bariyer görevi yapması ve merkezi silindirin karakteristik yapısı gösterilmektedir [105,106]. Ancak toksik konsantrasyonlarda nikel uygulanan pirinç ve mısırdaki lateral köklerin sayısı önemli derecede azalmıştır. Bu sonuç nikel iyonlarının endodermisi geçerek perisikl hücrelerinde birikim gösterebileceğini kanıtlamaktadır [102,101].

Buğday fidelerine 100 ve 200 µM'lık nikel uygulamaları sonucu kök büyümesi kontrole göre %37 ve %53 oranında inhibe edilmiştir [97]. Yine buğday fidelerine yüksek konsantrasyonda nikel uygulamaları, köklerde aşırı nikel birikimine yol açmıştır [22]. Yapılan diğer bir çalışmada da 10 µM'lık nikel uygulamasının buğday köklerinde büyüme inhibisyonuna neden olmadığı, 200 µM'lık nikel uygulamasının ise kök büyümesini önemli derecede inhibe ettiği belirlenmiştir [22]. *Brassica juncea*'da da 100 µM nikel uygulaması kök büyümesini %33 oranında inhibe etmiştir [107].

6.4. Nikel Toksikitesi ve Gövde Büyümesi

Yapılan araştırmalar nikel gibi ağır metallerin bitkilerde büyümeyi, hücre, organ ve tüm organizma seviyesinde etkilediğini göstermiştir [108,109]. Ancak nikel üzerinde yapılan araştırma sayısının oldukça sınırlı olması bu konudaki bilgilerin de yetersiz olmasına neden olmaktadır.

Gövde büyümesinin nikel ve diğer ağır metaller tarafından inhibe edilmesinin nedeni genel metabolik olaylarla birlikte hücre bölünmesinin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır. Ancak nikelin hücrelerin nükleusuna yüksek konsantrasyonlarda girip girmediği bilinmemektedir. Nikelin nükleusa girdiği kabul edilirse, nikelin DNA ve çeşitli nüklear proteinlerle ne tip etkileşimlere girerek hücre bölünmesini inhibe ettiği de bilinmemektedir.

6.5. Nikel Toksisitesi ve Yaprak Büyümesi

Yaprak büyümesi, yaprak alanı ve toplam yaprak sayısı tarımsal bitkilerde ürün miktarı ve kalitesini belirleyen çok önemli parametrelerdir. Nikel eksikliği durumunda bitkiler, aşırı üre birikimi yüzünden yaprak ucu yanması gibi spesifik semptomlar geliştirirken, yüksek konsantrasyonda nikel de yapraklarda klorosis ve nekrosise yol açar [110,61,15,55]. Bir hafta süreyle 5-15 ppm nikel uygulaması yapılan su ıspanağı yapraklarında orta damar boyunca klorosis ve nekrosis oluşumları gözlenmiştir [111]. 0.5 mM'lık nikel uygulaması ise yaprak marjlerinde koyu kahve renkli nekrotik alanların oluşumuna, su potansiyeli ve transpirasyon hızının azalmasına ve dış kısımda bulunan yaprakların solmasına yol açmıştır [95]. Benzer şekilde 14 gün boyunca 0.1 mM nikel uygulanan arpa yapraklarında da klorosis ve nekrosis gözlenmiştir [112]. Düşük konsantrasyonlardaki (0.05 ve 0.1 mM) nikel uygulamalarının yaprak alanını önemli derecede azalttığı bildirilmiştir [113]. Tohum çimlenmesini geciktirme şeklindeki etkisi, nikel iyonlarının embriyonik eksenin uzaması üzerindeki inhibitör etkisinden kaynaklanmaktadır. Çünkü nikelin hücre bölünmesini ve hücre uzamasını inhibe ettiği bilinmektedir [103]. Benzer şekilde yapraklarda gözlenen deformasyon da muhtemelen düzensiz hücre uzamasının bir sonucudur. Bazı araştırmacılar da yaprak büyüme özelliklerinin ağır metal kirliliği için uygun bir biyoindikatör olabileceğini ve ağır metallerle dayanıklı bitki türlerinin seleksiyonunda bir kriter olarak kullanılabileceğini savunmaktadır.

6.6. Nikel Toksisitesi ve Kuru Madde Birikimi

Bitkilerde yüksek verim için gerekli ilk koşul, kuru madde anlamında biyokütle birikiminin artmasıdır. Karbon bileşikleri bitkilerdeki toplam kuru madde birikiminin %80-90'ını oluşturur. Kaynak boyutunun büyük olması ve fotosentetik aktivitenin sürdürülmesi, organik madde sentezi ve kuru madde birikimi için oldukça önemlidir. *Brassica juncea*'da nikel birikimi ve toksisitesi ile kuru madde birikimi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak için yapılan bir çalışmada, 100 µM'lık nikel uygulamasının kuru madde birikimini azalttığı belirlenmiştir [107]. Toplam kuru madde birikimin belirleyen diğer önemli bir özellik de gövde/kök ağırlığı oranıdır. Yapılan bir çalışmada düşük nikel konsantrasyonlarının (10 ve 50 µM) mısır fidelerinde gövde/kök oranını artırdığı belirlenmiştir [114].

Toplam kuru madde birikimi ile ilgili önemli parametreler taze ve kuru ağırlıktır. Bashmakov ve ark. (2006)'ya göre, 10 µM nikel uygulaması sonucunda 21 günlük mısır bitkilerinde taze ağırlığın önemli derecede azalmıştır [113]. Ayrıca nikel konsantrasyonunda meydana gelen artışa paralel olarak, kök ve gövdenin taze ve kuru ağırlıkları da lineer olarak azalmıştır. Kök ve gövdenin su miktarı da 0.1 mM ve 50 µM'lık nikel uygulaması ile önemli oranda azalmıştır. Bu sonuçlar mısır bitkisinde nikelin taze ve kuru ağırlığı azaltmasının bir sebebi olabilir.

6.7. Nikel Toksisitesi ve Karbohidratlar

Nişasta birçok tohumun yapısındaki temel karbohidrattır. İmbibisyon gerçekleşince endospermde bulunan karbohidrat rezervleri mobilize edilir ve hem tohum çimlenmesi hem de embriyonik eksenin büyümesi sağlanır [115]. Çimlenmekte olan tohumlarda karbohidrat metabolizması α- ve β-amilazlar, nişasta fosforilaz ve invertaz (asit ve alkalın) gibi enzimlerle kontrol edilir [109,116,117]. Nikel gibi birçok toksik iyon yüksek konsantrasyonlarda buldukları zaman protein, karbohidrat ve nükleik asit metabolizması üzerinde olumsuz etkilere yol açarlar [118]. Yüksek nikel konsantrasyonları önemli metabolik enzimler üzerinde direkt olarak etki yaparak çimlenmekte olan tohumlar ve büyüyen fidelerde; şekerler, amino asitler, proteinler ve nükleotidler gibi önemli biyomoleküllerin miktarını değiştirirler [119]. Sonuç olarak nikel stresi altındaki bitkilerde şeker miktarı (toplam, indirgen ve indirgen olmayan) azalır. Nikelin şeker metabolizması ile ilgili hidrolitik enzimlerin aktiviteleri üzerindeki etkileri de direkt etkilerdir.

6.8. Nikel Toksisitesi ve Fotosentetik Pigmentler

Yüksek nikel konsantrasyonları bitkilerde klorofil a, klorofil b ve karotenoidler gibi fotosentetik pigmentlerin miktarını değiştirebilir [61,120,55]. Bu gibi değişiklikler nikel toksisitesinin yaygın semptomları olarak kabul edilen yaprak klorozu ve nekrozuna yol açar [22]. Yüksek nikel konsantrasyonları yapraklardaki fotosentetik aygıtta birkaç mekanizma ile hasara yol açar. Örneğin aşırı miktardaki nikel mezofil ve epidermal hücrelere zarar

verebilir [121,122], kloroplastlardaki grana yapısını ve tilakoid membranlarda hasara yol açabilir [123,19], grana boyutlarını azaltıp lamel miktarını artırabilir [19]. Bu tip değişimler de hem klorofil (a, b ve toplam) hem de ksantofil ve karotenoid miktarını azaltır [13,95,22,124].

Nikel aynı zamanda diğer esansiyel elementlerle rekabete girerek bunların bitkiler tarafından alınmasını ve taşınım hızını azaltabilir. Sonuçta da bitkilerin bu metallerin eksikliğine maruz kalmasına neden olur. Yani nikel toksisitesine maruz kalan bitkilerde Fe, Cu, Zn, Mg, Fe, ve Mn miktarı azalabilir [125]. Bu da fotosentetik pigment miktarını azaltan sekonder bir etkiye yol açabilir [126,22,127]. Örneğin Mg klorofil moleküllerinin ve hem yapılarının bir bileşenidir. Fe ve Mn ise klorofil moleküllerinin metabolik fonksiyonları için gereklidir. Ni toksisitesi aşırı derecede artarsa, kloroplastlardaki klorofiller tamamen parçalanır ve sonuçta yapraklarda kloroz ve nekroz görülür.

6.9. Nikel Toksisitesi ve Fotosentez

Fotosentez olayı ağır metaller de dahil olmak üzere her türlü stres faktöründen ilk etkilenen mekanizmalardan biridir. Yapılan araştırmalar fotosentez üzerinde spesifik olmayan inhibisyona neden olan birçok direkt ve dolaylı mekanizmanın varlığını ortaya çıkarmıştır. Nikel elementinin fotosentez üzerindeki etkileri hem izole edilmiş kloroplastlarda hem de bitkilerde araştırılmıştır [100,128,19,129]. Her iki durumda da nikel fotosentetik aygıt mezofil hücrelerinde ve epidermal dokularda hasar oluşturarak [130] ve klorofil miktarını azaltarak (klorofil a, b, toplam klorofil ve klorofil a/b oranı) olumsuz etkiler [22,124,107]. Nikel tilakoid membranlara ve granalara zarar vererek [123,19,131], grana boyutlarını azaltıp lamel sayılarını artırarak fotosentetik aktiviteyi olumsuz etkiler [19].

