



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## Nikel'in Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Tohumlarının Çimlenmesi ve Fide Gelişimi Üzerine Etkileri

 Çiğdem ÇİNGİL BARIŞ<sup>a,\*</sup>,  Muammer ÜNAL<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, HAYEF, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, TÜRKİYE

<sup>b</sup> Biyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: ccingil@iuc.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.798455

### ÖZET

Bu çalışmada, brokoli bitkisinin tohum ve fidelerinde değişen konsantrasyonlardaki nikelin etkisi ve birikimi incelenmiştir. Tohumlarda çimlenme yüzdesi, bitkinin kök-gövde uzunlukları, ağırlık miktarları, klorofil, karotenoid, total çözünebilir protein ile MDA içerikleri, POD aktiviteleri ve Ni birikimi belirlenmiştir. 100 µM NiSO<sub>4</sub> ün tohumlarda çimlenmeyi inhibe ettiği gözlenmiştir. Ni'nin büyümeyi etkilediği, ağırlık miktarlarında da değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. 9 günlük fidelerin klorofil içerikleri 1 µM NiSO<sub>4</sub> de artarken, 30 günlük fidelerde ise 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> de artış tespit edilmiştir. Fidelerdeki total çözünebilir protein içeriğinde 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> de azalışlar gözlenirken, POD aktivitesinde artışlar gözlenmiştir. Ayrıca, nikelin özellikle köklerde biriktiği belirlenmiştir. Nikelin brokolinin çimlenme ve büyüme-gelişimi üzerine olan etkileri ile ilgili olarak, düşük konsantrasyonlardan (0.01, 0.1 ve 1 µM) bitkinin olumlu etkilendiği, yüksek konsantrasyonların ise (10 ve 100 µM) toksik etkilere neden olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Nikel, Çimlenme, Bitki büyümesi, Brokoli, *Brassica oleracea* L. var. *italica*, Metal birikimi

## The Effects of Nickel on Seed Germination and Seedling Development in Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)

### ABSTRACT

In this research, the effect and accumulation of nickel in varying concentrations in broccoli seeds and seedlings were investigated. Germination rate of seeds, root-stem length of the plant, weight amounts, contents of chlorophyll, carotenoid, total soluble protein and MDA, POD activities and Ni accumulation were determined. It was observed that 100 µM NiSO<sub>4</sub> inhibited germination in seeds. It has been determined that Ni affect growth and also cause changes in weight amounts. While the chlorophyll content of 9-day-old seedlings increased in 1 µM NiSO<sub>4</sub> was applied, an increase was found in 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> in 30-day-old seedlings. While decreases were observed in 10 and 100 µM NiSO<sub>4</sub> in total soluble protein content in seedlings, increases in POD activity were observed. In addition, it was determined that nickel accumulated especially in the roots. Regarding the effects of nickel on the germination and growth-development of broccoli, it was determined that plant is affected positively in low concentrations (0.01, 0.1 and 1 µM), while high concentrations (10 and 100 µM) caused toxic effects.

**Keywords:** Nickel, Germination, Plant growth, Broccoli, *Brassica oleracea* L. var. *italica*, Metal accumulation

# I. GİRİŞ

Bitkilerde mevcut olan kimyasal elementlerden bazılarının normal büyüme için gerekli esas elementler oldukları saptanmıştır. Bu elementlerden herhangi birinin yokluğu durumunda bitkilerin yaşam döngülerini tamamlayamadıkları görülmektedir. Bu elementler; karbon, hidrojen, oksijen, potasyum, kalsiyum, magnezyum, azot, fosfor, kükürt, mangan, çinko, bakır, klor, bor, molibden, nikel ve demirdir ve bitki büyümesi için gerekli, esas elementler olarak belirtilmektedirler [1]-[3]. Nikel (Ni), bitkilerin normal bir şekilde büyümeleri ve gelişmeleri için önemli olduğu bilinen mikro elementlerden bir tanesidir ve birçok metabolik süreçte gereklidir [4],[5]. Optimum Ni dozlarının, bazı fizyolojik süreçleri etkileyerek bitki büyümesini teşvik ettiği bildirilmiştir [6]. Nikel, bitkilerdeki üreaz ve hidrojenaz enzimlerinin yapısı ve aktivitesi için gerekli olan ve azot metabolizması için gerekli olan temel bir elementtir. Nikelin bitkiler için temel bir metal olması ve bitki metabolizmasında önemli roller oynamasına rağmen [4], [7], artan endüstriyel kullanımı nedeniyle Ni toksisitesi ciddi bir endişe yaratmaktadır. Bitkilerde çok düşük miktarlarda yararlı olduğu halde; sanayi faaliyetlerin artışı, gübreler, kimyevi ilaçlar, yerleşim yeri ve sanayi atıkları ile ekolojik çevrede miktarı birikme sonucu artış göstermekte bunun neticesi olarak pek çok fizyolojik olay üzerine olumsuz etkiler yapmaktadır [5],[8],[9]. Nikelin aşırı konsantrasyonlarının bitkilerde fotosentez ile solunuma ket vurma, hücre zarının geçirgenliğini azaltması, fotosentetik elektron taşınımını engellemesi, hücrede üreaz aktivitesini azaltması, protein sentezlenmesini, klorofil ile azot seviyelerini düşürmesi, hücrenin su dengesini değiştirmesi gibi pek çok fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin aksaması gibi olumsuz etkileri bulunmaktadır [10]-[12].

Tohum, döllenme olayından sonra gelişen tohum taslağı içerisindeki embriyo ve besi dokusundan meydana gelen, neslin devamını sağlayan, tohumlu bitkilerin üreme ve yayılma organıdır [13]. Tohum, olgunlaştıktan ve çevreye yayıldıktan sonra dormansi (uyku hali) olarak adlandırılan bir sürece girmektedir. Dormansi, metabolik hızın çok yavaş, büyüme ve gelişmenin durgun olduğu bir dönemdir. Tohumun bir sonraki büyüme mevsimine kadar uygun olmayan koşulların atlatılmasına yardımcı olmak için geçirdiği uyku dönemi dormansidir [14],[15]. Tohum dormansisi olumsuz çevresel koşullarda çimlenmeyi engelleyerek tohumun hayatta kalma şansını artırmaktadır. Dormansi değişik şekillerde kırılıp ortadan kaldırılabilmektedir. Dormansinin sona ermesi ile birlikte bitki çimlenme durumuna gelebilir. Çimlenme biyolojik anlamda, elverişli koşullarda tohum embriyosundan normal bir bitkiyi meydana getirebilme yeteneğinde olan yapıların ortaya çıkmasıdır. Tohum, çimlenme ve fide aşamasında olumsuz çevresel koşullara karşı oldukça duyarlı olup, hasara uğradığı takdirde bitkilerin yaşam döngüsü daha başlamadan son bulabilmektedir [16]. Tohumun çimlenme süreci, tohuma suyun alınması ile başlayan ve sonrasında embriyonik eksenin (genellikle radikula) testadan dışarıya çıkışı ile neticelenen bir seri süreçler olarak ifade edilir [17].

Tohum çimlenmesi ve erken fide büyümesi, gelecekteki fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri geniş ölçüde yansıtan bir bitkinin hayatındaki ilk olaylardır. Tohum çimlenmesi üzerine Ni'nin etkisinin, bitkiye ve ortamdaki Ni konsantrasyonuna bağlı olarak değişebildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ve NiSO<sub>4</sub> solüsyonlarının *Triticum* tohumlarının çimlenmesini hızlandırdığı gözlenmiştir. Düşük seviyedeki Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ın, dormant *Phyleum pratense* tohumlarının çimlenmesini teşvik ettiği, ancak 58,71 ppm Ni iyonunun toksisiteye neden olduğu görülmüştür [18]. Ekim öncesinde 2.68 ile 26.3 ppm konsantrasyon aralığında NiSO<sub>4</sub> solüsyonunun uygulanmasının, *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Triticum* ve *Ricinus communis* tohumlarının çimlenmesi üzerine teşvik edici etkisinin olduğu [19]; 26.3 ppm ve daha yüksek konsantrasyonların ise bu tohumların çimlenmesini inhibe ettiği görülmüştür. Düşük konsantrasyondaki NiSO<sub>4</sub> solüsyonlarının *Lupinus albus* bitkisinin çimlenmesi üzerine yararlı etkilere sahip olduğu da belirlenmiştir [20]. Singh [21] tarafından, Ni'nin düşük konsantrasyonlarının *Cicer* bitkisinde tohum çimlenmesini teşvik ettiği ileri sürülmüş ve tohum çimlenmesi üzerine Ni'nin etkisinin, türlere ve ortamdaki Ni konsantrasyonuna bağlı olduğu bu çalışma ile açıkça gösterilmiştir. Tohum çimlenmesi üzerine Ni'nin etkilerinin fizyolojisi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. *Oryza* tohumunun çimlenmesi ve fidelerdeki bazı oksidatif enzimlerin aktivitesinin Ni ile teşvik edildiği ortaya çıkarılmıştır [22]. Welch [23]'e göre, çimlenmenin Ni

tarafından teşvik edilmesinin üreazın metal bileşeni olarak Ni'nin görev almasına dayalı olabileceği rapor edilmiştir [24].

Yüksek bitkiler için nikelin esas element olduğu Brown ve diğ. [5] tarafından ileri sürülmüş ve bir besin elementi olarak kabul edilmiştir [25], [26]. Yapılan pek çok çalışma, Ni uygulamasının tarım bitkilerinin verimini artırdığını göstermektedir. *Pinus* fideleri ile yapılan deneylerde, Ni'nin büyüme için gerekli bir element olduğu kanıtlanmıştır [27]. *Eragaria* ve *Gossypium* verimindeki artışın, toprağa Ni ilavesi ile olduğu bildirilmiştir [28]. Nikel uygulaması, pamuk bitkisinin toprak üstü kısımlarının yanı sıra kök kitlesini de artırmaktadır. Ekim öncesinde Ni uygulanmış *Triticum* tohumlarında kök ve gövdenin maksimum büyüme gösterdiği ancak konsantrasyonun 250 ppm den yüksek olduğu durumda büyümenin genellikle inhibe edildiği bulunmuştur [29]. Paprika (*Capsicum frutescens* L.) ve domates (*Lycopersicon esculentum* L.) bitkilerinin büyüme ve gelişmesinin, düşük konsantrasyonda Ni uygulaması ile teşvik edildiği, yüksek konsantrasyonların ise bu bitkiler için toksik olduğu rapor edilmiştir [30]. Ni uygulamaları soya fasulyesi verimini de artırmaktadır [10]. Etiyole bezelye bitkisinin hipokotil kısımlarının ışığa duysuz büyümesi de Ni tarafından teşvik edilmektedir [10]. Bazzaz ve diğ. [31] Ni'nin, *Helianthus annuus* hipokotilinin uzamasını ve taze ağırlığını önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Gordon ve diğ. [32], *Lemna paucicostata* bitkilerini tek azot kaynağı olarak üre bulunan ortamda büyütmüşler ve 2 µM'ın üzerindeki seviyelerde NiSO<sub>4</sub> ilavesinin büyümeyi önemli ölçüde teşvik ettiği ve 50 µM NiSO<sub>4</sub> ün vejetatif büyüme oranını iki katına çıkardığı görülmüştür. Nikelin aynı zamanda dane olgunlaşması ve bitki senesensinde de temel fonksiyonlara sahip olabildiği rapor edilmiştir [5]. Bu araştırmalar, Ni'nin yüksek bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi üzerinde önemli etkilerinin olduğunu göstermektedir.

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

## **II. MATERYAL VE YÖNTEM**

### **A. BİTKİ MATERYALİ VE KULLANILAN BESİ ÇÖZELTİSİ**

Bu araştırmada deney materyali olarak, *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) tohumları kullanılmıştır. Brokoli bitkisinin deney materyali olarak seçilmesinde; ekonomik değerinin yüksek olması, epigeik çimlenme özelliği göstermesi, su kültürü (hidroponik kültür) çalışmalarında yetiştirilmeye elverişli olması, nikel uygulaması sonucunda meydana gelen fizyolojik değişimlerin kolay izlenebilmesi ve brokolide nikel birikimi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olması etken olmuştur. Brokoli tohumları çimlenme ve gelişmelerinin her aşamasında nikelin (NiSO<sub>4</sub>) değişen konsantrasyonlarını içeren Hoagland besi çözeltileri [33] ile muamele edilmiştir. Analizlerde kullanılan Ni konsantrasyonları ön denemelerden sonra belirlenmiştir. 100 µM Ni den daha yüksek konsantrasyonlarda tohum çimlenmesinin inhibe edildiği gözlenmiş ve bu nedenle kullanılan NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonları 0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 µM olarak uygulanmıştır. Nikel içermeyen Hoagland besi çözeltisi kontrol olarak kullanılmıştır. Brokoli tohumları %2-3 sodyum hipoklorit çözeltisinde steril edildikten sonra distile sudan geçirilmiştir. Tohumlar, kontrol (Hoagland) ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> ortamlarında 24 saat imbibisyona bırakılmıştır. İmbibisyon ortamlarından alınan tohumlar her bir petriye 30'ar tane olmak üzere 1.5 cm aralıklarla ekilmiştir. Petriler 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotlarında 20±1°C de ve 8000 lux ışık şiddeti koşullarındaki büyüme odasına yerleştirilmiştir.

## **B. ÇİMLENME YÜZDESİ**

Kontrol (Hoagland) ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  ortamlarında 24 saat imbibisyona bırakılan ve daha sonra petrolere aktarılan brokoli tohumlarından kontrol grubunun çimlenmeleri sabit kalana kadar (1. günden 5. güne kadar) günlük olarak izlenmiş ve çimlenme oranları yüzde olarak ifade edilmiştir. Radikulanın testadan dışarı çıkması çimlenme kriteri olarak alınmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda çimlenme yüzdesinin 5. günden sonra değişmediği saptanmıştır. Bu nedenle tohum çimlenmesi 5 gün süreyle izlenmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir.

## **C. BİTKİ BÜYÜMESİ**

Su kültürü deneyleri için kurulan düzenekte yüzey sterilizasyonuna tabi tutulup distile sudan geçirilen tohumlar Hoagland besi suyu ile ıslatılmış perlit ortamına ekilerek Hoagland besi çözeltisi ile sulanmıştır. 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotlarda  $20\pm 1^\circ\text{C}$  de 8000 lux ışık şiddeti koşullarındaki büyüme odalarına yerleştirilmiştir. Çimlenme gününden itibaren perlitte 15 gün tutulan ve hemen hemen birbirine yakın boylarda olan fideler Hoagland besi çözeltisi içeren 7 lt'lik su kültürü kaplarına yani hidroponik ortama alınmıştır. 7 gün boyunca hidroponik ortamda büyütülen 22 günlük bitkiler içinden eşit büyüme evresinde olan örnekler uygulama yapılmak üzere seçilerek kontrol (Hoagland) ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinin bulunduğu 1 lt'lik kaplara transfer edilmiştir. Deney süresince su kültürü kaplarında düzenli olarak havalandırma sağlanmıştır. 30 gün boyunca yetiştirilen brokoli bitkisine Ni uygulaması, her 1 lt'lik polietilen kaba bir bitki olacak şekilde yapılmıştır. Her deney kabı için toplam hacmi 1 lt olacak şekilde hazırlanan Hoagland besi çözeltisine,  $\text{NiSO}_4$  çözeltisinden hesaplanan miktarlarda metal ilavesi yapılarak farklı konsantrasyonlarda uygulama ortamı hazırlanmıştır. Ni uygulanmayan kontrol bitkileri için Hoagland besi çözeltisi uygulama ortamı olarak kullanılmıştır. 7 gün boyunca metal uygulamasının sonunda 30 günlük olan kontrol ve deney bitkilerine analizler yapılmıştır.

## **D. KÖK VE HİPOKOTİL UZUNLUĞUNUN ÖLÇÜLMESİ**

Kontrol (Hoagland) ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 ve 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları milimetrik taksimatlı cetvel kullanılarak ölçülmüştür. 9 günlük fidedelerde, kök uzunluğu ölçümünde primer kökler kullanılırken; hipokotil uzunluğu kökün bittiği yer ile kotiledonların çıktığı kısım olarak ifade edilmiştir

## **E. TAZE VE KURU AĞIRLIK MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ**

Kontrol (Hoagland) ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen fideler darası önceden belirlenmiş alüminyum folyo üzerinde tartılarak taze ağırlıkları alındıktan sonra  $80^\circ\text{C}$  etüvde ağırlık sabit kalıncaya kadar (3-4 gün) bekletilerek kuru ağırlıkları tespit edilmiştir [34]. Taze ve kuru ağırlık miktarları "g" cinsinden ifade edilmiştir.