Ağır metal toksisitesinin primer fonksiyonel mekanizması ağır metallerin diğer esansiyel iyonlarla yer değiştirmesidir. Bu durum özellikle Mg' nin yerine Ni' nin geçmesi şeklinde görülür [132]. Bu yer değiştirme klorofil molekülünde yapısal ve/veya aktivite anlamında değişikliklere yol açar [133,134]. Aynı durum rubiloz-1,5- bisfosfat karboksilaz oksijenaz enzimi için de geçerlidir [132]. Nikel aynı zamanda fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarını da olumsuz etkiler [135,136]. Nikelin elektron taşınım sistemindeki sitokrom b6f ve sitokrom b559 gibi bileşenlerin fonksiyonunu bozduğu da belirlenmiştir [108,13]. Nikel fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarını inhibe edici etkisini özellikle fotosistem II (FSII)' nin donör bölgesinde [135,128], kinon B' nin bağlanma bölgesinde ve FSII' nin sekonder kinon akseptör bölgesinde göstermektedir [136,137]. Ayrıca fotosentetik protein kompleksleri üzerinde yapılan araştırmalar, nikelin *in vivo* ortamda özellikle fotosistem I (FSI)'i [128]; *in vitro* ortamda ise FSII'yi inaktif hale getirdiğini göstermiştir [100]. Ispanak bitkisinde yapılan bir çalışmada, nikel eksikliğinin FSII'nin yapısındaki oksijen evolüsyonundan sorumlu olan kompleksin yapısındaki iki tane proteinin (16 ve 24 kDa' lık ekstrinsik proteinler) bu komplekten ayrılmasına neden olduğu; 1 mM nikel uygulaması sonucu tekrar komplekse panetre olduğunu göstermiştir [18].

Burada belirtilen tüm anormallikler, nikel toksisitesinin bitkilerde fotosentez hızını azalttığını göstermektedir. Nikel hem elektron taşınım reaksiyonları hem klorofil pigmentleri hem de fotosentezin enzimatik bileşenleri üzerinde toksik etkilere sahiptir.

6.10. Nikel Toksisitesi ve Bitki-Su İlişkileri

Eğer transpirasyon olayı fotosentetik reaksiyonlar durmayacak şekilde elimine edilirse bitkilerde kuraklık hasarları ortaya çıkmaya başlar ve tarımsal bitkiler bu koşullar altında yarı kurak bölgelerde büyüyemezler. Ağır metallerin bitkilerde köklerden toprak üstü organlara suyun taşınımını bloke ettikleri ve böylece gövdelerde şiddetli su eksikliğine yol açtıkları bilinmektedir [138,139]. Geçiş metali olan ağır metallerin de bitkilerle ortam arasındaki su ilişkilerini değiştirdiği bilinmektedir [140, 141]. Bunun sonucunda bitkiler tarafından ortamdaki suyun alınımı, apoplastik ve simplastik olarak taşınımı ve stoma fonksiyonları gibi çok yönlü olumsuz etkiler gözlemlenebilir [142]. Ancak bitkilerdeki su rezervlerinin stabilitesi su alınımı ile transpirasyon arasındaki dengeye bağlıdır. Yapılan birçok çalışma nikel elementinin bitkilerde transpirasyon hızını yavaşlattığını ve su içeriğini azalttığını göstermiştir [143,144,109,131].

Bishnoi ve ark., (1993), kum kültüründe yetiştirilen 4 günlük *Triticum aestivum* bitkilerine 10 mM'lık nikel uygulaması sonucu yaprakların su potansiyelinin, stoma iletkenliğinin, transpirasyon hızının ve toplam su miktarının azaldığını göstermişlerdir [109]. Nikelin toksik konsantrasyonları bitkilerde transpirasyonun gerçekleştiği bölgeler olan yaprak laminalarının alanını azaltmaktadır [20]. Kum kültüründe yetiştirilen ve 1 mM nikel uygulanan *Cajanus cajan* ve agar ortamında yetiştirilip 5.20 g m⁻³ nikel uygulanan *Brassica oleraceae*

bitkilerinde yaprak alanının yaklaşık %40 oranında azaldığı belirlenmiştir [143,131]. Nikel stresi altındaki bitkilerde transpirasyon hızında gözlenen azalmanın nedeni stoma yoğunluğunun azalması olabilir. Ancak bu konuda elde edilen sonuçlar birbiriyle çelişkilidir. Yaprak yüzeyindeki stomaların sayısında, yaprak alanının ve epidermal hücrelerin boyutlarının azalması nedeniyle azalabilir [131] veya artabilir [144]. Ayrıca ağır metallere maruz kalan bitkilerde verilen ilk cevap, transpirasyon hızının azalmasına neden olan stoma kapanmasıdır [131,103]. Nikel uygulanan fasulye bitkilerinin yaprak dokularında ABA birikimi hızlanmış ve stomalar belirli oranda kapanmıştır [131]. Nikel stresi altındaki bitkilerde transpirasyon hızının azalması, stomaların kapanması ve artan ABA seviyesi gibi değişimlerin sonucunda su ilişkileri de değişebilir.

6.11. Nikel Toksikitesi ve Mineral Madde Beslenmesi

Nikelin K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn gibi diğer bazı elementlerle birlikte bitki büyümesi için gerekli olduğu bilinmektedir ve bu nedenle mikroelement olarak tanımlanmıştır [144]. Ancak toksik ağır metallere diğer esansiyel mikroelementlerin ortamdaki kullanılabilirliği ve alınabilirliği arasındaki etkileşimlerin araştırılması gerekmektedir. Nikelin bazı özellikleri Ca, mg, Mn, Fe, Zn ve Cu gibi elementlerin özelliklerine benzerlik göstermektedir. Bu nedenle nikel bu elementlerle absorpsiyon, alım ve bitki sistemlerindeki kullanım konusunda rekabete girebilir [140,145,20]. Bu rekabetin bir sonucu olarak ortamda bulunan yüksek konsantrasyondaki nikel, bu metallere absorpsiyonunu inhibe ederek bitki dokularındaki konsantrasyonlarını azaltabilir ve hatta eksiklik semptomlarına neden olabilir [110,145,124]. Sonuçta bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda düzensizlik ve toksik etkiler gözlenebilir [146,22,147]. Örneğin nikel ve diğer bazı ağır metallere (Cd, Cr, Co, Zn ve Pb), bitkilerde ya alım hızını azaltarak ya da taşınımını inhibe ederek bitkilerde Fe eksikliğine sebep olduğu bilinmektedir [148]. Sonuçta bu tip bitkilerde çimlenme süresinin uzaması, büyümenin inhibisyonu ve verimin azalması gibi durumlar görülür [20]. Nikelin bu tip inhibe edici etkileri, bitkilere uygun miktarda Mg veya Fe verilmesiyle ortadan kaldırılabılır [146,147]. Örneğin yüksek konsantrasyonlardaki nikel arpa bitkilerinin kök ve yapraklarında Ca, Fe, K, Mg, Mn, P ve Zn eksikliğine neden olmuştur [92]. Nohut ve maş fasulyesinde ise nikel toksisitesi kök ve yapraklardaki azot miktarının azalmasına yol açmıştır. Ancak nikelin Cd, Co, Pb, Zn ve Cu gibi diğer ağır metallere birlikte uygulanması toksik etkilerin şiddetini artırmaktadır [149]. Yapılan araştırmalar nikel uygulanan bitkilerde gövdelerdeki azot miktarında köklere göre daha fazla azalma olduğunu göstermiştir. *Helianthus annuus* ve *Hyptis suaveolens* bitkilerinde ise nikel uygulamaları P miktarında önemli derecede azalmaya yol açmıştır. Araştırmacıların bunun nedeni olarak asit fosfataz ve ATPaz enzimlerinin aktivitesinde meydana gelen artışları göstermiştir [150]. Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) gibi birçok metaloenzim, prostetik gruplarında Fe, Cu, Zn veya Mn içerirler. Yüksek konsantrasyonlardaki nikelin bitki dokularındaki Fe [95], Cu ve Zn [151] miktarını azalttığı belirlendiğine göre, nikelin bu metaloenzimlerin biyosentezini belli oranda inhibe ettiği düşünülebilir [22]. Bunun dışında ağır metaller membranlarda yapısal ve fonksiyonel değişimlere de neden olmaktadır [89]. Membranlarda meydana gelen bu değişimlerin de bitkilerde mineral maddelerin alımını ve taşınımını engellediği düşünülmektedir.

6.12. Nikel Toksikitesi ve Metabolitler

Soya bitkisinde yapılan bir çalışmada 200 mM'lık nikel uygulamasının köklerde serbest amino asit birikimini artırdığı; alanin aminotransferaz ve aspartat amino transferaz enzimlerinin aktivitesini ise azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca fitoşelatinlerin yapısına giren bir amino asit olan sistein birikimi (toplam amino asit havuzunun %17.5' i kadar) de hem kök hem de gövdede artış göstermiştir [93]. Nikel uygulaması sonucunda lahana [95], soya [152,153], bezelye [154], buğday [22] ve pirinç [118] bitkilerinde prolin birikiminin gerçekleştiği de ortaya çıkarılmıştır. Toksik seviyelerdeki nikel ayrıca mısır [114], soya [93], ayçiçeği ve *Mytilus snavelus* [150] bitkilerinde protein ve karbohidrat miktarını azaltmıştır. Baklagillerde ise nikel toksisitesinin *Rhizobium* bakterileri ile oluşan simbiyotik etkileşimi etkileyerek bitkilerde azot fiksasyon hızını ve azot miktarını azalttığı gözlenmiştir [149]. Ağır metallere bitkiler üzerindeki etkileri, bunların membran ve fotosentetik aygıt üzerindeki direkt etkilerinden ve/veya bazı sinyal mekanizmaları üzerindeki dolaylı etkilerinden de kaynaklanabilir [155]. Sekonder metabolitlerin ve patogenesisle ilgili proteinlerin (PR) sentez hızlarındaki artış, harcanan enerji miktarını artırarak bazı metabolitlerin miktarını ve sonuçta bitki verimliliğini sınırlayabilir [155].

6.13. Nikel Toksikitesi ve Plazma Membranı

Plazma membranı bitki hücrelerinin toksik metallere etkileşime giren ilk fonksiyonel bölgesidir ve bu metaller hem membran akışkanlığını hem de membrana bağlı olan ATPaz gibi enzimlerin yapısal konformasyonlarını ve aktivitesini değiştirebilirler [156,157]. Nikelin membrana bağlı ATPaz aktivitesini azaltarak [156,157], çözünür maddelerin membranlardan geçişini etkilediği belirlenmiştir [158,159]. Bu tip

modifikasyonların, metallerin direkt olarak sebep oldukları konformasyonel değişimlerin ve membranların lipid içeriğinin değiştirmesinin sonucu olduğuna inanılmaktadır [160,161]. Cd ve Ni uygulanan pirinç bitkilerinde, lipid içeriğinin değişmesi sonucu plazma membranının yapısında ve bütünlüğünde değişimlerin meydana geldiği belirlenmiştir [157]. Ağır metaller plazma membranı dışında tilakoid membran sisteminde de yapısal ve fonksiyonel değişimler meydana getirebilmektedir. Bu değişimlerin nedeni de membranların hem lipid içeriğinde meydana gelen değişimler hem de kloroplast membranlarındaki lipid peroksidasyonudur [162]. Benzer değişimler nikel uygulanan mısır bitkilerinde de gözlenmiştir [114]. Sonuç olarak nikel gibi ağır metallerin membranlarda neden olduğu fonksiyonel bozuklukların nedeni hem membran lipidlerinde meydana gelen değişimler hem de lipid peroksidasyonudur.