## **F. KLOROFİL VE KAROTENOİD TAYİNİ**

Klorofil ve karotenoid tayini yapılacak olan bitki kısımlarının (kotiledon ve yaprak) taze ağırlığı alınarak %90 aseton içeren havan içerisinde ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstreler 3000 g de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra supernatantların spektrofotometrede 630, 645, 665, 480 ve 750 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri belirlenmiştir [35]. Bu değerlerin birim taze ağırlıktaki klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid içerikleri hesaplanmıştır. Klorofil ve karotenoid miktarları " $\mu\text{g/g.T.A.}$ " olarak ifade edilmiştir.

## **G. TOTAL PROTEİN MİKTARI TAYİNİ**

Taze ağırlığı alınan materyal sodyum fosfat tamponunda soğuk havanda ekstre edilmiştir. Homojenatlar 13.000 devir/dakika 30 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj sonunda

suda çözünen proteinleri içeren üst sıvı (supernatant) alınmıştır. Bitki kısımlarındaki total çözünebilir protein miktarının kantitatif tayini için Bradford [36] metodu kullanılmıştır. Örneklerin 595 nm dalga boyundaki absorpsiyonu spektrofotometrede ölçülmüştür. Elde edilen absorpsiyon değerleri önceden hazırlanan bovine serum albumin (BSA) protein standartına göre hesaplanarak total çözünebilir protein miktarı belirlenmiştir. Total protein miktarı “µg/ml” türünden ifade edilmiştir.

## H. PEROKSİDAZ (POD) AKTİVİTESİNİN SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ

Taze ağırlığı alınan materyal protein miktarı tayinindeki şekilde sodyum fosfat tamponu (pH 7.0) ile ekstraksiyon yapılarak santrifüj edilmiştir. POD aktivitesinin belirlenebilmesi için 0.1 M sodyum fosfat tamponu üzerine 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 15 mM guaiakol ilave edilmesi ile tampon taze olarak hazırlanmıştır. POD aktivitesinin spektrofotometrik ölçümü için 470 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır (Shimadzu UV-1601) [37]. Elde edilen absorbans değerlerine göre POD enzim aktivitesi “ΔA/g.T.A.dk.” cinsinden ifade edilmiştir.

## I. LİPİT PEROKSİDASYONUNUN ÖLÇÜLMESİ

Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehid (MDA) gibi ürünlerin ölçümü Heath ve Packer [38] yöntemine göre yapılmıştır. Kök, gövde ve yaprak kısımlarının taze ağırlıkları alındıktan sonra %5 trikloroasetik asit (TCA) içeren soğuk havanda homojenize edilmiştir. Ekstraktlar 10000 rpm de 15 dakika santrifüj edilmişlerdir. Eşit hacimlerde alınan supernatant üzerine %0.5 tiyobarbitürik asit (TBA) içeren %20 TCA eklenmiş, karışım 96°C de 30 dakika inkübe edildikten sonra çok hızlı bir şekilde buz banyosunda soğutulmuş ve 10000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatantların absorbansı 532 nm de ölçülmüştür. Herhangi bir bulanıklıktan kaynaklanan ölçüm değerlerinin elimine edilmesi amacıyla 600 nm deki absorbans alınarak önceki absorbanstan çıkarılmıştır. Lipit peroksidasyon ürünleri bu şekilde MDA yöntemiyle ölçülerek sonuçlar “nmol MDA g<sup>-1</sup> taze ağırlık” olarak ifade edilmiştir.

## J. NİKEL ANALİZİ

Hidroponik ortamda kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanarak yetiştirilen 9 ve 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki nikel miktarının saptanması için EPA [39] metodu kısmen değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Kuru olarak muhafaza edilen parçalara ayrılmış bitki numuneleri ezilerek metal içeriğinin homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Kuru ağırlık olarak alınan numuneler %65’lik HNO<sub>3</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile çözünme işlemine tabi tutulmuştur. ICP-MS çok sayıda elementin niteliksel ya da niceliksel olarak hızla, hassas ve doğru bir şekilde ölçülmesine imkân veren bir elementel analiz yöntemidir. Numunelerdeki Ni birikim miktarı “mg/kg kuru ağırlık” olarak ifade edilmiştir.

## K. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR

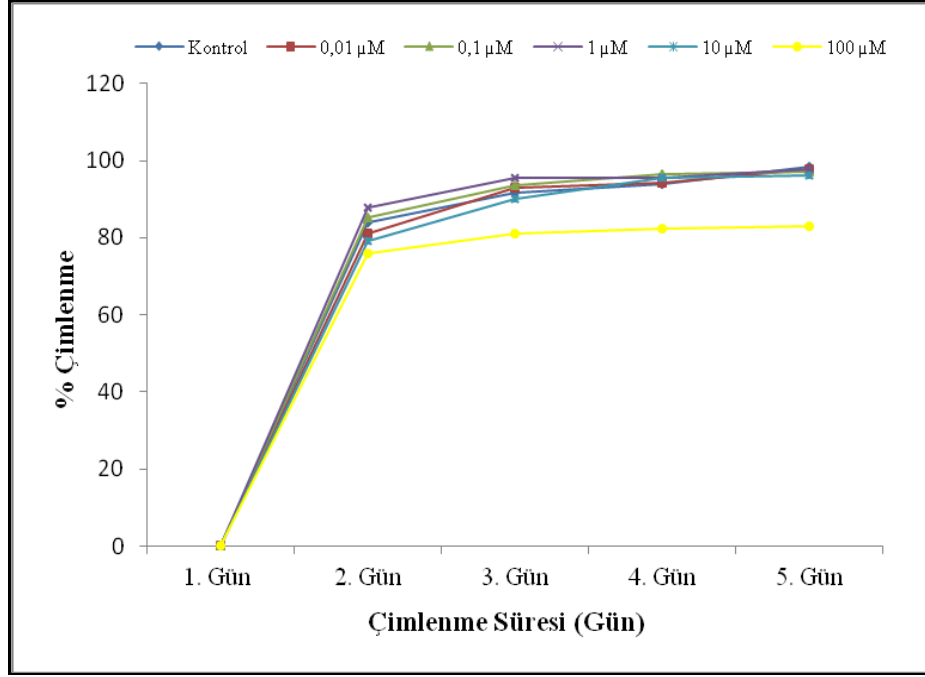
Bu araştırmada yapılan tüm denemelerde, her örnek için kendi içinde 3 tekrarı olan 3 farklı deney yapılmış olup, standart sapmalar SPSS programı kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen tüm ölçümleri istatistiksel olarak anlamlandırmak için *t-testi* uygulanmıştır. p<0.05 düzeyindeki farklılıklar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

# III. BULGULAR

## A. ÇİMLENME YÜZDESİ

Kontrol ve değişen NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonu içeren petrielerde 1. günde çimlenme meydana gelmediği ve bütün petrielerde çimlenmenin 2. günden itibaren başladığı izlenmiştir. Kontrol grubunda çimlenme oranının 5. günde %98.46 olduğu ve çimlenme yüzdesinin maksimum değere ulaştığı görülmüştür.

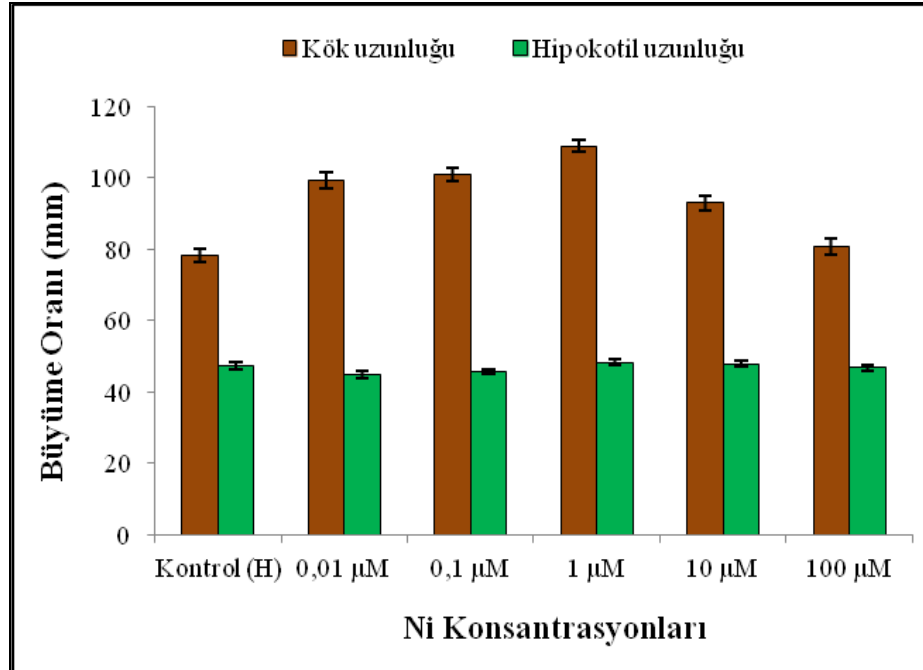
0.01, 0.1 ve 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilisindeki tohumların çimlenme yüzdeleri kontrol grubuna yakın bulunmuş olup artan Ni konsantrasyonları ile birlikte tohumların 5. günde çimlenme yüzdelerinin azaldığı görülmüştür. En düşük çimlenme yüzdesinin 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda olduğu ve 5. günde çimlenmenin %82.91 oranında kaldığı görülmüştür (Şekil 1).



Şekil 1. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{M}$  Ni içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli tohumlarının çimlenme yüzdeleri

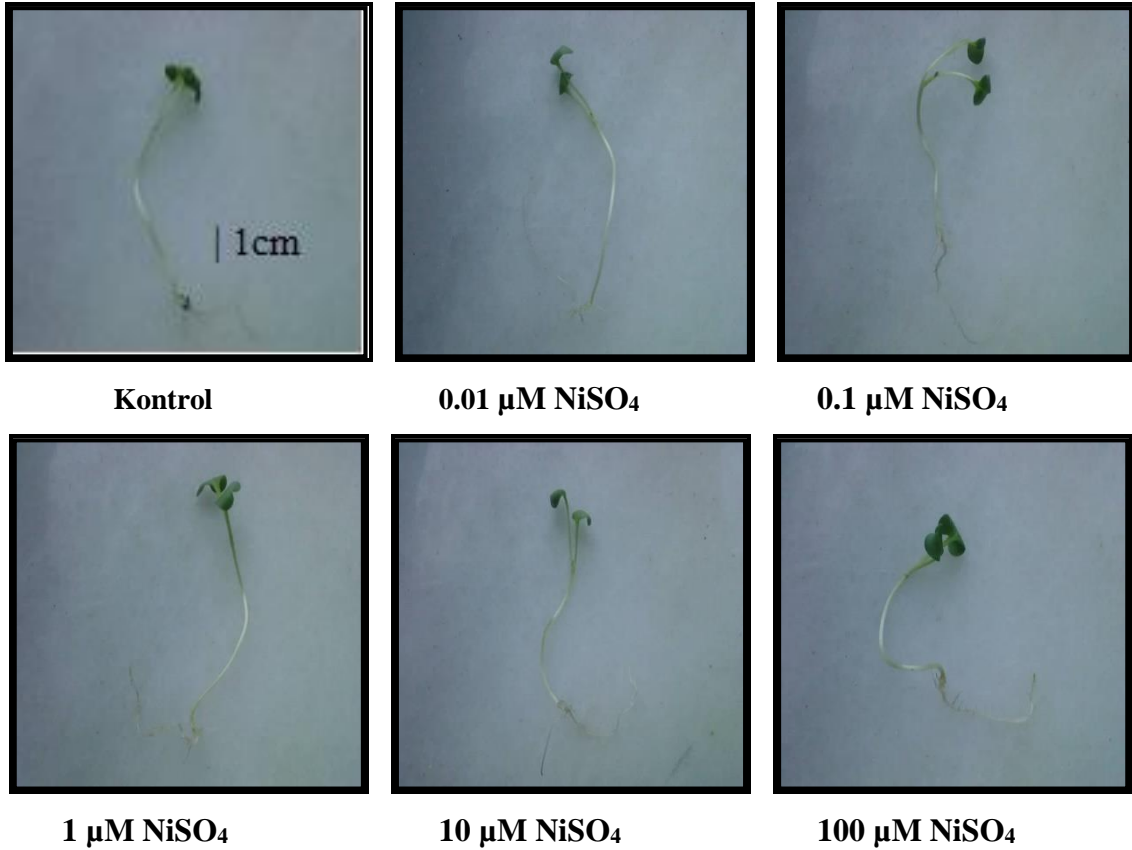
## B. BİTKİ BÜYÜMESİ

Brokoli fidelerinin 9. gündeki kök ve hipokotil uzunluklarına ait sonuçlar Şekil 2’de sunulmuştur.



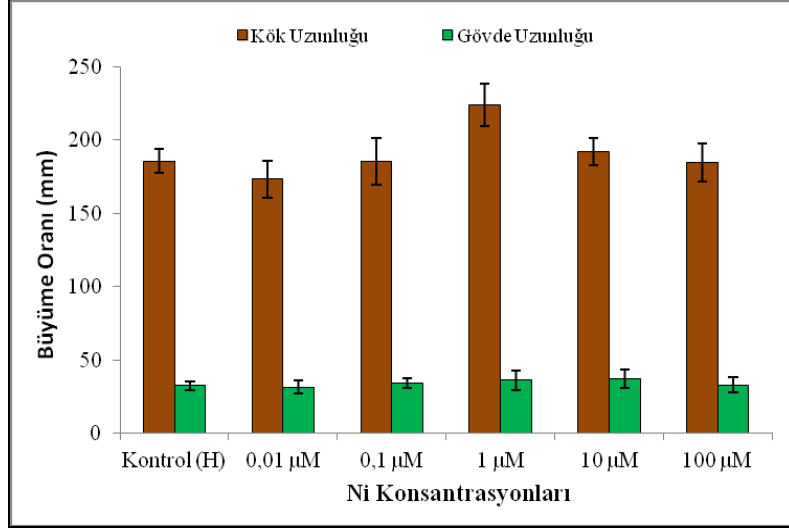
Şekil 2. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök ve hipokotil uzunlukları (mm)

9 günlük brokoli fidelerinde kontrole kıyasla bütün konsantrasyonların kök büyümesini teşvik ettiği görülmüş ve bu büyümenin en fazla %39 oranı ile 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi ortamında yetişen fidelerde olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). 0.01, 0.1 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi ortamında çimlenen tohumların hipokotil uzunluklarının ise, kontrole göre az bir oranda inhibe edildiği görülmüştür ( $p<0.05$ ). En fazla artış %2 oranı ile 1  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda meydana geldiği tespit edilmiştir. Değişen Ni konsantrasyonları ile azalan hipokotil uzunlukları 0.01  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulamasında en az değeri vermiş ( $p<0.05$ ) ve kontrole göre %5'lik bir azalma olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  den daha yüksek konsantrasyonlarda tohumlar çimlense bile, hipokotil ve kök büyümesi izlenememiş ve bitkilerin öldükleri görülmüştür (Şekil 3).



**Şekil 3.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin genel görünüşleri

Brokoli fidelerinin 30. gündeki kök ve gövde uzunluklarına ait sonuçlar Şekil 4'te sunulmuştur.



**Şekil 4.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve gövde uzunlukları (mm)

Kontrol ve NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin 1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda yetiştirilen fidelerde kök uzunluğunun en yüksek değerde olduğu tespit edilmiştir. 10 µM NiSO<sub>4</sub> içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde artan gövde uzunluğunun, 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda azaldığı gözlenmiştir (p<0.05). Kontrol grubuna göre 1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında kök uzunluğunda %20'lik bir artış olduğu tespit edilmiştir. Minimum kök uzunluğu ise 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> serisinde ölçülmüş ve %14'lük bir azalma belirlenmiştir. Maksimum gövde uzunluğu 10 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda saptanmış ve kontrole kıyasla %14 oranında bir artış kaydedilmiştir. Minimum gövde uzunluğu 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında olup kontrole yakın bir değer gösterdiği gözlenmiştir. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin uygulama öncesi ve uygulama sırasındaki görünüşleri Şekil 5'te sunulmuştur.