6.14. Nikel Toksikitesi ve Enzimler

Yapraklardaki nitrat redüktaz aktivitesinin (NR) Cd [163], Cu [164] ve Ni [107] gibi ağır metaller nedeniyle kontrole göre önemli derecede azaldığı bilinmektedir. *Brassica juncea*, buğday ve soya bitkilerine verilen 100 µM nikelin NR aktivitesini önemli derecede inhibe ettiği belirlenmiştir [107, 165,93]. NR aktivitesinde gözlenen bu azalmaların yapraklarda köklere göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Buna göre nikelin bitkilerde köklerle azot alımını mekanizmasını olumsuz etkilediği söylenebilir. Nitratların bitki hücrelerine alınımı ve taşınımı, plazma membranının polarizasyonu için gerekli olan metabolik enerjiye bağlıdır. Bu olaydaki temel rolü ise H⁺-ATPaz proton pompası oynamaktadır [166,167]. Bu nedenle nikelin H⁺-ATPaz pompası üzerindeki olumsuz etkisi nedeniyle nitrat alınımını inhibe ettiği söylenebilir. Nikel bunun yanı sıra H⁺/NO³ simport mekanizmasını da etkileyebilir. Ayrıca nitrat alımını mekanizmasında rol oynayan proteinlerin yapısında bulunan sülfidril grupları nikel gibi ağır metallerle oldukça duyarlıdır [128,168]. Nikel stresi altındaki bitkilerde NR aktivitesinde görülen inhibisyonun NADH oluşumundaki azalmadan kaynaklanması da mümkündür. Çünkü nikelin kloroplastların organizasyonunu bozduğu, fotosentez ve solunum hızını azalttığı, NADH oksidasyonunu yavaşlattığı ve nitratın ilgili enzimlerin bulunduğu bölgeye taşınım hızını azalttığı bilinmektedir. Bunun dışında nikel bitkilerde su eksikliğine yol açarak ve protein sentezini olumsuz yönde etkileyerek de toksisiteye yol açabilir [169,128,170,171].

6.15. Nikel Toksikitesi ve Azot Metabolizması

Atmosferde yeterli miktarda (yaklaşık %79) azot bulunmasına rağmen, azot bitkiler için büyümesi kısıtlayıcı bir faktördür. Çünkü bitkilerde atmosferdeki azotun fikse edilmesini sağlayan enzimleri kodlayan genler bulunmaz. Bu nedenle bitkiler azot bakımından toprakta ve atmosferde gerçekleşen ve azot fiksasyonunu sağlayan bazı aktivitelere bağımlıdır. Toprakta yaşayan ve azot fikse eden bakteriler ya serbest olarak ya da bitki kökleriyle simbiyotik yaşam birliği oluşturmuş şekilde yaşayabilir. Örneğin köklerle yaşam birliğini oluşturan *Rhizobium* genusuna ait bakteriler, kök nodüllerinin oluşumunu indüklerler ve dinitrojenaz enziminin uygun şekilde aktivite gösterebilmesi için gerekli düşük oksijen konsantrasyonuna sahip ortamı leghemoglobin yardımıyla oluşturur. Bu etkileşimde bitki köklerindeki bakterilere yaşamsal faaliyetler için gerekli enerjisi sağlarken, bakteriler de büyüme ve gelişme için gerekli olan azotu bitkiye sağlarlar. Azot fiksasyonunun ürünü olan amonyak, nodüllerden dışarıya taşınmadan önce, GS/GOGAT enzim kompleksinin aktivitesi ile amino asitlerin yapısına girer. PII proteinleri hücrelerdeki karbon/azot dengesini algılayarak GS/GOGAT aktivitesini regüle ederler. Azot fikse eden bakterilerle ortak yaşam birliği oluşturamayan bitkiler gereksinim duydukları azotu topraktan nitrat formunda alırlar. Nitratın da bitki hücrelerinde organik moleküllerin yapısına girmeden önce amonyağa indirilmesi gereklidir.

Gajewska ve ark. (2009), 100 µM'lık nikel uygulamasının buğday fidelerinde aktivasyon durumunu değiştirmeden NR aktivitesini azalttığını rapor etmişlerdir [21]. Aynı çalışmada NiR aktivitesindeki azalmanın NR'ye göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca GS ve NADH-GOGAT aktivitelerinin nikel stres sonucu azaldığı, NADH-GOGAT enziminin nikel toksisitesine daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada da nikel uygulaması yapılan buğday gövdelerinde azot metabolizmasının değiştiği, prolin ve amonyak birikiminin gerçekleştiği ortaya çıkarılmıştır. NADH-GOGAT ve NADH-GDH aktiviteleri ile glutamat oluşturan amino transferaz aktivitesi, glutamat sentezi için alternatif bir mekanizma sağlayarak azalan Fd-GOGAT aktivitesini tamponlayabilir.

6.16. Nikel Toksikitesi ve Plazma Membranı H⁺-ATPaz Sistemi

Bitkilerde metal stresinden etkilenen membrana bağlı enzimlerden birisi de H⁺-ATPaz'dır. Bu enzim plazma membranında lokalize olan ve bitki hücrelerinde iyon homeostatisinde önemli rol oynayan tek proton pompasıdır.

Yapılan bazı çalışmalar Cu ve Cd' nin farklı bitki türlerinin köklerindeki H⁺-ATPaz' ın hidrolitik aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir [172,173,174]. 100 µM Cd, Cu ve Ni uygulanan salatalık fidelerinde de plazma membranına bağlı H⁺-ATPaz' ın hidrolitik ve transport aktivitesini değiştirdiği gözlenmiştir [175]. Bu çalışmada Cd' nin izole edilmiş kök hücrelerinin plazma membranlarında ATP hidroliz oranının %60, Cu' nun %45 ve Ni' nin %20 oranında inhibe olduğu belirlenmiştir. Ağır metal stresi altındaki bitkilerin kök hücrelerindeki plazma membranına bağlı proton pompalarının inhibisyonu, transkripsiyonel ve translasyonel seviyedeki değişimlerden de kaynaklanabilir.

Yapılan çalışmalar, proton pompalarının aktivitesinin genetik regülasyon dışında, protein seviyesindeki post-translasyonel olarak da regüle edilebileceğini ve bu konuda özellikle geri dönüşümlü fosforilasyon mekanizmasının etkili olduğu belirlenmiştir [176,177]. Plazma membranına bağlı H⁺-ATPaz' ın regülasyonunda, enzimin karboksil ucundaki bir bölgenin otoinhibitör mekanizmasında da önemlidir [178,179,180].

6.17. Nikel Toksikitesi, Oksidatif Stres ve Antioksidant Sistem

Nikel bitkiler için sadece yüksek konsantrasyonlarda toksik etkiye sahiptir. Nikelin bitkilerde aktif oksijen türleri (AOT) ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Süperoksid radikali (O₂⁻), H₂O₂ ve singlet oksijen (¹O₂) gibi AOT' ler bitki dokularında metabolik olaylar sırasında ara ürün olarak sürekli üretilir [181]. Solunumsal elektron taşınım reaksiyonları sırasında elektronlar asıl hedef molekül yerine O₂' ye verilir ve böylece O₂' nin süperoksid radikaline dönüşmesini sağlayan monovalent indirgenme reaksiyonları başlar. Elektronların O₂' ye verilmesine en çok sebep olan yapı NADH-koenzim redüktaz kompleksi I' dir [182]. Ancak fotosentetik elektron taşınım reaksiyonları sırasında triplet klorofil süperoksid radikali oluşumunu kolaylaştırır [183]. Oluşum şekli ne olursa olsun AOT' ler O₂' den daha reaktiftir ve canlı sistemler için toksiktir. Bu AOT' ler DNA molekülünde hasarlara, protein ve lipidlerin oksidasyonuna ve klorofil pigmentlerinde parçalanmaya yol açabilir [89].

Nikelin de içinde bulunduğu geçiş metalleri, Fenton/Haber-Weiss reaksiyonu vasıtasıyla hidroksil radikali oluşturma yeteneğine sahiptir [184]. Ancak nikel nispeten yüksek oksidasyon/redüksiyon potansiyeline sahip olması nedeniyle bu reaksiyonu etkili bir şekilde katalizleyemez [185]. Ayrıca böyle bir reaksiyonun nikel tarafından direkt olarak katalizlendiğine dair herhangi bir kanıt yoktur. Ancak H₂O₂' nin nikel bağımlı olarak indirgenmesi sonucu hidroksil radikalinin oluştuğu kanıtlanmıştır. AOT' ler aynı zamanda NADPH oksidaz grubu enzimlerin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda da oluşabilir (Sagi ve Fluhr, 2006). Bu enzimler elektronları sitoplazmik NADPH' dan O₂' ye transfer ederek süperoksid radikalinin oluşumuna neden olurlar. Buğday köklerinin NADPH oksidazları inhibe eden bileşiklerle muamele edilmesinden sonra nikelin indüklediği süperoksid radikalinin oluşum hızı azalmıştır. Hao ve ark. (2006), NADPH oksidaz enziminin aracılığıyla gerçekleşen nikelin indüklediği süperoksid radikali oluşumuna Ca iyonlarının etkisini ortaya çıkarmıştır [186]. Ancak Torreilles ve Guerin (1990), nikelin glisilglisil-L-histidin sırası içeren peptidlerle şelatlanması durumunda, hidroksil radikali oluşumuna neden olarak lipid peroksidasyonuna yol açtığını belirlemişlerdir [187]. Bitki dokularında şelatlanmış nikel ile katalizlenen Haber-Weiss reaksiyonu vasıtasıyla hidroksil radikali oluşumu mümkün olabilir. Bitkilerde AOT' lerin toksik etkilerine karşı koruma sağlayan enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden oluşan bir antioksidant sistem evrimleşmiştir. Bu sistem hem AOT' leri detoksifiye ederek hem de kontrolsüz bir şekilde meydana gelecek oksidasyon reaksiyonlarını engelleyerek koruma sağlar [188,189]. Bitkilerdeki AOT' lerin detoksifikasyonundan sorumlu olan bu mekanizmanın enzimatik bileşenlerinden bir tanesi, süperoksid radikalinin H₂O₂' ye dismutasyonunu sağlayan süperoksid dismutaz (SOD) enzimidir. Oluşan H₂O₂, askorbat peroksidaz (APOD) ve apoplastlardaki GPX enzimi ile; peroksisomlarda ise katalaz enzimi ile detoksifiye edilir [188,190,191]. GPX sitosolde, katalaz peroksisomlarda lokalize olmasına rağmen, SOD ve APOD' un kloroplast, mitokondri, peroksisomlar, sitosol ve apoplastlarda bulunan birçok izoformu belirlenmiştir [192]. H₂O₂' nin APOD ile detoksifiye edilmesi sırasında askorbatın monodehidroaskorbata oksidasyonu gerçekleşir. Askorbatın rejenerasyonu da monodehidroaskorbata NADPH' dan bir elektron verilmesiyle sağlanır. Bunun dışında monodehidroaskorbat dehidroaskorbata kendiliğinden de dismute olabilir. Askorbat rejenerasyonu dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) enzimi ile sağlanır ve bu sırada GSH' nin GSSG' ye oksidasyonu söz konusudur. GR ise elektron vericisi olarak NADPH molekülünü kullanarak, GSSG' den GSH' yi tekrar oluşturur [192].