**Şekil 5.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin uygulama öncesi ve uygulama sırasındaki görünüşleri



### C. TAZE VE KURU AĞIRLIK MİKTARLARI

Kontrol ve NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarının taze ve kuru ağırlık miktarları tespit edilerek Tablo 1’de sunulmuştur.

**Tablo 1.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli bitkisinin kök, hipokotil ve kotiledonlarının taze ve kuru ağırlıkları (g) ( ± değerler, standart sapmayı göstermektedir)

| Taze Ağırlık (g) |                  |                 |                  |
|------------------|------------------|-----------------|------------------|
| Seriler (µM)     | Kök              | Hipokotil       | Kotiledon        |
| Kontrol (H)      | 0.0081 ± 0.0002* | 0.0124 ± 0.002* | 0.0121 ± 0.0005* |
| 0.01 µM          | 0.0088 ± 0.0002* | 0.0126 ± 0.003* | 0.0131 ± 0.0004* |
| 0.1 µM           | 0.0095 ± 0.0003* | 0.0128 ± 0.006* | 0.0123 ± 0.0004* |
| 1 µM             | 0.0086 ± 0.0006* | 0.0118 ± 0.002* | 0.0125 ± 0.0009* |
| 10 µM            | 0.0081 ± 0.0002* | 0.0115 ± 0.007* | 0.0124 ± 0.0001* |
| 100 µM           | 0.0078 ± 0.0005* | 0.0118 ± 0.007* | 0.0118 ± 0.0009* |

| Kuru Ağırlık (g) |                   |                   |                   |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Seriler (µM)     | Kök               | Hipokotil         | Kotiledon         |
| Kontrol (H)      | 0.00037 ± 0.0009* | 0.00395 ± 0.0002* | 0.00066 ± 0.0002* |
| 0.01 µM          | 0.00038 ± 0.0008* | 0.00449 ± 0.0003* | 0.00070 ± 0.0007* |
| 0.1 µM           | 0.00041 ± 0.0003* | 0.00416 ± 0.0006* | 0.00065 ± 0.0006* |
| 1 µM             | 0.00039 ± 0.0001* | 0.00404 ± 0.0001* | 0.00066 ± 0.0006* |
| 10 µM            | 0.00036 ± 0.0001* | 0.00252 ± 0.0001* | 0.00069 ± 0.0002* |
| 100 µM           | 0.00023 ± 0.0004* | 0.00252 ± 0.0007* | 0.00055 ± 0.0006* |

\*p<0.05 değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.

Fidelerin köklerinde taze ağırlık miktarları 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonu dışında diğer tüm serilerde kontrole yakın değerler verdiği görülmüştür. 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda kontrole göre %17 oranında artış tespit edilmiştir. Hipokotillerdeki maksimum taze ağırlık 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda gözlenmiş ve kontrole göre bu artışın %3 oranında olduğu bulunmuştur. 10 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında ise hipokotilde %7’lik bir azalışın olduğu belirlenmiştir. 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarının taze ağırlık miktarlarının maksimum değerinde olduğu saptanmış ve kontrole göre %8 oranında bir artış kaydedilmiştir. Minimum taze ağırlık değerinin ise 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında olduğu %3 oranındaki azalışla tespit edilmiştir.

Genel olarak değişen NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında 9 günlük fidelerin kök, hipokotil ve kotiledonlarının kuru ağırlık miktarlarına bakıldığında, kök kuru ağırlığında minimum kuru ağırlık miktarı 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda bulunmuş ve %38 oranında bir azalma kaydedilmiştir. En yüksek kök kuru ağırlığı ise 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonu uygulanan fidelerde ve kontrole göre %10 oranında olduğu tespit edilmiştir. Hipokotilde ise en düşük kuru ağırlık miktarı 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda belirlenmiş ve kontrole kıyasla %36’lık bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Fidelerin kotiledonlarında ise en yüksek kuru ağırlık miktarı 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonun gözlenmiştir ve kontrole göre %6 oranında artan kuru ağırlık miktarının 100 µM NiSO<sub>4</sub> da %17 oranında azaldığı saptanmıştır.

Kontrol ve NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarının taze ve kuru ağırlık miktarları tespit edilerek Tablo 2’de sunulmuştur.

**Tablo 2.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli bitkisinin kök, gövde ve yapraklarının taze ve kuru ağırlıkları (g) ( $\pm$  değerler, standart sapmayı göstermektedir)

| Taze Ağırlık (g)          |                      |                     |                      |
|---------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| Seriler ( $\mu\text{M}$ ) | Kök                  | Gövde               | Yaprak               |
| Kontrol (H)               | 0.0247 $\pm$ 0.004*  | 0.0176 $\pm$ 0.004* | 0.0489 $\pm$ 0.0003* |
| 0.01 $\mu\text{M}$        | 0.0220 $\pm$ 0.006*  | 0.0162 $\pm$ 0.004* | 0.0445 $\pm$ 0.0007* |
| 0.1 $\mu\text{M}$         | 0.0246 $\pm$ 0.006*  | 0.0168 $\pm$ 0.001* | 0.0430 $\pm$ 0.0006* |
| 1 $\mu\text{M}$           | 0.0289 $\pm$ 0.0001* | 0.0200 $\pm$ 0.005* | 0.0593 $\pm$ 0.0009* |
| 10 $\mu\text{M}$          | 0.0188 $\pm$ 0.0001* | 0.0168 $\pm$ 0.004* | 0.0453 $\pm$ 0.0003* |
| 100 $\mu\text{M}$         | 0.0222 $\pm$ 0.0001* | 0.0166 $\pm$ 0.003* | 0.0267 $\pm$ 0.0008* |

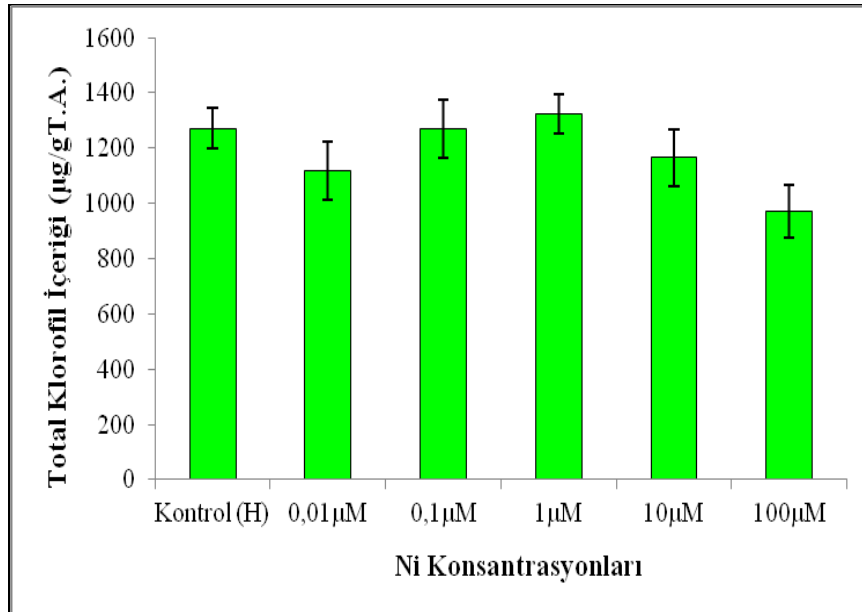
| Kuru Ağırlık (g)          |                       |                       |                      |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| Seriler ( $\mu\text{M}$ ) | Kök                   | Gövde                 | Yaprak               |
| Kontrol (H)               | 0.00142 $\pm$ 0.0002* | 0.00133 $\pm$ 0.0003* | 0.0049 $\pm$ 0.0008* |
| 0.01 $\mu\text{M}$        | 0.00127 $\pm$ 0.0001* | 0.00132 $\pm$ 0.0003* | 0.0046 $\pm$ 0.0009* |
| 0.1 $\mu\text{M}$         | 0.00132 $\pm$ 0.0002* | 0.00144 $\pm$ 0.0003* | 0.0048 $\pm$ 0.0005* |
| 1 $\mu\text{M}$           | 0.00163 $\pm$ 0.0002* | 0.00158 $\pm$ 0.0005* | 0.0054 $\pm$ 0.0007* |
| 10 $\mu\text{M}$          | 0.00137 $\pm$ 0.0003* | 0.00146 $\pm$ 0.0002* | 0.0051 $\pm$ 0.0005* |
| 100 $\mu\text{M}$         | 0.00139 $\pm$ 0.0004* | 0.00145 $\pm$ 0.0006* | 0.0043 $\pm$ 0.0004* |

\*p<0.05 değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.

1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kök, gövde ve yapraklarının taze ağırlık değerlerinin kontrol ve diğer Ni içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerden daha fazla olduğu bulunmuştur. 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulaması yapılmış fidelerin taze ağırlık miktarlarında köklerde %17, gövdede %14 ve yapraklarda %21'lik artışların olduğu saptanmıştır. Kuru ağırlık miktarlarına bakıldığında en yüksek kuru ağırlığın yine 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. Bu artışların sırasıyla kökte %15, gövdede %19 ve yaprakta ise %10 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

#### D. KLOROFİL İÇERİĞİ

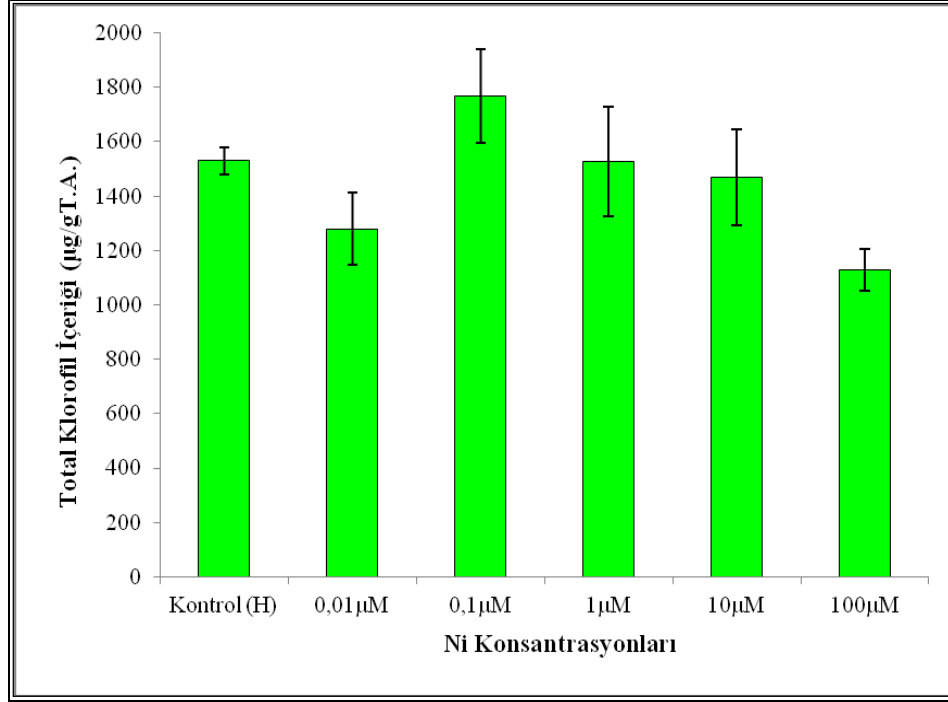
Kontrol ve  $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarları Şekil 6'da gösterilmiştir.



**Şekil 6.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri total klorofil miktarları

En yüksek total klorofil içeriğinin 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulaması yapılmış fidelerde ve kontrole göre %4 oranında artış olduğu belirlenmiştir. En düşük total klorofil içeriğinin ise %24 oranında bir azalışla 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarında olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

Kontrol ve  $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki total klorofil miktarları Şekil 7’de gösterilmiştir.

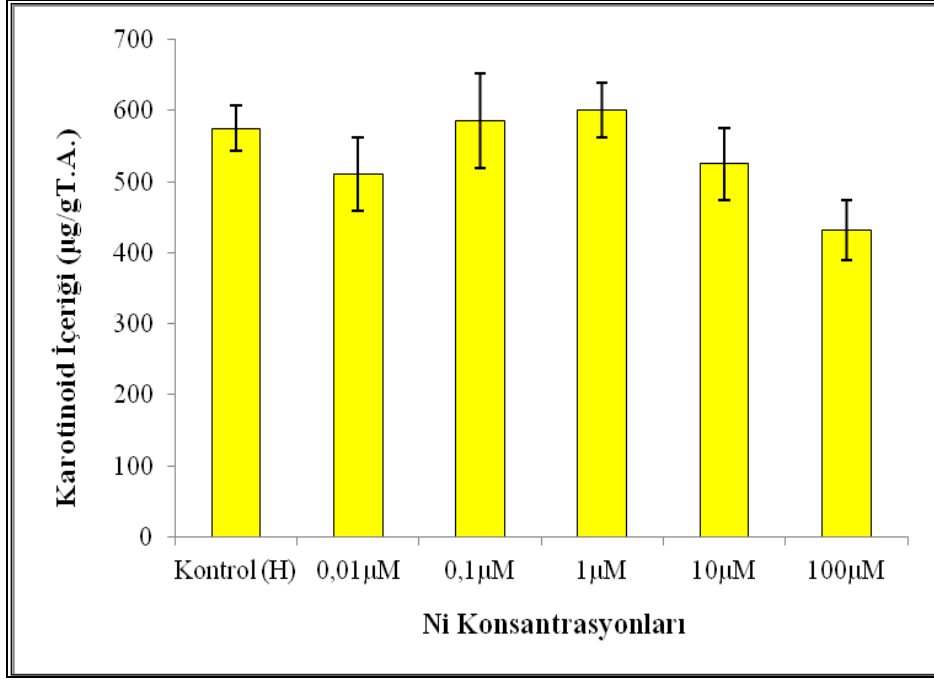


Şekil 7. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri total klorofil miktarları

Kontrol ve  $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının total klorofil içeriklerine bakıldığında, 0.01  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisindeki azalmanın ardından 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisindeki artışı diğer serilerdeki kademeli olarak düşüş takip etmiştir. Maksimum klorofil miktarı değerleri 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulaması yapılmış fidelerin yapraklarında gözlenmiş ve kontrole göre total klorofil miktarının ise %15 oranında artış olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). En düşük klorofil içeriği ise 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu konsantrasyondaki azalışın total klorofil içeriğinde %26 oranında olduğu saptanmıştır.

## E. KAROTENOİD İÇERİĞİ

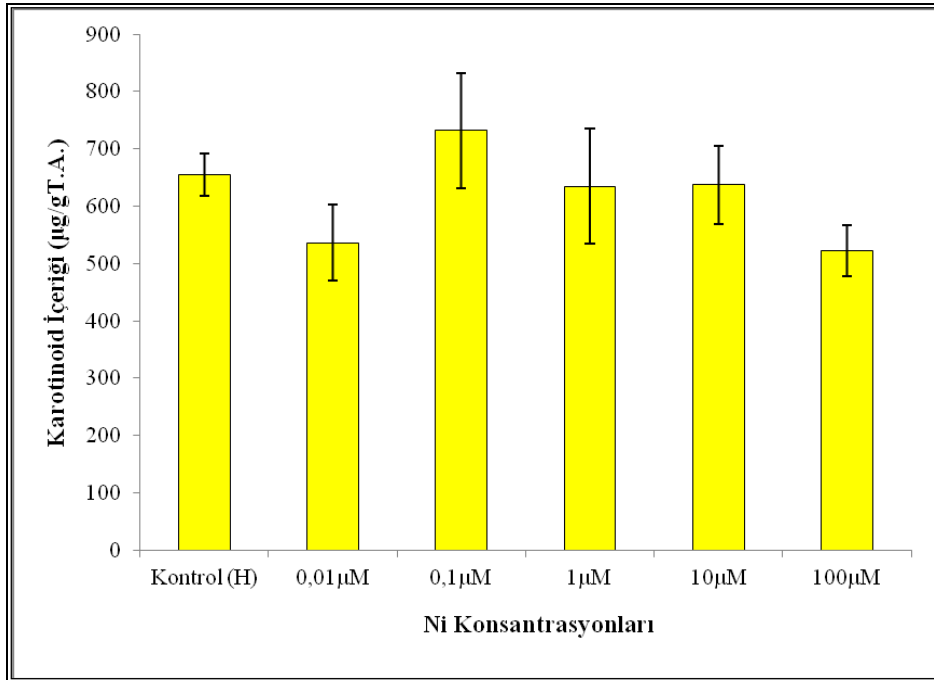
Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki karotenoid miktarları Şekil 8’de gösterilmiştir.



**Şekil 8.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının içerdikleri karotenoid miktarları

Bulgulardan da anlaşıldığı üzere, en yüksek karotenoid içeriğinin 1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulaması yapılmış fidelerde ve bu artışın kontrole göre %5 oranında olduğu belirlenmiştir (p<0.05). 100 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanan deney grubundaki miktarın ise kontrolün içerdikleri karotenoid miktarından düşük olduğu ve %25 oranında bulunduğu tespit edilmiştir (p<0.05).

Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki karotenoid miktarları Şekil 9’da gösterilmiştir.

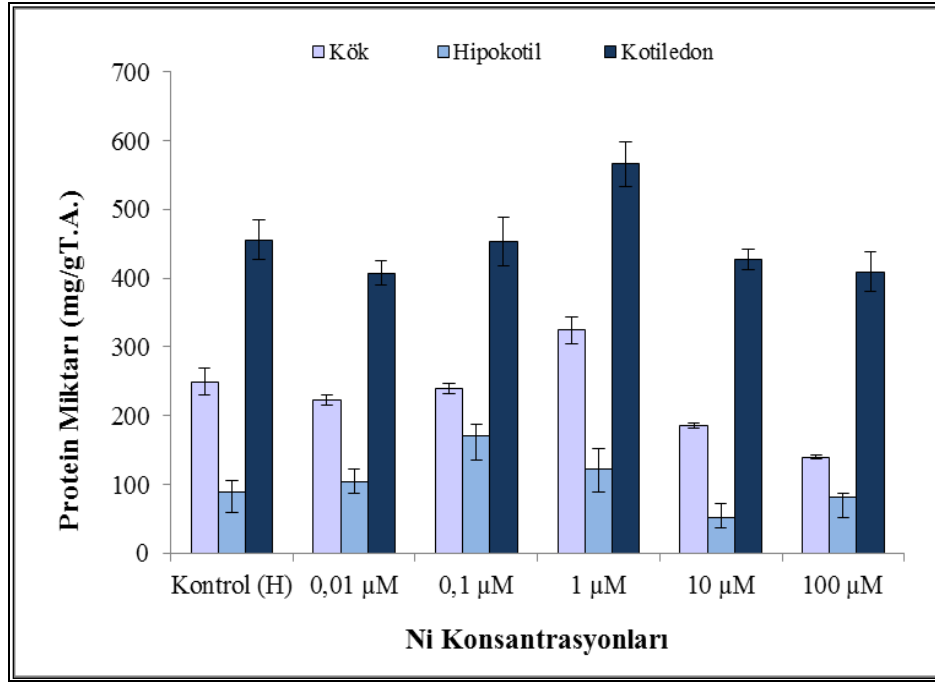


**Şekil 9.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının içerdikleri karotenoid miktarları. Karotenoid içeriği (µg/gT.A) olarak verilmiştir

Kontrol ve NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki karotenoid içeriklerine bakıldığında, 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda artan karotenoid içeriğinin, diğer NiSO<sub>4</sub> serilerinde kontrole yakın değerler verdiği saptanmıştır. Yapraklardaki maksimum karotenoid içeriği 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında gözlenirken (p<0.05), minimum değer 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda belirlenmiştir (p<0.05). 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> serisindeki artış kontrole göre %12'dir. 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonundaki azalış miktarının ise %18 oranında olduğu tespit edilmiştir.

## F. TOTAL ÇÖZÜNEBİLİR PROTEİN İÇERİĞİ

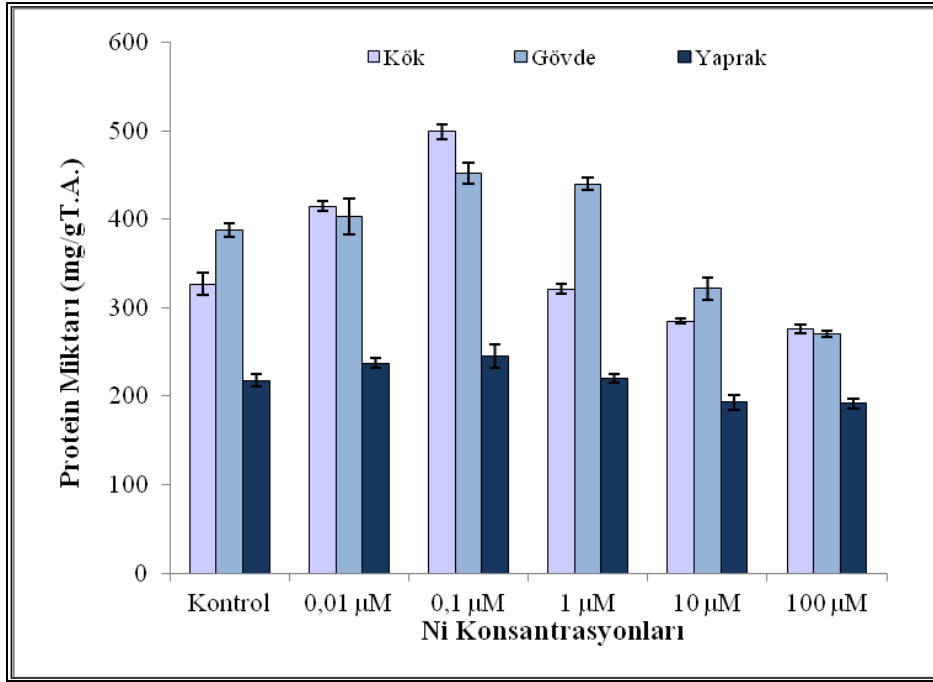
Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total protein miktarları Şekil 10'da gösterilmiştir.



**Şekil 10.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total protein miktarları

Kontrol ve NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, kotiledon ve hipokotillerindeki protein miktarlarına bakıldığında, 0.01 ve 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarındaki fidelerin köklerindeki total çözünebilir protein içeriğinde kontrole göre çok az bir azalma tespit edilmiştir. En yüksek protein içeriğinin 1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulaması yapılan fidelerin köklerinde olduğu (p<0.05) ve bu artışın kontrole kıyasla %29 oranında olduğu belirlenmiştir. En düşük protein içeriği ise 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonundaki fidelerin köklerindedir ve bu azalmanın kontrole göre %43 oranında olduğu saptanmıştır (p<0.05). Kontrol ile deney grupları karşılaştırıldığında ise en düşük protein içeriğinin 10 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonundaki hipokotillerde olduğu belirlenirken (%42 azalma) (p<0.05), en yüksek içeriklerin 0.1 ve 1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında olduğu saptanmıştır (p<0.05). 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında %93 oranında, 1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında ise %38 lik artışların olduğu kaydedilmiştir. Total protein içeriği en az 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> serisi fidelerinin kotiledonlarında bulunmuştur (kontrole göre %10 azalış) (p<0.05). Değişen NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarına bağlı olarak kontrole göre protein içeriklerinde artışlar olmuştur ve 1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda protein içeriklerinin en yüksek değere ulaştığı saptanmıştır (p<0.05). Maksimum protein içeriği tespit edilen 1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında kontrole göre %24 oranında bir artışın olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki total protein miktarları Şekil 11’de gösterilmiştir.

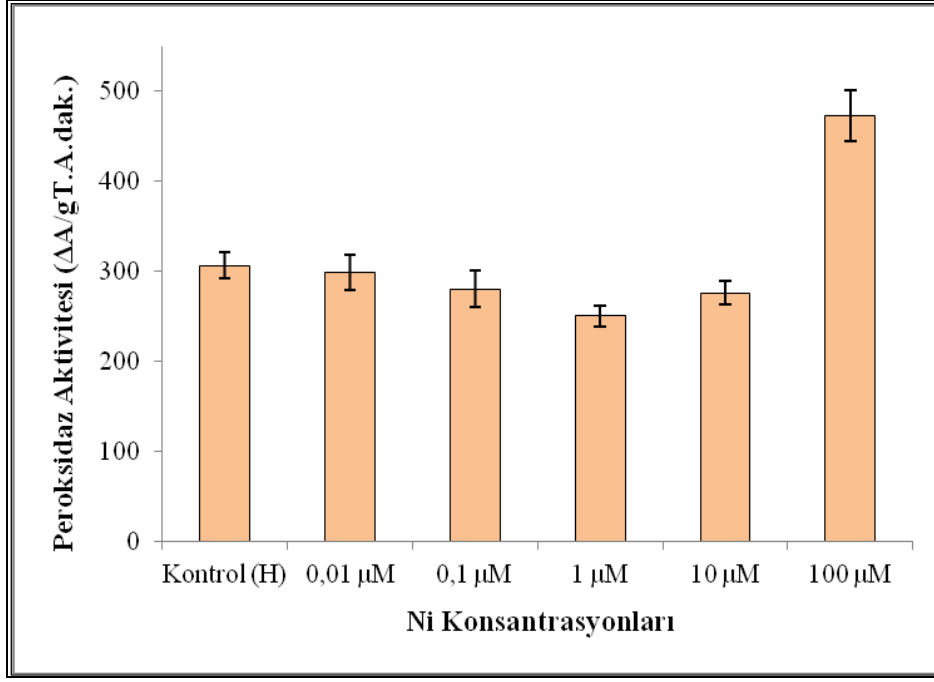


Şekil 11. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki total protein miktarları

Kontrol ve artan  $\text{NiSO}_4$  serileri uygulanmış 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki protein miktarlarında dikkate değer artışlar gözlenmiştir. Maksimum total protein içeriğinin 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelede olduğu ve bu oranın %53 olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). En düşük total protein içeriğinin 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulanan serilerde olduğu ve kontrole göre %15 oranında bir azalma bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kontrol ve Ni serileri uygulanmış brokoli fidelerinin gövdelerindeki protein miktarlarına bakılacak olursa, 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda kontrole göre %16 artan protein içeriği, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulanan seride %30 azalarak kontrolün altında bir değer vermiştir ( $p < 0.05$ ). Total protein içeriğinin 0.01 ve 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında da artışlar görülmüş ve 0.1  $\mu\text{M}$  daki değere yakın sonuçlar verdiği saptanmıştır. Bulgular incelendiğinde değişen  $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında yetiştirilen fidelelerin yapraklarında, en yüksek protein içeriğinin 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinde olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). 10 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında kontrol grubu ile hemen hemen yakın değerlerde olan protein miktarının 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulamasında protein içeriğinin %13 oranında artış ile maksimum değer gösterdiği kaydedilmiştir.

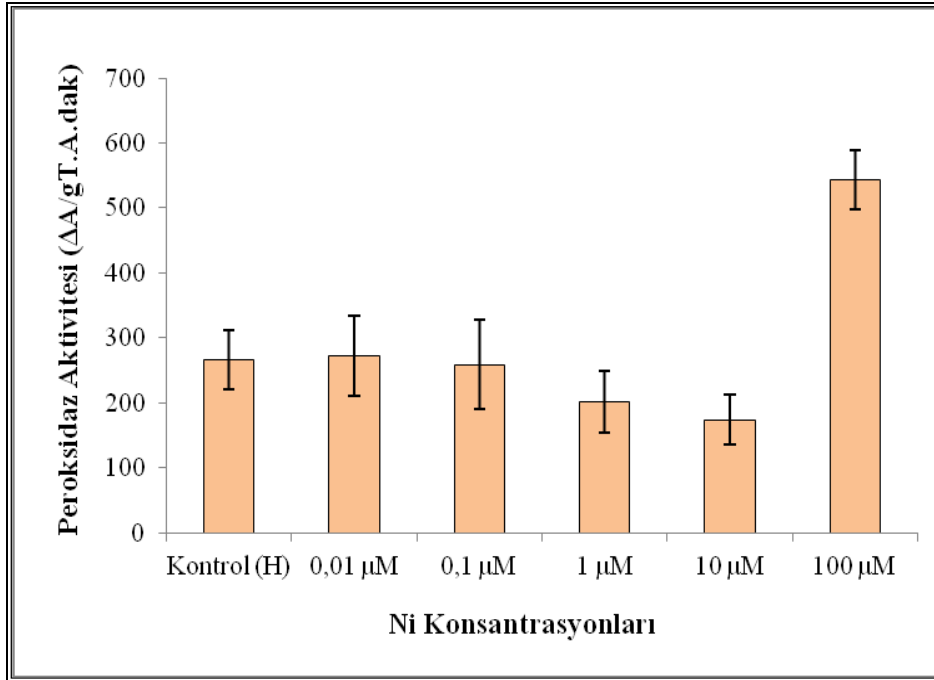
## G. PEROKSİDAZ (POD) AKTİVİTESİ

Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz (POD) enzimi aktiviteleri ile ilgili veriler Şekil 12-14’te verilmiştir.



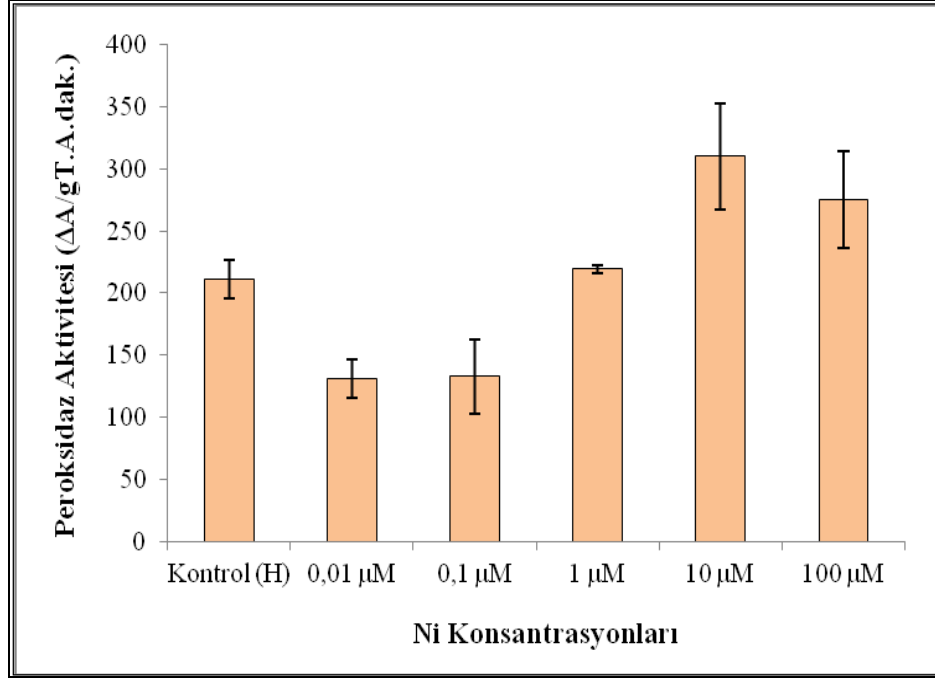
**Şekil 12.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 μM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki peroksidaz enzim aktivitesi

Elde edilen bulgulara göre, 100 μM NiSO<sub>4</sub> içeren bitkiler dışında, diğer tüm konsantrasyonların köklerindeki POD aktivitesinin kontrol bitkilerine kıyasla düşük olduğu görülmüştür. 100 μM NiSO<sub>4</sub> içeren deney grubu bitkilerin köklerindeki POD aktivitesinin kontrole göre %54 artmış olduğu saptanmıştır. En düşük aktivitenin 1 μM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda olduğu tespit edilmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında %18 oranında bir azalma olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 13.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 μM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin hipokotillerindeki peroksidaz enzim aktivitesi

Bulgulara göre, 10  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  grubu hipokotillerindeki POD aktivitesi diğer serilere göre düşük bulunmuştur. Bu azalmanın, kontrol bitkilerin hipokotillerindeki POD aktivitesi ile karşılaştırıldığında %34 oranında olduğu tespit edilmiştir. 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde maksimum değere ulaşan POD aktivitesinin %104'lük bir artış gösterdiği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). 0.01-0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda kontrole yakın değerlerde olduğu gözlenen aktivitenin, 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulamasında biraz azaldığı tespit edilmiştir.