Nikel gibi ağır metallerin bitkilerde antioksidant sistemi indüklediği belirlenmiştir. Mısır ve bezelyeye nikel uygulamaları sonucunda iki bitki türünde de antioksidant sistemin aktivitesinin arttığı görülmüştür [114,18]. Metal uygulamaları başlangıçta glutatyon miktarının aşırı derecede azalmasına neden olur [18]. Ancak 200 ppm' lik nikel

uygulanması ayçiçeği ve *Hyptis*' de katalaz aktivitesini baskılamıştır. Katalaz aktivitesinin ayçiçeğinde kontrole göre 1/5 oranında azaldığı, peroksidaz ve polifenol oksidaz aktivitelerinin ise sırasıyla 2 ve 8 kat arttığı belirlenmiştir [150]. Hardal ve ayçiçeği yapraklarında da katalaz aktivitesinin azaldığı ve peroksidaz aktivitesinin arttığı gözlenmiştir [193,194]. *Crotalaria juncea*' da ise nikel stresi katalaz aktivitesinde belirgin şekilde değişmemiş, kök ve gövdedeki GR aktivitesi artmıştır [195]. Bu konuda yapılan çalışmaların çoğunda, metal stresine maruz kalan bitki dokularındaki GR aktivitesinin metal konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak arttığını göstermiştir [188]. Gajewska ve ark. (2006), 200 µM nikel maruz bırakılan buğday yapraklarındaki katalaz ve SOD aktivitesinin inhibe olduğunu belirlemiştir [22]. Bu iki enzimin aktivitesindeki değişimlere benzer sonuçlar, nikel stresi altındaki *Alyssum bertolonii* ve *Nicotiana tabacum*' da elde edilmiştir [99]. Ancak Baccouch ve ark. (2001), nikel uygulamalarının mısırdaki SOD aktivitesini artırdığını rapor etmiştir [114]. Peroksidaz ve glutatyon transferaz aktiviteleri ise nikel stresi altındaki buğdayda önemli derecede artmıştır [22]. Nikel uygulamaları sonucunda buğday, biber ve arpada da peroksidaz aktivitesi stimüle olmuştur [196,197,198]. Benzer şekilde Alam ve ark. (2007) ve Sharma ve ark. (2008), nikel uygulanan *Brassica juncea*' da katalaz, peroksidaz ve SOD aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir [107,98].

6.18. Nikel Toksisitesi ve Tarımsal Verim Bileşenleri

Yüksek nikel konsantrasyonlarının fasulye [124], domates [120], salatalık [199,200] ve ayçiçeği [201] gibi tarımsal bitkilerde verimi azalttığı bilinmektedir. Nikelin kültür bitkilerinde verimi azaltmasının nedenleri arasında, nikelin diğer elementlerin köklerle alım hızını azaltması [202,203], bitki metabolizmasını bozması [95] ile fotosentez ve transpirasyon hızının azalması sayılabilir [108,204]. Matraszek ve ark. (2002) ıspanak, marul ve fasulye gibi bitkilerde düşük nikel konsantrasyonlarının (10 mg L⁻¹) bile verimi önemli derecede azalttığını bildirmiştir [205]. Singh ve Nayyar (2001) 50 ppm' lik nikel uygulamasının börülce bitkisinde kuru madde birikimini azalttığı, börülcenin diğer bitki türlerine göre nikel toksisitesini daha iyi tolere edebildiğini belirlemiştir [206]. Ancak bazı çalışmalar da 500 ppm' lik nikelin pırasada verimi artırdığı gözlenmiştir [207]. Nikel toksisitesi birçok bitkide gövdenin taze ağırlığını ve boyunu, yaprakların taze ağırlığını azaltır. Birçok bitki türünde nikel toksisitesinin çiçek ve meyve sayısını azalttığı rapor edilmiştir [120,208]. 50, 100, 150 ve 200 ppm nikel uygulanan *Vigna mungo*' nun dört genotipinde kök ve gövde boyları, kuru madde birikimi, kök nodüllerinin sayısı ve yaprak alanında azama belirlenmiştir [209]. Yapılan bir çalışmada da 0-1000 ppm seviyesinde nikel uygulanan buğday bitkisinde kök boyu, bitki ağırlığı, yaprak alanı ve tohum miktarının azaldığı gözlenmiştir. Bu çalışmada 100 ppm nikel uygulanan bitkilerde maksimum spika boyuna ulaşılırken, 25 ppm' lik nikel tohum ağırlığının artmasına neden olmuştur [210,211]. Sonuç olarak verim kavramı bitkilerin farklı gelişme evrelerinde meydana gelen birçok metabolik olay arasındaki etkileşime bağlıdır. Nikelin de bu metabolik olaylar üzerinde önemli bir etkisi vardır.

6.19. Nikel Toksisitesi ve Anatmik Değişimler

Ağır metaller büyüme üzerindeki etkileri dışında belirli bitkisel yapılarda daha lokal etkilere de sahiptir. Örneğin 1 mM nikel uygulanan buğday yapraklarında mezofil hücrelerinin kalınlığı, vasküler demetlerin boyutu, ana ve lateral vasküler demetlerdeki damarların boyutları ve epidermal hücrelerin genişliğinde azalmalar meydana gelmiştir [212]. Benzer şekilde 10-20 g m⁻³ nikel uygulanan *Brassica oleraceae* yapraklarındaki hücreler arası boşlukların hacmi, palizat ve sünger parankimasi hücrelerinin boyutlarında azalma gözlenmiştir [131]. Kravkina (2000) nikel uygulanan *Dianthus repens* bitkilerinin yapraklarındaki mezofil ve demet kını hücrelerinde büyük inklüzyonlar oluştuğunu belirtmiştir [213]. Bunların sebebinin nikelin proteinlerle oluşturduğu kompleksler olduğu sanılmaktadır. Molas (1997) nikel uygulanan lahanaya yapraklarında birim alan başına stoma sayısının ve açık durumdaki stoma sayısının azaldığını belirtmiştir. Bunun yanında nikel yaprağın alt ve üst yüzeyindeki stomalarda deformasyona neden olmuştur. Nikel uygulamaları üzerinde çalışma yapılan tüm bitki türlerinde palizat ve sünger parankimasi hücrelerinin hacimlerini azaltmış ancak bu hücrelerin sayısını artırmıştır. Düşük nikel konsantrasyonları (5 ppm) mezofil dokusundaki hücreler arası boşlukları artırırken; yüksek nikel konsantrasyonlarında (10-20 ppm) azalmıştır. 5 ppm' lik nikel uygulamaları mezofil dokusundaki kloroplast sayısının kontrole göre artmasına neden olmuştur. Nikel uygulamaları ayrıca lahanaya yapraklarındaki grana boyutlarını azaltmış, lamel sayısını artırmıştır [131]. Bu anatomik modifikasyonların yapraklardaki klorofil miktarındaki azalmayla aynı anda meydana gelmesi, ışık toplayıcı komplekslerin fonksiyonunun da inhibe edildiğini göstermektedir.

Ultrafamik toparklarda yetiştirilen ve nikel uygulanan *Thlaspi japonicum* bitkilerinde alt epidermis hücrelerindeki nikel miktarı ve stoma sayısı maksimumdur. Yaprak kenarları ve üst epidermisteki nikel miktarı ve stoma sayısı daha düşüktür. Bu çalışmada en düşük nikel konsantrasyonuna mezofil hücrelerinde rastlanmıştır.

Yapılan mikroskobik incelemeler ve dimetilglioksim boyamaları sonucunda, nikel içeren bileşiklerin çomak şeklinde kristaller oluşturduğu ve bunların en çok stomaların etrafında ve yaprak kenarlarında lokalize olduğu belirlenmiştir. Önemli miktarda nikelin de gutasyon sıvısıyla dışarı atıldığı ortaya çıkarılmıştır [208].

Ağır metallerin bazı bitki türlerinde gövde dokularının organizasyonunu değiştirdiği de gösterilmiştir. Buğday ve bezelye bitkilerinde nikel özellikle epidermal hücrelerde disorganizasyona, kökteki korteks hücrelerinde şekil bozukluklarına ve parçalanmalara neden olmuştur [214,215]. Nikel aynı zamanda bitkilerde gövde çapını, depo organlarındaki hücrelerin boyutlarını ve vasküler demetlerin sayısını azaltabilir. Nikel uygulanan bitkilerin gövdelerindeki epidermis ve hipodermis hücrelerinin çeper kalınlığı, kök ve gövde çapları da azalmıştır [214]. Yüksek nikel konsantrasyonu uygulanan bitkilerde ayrıca yapraklardaki orta damarların genişliği ve kalınlığı ile kök, gövde ve yapraklardaki ksilem borularının çapları da değişmiştir. Nikel uygulanan buğdayda ise gövdedeki parankimatik hücrelerin alanları ve köklerdeki öz ve korteks hücrelerinin alanı azalmıştır. Nikel gövdedeki vasküler demetlerin boyutlarını da etkilemiş, köklerdeki ksilem borularının sayısını azaltmıştır. Kök, gövde ve yapraklarda meydana gelen bu tip değişimler nikelin hücre uzaması üzerindeki direkt etkisinden kaynaklanabilir [212].

Sonuç

Nikel düşük konsantrasyonlarda bir mikroelement olarak fonksiyon yapar ve birçok tarımsal bitkide büyüme ve gelişmeyi olumlu yönde etkiler. Nikel bitkilerde birçok önemli role sahiptir. Örneğin birçok metaloenzim yapısında bulunur. Bu enzimler arasında üreazlar, süperoksit dismutazlar (SOD), NiFe hidrogenazlar, metil koenzim M redüktaz, karbon monoksit dehidrogenaz, asetil koenzim A sentaz, hidrogenazlar ve RNAaz sayılabilir. Sonuç olarak nikel eksikliği altındaki bitkilerde üreaz aktivitesinin azalması sonucunda azot metabolizması olumsuz yönde etkilenirken, SOD aktivitesinin azalması sonucunda ise süperoksit radikalının detoksifikasyon etkinliği azalır. Nikel ayrıca bitkilerde fitoaleksin sentezinde ve dolayısıyla stres savunmasında önemli bir role sahiptir. Nikel bakteri ve mantarlarda hidrojen metabolizması, metanobiyogenesis ve asetogenesis gibi önemli metabolik reaksiyonlarda etkilidir. Bu nedenle nikel eksikliği bitkilerde senesens, azot metabolizması ve demir alımını gibi olaylarda aksaklıklara yol açar. Nikeli eksikliğine maruz kalan bitkilerde yeni oluşan yapraklarda klorosis ve meristematik aktivitede yavaşlama gözlenir.

Birçok toprakta nikel eksikliği görülmez. Ancak topraktaki nikel birikimi sonucunda bitkiler nikel toksisitesine daha sık maruz kalır. Yüksek konsantrasyonlarda nikel bitkilerde kök ve gövdenin hem büyüme hızında hem de dallanma oranında azalmaya yol açar. Bunun dışında yaprak morfolojisinde anormalliklere, biyokütle birikiminde azalmaya, köklerdeki mitotik aktivitede azalmaya, tohum çimlenmesinin inhibisyonuna, demir eksikliğine ve yapraklarda klorosis ve nekrosise neden olur. Nikel toksisitesinin diğer semptomları arasında mineral madde alınımında bozulmalar, fotosentetik aktivitenin azalması ve transpirasyonun inhibisyonu sayılabilir. Nikel metaloenzimlerin aktif bölgesindeki kobalt ve diğer bazı metallerle yer değiştirerek bu enzimlerin aktivitelerini olumsuz yönde etkileyebilir. Nikel toksisitesinin bu etkileri sonucunda tarımsal verim de azalır. Ancak nikel toksisitesinin membran geçirgenliği, su ilişkileri ile ilgili parametreler, bitkisel hormonlar ve ozmolitler üzerindeki etkileri ile ilgili verilen son derece sınırlıdır. Nikel toksisitesinin farklı bitki organlarındaki hücresel yapılarda neden olduğu anatomik değişimler hakkında birçok araştırma yapılmış olmasına rağmen, bu tip değişimlerin bitkilerde nikel toleransı ile ilişkileri hakkında da bilgi yoktur. Bu konularda yapılacak araştırmalar bitkilerde nikel toleransının daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2012-02-04-014).

Kaynaklar

- [1]. Sunderman FW, Oskarsson A. Metals and their compounds in the environment. Weinheim, Germany: VCH Verlag, 1991.
- [2]. McGrath SP. Heavy metals in soils. London, England: Blackie Academic and Professional, 1995.
- [3]. Alloway BJ. Heavy metals in soils. London, England: Blackie Academic and Professional, 1995.
- [4]. Salt DE, Kato N, Kramer U, Smith RD, Raskin I. The role of root exudates in nickel hyperaccumulation and tolerance in accumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. London, England: CRC Press, 2000.
- [5]. Easton DF. Nickel and human health: current perspectives. New York, USA: Wiley, 1992.

- [6]. Astros M, Bjorklund A. Hydrogeochemistry of a stream draining sulfide bearing postglacial sediments in Finland. *Water Air Soil Pollut* 1996; 89:233-246.
- [7]. Zwolsman JJG, Van Bokhoven AJ. Impact of summer droughts on water quality of the Rhine River-a preview of climate change. *Water Sci Technol* 2007; 56: 45-55.
- [8]. Kozłow MV. Pollution resistance of mountain birch, *Betula pubescens* subsp. *czerepanovii*, near the copper-nickel smelter: natural selection or phenotypic acclimation? *Chemosphere* 2005; 59: 189-197.
- [9]. Bollard EG. Encyclopedia of plant physiology. Berlin, Germany: Springer, 1983.
- [10]. Asher CJ. Micronutrients in agriculture. Madison, USA: Willey, 1991.
- [11]. Kupper H, Lombi E, Zhao FJ, Wieshammer G, McGrath SP. Cellular compartmentation of nickel in the hyperaccumulators *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*. *J Exp Bot* 2001; 52: 2291-3000.
- [12]. Pollard AJ, Powel KD, Harper HA, Smith JAC. The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants. *Crit Rev Plant Sci* 2002; 21: 539-566.
- [13]. Krupa Z, Siedlecka A, Maksymiec W, Baszynski T. *In vitro* responses of photosynthetic apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to nickel toxicity. *Plant Physiol* 1993; 142: 664-668.
- [14]. Xylander M, Braune W. Influence of nickel on the green alga *Haematococcus lacustris* Rostafinski in phases of its life cycle. *J Plant Physiol* 1994; 144: 86-93.
- [15]. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Edition, New York, USA: Academic Pres, 1995.
- [16]. Kabata-Pendias A, Pendias H. Trace elements in soils and plants, 3rd edition, Boca Raton: CRC Press Inc, 2001.
- [17]. Assuncao AGL, Schat H, Aarts MGM. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytol* 2003; 159: 351-360.
- [18]. Rao KVM, Sresty TV. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) Millspaugh in response to Zn and Ni stress. *Plant Sci* 2000; 157: 113-128.
- [19]. Molas J. Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni II complexes. *Environ Exp Bot* 2002; 47: 115-126.
- [20]. Chen C, Huang D, Liu J. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. *Clean* 2009; 37: 304-313.
- [21]. Gajewska E, Wielanek M, Bergier K, Skłodowska M. Nickel induced depression of nitrogen assimilation in wheat roots. *Acta Physiol Plant* 2009; 31: 1291-1300.
- [22]. Gajewska E, Skłodowska M, Slaba M, Mazur J. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll content in wheat shoots. *Biol Plant* 2006; 50: 653-659.
- [23]. Israili AW. Occurrence of heavy metals in Ganga river and sediments. *Indian J Environ Health* 1992; 34: 63-66.
- [24]. Orlov DS, Sadovnikova LK, Lozanovskaya IN. Ecology and protection of biosphere under chemical pollution. *Vysshaya Shkola, Moscow*, 2002.
- [25]. Sharma PD. Environmental Biology and Toxicology. Rastogi Publications, 2005.
- [26]. van der Hoek W, Hassan MUL, Ensink JHJ, Feenstra S, Raschid-Sally L, Munir S, Aslam R, Ali N, Hussain R, Matsuno Y. Urban Wastewater: A Valuable Resource for Agriculture A Case Study from Haroonabad, Pakistan. IWMI Research Report no. 63, International Water Management Institute, Colombo, Sri Lanka, 2002.
- [27]. Sigel H, Sigel A. Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry. CRC Press, 1994.
- [28]. Dennis JK, Such TE. Nickel and Chromium Plating, 3rd edition, Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd., 1993.
- [29]. Cempel M, Nikel G. Nickel: A review of its sources and environmental toxicology. *Polish J Environ Stud* 2006; 15: 375-382.
- [30]. Hilgenkamp K. Environmental Health: Ecological Perspectives. Jones and Bartlett Publishers, 2005.
- [31]. Nriagu JO. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature* 1989; 338: 47-49.
- [32]. Galloway JN, Thornton JD, Norton SA, Volchok HL, McClean HL. Trace metals in atmospheric deposition: A review and assessment. *Atmo Environ* 1982; 16: 1677-1700.
- [33]. Long ER, MacDonald DD, Smith SL, Calder FD. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ Manag* 1995; 19: 81-97.
- [34]. Smith SL, MacDonald DD, Keenleyside KA, Ingersoll CG, Field LJ. A preliminary evaluation of sediment quality assessment values for freshwater ecosystems. *J Great Lakes Res* 1996; 22: 624-638.
- [35]. Zhang M, Zhou C, Huang C. Relationship between extractable metals in acid soils and metals taken up by tea plants. *Comm Soil Sci Plant Anal* 2006; 37: 347-361.
- [36]. Sullivan JB, Krieger GR. Clinical Environmental Health and Toxic Exposures. Lippincott Williams and Wilkins Publishers, 2001.
- [37]. Eskew DL, Welch RM, Cary EE. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants. *Science* 1983; 222: 691-693.
- [38]. Andreeva IV, Govorina VV, Vinogradova SB, Yagodin BA. Nickel in plants. *Agrokhimiya* 2001; 3: 82-94.
- [39]. Brown PH, Welch RM, Cary EE. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiol* 1987; 85: 801-803.
- [40]. Brown H., Welch RM, Cary E., Checkai RT., Beneficial effects of nickel on plant growth. *J Plant Nutr* 1987; 10: 2125-2135.