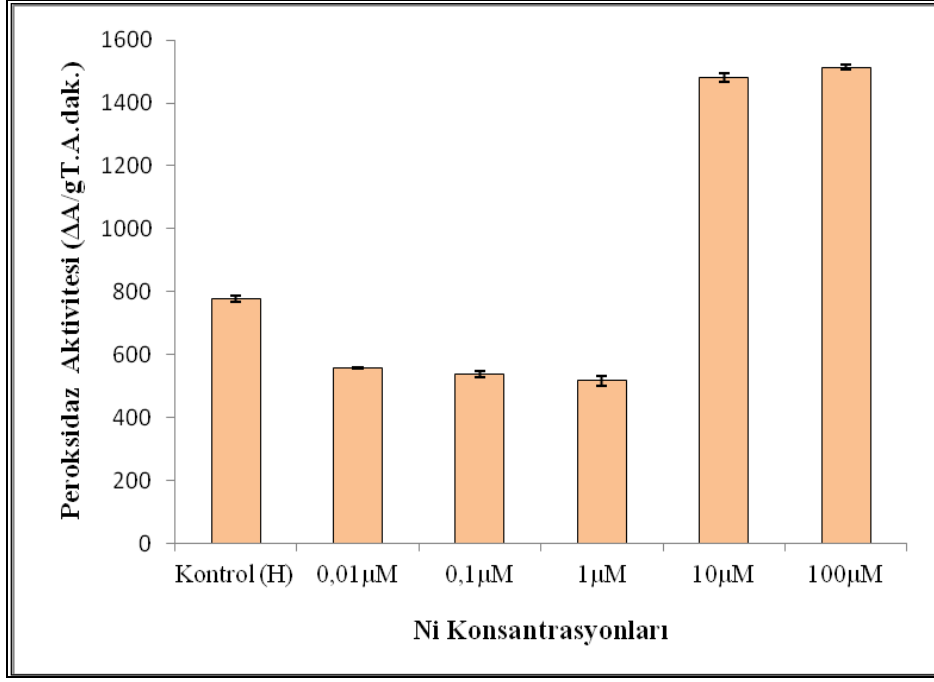


**Şekil 14.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz enzim aktivitesi

Kontrol grubu bitkilerin kotiledonlarındaki POD aktivitesi değeri deney serilerinin arasında bir değer almış, 0.01-0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında azalmış, 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda hemen hemen eşit değer vermiş ve 10-100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında ise tekrar artmıştır. Kotiledonlardaki en düşük enzim aktivitesi 0.01  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulamasında belirlenmiş ve kontrole göre %38 oranında bir azalma ( $p<0.05$ ), en yüksek enzim aktivitesi ise 10  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulamasında saptanmış ve kontrole kıyasla %47'lik bir artış tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

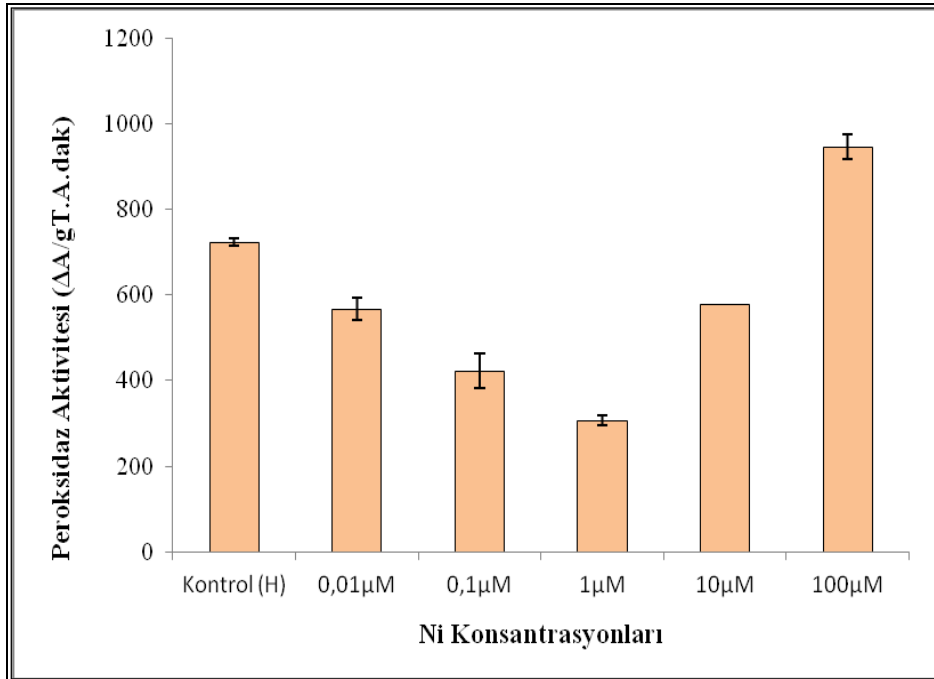
Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki peroksidaz (POD) enzimi aktiviteleri ile ilgili veriler Şekil 15-17'de verilmiştir.





**Şekil 15.** Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki peroksidaz enzim aktivitesi

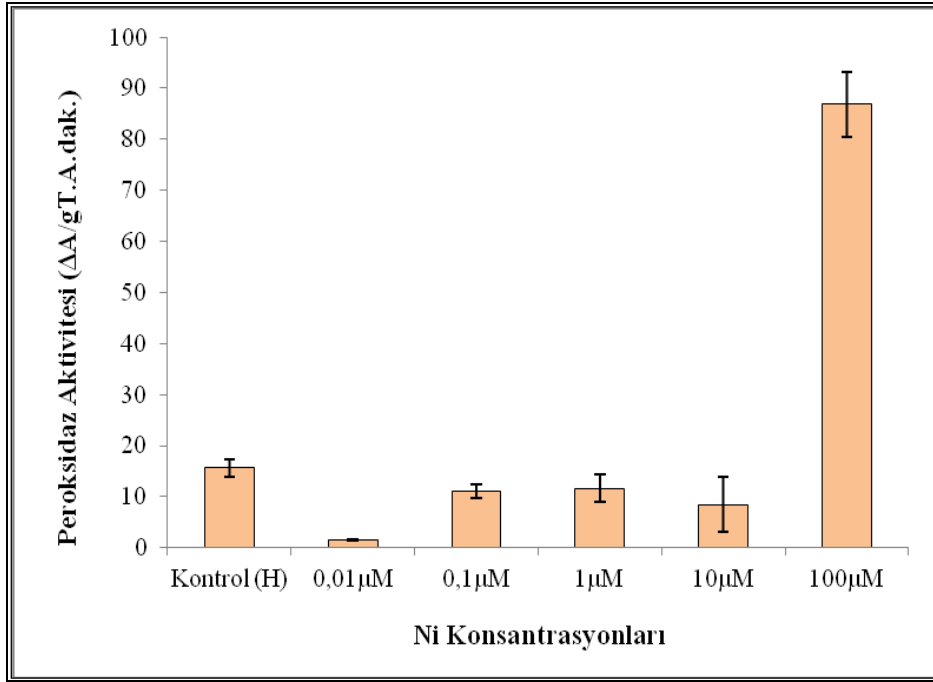
0,01-1 μM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında kontrole göre azalan peroksidaz enzim aktivitesi, 10 ve 100 μM NiSO<sub>4</sub> uygulanan fidelerin köklerinde belirgin şekilde artışlar göstermiştir. 1 μM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda kontrole göre %33 oranında azalan aktivitenin, 100 μM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda maksimum değere ulaştığı ve kontrole kıyasla %95 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir (p<0,05).



**Şekil 16.** Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin gövdelerindeki peroksidaz enzim aktivitesi

100 μM NiSO<sub>4</sub> uygulanan fidelerin gövdeleri dışında, uygulanan diğer tüm konsantrasyonlardaki fidelerin peroksidaz aktivitesi değer olarak kontrolün altında kalmıştır. 1 μM NiSO<sub>4</sub> uygulanan fidelerdeki enzim aktivitesi minimum değer vererek kontrole göre %57'lik bir azalma göstermiştir

( $p < 0.05$ ). En yüksek enzim aktivitesinin ise %31 oranında bir artış ile 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisinde yetişen fidelerin gövdelerinde olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

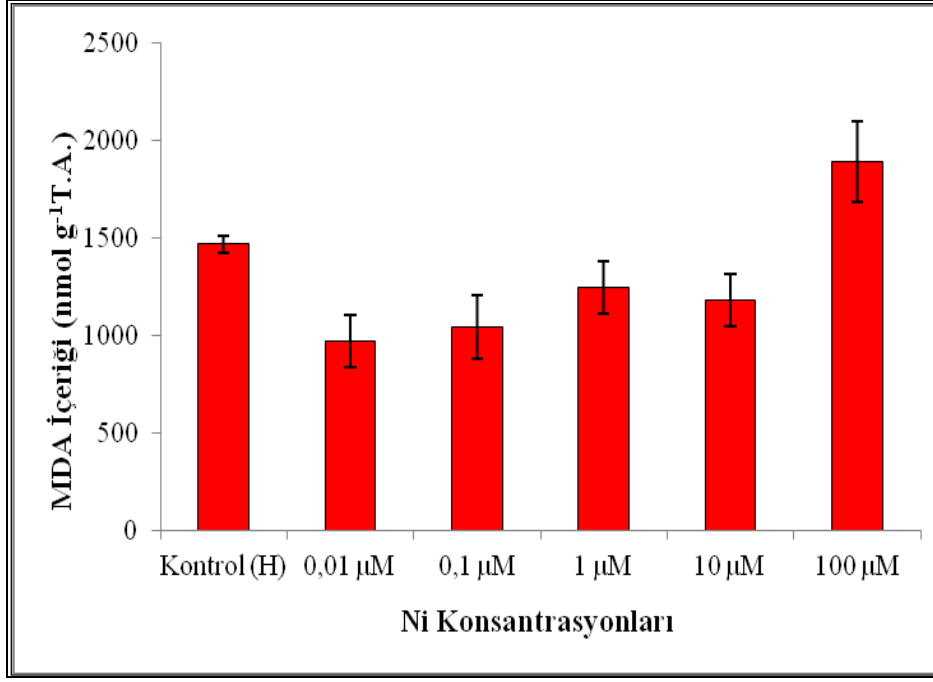


*Şekil 17. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki peroksidaz enzim aktivitesi*

Kontrol grubunda da düşük olan peroksidaz aktivitesi 0.01-10  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serilerinde daha da azalmış, ancak 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda kritik bir şekilde artış göstermiştir. Maksimum aktivite değeri gösteren 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisinde kontrole göre %456 oranında artışın olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

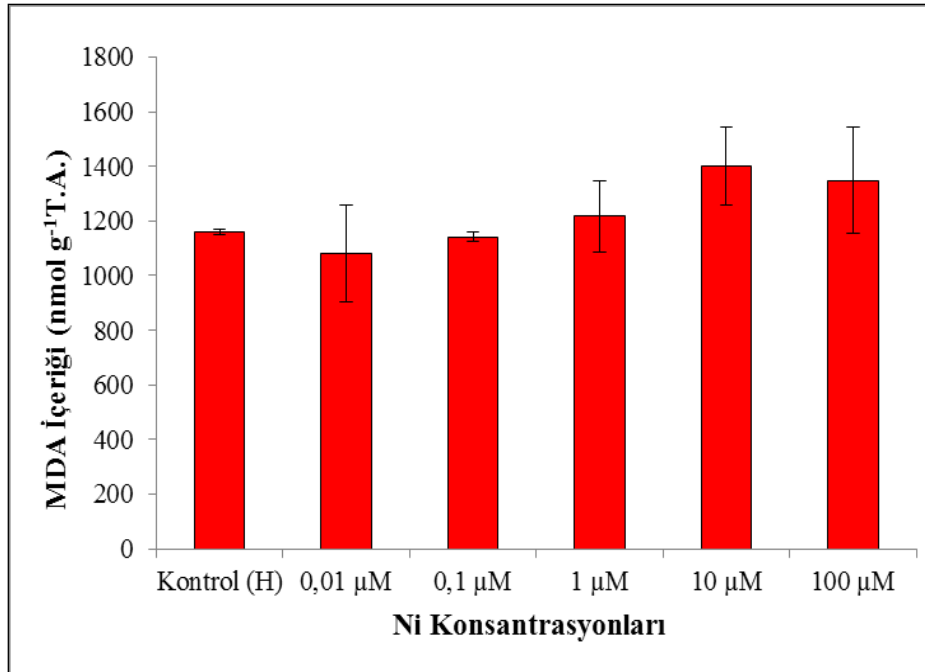
## H. MALONDİALDEHİT (MDA) İÇERİĞİ

Nikel uygulamalarının brokoli fidelerinin çeşitli kısımlarındaki lipit peroksidasyonu üzerindeki etkileri, yıkım ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) miktarının ölçülmesi ile tespit edilmiştir. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki malondialdehit (MDA) içeriği ile ilgili veriler Şekil 18-20'de verilmiştir.



**Şekil 18.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki malondialdehit (MDA) içeriği

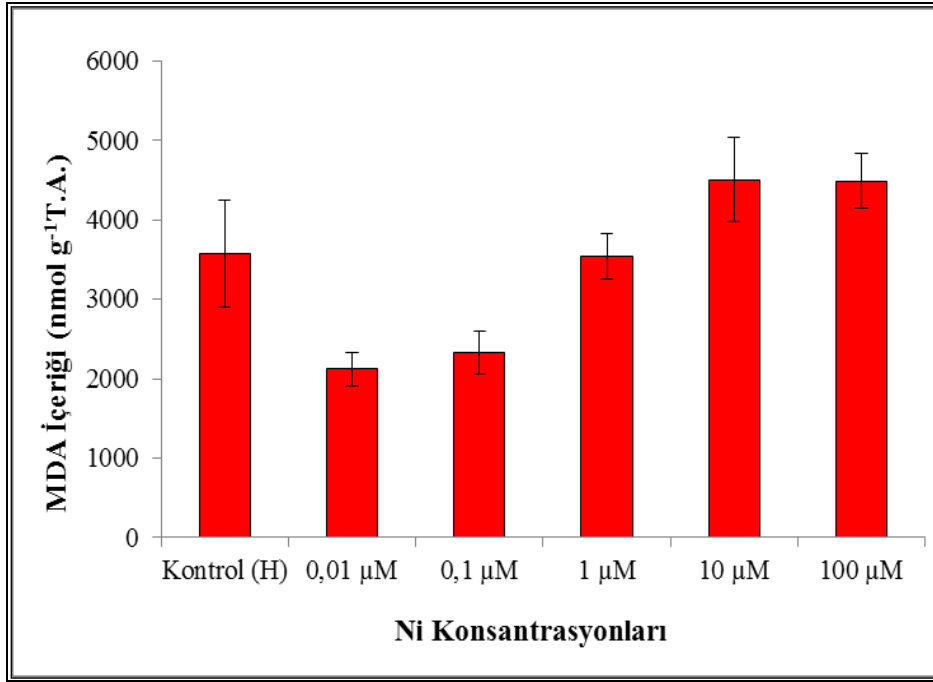
100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren bitkiler dışında, diğer tüm konsantrasyonların köklerindeki MDA içeriğinin kontrol bitkilerine kıyasla düşük olduğu görülmüştür. 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren deney grubu bitkilerin köklerindeki MDA içeriğinin kontrole göre %29 artmış olduğu saptanmıştır. En düşük MDA içeriğinin 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda olduğu tespit edilmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında %34 oranında bir azalmanın olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 19.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin hipokotillerindeki malondialdehit (MDA) içeriği

9 günlük brokolide, 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> grubu hipokotillerinde MDA içeriği diğer serilere göre düşük bulunmuştur. Bu azalmanın, kontrol bitkilerin hipokotillerindeki MDA içeriği ile karşılaştırıldığında

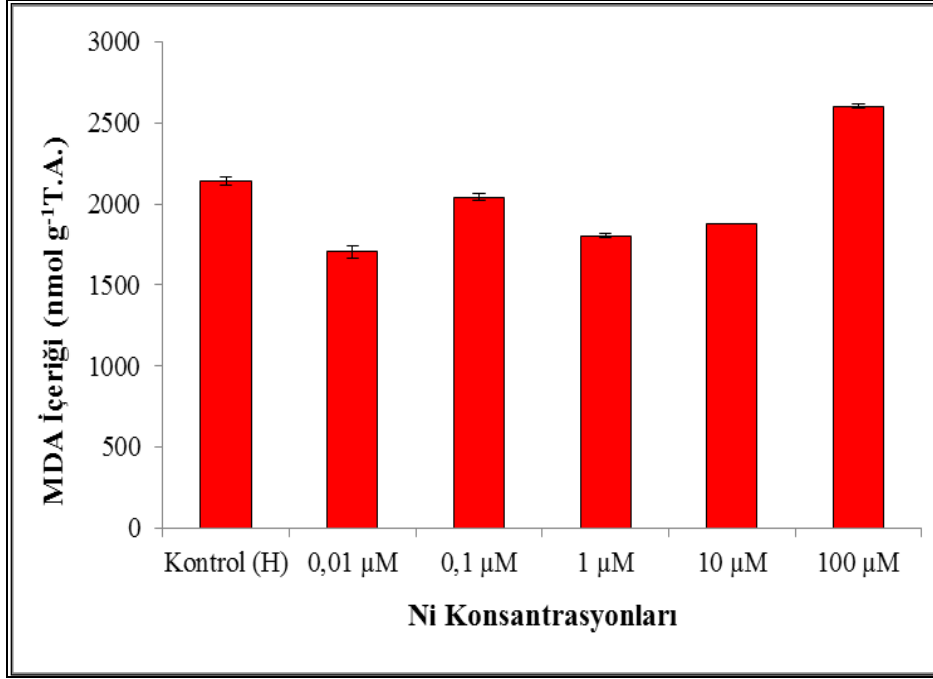
%7 oranında olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).  $10 \mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde maksimum değere ulaşan MDA içeriğinin %21'lik bir artış sergilediği belirlenmiştir.