- [41]. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants, 3rd edition, London, UK: Academic Press, 2002.
- [42]. Dixon NE, Hinds JA, Fihelly AK, Gozala C, Winzor DJ, Blakeley RL, Zerner B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). IV. The molecular size and mechanism of inhibition by hydroxamic acids. Spectrophotometric fixation of enzymes with reversible inhibitors. *Can J Biochem* 1980; 58: 1323-1334.
- [43]. Polacco J, Freyermuth S, Gerendas J, Cianzio S. Soyabean genes involved in nickel insertion into urease. *J Exp Bot* 1999; 50: 1149-1156.
- [44]. Sirko A, Brodzik R. Plant ureases: roles and regulation. *Acta Biochim Polon* 2000; 47: 1189-1195.
- [45]. Welch RM. The biological significance of nickel. *J Plant Nutr* 1981; 3: 345-356.
- [46]. Walker CD, Graham RD, Madison JT, Cary EE, Welch RM. Effects of Ni deficiency on some nitrogen metabolites in cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Plant Physiol* 1985; 79: 474-479.
- [47]. Gerendas J, Sattelmacher B. Significance of N source (Urea vs. NH_4NO_3) and Ni supply for growth, urease activity and nitrogen metabolism of zucchini (*Cucurbita pepo* var. Giromontiina). *Plant Soil* 1997; 196: 217-222.
- [48]. Gerendas J, Sattelmacher B. Significance of Ni supply for growth, urease activity and the concentrations of urea, amino acids and mineral nutrients of urea grown plants. *Plant Soil* 1997; 190: 153-162.
- [49]. Dalton DA, Evans HJ, Hanus FJ. Stimulation by nickel of soil microbial urease activity and urease and hydrogenase activities in soybeans grown in a low-nickel soil. *Plant Soil* 1985; 88: 245-258.
- [50]. Ali B, Hayat S, Fariduddin Q, Ahmad A. Nickel: essentiality, toxicity and tolerance in plants. In: Ali B, Hayat S, Ahmad A (eds) Nickel in relation to plants. New Delhi, India: Narosa Publishing House, 2009.
- [51]. Krogmeier MJ, McCarty GW, Bremner JM. Phytotoxicity of foliar-applied urea. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8189-8191.
- [52]. Eskew DL, Welch RM, Norvell WA. Nickel in higher plants: further evidence for an essential role. *Plant Physiol* 1984; 76: 691-693.
- [53]. Bai C, Reilly CC, Wood BW. Nickel deficiency disrupts metabolism of ureids, amino acids and organic acids of young pecan foliage. *Plant Physiol* 2006; 140: 433-443.
- [54]. Gerendas J, Sattelmacher B. Influence of Ni supply on growth and nitrogen metabolism of *Brassica napus* L. grown with NH_4NO_3 or urea as N source. *Ann Bot* 1999; 83: 65-71.
- [55]. Seregin IV, Kozhevnikova AD. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russ J Plant Physiol* 2006; 53: 257-277.
- [56]. Vogel-Mikus K, Drobne D, Regvar M. 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* 2005; 133: 233-242.
- [57]. Wolfram L, Friedrich B, Eitinger T. The *Alcaligenes eutrophus* protein HoxN mediates nickel transport in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1995; 177: 1840-1843.
- [58]. Eitinger T, Mandrand-Berthelot MA. Nickel transport systems in microorganisms. *Arch Microbiol* 2000; 173: 1-9.
- [59]. Costa M, Zhuang Z, Cosentino S, Klein CB, Salnikow K. Molecular mechanisms of nickel carcinogenesis. *Sci Total Environ* 1994; 148: 191-199.
- [60]. Cataldo DA, Garland TR, Wildung RE. Nickel in plants: I. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. *Plant Physiol* 1978; 62: 563-565.
- [61]. McIlveen WD, Negusanti JJ. Nickel in the terrestrial environment. *Sci Total Environ* 1994; 148: 109-138.
- [62]. Antoniadis V, Robinson JS, Alloway BJ. Effects of short-term pH fluctuations on cadmium, nickel, lead, and zinc availability to ryegrass in a sewage sludge-amended field. *Chemosphere* 2008; 71: 759-764.
- [63]. Kochian LV. Mechanisms of micronutrient uptake and translocation in plants. Madison, USA: Willey, 1991.
- [64]. Burke DJ, Weis JS, Weis P. Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. *Estuar Coast Shelf Sci* 2000; 51: 153-159.
- [65]. Jean L, Bordes F, Gautier-Moussard C, Vernay P, Hitmi A, Bollinger JC. Effect of citric acid and EDTA on chromium and nickel uptake and translocation by *Datura innoxia*. *Environ Pollut* 2008; 153: 555-563.
- [66]. Smith SR. Effect of soil pH on availability to crops of metals in sewage sludge-treated soils: Nickel, copper, and zinc uptake and toxicity to ryegrass. *Environ Poll* 1994; 85: 321-327.
- [67]. Weng LP, Wolthoorn A, Lexmond TM, Temminghoff EJM, van Riemsdijk WH. Understanding the effects of soil characteristics on phytotoxicity and bioavailability of nickel using speciation models. *Environ Sci Technol* 2004; 38: 156-162.
- [68]. Rautaray SK, Ghosh BC, Mitra BN. Effect of fly ash, organic wastes and chemical fertilizers on yield, nutrient uptake, heavy metal content and residual fertility in a rice-mustard cropping sequence under acid lateritic soils. *Bioresour Technol* 2003; 90(3): 275-283.
- [69]. Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL, Gomez E, Tiemann KJ, Parsons JG, Carrillo G. Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pHs upon alfalfa growth and heavy metal uptake. *Environ Pollut* 2002; 119: 291-301.
- [70]. Neumann PM, Chamel A. Comparative phloem mobility of nickel in nonsenescent plants. *Plant Physiol* 1986; 81: 689-691.

- [71]. Zhao F, McGrath SP, Dunham SJ. Factors affecting the solubility of zinc, cadmium, copper and nickel in sewage sludge amended soils. In: Proceedings of Fifth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Metals, Vienna, 1999.
- [72]. Gray CW, McLaren RG. Soil factors affecting heavy metal solubility in some New Zealand soils. *Water Air Soil Poll* 2006; 175: 3-14.
- [73]. Welch RM. Micronutrient nutrition of plants. *Crit Rev Plant Sci* 1995; 14: 49-82.
- [74]. Fismes J, Echevarria G, Leclerc-Cessac E, Morel JL. Uptake and transport of radioactive nickel and cadmium into three vegetables after wet aerial contamination. *J Environ Qual* 2005; 34: 1497-1507.
- [75]. Page V, Weisskopf L, Feller U. Heavy metals in white Lupin: Uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant. *New Phytol* 2006; 171: 329-341.
- [76]. Vacchina V, Mari S, Czernic P, Marques L, Pianelli K, Schaumlöffel D, Lebrun M, Lobinski R. 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* 2003; 75: 2740-2745.
- [77]. Kim S, Takahashi M, Higuchi K, Tsunoda K, Nakanishi H, Yoshimura E, Mori S, Nishizawa NK. Increased nicotianamine biosynthesis confers enhanced tolerance of high levels of metals, in particular nickel, to plants. *Plant Cell Physiol* 2005; 46: 1809-1818.
- [78]. Pianelli K, Mari S, Marques L, Lebrun M, Czernic P. Nicotianamine over-accumulation confers resistance to nickel in *Arabidopsis thaliana*. *Transgen Res* 2005; 14: 739-748.
- [79]. Haydon MJ, Cobbett CS. Transporters of ligands for essential metal ions in plants. *New Phytol* 2007; 174: 499-506.
- [80]. Hausinger RP. Metallocenter assembly in nickel-containing enzymes. *J Biol Inorg Chem* 1997; 2: 279-286.
- [81]. Colpas GJ, Hausinger RP. *In vivo* and *in vitro* kinetics of metal transfer by the *Klebsiella aerogenes* urease nickel metallochaperone, UreE. *J Biol Chem* 2000; 275: 10731-10737.
- [82]. Page V, Feller U. Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants. *Ann Bot* 2005; 96: 425-434.
- [83]. Riesen O, Feller U. Redistribution of nickel, cobalt, manganese, zinc and cadmium via the phloem in young and in maturing wheat. *J Plant Nutr* 2005; 28: 421-430.
- [84]. Brooks RR, Shaw S, Marfil AA. The chemical form and physiological function of nickel in some *Iberian Alyssum* species. *Physiol Plant* 1981; 51: 167-170.
- [85]. Boydi R. S, Wall MA, Jaffre T. Nickel levels in arthropods associated with Ni hyperaccumulator plants from an ultramafic site in New Caledonia. *Insect Sci* 2006; 13(4): 271-277.
- [86]. Bhatia NP, Orlic I, Siegele R, Ashwath N, Baker AJM, Walsh KB. Elemental mapping using PIXE shows the main pathway of nickel movement is principally symplastic within the fruit of the hyperaccumulator *Stackhousia tryonii*. *New Phytol* 2003; 160: 479-488.
- [87]. Ochiai EI. Bioinorganic chemistry: an introduction. Boston, USA: Allyn and Bacon, 1977.
- [88]. Di Toppi LS, Gabbrielli R. Response to cadmium in higher plants. *Environ Exp Bot* 1999; 41: 105-130.
- [89]. Schützendubel A, Polle A. Plant responses to abiotic stresses: heavy-metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J Exp Bot* 2002; 53: 1351-1365.
- [90]. Shaw BP, Sahu SK, Mishra RK. Heavy metal induced oxidative damage in terrestrial plants. New Delhi, India: Narosa Publishing House, 2004.
- [91]. Liu D, Jiang W, Guo L, Hao Y, Lu C, Zhao F. Effects of nickel sulphate on root growth and nucleoli in root tip cells of *Allium cepa*. *Isra J Plant Sci* 1994; 42: 143-148.
- [92]. Brune A, Deitz KJ. A comparative analysis of element composition of roots and leaves of barley seedlings grown in the presence of toxic cadmium, molybdenum, nickel and zinc concentrations. *J Plant Nutr* 1995; 18: 853-868.
- [93]. El-Shintinawy F, El-Ansary A. Differential effect of Cd²⁺ and Ni²⁺ on amino acid metabolism in soybean seedlings. *Biol Plant* 2000; 43: 79-84.
- [94]. Zhang L, Angle JS, Chaney RL. Do high-nickel leaves shed by the nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* inhibit seed germination of competing plants? *New Phytol* 2007; 173: 509-516.
- [95]. Pandey N, Sharma CP. Effect of heavy metals CO²⁺, Ni²⁺, and Cd²⁺ on growth and metabolism of cabbage. *Plant Sci* 2002; 163: 753-758.
- [96]. Bhardwaj R, Arora N, Sharma P, Arora HK. Effects of 28-homobrassinolide on seedling growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities under nickel stress in seedlings of *Zea mays* L. *Asian J Plant Sci* 2007; 6: 765-772.
- [97]. Gajewska E, Skłodowska M. Differential biochemical responses of wheat shoots and roots to nickel stress: antioxidative reactions and proline accumulation. *Plant Growth Regul* 2008; 54: 179-188.
- [98]. Sharma P, Bhardwaj R, Arora N, Arora HK, Kumar A. Effects of 28-homobrassinolide on nickel uptake, protein content and antioxidative defence system in *Brassica juncea*. *Biol Plant* 2008; 52: 767-770.
- [99]. Boominathan R, Doran PM. Nickel induced oxidative stress in roots of Ni hyperaccumulator *Alyssum bertolonii*. *New Phytol* 2002; 156: 205-215.