*Şekil 20. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarındaki malondialdehit (MDA) içeriği*

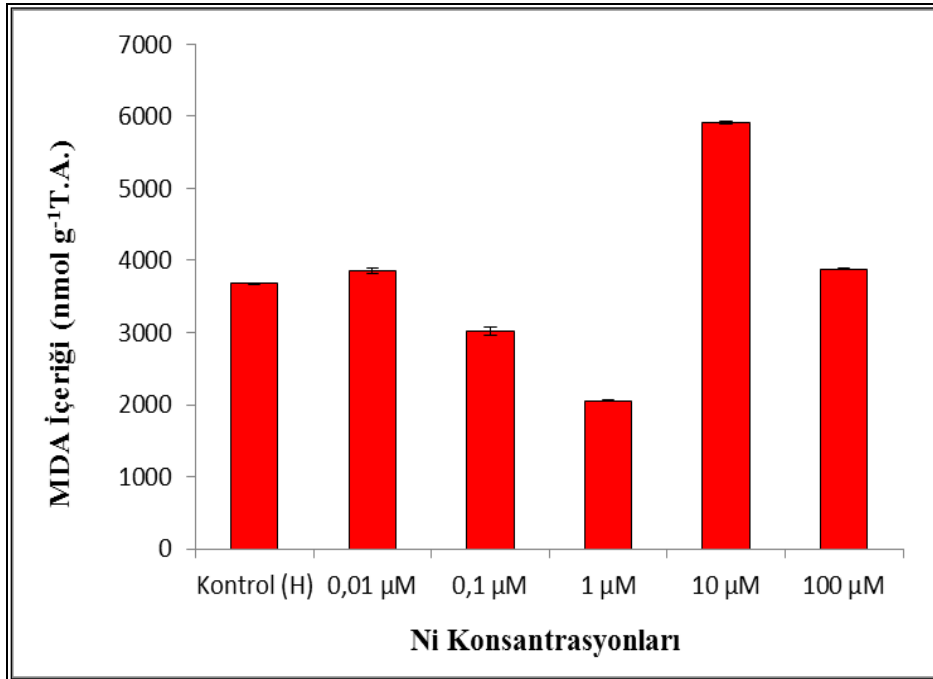
9 günlük kontrol grubu bitkilerinin kotiledonlarındaki MDA içeriği deney serilerinin arasında bir değer almış,  $0.01-0.1 \mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında azalmış ve  $1-100 \mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında ise tekrar artmıştır ( $p<0.05$ ). Kotiledonlardaki en düşük MDA  $0.01 \mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulamasında belirlenmiş ve kontrole göre %40 oranında bir azalma, en yüksek MDA içeriği ise  $10 \mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulamasında saptanmış ve kontrole kıyasla %26'lık bir artış tespit edilmiştir.

Kontrol ve  $0.01, 0.1, 1, 10, 100 \mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki malondialdehit (MDA) içeriği ile ilgili veriler Şekil 21-23'te verilmiştir.



**Şekil 21.** Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki malondialdehit (MDA) içeriği

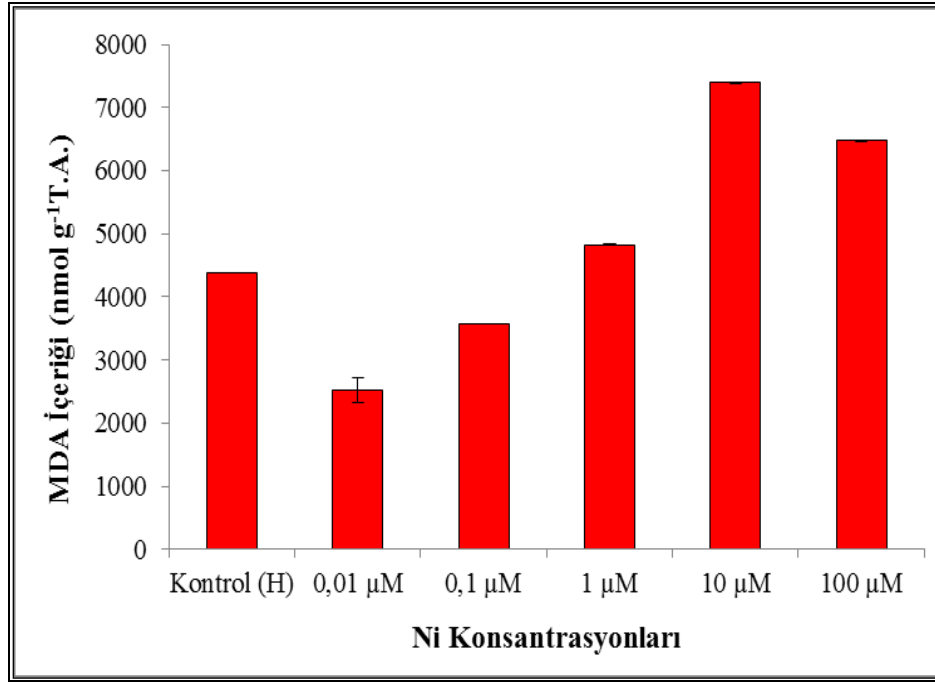
30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki en yüksek MDA içeriğinin 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda olduğu saptanmıştır (p<0.05). 0,01 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda kontrole göre %20 oranında azalan MDA içeriğinin (p<0.05), 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda maksimum değere ulaştığı ve kontrole kıyasla %21 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir.



**Şekil 22.** Kontrol ve 0,01, 0,1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin gövdelerindeki malondialdehit (MDA) içeriği

1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda azalan MDA içeriği, 10 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanan 30 günlük fidelerin gövdelerinde belirgin bir şekilde artış göstermiştir (p<0.05). 1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda kontrole

göre %44 oranında azalan MDA'nın, 10 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda maksimum değere ulaştığı ve kontrole kıyasla %61 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir.



**Şekil 23.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarındaki malondialdehit (MDA) içeriği

0.01 ve 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında düşük olan MDA içeriği 1, 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında artış göstermiştir (p<0.05). 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda kontrole göre %46 oranında azalan MDA'nın, en yüksek değerinin 10 µM NiSO<sub>4</sub> serisinde ve kontrole göre %68 oranında artış olduğu tespit edilmiştir.

## I. NİKEL İÇERİĞİ

Nikel içeriği, dormant (imbibisyon olmadan), kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland besi çözeltilerinde 24 saat tutulan brokoli tohumlarında belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Dormant, kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serilerinde 24 saat tutulan tohumlardaki Ni içeriği (mg/kg kuru ağırlık) (± değerler, standart sapmayı göstermektedir)

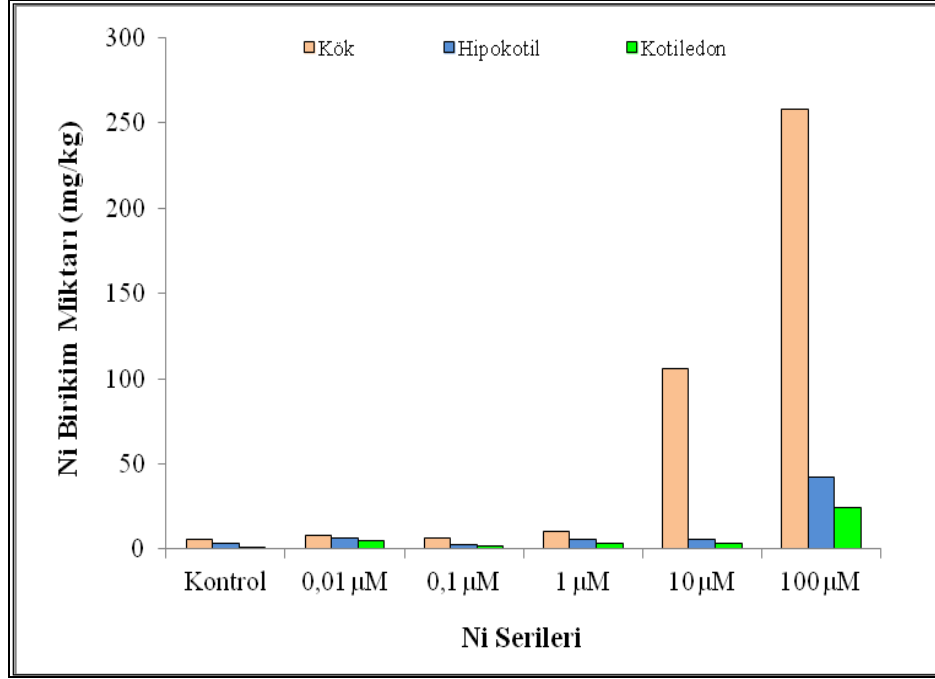
| Seriler (µM)         | Ni İçeriği (mg/kg kuru ağırlık)                 |
|----------------------|---|
| <b>Dormant Tohum</b> | 5.25.10 <sup>-6</sup> ± 3.77.10 <sup>-6</sup> * |
| <b>Kontrol (H)</b>   | 4.75.10 <sup>-6</sup> ± 2.87.10 <sup>-6</sup> * |
| <b>0.01 µM</b>       | 1.66.10 <sup>-5</sup> ± 6.02.10 <sup>-6</sup> * |
| <b>0.1 µM</b>        | 2.15.10 <sup>-5</sup> ± 1.30.10 <sup>-5</sup> * |
| <b>1 µM</b>          | 6.22.10 <sup>-5</sup> ± 5.72.10 <sup>-5</sup> * |
| <b>10 µM</b>         | 3.64.10 <sup>-4</sup> ± 3.81.10 <sup>-5</sup> * |
| <b>100 µM</b>        | 5.16.10 <sup>-3</sup> ± 1.68.10 <sup>-3</sup> * |

\*p<0.05 değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren deney serilerini göstermektedir.

Kullanılan brokoli tohumlarında 5.25.10<sup>-6</sup> mg/kg kuru ağırlık Ni bulunmuştur. Dormant ve kontrol grubu brokoli tohumlarında nikel içeriği neredeyse birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, uygulama yapılan brokoli tohumlarında artan nikel konsantrasyonuna paralel olarak biriken

Ni miktarı da artış göstermiştir. En düşük Ni miktarı kontrol grubu bitkilerin tohumlarında, en yüksek Ni birikim miktarının ise 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisinde olduğu tespit edilmiştir.

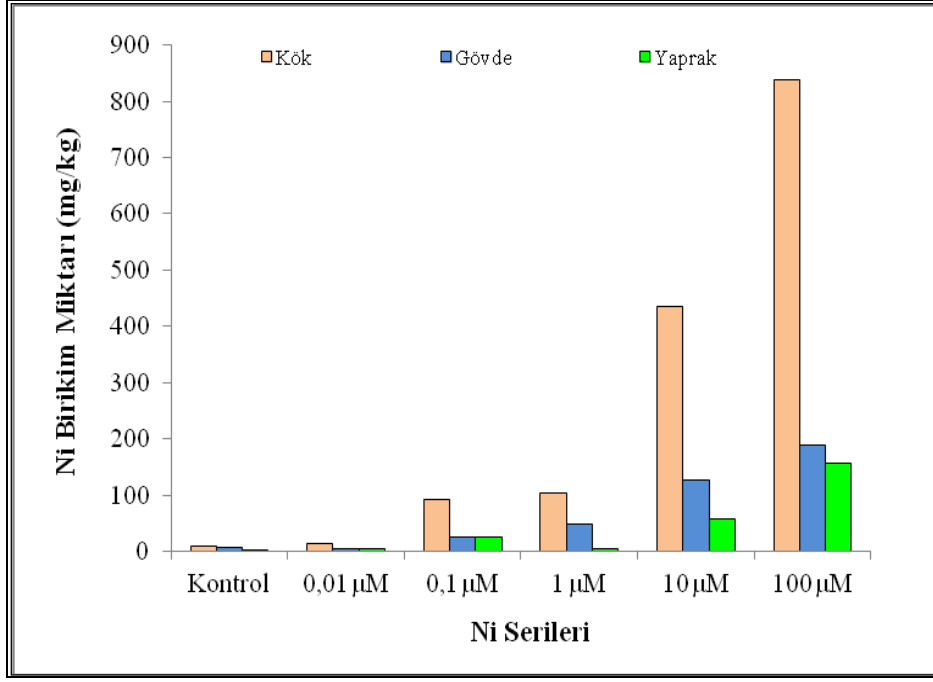
Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki Ni birikim miktarları ile ilgili veriler Şekil 24'te verilmiştir.



**Şekil 24.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland serileri uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki nikel birikim miktarları (mg/kg kuru ağırlık)

Nikelin en çok köklerde birikim gösterdiği ve içeriğinin kontrolde hipokotilden 1.8 kat, kotiledonlardan ise yaklaşık 6 kat fazla olduğu saptanmıştır. Her bir bitki kısmında konsantrasyona bağlı olarak artan nikel içeriğinin en fazla 258.3 mg/kg kuru ağırlık olmak üzere 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulanan 9 günlük brokoli fidelerinin köklerinde bulunduğu belirlenmiştir. Nikelin, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda kontrole göre sırasıyla köklerde 44.6 kat, hipokotilde 13.3 kat, kotiledonlarda ise 25.18 kat artışa neden olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren Hoagland besi çözeltilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki Ni birikim miktarları ile ilgili veriler Şekil 25'te verilmiştir.



**Şekil 25.** Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren Hoagland serileri uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki nikel birikim miktarları (mg/kg kuru ağırlık)

30 günlük brokoli fidelerinde, 9 günlük bitkilerde olduğu gibi nikelin en çok köklerde birikim gösterdiği ve içeriğinin kontrolde gövdeden 1.4 kat, yapraklardan ise yaklaşık 3.2 kat fazla olduğu saptanmıştır. Nikel içeriğinin en fazla 839.1 mg/kg kuru ağırlık olmak üzere 100 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanan 30 günlük brokoli fidelerinin köklerinde bulunduğu belirlenmiştir. Nikelin, 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda kontrole göre sırasıyla köklerde 81.5 kat, gövdede 27.18 kat, yapraklarda ise 48.11 kat artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda gövde ve yapraktaki Ni birikim oranlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür.