- [100]. Tripathy BC, Bhatia B, Mohanty P. Inactivation of chloroplast photosynthetic electron-transport activity by Ni²⁺. *Biochem Biophys Acta* 1981; 638: 217-224.
- [101]. Seregin IV, Kozhevnikova AD, Kazyumina EM, Ivanov VB. Nickel toxicity and distribution in maize roots. *Russ J Plant Physiol* 2003; 50: 711-717.
- [102]. Samantaray S, Rout GR, Das P. Tolerance of rice to nickel in nutrient solution. *Biol Plant* 1997; 40: 295-298.
- [103]. Seregin IV, Ivanov VB. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russ J Plant Physiol* 2001; 48: 606-630.
- [104]. Ivanov VB. Root growth responses to chemicals. *Sov Sci Rev Ser D* 1994; 1-70.
- [105]. Seregin IV, Ivanov VB. Is the endodermal barrier the only factor preventing the inhibition of root branching by heavy metal salts? *Russ J Plant Physiol* 1997; 44: 922-925.
- [106]. Seregin IV, Ivanov VB. The transport of cadmium and lead ions through root tissues. *Russ j Plant Physiol* 1998; 45: 899-905.
- [107]. Alam MM, Hayat S, Ali B, Ahmad A. Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 2007; 45: 139-142.
- [108]. Sheoran IS, Aggarwal N, Singh R. Effect of cadmium and nickel on *in vivo* carbon dioxide exchange rate of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). *Plant Soil* 1990; 129: 243-249.
- [109]. Bishnoi NR, Sheoran IS, Singh R. Influence of cadmium and nickel on photosynthesis and water relations in wheat leaves of differential insertion levels. *Photosynthetica* 1993; 28: 473-479.
- [110]. Van Assche F, Clijsters H. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ* 1990; 13: 195-206.
- [111]. Sun EJ, Wu FY. Along-vein necrosis as indicator symptom on water spinach caused by nickel in water culture. *Bot Bull Acad Sin* 1998; 39: 255-259.
- [112]. Rahman H, Sabreen S, Alam S, Kawai S. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. *J Plant Nutr* 2005; 28: 393-404.
- [113]. Bashmakov DI, Lukatkin AS, Prasad MNV. Temperate weeds in Russia: sentinels for monitoring trace element pollution and possible application in phytoremediation. In: Trace elements application of quantitative fluorescence and absorption-edge computed microtomography to image metal compartmentalization in *Alyssum murale*. *Environ Sci Technol* 2006; 39: 2210-2218.
- [114]. Baccouch S, Chaoui A, El Ferjani E. Nickel toxicity induces oxidative damage in *Zea mays* roots. *J Plant Nutr* 2001; 24: 1085-1097.
- [115]. Briggs DE. Barley germination: Biochemical changes and hormonal control. CAB International, Wallingford, 1992.
- [116]. Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q. Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrosephosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. *J Exp Bot* 2001; 52: 2169-2179.
- [117]. Van den Ende W, Michiels A, Le Roy K, Van Laere A. Cloning of a vacuolar invertase from *Belgian endive* leaves (*Cichorium intybus*). *Physiol Plant* 2002; 115: 504-512.
- [118]. Maheshwari R, Dubey RS. Nickel toxicity inhibits ribonuclease and protease activities in rice seedlings: protective effects of proline. *Plant Growth Regul* 2007; 51: 231-243.
- [119]. Veer B. Effect of nickel and zinc on seedling growth and hydrolytic enzymes in *Phaseolus aureus* cv. R-851. *Geobios* 1989; 16: 245-248.
- [120]. Balaguer J, Almendo MB, Gomez I, Navarro-Pedreno J, Mataix J. Tomato growth and yield affected by nickel presented in the nutrient solution. *Acta Hort* 1998; 458: 269-272.
- [121]. Heath SM, Southworth D, D'Allura JA. Localization of nickel in epidermal subsidiary cells of leaves of *Thlaspi montanum* var. Siskiyouense (Brassicaceae) using energy-dispersive X-ray microanalysis. *Int J Plant Sci* 1997; 158: 184-188.
- [122]. Hermle S, Vollenweider P, Günthardt-Goerg MS, Mcquattie CJ, Matyssek R. Leaf responsiveness of *Populus tremula* and *Salix viminalis* to soil contaminated with heavy metals and acidic rainwater. *Tree Physiol* 2007; 27: 1517-1531.
- [123]. Szalontai B, Horvath LI, Debreczeny M, Droppa M, Horvath G. Molecular rearrangements of thylakoids after heavy metal poisoning, as seen by Fourier transform infrared (FTIR) and electron spin resonance (ESR) spectroscopy. *Photosynth Res* 1999; 61: 241-252.
- [124]. Ahmad MSA, Hussain M, Saddiq R, Alvi AK. Mungbean: a nickel indicator, accumulator or excluder? *Bull Environ Contam Toxicol* 2007; 78: 319-324.
- [125]. Krupa Z, Baszynski T. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus - direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiol Plant* 1995; 17: 177-190.
- [126]. Ewais EA. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds. *Biol Plant* 1997; 39: 403-410.
- [127]. Shukla R, Gopal R. Excess nickel alters growth, metabolism, and translocation of certain nutrients in potato. *J Plant Nutr* 2009; 32: 1005-1014.
- [128]. Singh DP, Khare P, Singh PS. Effect of Ni²⁺, Hg²⁺ and Cu²⁺ on growth, oxygen evolution and photosynthetic electron transport in *Cylindrospermum* IU 942. *J Plant Physiol* 1989; 134: 406-412.
- [129]. Boisvert S, Joly D, Leclerc S, Govindachary S, Harnois J, Carpentier R. Inhibition of the oxygen-evolving complex of photosystem II and depletion of extrinsic polypeptides by nickel. *Biometals* 2007; 20: 879-889.

- [130]. Bethkey PC, Drew MC. Stomatal and non-stomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsium annum* during progressive exposure to NaCl salinity. *Plant Physiol* 1992; 99: 219-226.
- [131]. Molas J. 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* 1997; 34: 513-522.
- [132]. Van Assche F, Clijsters H. Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of Zinc: effects on electron transport and photophosphorylation. *Physiol Plant* 1986; 66: 717-721.
- [133]. Kupper H, Kupper F, Spiller M. Environmental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants. *J Exp Bot* 1996; 47: 259-266.
- [134]. Kupper H, Kupper F, Spiller M. *In situ* detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. *Photosynth Res* 1998; 58: 123-133.
- [135]. Tripathy BC, Bhatia B, Mohanty P. Cobalt ions inhibit electron transport activity of photosystem II without affecting photosystem I. *Biochim Biophys Acta*, 1983; 722: 88-93.
- [136]. Mohanty N, Vass I, Demeter S. Impairment of photosystem 2 activity at the level of secondary quinone acceptor in chloroplasts treated with cobalt, nickel and zinc ions. *Physiol Plant* 1989; 76: 386-390.
- [137]. El-Sheekh MM. Inhibition of photosystem II in the green alga *Scenedesmus obliquus* by nickel. *Biochem Physiol Pflanzen* 1993; 188: 363-372.
- [138]. Haag-Kerwer A, Schafer H, Heiss S, Walter C, Rausch T, Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *J Exp Bot* 1999; 50: 1827-1835.
- [139]. Chen C, Chen TH, Lo KF, Chiu CY. Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. *Plant Sci* 2004; 166: 103-111.
- [140]. Barcelo J, Poschenrieder CH. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *J Plant Nutr* 1990; 13: 1-37.
- [141]. Prasad MNV. Trace elements. New York, USA: Wiley, 1997.
- [142]. Barcelo J, Poschenrieder CH. Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. Berlin, Germany: Springer, 2004.
- [143]. Sheoran IS, Singal HR, Singh R. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) *Photosynthesis Res* 1990; 23: 345-351.
- [144]. Breckle SW, Kahle H. Ecological geobotany/autecology and ecotoxicology. Progress in botany, vol 52. Heidelberg, Berlin: Springer, 1991.
- [145]. Rubio MI, Escrig I, Martinezcortina C, Lopezbvenet FJ, Sanz A. Cadmium and nickel accumulation in rice plants—effect of mineral nutrition and possible interaction of abscissic acid and gibberellic acids. *Plant Growth Regul* 1994; 14: 151-157.
- [146]. Genrich I, Burd GI, Dixon DG, Glick BR. A plant growth promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 3663-3668.
- [147]. Goncalves SC. Genetic diversity and differential *in vitro* responses to Ni in *Cenococcum geophilum* isolates from serpentine soils in Portugal. *Mycorrhiza* 2007; 17: 677-686.
- [148]. Mysliwa-Kurdziel B, Prasad MNV, Strzalka K. Photosynthesis in heavy metal stressed plants. New Delhi, India: Narosa Publishing House, 2004.
- [149]. Athar R, Ahmad M. Heavy metal toxicity in legume microsymbiont system. *J Plant Nutr* 2002; 25: 369-386.
- [150]. Pillay SV, Rao VS, Rao KVN. Effect of nickel toxicity in *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and *Helianthus annuus* L. *Indian J Plant Physiol* 1996; 1: 153-156.
- [151]. Parida BK, Chhibba JM, Nayyar VK. Effect of nickel contaminated soil on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. *Sci Hort* 2003; 98: 113-119.
- [152]. Prasad SM, Dwivedi R, Zeeshan M. Growth, photosynthetic electron transport, and antioxidant responses of young soybean seedlings to simultaneous exposure of nickel and UV-B stress. *Photosynthetica* 2005; 43: 177-185.
- [153]. Mishra S, Agrawal SB. Interactive effects between supplemental ultraviolet-B radiation and heavy metals on the growth and biochemical characteristics of *Spinacia oleracea* L. *Braz J Plant Physiol* 2006; 18: 307-314.
- [154]. Gajewska E, Sklodowska M. Antioxidative responses and proline level in leaves and roots of pea plants subjected to nickel stress. *Acta Physiol Plant* 2005; 27: 329-339.
- [155]. Maksymiec W. Signaling responses in plants to heavy metal stress. *Acta Physiol Plant* 2007; 29: 177-187.
- [156]. Ros R, Cooke DT, Burden RS, James CS. Effect of herbicide MCPA and the heavy metals, cadmium and nickel, on the lipid composition, Mg-ATPase activity and fluidity of plasma membrane from rice, *Oryza sativa* cv. Bhatia shoots. *J Exp Bot* 1990; 41: 457-462.
- [157]. Ros R, Morales A, Segura J, Picazo I. *In vivo* and *in vitro* effects of nickel and cadmium on the plasma ATPase from rice (*Oryza sativa* L.) shoots and roots. *Plant Sci* 1992; 83: 1-6.
- [158]. Cakmak I, Horst WJ. Effect of aluminum on net efflux of nitrate and potassium from root tips of soybean (*Glycine max* L.). *J Plant Physiol* 1991; 130: 400-403.
- [159]. Yang X, Baliger VC, Martens DC, Clark RB. Cadmium effects on influx and transport of mineral nutrients in plant species. *J Plant Nutr* 1996; 19: 643-656.
- [160]. Vuletic M, Kohler K. Effect of aluminum on the channels in plant membranes. *Studies Biophys* 1990; 138: 185-188.
- [161]. Strass A, Horst WJ. Effect of aluminum on membrane properties of soybean (*Glycine max*) cells in suspension culture. *Plant Sci* 1995; 171: 113-118.

- [162]. Devi SR, Prasad MNV. Membrane lipid alterations in heavy metal exposed plants. New Delhi, India: Narosa Publishing House, 2004.
- [163]. Hasan SA, Hayat S, Ali B, Ahmad A. Homobrassinolide protects chickpea (*Cicer arietinum*) from cadmium toxicity by stimulating antioxidant. Environ Pollut 2008; 151: 60-66.
- [164]. Fariduddin Q, Yusuf M, Hayat S, Ahmad A. Effect of 28-homobrassinolide on antioxidant capacity and photosynthesis in *Brassica juncea* plants exposed to different levels of copper. Environ Exp Bot 2009; 66: 418-424.
- [165]. Yusuf M, Fariduddin Q, Hayat S, Hasan SA, Ahmad A. Protective responses of 28 homobrassinolide in cultivars of *Triticum aestivum* with different levels of nickel. Archv Environ Contam Toxicol 2011; 60: 68-76.
- [166]. McClure PR, Kochian LV, Spanswick RM, Shaff JE. Evidence for cotransport of nitrate and protons in maize roots. II. Measurements of NO_3^- and H^+ fluxes with ion selective microelectrodes. Plant Physiology 1990; 93: 290-294.
- [167]. McClure PR, Kochian LV, Spanswick RM, Shaff JE. Evidence for cotransport of nitrate and protons in maize roots. I. Effect of nitrate on the membrane potential. Plant Physiol 1990; 93: 281-289.
- [168]. Tan XW, Ikeda H, Oda M. Effects of nickel concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth on tomato seedlings in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole nitrogen solution. Sci Hort 2000; 84: 265-273.
- [169]. Rai PK, Rai LC. Interactive effects of UV-B and Cu on photosynthesis, uptake and metabolism of nutrients in a green alga *Chlorella vulgaris* under simulated ozone column. J Gen Appl Microbiol 1997; 43: 281-288.
- [170]. Ahmad A, Abdin MZ. NADH: nitrate reductase and NAD(P)H: nitrate reductase activities in mustard seedlings. Plant Sci 1999; 143: 1-8.
- [171]. Gouia H, Ghorbal MH, Meyer C. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and other enzymes of nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiol Biochem 2000; 38: 629-638.
- [172]. Kennedy CD, Gonsalves FAN. The action of divalent Zn, Cd, Hg, Cu and Pb ions on the ATPase activity of plasma membrane fraction isolated from roots of *Zea mays*. Plant Soil 1989; 117: 167-175.
- [173]. Fodor E, Szabo-Nagy A, Erdei L. The effects of cadmium on the fluidity and H^+ -ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. J Plant Physiol 1995; 147: 87-92.
- [174]. Burzynski M, Kolano E. *In vivo* and *in vitro* effects of copper and cadmium on the plasma membrane H^+ -ATPase from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and maize (*Zea mays* L.) roots. Acta Physiol Plant 2003; 25: 39-45.
- [175]. Janicka-Russak M, Kabala K, Burzynski M, Klobus G. Response of plasma membrane H^+ -ATPase to heavy metal stress in *Cucumis sativus* roots. J Exp Bot 2008; 59: 3721-3728.
- [176]. Schaller GE, Sussman MR. Phosphorylation of the plasma membrane H^+ -ATPase of oat roots by a calcium-stimulated protein kinase. Planta 1988; 173: 509-551.
- [177]. Portillo F. Regulation of plasma membrane H^+ -ATPase in fungi and plants. Biochim Biophys Acta 2000; 1469: 31-42.
- [178]. Jahn T, Fuglsang AT, Olsson A, Bruntrup IM, Collinge DB, Volkmann D, Sommarin M, Palmgren MG, Larsson C. The 14-3-3 protein interacts directly with the C-terminal region of the plant plasma membrane H^+ -ATPase. Plant Cell 1997; 9: 1805-1814.
- [179]. Baunsgaard L, Fuglsang AT, Jahn T, Korthout HA, de Boer AH, Palmgren MG. The 14-3-3 proteins associate with the plant plasma membrane H^+ -ATPase to generate a fusicoccin binding complex and a fusicoccin responsive system. Plant J 1998; 13: 661-671.
- [180]. Camoni L, Fullone MR, Marra M, Aducci P. The plasma membrane H^+ -ATPase from maize roots is phosphorylated in the C-terminal domain by a calcium-dependent protein kinase. Physiol Plant 1998; 104: 549-555.
- [181]. Dat JF, Van Breusegem F, Vandenabeele S, Vranova E, Van Montague M, Inze D. Dual action of active oxygen species during plant stress responses. Cell Mol Life Sci 2000; 57: 779-795.
- [182]. Moller IM. Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 2001; 52: 559-561.
- [183]. Foyer CH, Descourvieres P, Kunert KJ. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. Plant, Cell and Environment 1994; 17: 507-523.
- [184]. Kehler JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxicol 2000; 149: 43-50.
- [185]. Leonard SS, Harris GK, Shi X. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. Free Rad Biol Med 2004; 37: 1921-1942.
- [186]. Hao FS, Wang XC, Chen J. Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in nickel-induced oxidative stress in roots of wheat seedlings. Plant Sci 2006; 170: 151-158.
- [187]. Torrelles J, Gue'rin MC. Nickel (II) as a temporary catalyst for hydroxyl radical generation. FEBS Lett 1990; 272: 58-60.
- [188]. Gratao PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Funct Plant Biol 2005; 32: 481-494.
- [189]. Pitzschke A, Fornazi C, Hirt H. Reactive oxygen species signalling in plants. Antioxid Redox Signal 2006; 8: 1757-1764.

- [190]. Zoller T, Skroppa T, Johnsen O, Polle A. Apoplastic peroxidases in needles of Norway spruce (*Picea abies* progenies from different crossing environments. Forstwissenschaftliches Centralblatt 2003; 122: 153-159.
- [191]. Igamberdiev AU, Lea PJ. The role of peroxisomes in the integration of metabolism and evolutionary diversity of photosynthetic organism. Phytochem 2002; 60: 651-674.
- [192]. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 2004; 55: 373-399.
- [193]. DeKock PC, Commissong K, Farmer VG, Inkson RHE. Interrelationship of catalase, peroxidase, hematin and chlorophyll. Plant Physiol 1960; 35: 599-604.
- [194]. Agarwala SC, Kumar A. The effect of heavy metals and bicarbonate excess on sunflower plants grown in sand culture with special reference to catalase and peroxidase. J Ind Bot Soc 1962; 41: 77-92.
- [195]. Cardoso PF, Gratao PL, Gomes-Junior AL, Medici LO, Azevedo RA. Response of *Crotalaria juncea* to nickel exposure. Braz J Plant Physiol 2005; 17: 267-272.
- [196]. Pandolfini T, Gabbielli R, Comparini C. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. Plant Cell Environ 1992; 15: 719-725.
- [197]. Diaz J, Bernal A, Pomar F, Merino F. Induction of skhikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. Plant Sci 2001; 161: 179-188.
- [198]. Simonovicova M, Tamas L, Huttova J, Mistrik I. Effect of aluminum on oxidative stress related enzymes activities in barley roots. Biol Plant 2004; 48: 261-266.
- [199]. Aziz EE, Gad N, Badran NM. Effect of cobalt and nickel on plant growth, yield and flavonoids content of *Hibiscus sabdariffa* L. Australian J Basic Appl Sci 2007; 1: 73-78.
- [200]. Tabatabaei SJ. Supplements of nickel affect yield, quality, and nitrogen metabolism when urea or nitrate is the sole nitrogen source for cucumber. J Plant Nutr 2009; 32: 713-724.
- [201]. Lavado RS. Effects of sewage-sludge application on soils and sunflower yield: Quality and toxic element accumulation. J Plant Nutr 2006; 29: 975-984.
- [202]. Kochian LV. Mechanisms of micronutrient uptake and translocation in plants. Madison, USA: Soil Science Society of America, 1991.
- [203]. Hasinur R, Shamima S, Shah A, Shigenao KW. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. J Plant Nutr 2005; 28: 393-404.
- [204]. Shi GR, Cai QS. Photosynthetic and anatomic responses of peanut leaves to cadmium stress. Photosynthetica 2008; 46(4): 627-630.
- [205]. Matraszek R, Szymanska M, Wroblewska M. Effect of nickel on yielding and mineral composition of the selected vegetables. Acta Sci Pol 2002; 1: 3-22.
- [206]. Singh P, Nayyar K. Influence of lime on nickel availability to plants and its toxic level in cowpea. J Res Punjab Agri Univ 2001; 38: 10-13.
- [207]. Atta-Aly MA. Effect of nickel addition on the yield and quality of parsley leaves. Sci Hort 1999; 82: 9-24.
- [208]. Mizuno N, Nosaka S, Mizuno T, Horie K, Obata H. Distribution of Ni and Zn in the leaves of *Thlaspi japonicum* growing on ultramafic soil. Soil Sci Plant Nutr 2003; 49: 93-97.
- [209]. Chawan DD. Environment and Adaptive Biology of Plants. Jodhpur, India: Scientific Publishers, 1995.
- [210]. Yadav R, Aery NC. Effect of nickel on the growth performance of wheat. Plant Arch 2002; 2: 133-135.
- [211]. Keeling SM, Stewart RB, Anderson CWN, Robinson BH. Nickel and cobalt phytoextraction by the hyperaccumulator *Berkheya coddii* implications for polymetallic phytomining and phytoremediation. Int J Phytoremed 2003; 5: 235-244.
- [212]. Kovacevi G, Kastori R, Merkulov LJ. Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead, and nickel. Biol Plant 1999; 42: 119-123.
- [213]. Kravkina IM. The chloroplast structure in leaf chlorenchyma cells of *Dianthus repens* (Caryophyllaceae) in response to high concentrations of soil nickel. Botanicheskii Zhurnal 2000; 85: 83-85.
- [214]. Setia RC, Bala R. Anatomical changes in root and stem of wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to different heavy metals. Phytomorph 1994; 44: 95-104.
- [215]. Sresty TVS, Rao KVM. Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cells of pigeon pea. Environ Exp Bot 1999; 41: 3-13.