## **IV. TARTIŞMA VE SONUC**

Bu araştırmada, *Brassica oleracea* L. var. *italica* bitkisinin çimlenme ve fide evresindeki kök, gövde ve yapraklarındaki nikel birikimi ve bunun büyüme, gelişme ve pigment içeriği üzerindeki etkileri fizyolojik yönden incelenmiştir. Bitkiler tohumun çimlenme ve erken fide gelişmesi sürecinde farklılaşan çevresel koşullara karşı oldukça hassas olup hasara uğradığı takdirde bitkilerin yaşam döngüsü daha başlamadan son bulabilmektedir [40], [41]. Ağır metallerin bitkilerin hücre ile dokularında gösterdiği dağılım ortamdaki konsantrasyonlarına, etki etme sürelerine, fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre değişmektedir [42], [43]. Marschner [1] tarafından, aşırı nikel konsantrasyonlarının, bitkilerin çimlenme evresinden başlayarak büyümeleri ve gelişmeleri dönemlerinde çeşitli toksik etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir. Brokoli bitkisinde artan NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarına bağlı olarak çimlenme yüzdesinin azaldığı saptanmıştır. 5. günde kontrol grubunda %98.46 olan çimlenme yüzdesinin, 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda bulunan tohumlarda kontrole göre %84 oranında azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar, brokolide tohum çimlenmesinin NiSO<sub>4</sub>'ün düşük konsantrasyonlarından fazla etkilenmezken; 1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonundan sonra çimlenmede inhibisyonların meydana geldiğini ortaya koymaktadır. Bu düşüşün konsantrasyona bağlı olarak giderek arttığı kaydedilmiştir. Tohum çimlenmesi üzerine nikelin toksik etkilerine dair pek çok çalışma bulunmaktadır. Espen ve diğ. [44] tarafından *Raphanus sativus* ile yaptıkları bir çalışmada tohumlara artan konsantrasyonlarda nikel uygulamasının, çimlenmenin yanı sıra bitkinin büyüme ve gelişmesinin de olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada, *Brassica juncea* tohumlarının çimlenmesinin nikel uygulaması ile önemli ölçüde azaldığı görülmüştür [45]. Citterio ve diğ. [46] tarafından yapılan başka bir çalışmada, yüksek oranda nikel bulunan ortamda çimlenen *Cannabis sativa* tohumlarında, çimlenmenin azaldığı saptanmıştır. Nikelin artan dozlarının,



*Helianthus annuus* bitkisinde çimlenmeyi olumsuz yönde etkilediği yapılan bir araştırmada gösterilmiştir [47]. Bununla birlikte, *Oryza sativa* L. [48] ve *Medicago sativa* L. [49] bitkilerinde nikelin düşük dozlarının çimlenmeyi teşvik edici ama artan dozlarının geriletici etkileri de rapor edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda Ni uygulamasının *Helianthus annuus* fidelerinde çimlenme oranını önemli ölçüde teşvik ettiği gösterilmiştir [50]. *Echinochloa colona* ile yapılan bir çalışmada, Ni bulunan ortamlarda yetişen bitkilerin çimlenme ve büyüme oranının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [51]. Yapılan bu araştırmada da *Brassica oleracea* L. var. *italica* bitkisinde nikelin 1 µM NiSO<sub>4</sub> den yüksek konsantrasyonlarda çimlenmede inhibisyonlar meydana getirdiği ve buna bağlı olarak çimlenmeyi etkileyebileceği söylenebilir.

Metallerin değişik şekillerde kök, gövde ve yaprak büyümesine mani olabildiği, bu durumun bitkinin türü ve yetiştirilme koşullarına göre farklılaşabildiği rapor edilmiştir [52]. Ortamdaki solüsyonla doğrudan temasta olan köklerin, gövdenin ve yaprağın büyüme oranına göre daha çok etkilenmesi olağan karşılanmaktadır. Bitkilerin ağır metallerin yarattığı stresi hafifletebilmek için çeşitli tolerans ve direnç mekanizmalarından birinin metallerin kökte tutularak gövdeye dağılmasının engellenmesi olduğu bildirilmiştir [53], [54]. 9 günlük brokoli fidelerinde nikelin bütün konsantrasyonlarının kök büyümesini teşvik ettiği görülmüş ve bu büyümenin en fazla 1 µM NiSO<sub>4</sub> içeren besi ortamında yetişen fidelerde olduğu belirlenmiştir. Hipokotil uzunluklarında ise, en fazla artışın 1 µM konsantrasyonda meydana geldiği tespit edilmiştir. Değişen NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonları ile hipokotil uzunlukları en az değeri 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında verdiği belirlenmiştir. Ayrıca 30 günlük brokoli fidelerinde de kök uzunluğunun en yüksek değerinin 1 µM NiSO<sub>4</sub> içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde olduğu tespit edilmiştir. En fazla gövde uzunluğu 10 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonunda saptanmıştır. En düşük kök ve gövde uzunluğunun ise 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> serisinde olduğu belirlenmiştir.

Brokoli fidelerinde artan nikel konsantrasyonlarının büyüme üzerine olan olumsuz etkileri daha önce yapılmış diğer çalışmalardaki bulgularla benzerlik göstermektedir. *Cannabis sativa*'da tohum çimlenmesi, sürgün-kök uzunlukları, sürgün-kök taze ağırlıklarında inhibisyonların olduğu [46]; *Silene paradoxa*'da [55], *Zea mays*'ta [56] ve *Zea mays*, *Glycine max* ve *Triticum* bitkilerinin [57] kök büyümesinde önemli derecede inhibisyonların olduğu yönünde bulgular vardır. Yang ve diğ. [58]'nin bulguları, Ni'nin *Brassica oleracea* L. ve *Lolium perenne* L. bitkilerinde gövde ve kök büyümesini aynı derecede azaltırken, *Zea mays* ve *Trifolium repens* L.'in köklerinin artan Ni konsantrasyonlarına karşı gövdeden daha duyarlı olduklarını göstermektedir. Ayrıca bu bulguların aksine Rahmatullah ve diğ. [59] tarafından, nikelin *Lycopersicon esculentum*'un sürgün ve kök büyümesini teşvik ettiği gösterilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre de değişen NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarının brokoli fidelerinin büyümesini etkilediği söylenebilir.

*Arabis paniculata*, *Brassica juncea* gibi ağır metallere karşı toleranslı olan bitkiler dışında bazı ağır metallerin bitki büyümesini azalttığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır [60],[61]. 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren seride yetiştirilen 9 günlük brokoli fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarının taze ağırlık miktarlarının diğer serilerden düşük çıkması yapılan çalışmalarda sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Gajewska ve diğ. [62], bitki ağırlığındaki azalmanın kısmen içsel su dengesindeki bozukluklar ve bitki dokularının su içeriğindeki azalma ile bağlantılı olabileceğini belirtmişlerdir. Taze ağırlık miktarlarındaki bu azalmanın yüksek ağır metal konsantrasyonlarındaki su içeriğindeki azalmanın yanı sıra protein yıkımının teşvik edilmesinden kaynaklandığı da düşünülmektedir [63, 64]. Aynı zamanda fidelerin kök ve hipokotillerinde 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> serilerinde kuru ağırlık miktarlarının azaldığı, kotiledonlarında ise 100 µM NiSO<sub>4</sub> serisinde azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Athar ve Ahmad'ın [65] yüksek konsantrasyonda Ni uygulanan buğday fidelerindeki büyüme ile ilgili yaptıkları çalışmadan elde ettikleri veriler ile benzerlik göstermektedir. 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> serilerinde yetiştirilen 30 günlük brokoli fidelerinin taze ağırlık miktarları kontrole göre düşük bulunmuş, yapraklar haricinde kuru ağırlık miktarlarının 1 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonu dışında diğer serilerde azaldığı kaydedilmiştir. Rahman ve diğ. [66]'nin arpa bitkisi ile yaptıkları bir çalışmada, Ni-eksik bitkiler ile karşılaştırıldığında, bitkilerin kuru ağırlığı 10 µM Ni konsantrasyonuna kadar artmıştır, ancak en yüksek değerler 1 µM Ni de elde edilmiştir ve bu veriler ışığında 1-10 µM Ni'nin arpa bitkilerinin optimum büyümesi için gerekli olduğu düşünülmüştür. Elde edilen bulgular, yapılan

bu çalışma ve Brown ve diğ. [67]'nin sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bu bulgular, ağır metaller tarafından hücre bölünmesinin ya da hücre uzamasının inhibe edilmesi ya da her ikisinin birlikte kombinasyonu ile doğrudan kök ve sürgün büyümesinin inhibe edildiğini göstermektedir [68, 69]. Sonuç olarak, büyüme parametreleri dikkate alındığında, 10 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında bitki büyüme ve gelişmesinin inhibe edildiği görülmüştür.

Ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla en sık yapılan çalışmalardan birisi bitkideki klorofil içeriğinin belirlenmesidir [62], [66], [70], [71]. Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serileri uygulanan 9 ve 30 günlük brokoli fidelerinin kotiledon ve yapraklarındaki total klorofil ve total karotenoid miktarları incelenmiş ve nikel konsantrasyonu artışının pigment içeriği üzerinde önemli etkileri olduğu gözlenmiştir. 9 günlük brokoli fidelerinin total klorofil içeriği üzerine 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunun toksik etkiler meydana getirdiği gözlenmiştir. Fide gelişiminin en iyi olduğu konsantrasyonun 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  olduğu belirlenmiştir. En düşük total klorofil içeriğinin ise 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  içeren besi çözeltilerinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarında olduğu tespit edilmiştir. 30 günlük brokoli fidelerinin yapraklarının total klorofil içeriklerine bakıldığında ise, 0.01  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisindeki azalmanın ardından 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisindeki en yüksek artışı diğer serilerde kademeli olarak düşüş takip etmiştir. En düşük total klorofil içeriği ise 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda bulunmuştur. Bazı araştırmacılar tarafından nikel bağli olarak, farklı bitki türlerinde klorofil miktarında azalış olduğu bildirilmiştir. Cu-Ni bulunduran toprakta yetişen *Empetrum nigrum*'un klorofil içeriğinin kontrol bitkilerine kıyasla azaldığı kaydedilmiştir [72]. Yapılan bir çalışmada, *Raphanus sativus* bitkisine artan nikel sülfat konsantrasyonları uygulandığı zaman, klorofil a, klorofil b ve karotenoid içeriklerinde önemli azalmaların olduğu gösterilmiştir [73]. Bu durum, yüksek bitkilerde klorofil biyosentezinin metaller tarafından inhibe edildiğini göstermektedir [74],[75]. Fotosentetik pigmentler üzerine ağır metallerin etkisi, kloroplast membranlarının peroksidasyonu ile oksidatif stres ve sonrasında hasara neden olan lokal olarak yaprak kloroplastlarında aşırı biriken ağır metaller nedeniyle olabilmektedir [61]. Ayrıca, ağır metaller, doğrudan enzimlerin -SH gruplarına bağlanarak kloroplastın yapısı ve fonksiyonunu tahrip edebilirler ve klorofil biyosentezini etkileyebilirler [76]. Ağır metal stresinde klorofil içeriğinde belirlenen azalış, klorofilin biyosentez reaksiyonunda görev alan enzimlerin ağır metaller tarafından engellendiğinin bir neticesi olabilir. Serbest radikallerin oluşumunda ağır metallerin etkisinin bulunduğu ve bu şekilde tilakoid membran lipitlerinin oksidatif yıkımına sebebiyet verdiği görülmüştür [77], [78]. Bu ve benzeri durumlara klorofil yıkımındaki artış ya da sentezinin engellenmesi ile klorofil miktarının azalmış olabileceği düşünülmektedir [63]. Diğer yandan nikelin klorofil içeriğini artırdığına yönelik çalışmalarda mevcuttur [110]. *Albizia Iebek* bitkisinde nikelin, kök ve sürgün büyümesi, yaprak alanı ve biyokütlesi ile yapraklardaki klorofil, protein, karbonhidrat ve şeker üzerine teşvik edici etkilerinin olduğu Tripathi ve diğ. [79] tarafından gösterilmiştir. Mısır ve yulaf bitkilerine ekim öncesinde Ni uygulamasının total klorofil ve karotenoid miktarlarında artışa neden olduğu gözlenmiştir [70], [80]. Ekim öncesinde düşük konsantrasyonlarda Ni uygulanan patates tuberlerinde klorofil, karoten ve ksantofil sentezinin arttığı tespit edilmiştir [70], [81].

Karotenoidler antioksidan özelliği olan, hücreyi stres ile oluşan sitotoksik radikallerin oksidatif zararlarından koruyan düşük molekül ağırlıklı pigmentlerdir [82]. Antioksidan savunma sisteminde önemli yeri olan karotenoid pigmenti miktarının belirlenmesi bitkinin strese karşı cevabında önemli olup, 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının karotenoid içeriklerinin 0.1 ve 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında arttığı, 0.01, 10 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında ise azalma gösterdiği tespit edilmiştir. 30 günlük fidelerin yapraklarının karotenoid içeriklerine bakıldığında ise, en fazla artışın 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulanan fidelerde olduğu görülmüştür. En düşük karotenoid içeriği ise yine 9 günlük bitkilerde olduğu gibi 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulanan brokoli fidelerinde tespit edilmiştir. Bu artışlar, Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu'nun [52] Ni uygulanmış fasulye fidelerinin yapraklarındaki karotenoid içeriğindeki artış ve bezelye bitkilerinde Ni uygulaması ile karotenoid oluşumunun teşvik edildiğinin gösterildiği [83] çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar ile ilgili olarak, farklı konsantrasyonlarda Ni uygulanmış 9 ve 30 günlük fidelerin kotiledon ve yapraklarında ölçülen karotenoid içeriklerinin bitkinin organlarına ve Ni konsantrasyonuna bağli olarak değişebileceği söylenebilir.

Ni uygulanan 9 ve 30 günlük brokoli fidelerinin farklı kısımlarındaki protein miktarları da analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre 9 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki total protein içeriğinin 0.01 ve 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serilerinde azaldığı, 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisinde arttığı, 10 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında ise tekrar azaldığı belirlenmiştir. 30 günlük brokoli fidelerinin köklerindeki total protein içeriğinin ise 0.01 ve 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serilerinde arttığı, 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serisinde kontrole yakın olduğu, 10 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonlarında ise tekrar azaldığı tespit edilmiştir. 9 günlük fidelerin hipokotil bulgularına göre, 0.01, 0.1 ve 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serilerinde artış görülürken, 10 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serilerinde protein içeriğinde azalmaların olduğu tespit edilmiştir. 30 günlük fidelerin gövde bulgularının, 9 günlük bitkilerin hipokotil bulguları ile benzer olduğu görülmüştür. 9 günlük brokoli fidelerinin kotiledonlarının protein içeriği köklerdeki bulgularla benzer olup 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonu dışında diğer tüm serilerde azalmalar kaydedilmiştir. Değişen  $\text{NiSO}_4$  uygulamalarında 30 günlük fidelerin yapraklarındaki protein içeriklerine göre, 0.01, 0.1 ve 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  serilerinde yetişen fidelerin yapraklarında artış görülürken, 10 ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  besin çözeltilerindeki fidelerin yapraklarında protein içeriğinde azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Total çözünebilir protein içeriğinin bitkilerde ölçülmesi, ağır metal toksisitesi gibi çeşitli stres koşulları altında hücrelerin fizyolojik durumlarının belirlenmesinde önemli bir kriterdir [64], [84]. Ni eksikliği sırasında gözlenen fizyolojik anormallikler Ni'nin birçok fizyolojik olayda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bununla ilgili olarak Ni'nin metabolik etkiler ile bağlantılı olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır [5], [85]. Ni'nin en belirgin etkilerinden biri protein metabolizması üzerinedir. Nikel, mısır ve yulaf bitkilerinde total protein ve total azot içeriğini artırmıştır [23], [70]. *Alyssum* bitkisine  $\text{NiSO}_4$  çözeltisi püskürtüldüğünde yapraklarının serbest amino asit içeriğinin arttığı görülmüştür [86]. Senesens geçiren kesik pirinç yapraklarında, Mishra ve Samal [83],  $\text{NiCl}_2$  nin protein yıkımının durdurulmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları incelendiğinde, ortamda ağır metal artışına bağlı olarak bitkilerde düşük metal konsantrasyonlarında protein miktarında artış olurken, artan konsantrasyonla protein sentezinin engellendiği, buna bağlı olarak protein içeriğinde düşüş meydana geldiği gözlenmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bu araştırmanın sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Peroksidaz (POD) enzimi antioksidan bir enzimdir ve stres koşullarında aktivitesi artmaktadır [87]. Peroksidaz (POD, EC 1.11.1.7.), hücre metabolizmasının toksik radikallerini ortadan kaldırmakta [88] ve fenolik bileşikler gibi bazı indirgeyici maddeleri kullanarak  $\text{H}_2\text{O}_2$  yi azaltmaktadır [89]. Bitki peroksidazlarının büyüme ve gelişme [90], hücre çeperlerindeki lignin biyosentezi [91] ve çevresel streslere verilen cevaplarda rol oynadığı bilinmektedir [92]. Ağır metalleri içeren farklı stres faktörlerine karşı bitkilerin cevabında, POD aktivitesinin teşvik edildiği gözlenmiştir [11], [93]. Bu enzimin bitkilerde öldürücü metal toksisitesi için olası bir belirteç olduğu ileri sürülmektedir [68]. Brokoli fidelerinde yapılan analizlerde, 9 günlük fidelerin kök ve hipokotillerinde kontrole göre en yüksek POD aktivitesinin 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda olduğu, en düşük aktivitenin ise kökte 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  de, hipokotilde ise 10  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  de olduğu belirlenmiştir. 9 günlük bitkilerin kotiledonlarında ise POD aktivitesinin 10  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda arttığı görülmüştür. 30 günlük brokoli fidelerinin kök ve gövdelerindeki POD aktivitesi 9 günlük bitkilerin kök ve hipokotillerindeki bulgularla benzerlik göstermekte ve en yüksek aktivitenin 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda, her ikisi için de en düşük aktivitenin 1  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. 30 günlük brokoli bitkilerinin yapraklarına bakıldığında, yine en yüksek aktivitenin 100  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  de olduğu, en düşük aktivitenin ise 0.01  $\mu\text{M}$   $\text{NiSO}_4$  uygulanan fidelerde olduğu görülmüştür. Gajewska ve diğ. [62]'nin bir çalışmasında 10 ve 200  $\mu\text{M}$  Ni uygulamasına maruz kalan *Triticum* bitkilerinin gövdelerindeki POD aktivitesi 10  $\mu\text{M}$  da azalırken, 200  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda birkaç kat artış göstermiştir. Benzer şekilde, Boostani, Najaf-Ghiri ve Mirsoleimani [112]'nin araştırmasında da peroksidaz aktivitesi Ni uygulama seviyeleri ile artış göstermiştir. Ni içeren ağır metallerin bitkilere uygulanmasından sonra enzim aktivitesinde görülen artış daha önceki çalışmalarda da bildirilmiştir [11], [93]. Metal stresi altında POD aktivitesinin artması,  $\text{H}_2\text{O}_2$  nin bertaraf edilmesi gibi [94] hücre içine giren toksik metallere karşı fiziksel bariyer oluşturulmasındaki rolü ile açıklanmaktadır [93]. Bu çalışmadaki POD aktivitesinin teşviki, Diaz ve diğ. [93] tarafından elde edilen sonuçlarla uyumludur. POD un katalizlediği lignifikasyon tarafından hücre duvarı plastisitesinin azaltılmasında ve bunun sonucunda büyüme inhibisyonunda POD un yer aldığı düşünülmektedir. Ayrıca, deney esnasında POD faaliyetindeki artışın, Gabbrielli ve diğ. [95]

tarafından bildirilen bitki dokularındaki Ni'nin teşvik ettiği senesens ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Genel olarak peroksidaz (POD) aktivitesindeki artış, stres altındaki bitki yapraklarında hücre membran bütünlüğünün korunmaya çalışıldığını ve hücre çeperinin mekaniksel özelliklerinin düzenlendiğini göstermektedir [96]. Brokoli fidesinin farklı kısımlarında artan Ni konsantrasyonlarına karşı gelişen savunma cevabında POD aktivitelerinin 10 ve 100 µM konsantrasyonlarında artış gösterdiği söylenebilir.

Kontrol ve 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µM NiSO<sub>4</sub> serilerinde yetiştirilen 9 ve 30 günlük brokoli fidelerinin farklı organlarının membranlarında meydana gelen lipid peroksidasyonu belirlemek için peroksidasyon sonucu oluşan ürünlerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarları ölçülmüştür [97], [98]. 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> içeren besi çözeltilinde yetiştirilmiş 9 günlük fidelerin köklerinde MDA içeriğinin minimum düzeyde olduğu, 100 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında ise miktarının arttığı gözlenmiştir. 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanmış fidelerin hipokotillerinde MDA içeriğinin arttığı gözlenmiş, 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> serisinde ise kontrole göre azalma olduğu izlenmiştir. 9 günlük bitkinin kotiledonlarında ise 10 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında MDA içeriği artarken, 0.01 ve 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> serilerinde azalmaların olduğu saptanmıştır. 30 günlük fidelerin köklerinde 100 µM NiSO<sub>4</sub> içeren besi çözeltilerinde artan MDA içeriği, 0.01 µM NiSO<sub>4</sub> çözeltilinde azalmıştır. Gövdelerde ise, 1 µM NiSO<sub>4</sub> içeren besi çözeltilinde yetiştirilmiş fidelerin MDA içeriğinin minimum düzeyde olduğu, 10 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında ise miktarının arttığı gözlenmiştir. Yapraklarda en yüksek MDA içeriğinin 10 µM NiSO<sub>4</sub>, en düşük MDA içeriğinin ise 0.1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulamasında olduğu tespit edilmiştir. Nikel uygulanan bitki gruplarında MDA içeriğindeki artış, lipid peroksidasyonunun artışının bir belirtisidir. Genel olarak 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanan bitkilerde MDA içeriğinin kontrole kıyasla daha yüksek çıktığı görülmektedir. Bu durum 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> konsantrasyonlarının lipid peroksidasyonunu artırdığını göstermektedir. Çeşitli stres koşullarına karşı artan peroksidaz aktivitesi, bitkilerin genel olarak gösterdiği bir cevaptır [11], [93]. Buna bağlı olarak, 10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanan gruplarda kontrole kıyasla antioksidan bir enzim olan peroksidazın uyarıldığı ve aktivitesinin arttığı da görülmektedir. Genel olarak 0.01, 0.1 ve 1 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanan bitkilerde kontrole kıyasla MDA içeriğinde bir azalma vardır ve bu durum ise ilgili serilerin lipid peroksidasyonunu azalttığının bir işaretidir. Azalan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak peroksidaz aktivitesi de azalmıştır. Bu sonuçlara göre, MDA içeriği ve peroksidaz (POD) aktivitesi arasında bir ilişki olduğu ilgili literatürlerle paralellik göstermektedir [11], [63], [99]. Pigment sistemi de stres koşullarından etkilenmektedir. Karotenoid seviyesindeki azalma membran lipidlerinin peroksidasyonuna yol açmakta ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun artmasına neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonun artması membranı peroksidasyondan koruyan antioksidan enzimlerin indüklenmesine neden olmaktadır [100]. Yapılan bir çalışmada, Zn ve Ni toksisitesinin *Cajanus cajan* L. bitkisinin kök ve gövdesinde MDA birikimini artırdığı gösterilmiştir [101]. Diğer bazı çalışmalarda, *Brassica napus* ve *Brassica oleracea* bitkilerinde, uygulanan kadmiyum sonucu yapraklardaki MDA miktarının arttığı [102], çinko stresine bağlı olarak klorofil ve karotenoid içeriğinin azaldığı bunun sonucunda da lipid peroksidasyonun arttığı [100] bildirilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları ile elde edilen bulgular birbiriyle paralellik göstermektedir [111]. Sonuçlar incelendiğinde, MDA içeriğindeki artışların, uygulanan yüksek dozdaki nikelin (10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub>) brokoli bitkisinde lipid peroksidasyonuna neden olarak membran hasarına ve membran bütünlüğünün bozulmasına yol açabileceğini ve bu derişimlerin bitki tarafından tolere edilmesi güç olan toksik seviyeler olabileceğini düşündürmektedir.

Genel olarak artan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak organlardaki nikel birikiminde de artışların olduğu kaydedilmiştir. Nikelin daha çok köklerde biriktiği, böylece aşırı miktardaki nikelin gövde ve yapraklara geçişinin engellendiği belirlenmiştir. 9 ve 30 günlük brokoli bitkisinde, nikelin en çok köklerde depo edildiği ve 10 µM NiSO<sub>4</sub> den itibaren köklerdeki nikel birikiminin oldukça yüksek bir artış gösterdiği görülmüştür. Uygulanan konsantrasyonlarda bitkideki birikim değerlerinin kontrole göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Verilere göre, her bir bitki kısmında konsantrasyona bağlı olarak artan nikel içeriğinin en fazla 100 µM NiSO<sub>4</sub> uygulanan fidelerin köklerinde bulunduğu belirlenmiştir. Birçok araştırmacı, hareketlilikleri farklı olsa da metallerin genellikle köklerde, toprak üstü organlara göre daha fazla biriktirildiğini bildirmişler ve bunun nedenini; kök hücrelerine geçen metallerin merkezi silindire ulaşmasının, bariyer gibi davranan endodermis hücreleri tarafından büyük oranda engellenmesi ve bitkinin diğer kısımlarına taşınmasının kısıtlanması [103],[104] şeklinde

açıklamışlardır. Lavado ve diğ. [57] tarafından *Zea mays*, *Glycine max* ve *Triticum* bitkilerindeki metal konsantrasyonları ve dağılımlarını inceledikleri bir çalışmanın sonuçlarına göre, bitkilerin değişik organlarında farklı metalleri biriktirebilme eğiliminin olduğu bildirilerek nikelin en çok birikim gösterdiği bitki organının kökler olduğu belirlenmiştir.

Nikel en az birkaç hayvan türü, mikroorganizmalar ve bitkiler için gerekli temel besin elementidir ve bu nedenle çok az ya da çok fazla nikel alındığında sırasıyla eksiklik ya da toksisite belirtileri meydana gelmektedir. Nikelin hücrel etkilerinin belirlenmesine rağmen, insanlardaki eksikliği durumu henüz tanımlanmamıştır [105], [106]. Yapılan bazı çalışmalar, nikel alımının son derece değişken olduğunu ancak bu metalin günlük alımının birçok ülkede 100-300 µg/gün gıda aralıklarında belirlendiğini göstermektedir [107], [108]. Dünya Sağlık Örgütü (W.H.O.)’de nikelin günlük alım miktarını 100-300 µg arasında önermektedir [109]. Bu nedenle son yıllarda oldukça güncel ve ticari değere sahip olan brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) gibi sıkça tüketilen bitkilerin ne miktarda ağır metal biriktirdiğinin bilinmesi faydalı olacaktır. Nikelin brokoli bitkisinin gövde ve yaprak gibi toprak üstü organlarından çok özellikle köklerinde birikim gösteriyor olması da bitkinin güvenli bir şekilde tüketilmesi yönünde umut vericidir. Sonuç olarak, bitkiler için temel bitki besin elementi olarak kabul edilen, bununla birlikte çok küçük miktarlarda bile toksik etki gösteren nikelin artan konsantrasyonlarının brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) bitkisinin tohum çimlenmesi ve büyüme-gelişme süreçleri üzerine olan etkileri ile ilgili bulgular incelendiğinde, düşük konsantrasyonlarda (0.01, 0.1 ve 1 µM NiSO<sub>4</sub>) bitki gelişiminin olumlu şekilde etkilendiği, yüksek nikel konsantrasyonlarının ise (10 ve 100 µM NiSO<sub>4</sub>) toksik etkilere neden olduğu tespit edilmiştir.

**TEŞEKKÜR:** Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2265).

## **V. KAYNAKLAR**

- [1] H. Marschner, “*Mineral Nutrition of Higher Plants*,” 2nd ed., Academic Press, London, 1995, pp. 889,
- [2] K. Mengel, E. A. Kirkby, H. Kosegarten, T. Appel, “*Principles of Plant Nutrition*,” Dordrecht: Kluwer Academic, 2001.
- [3] P. J. White and P. H. Brown, “Plant Nutrition for Sustainable Development and Global Health,” *Ann. of Bot.*, vol. 105, no. 7, pp. 1073-1080, 2010.
- [4] D. L. Eskew, R. M. Welch and W. A. Norvell, “Nickel, an Essential Micronutrient for Legumes and Possibly All Higher Plants,” *Science*, vol. 222, pp. 621-623, 1983.
- [5] P. H. Brown, R. M. Welch and E. E. Cary, “Nickel a Micronutrient Essential for All Higher Plants,” *Plant Physiology*, vol. 85, pp. 801-803, 1987.
- [6] A. Banerjee and A. Roychoudhury, “Plant Responses to Environmental Nickel Toxicity,” *In: Aftab T., Hakeem K.R. (eds) Plant Micronutrients*, Springer, Cham., 2020.
- [7] D. L. Eskew, R. M. Welch and W. A. Norvell, “Nickel in Higher Plants: Further Evidence for an Essential Role,” *Plant Physiol.*, vol. 76, pp. 671-693, 1984.
- [8] J. Molas, “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*, vol. 34, no. 4, pp. 513-522, 1997.
- [9] P. Zornoza, S. Robles and N. Martin, “Alleviation of Nickel Toxicity by Ammonium Supply to Sunflower Plants,” *Plant and Soil*, vol. 208, pp. 221-226, 1999.

- [10] P. H. Brown, R. M. Welch and J. Madison, "Effect of Nickel Deficiency on Soluble Anion, Amino Acid and Nitrogen Levels in Barley," *Plant and Soil*, vol. 125, pp. 19-27, 1990.
- [11] T. Pandolfini, R. Gabbrielli and C. Comparini, "Nickel Toxicity and Peroxidase Activity in Seedlings of *Triticum aestivum* L.," *Plant Cell and Environment*, vol. 15, pp. 719-725, 1992.
- [12] E. Gajewska and M. Sklodowska, "Antioxidative Responses and Proline Level in Leaves and Roots of Pea Plants Subjected to Nickel Stress," *Acta Physiologia Plantarum*, vol. 27, no. 3, pp. 329-339, 2005.
- [13] A. M. Mayer and A. Mayber, "*The Germination of Seeds*," 3rd edition, Pergamon Pres Ltd., U.K., 1982.
- [14] H. Thomas, D. P. Webb and P. F. Wareing, "Seed Dormancy in Acer: Maturation in Relation to Dormancy in *Acer pseudoplatanus* L.," *Journal of Experimental Botany*, vol. 24, pp. 958-967, 1973.
- [15] W. E. Finch-Savage and G. Leubner-Metzger, "Seed Dormancy and the Control of Germination," *New Phytologist*, vol. 171, pp. 501-523, 2006.
- [16] M. T. Mooring, A. W. Cooper and E. D. Senaca, "Seed Germination Response and Evidence for Height Ecophenes in *Spartina alterniflora* from North Carolina," *American Journal of Botany*, vol. 58, pp. 48-55, 1971.
- [17] J. D. Bewley and M. Black, "*Seeds: Physiology of Development and Germination*," 2nd edition, Plenum Pres, New York, 1994.
- [18] B. Veer, "Effect of Phasic Treatment of Ni on Seedling Growth and Activities of Certain Hydrolytic Enzymes of Seeds," *J. Ind. Bot. Soc.*, vol. 5, pp. 351-354, 1988.
- [19] E. J. Underwood, "*Trace Elements in Human and Animal Nutrition*," 3rd Edn., Academic Press, New York, pp. 461-479, 1971.
- [20] D. Bertrand and A. De Wolf, "*Importance in Nickel, Comme Okigoelement Pour les Rhizobium des Nodules Legumineuses*," C.R. Hend. Acad. Sci., Paris, vol. 79, pp. 1855-1858, 1973.
- [21] S. N. Singh, "Effects of Nickel on Germination, Growth, Total Nitrogen and Phosphate Levels of *Cicer arietinum* L. Seedlings," *Trop. Ecol.*, vol. 25, pp. 90-94, 1984.
- [22] W. P. Bushnell, "Delay of Senescence in Wheat Leaves by Cytokinins, Nickel and other substances," *Can. J. Bot.*, vol. 44, pp. 1485-1493, 1966.
- [23] R. M. Welch, "The Biological Significance of Nickel," *J. Plant Nutr.*, no. 3, pp. 345-356, 1981.
- [24] P. Pelosi, R. Fiorentini and C. Galoppini, "On the Nature of Nickel Compounds in *Alyssum bertolonii* desv-II," *Agric. Biol. Chem.*, vol. 40, pp. 1641-1642, 1976.
- [25] J. Gerendás, J. Polacco, S.K. Freyermuth and B. Sattelmacher, "Significance of Nickel for Plant Growth and Metabolism," *Z. Pflanzenernaehr Bodenkd*, vol. 162, pp. 241-256, 1999.
- [26] A. J. Bloom, "Mineral Nutrition," In: *Plant Physiology*, Taiz, L. and E. Zeiger (Eds.), Sinauer Associates, Sunderland, MA, pp. 67-86, 2002.
- [27] J. C. Polacco, "Is Nickel a Universal Component of Plant Urease?," *Plant Sci. Lett.*, vol. 10, pp. 249-255, 1977.

- [28] J. E. Dixon, C. Gazzola, R. B. Blakely and B. Zerner, "Jack-bean Urease (EC 3.5.1.5.3). A Metalloenzyme, A Simple Biological Role for Nickel," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 97, pp. 4131-4133, 1975.
- [29] C. Tsui, "Effect of Seed Treatment with Micro-elements on the Germination and Early Growth of Wheat," *Scientia Sinica*, no. 4, pp. 129-135, 1955.
- [30] I. Pais, A. Somos, L. Duda, F. Tarjanyi and F. Nagymihaly, "Trace Elements Experiments with Tomato and Paprika," *I. Kiserletugyi Kozlem*, vol. 62, pp. 25-40, 1970.
- [31] F. A. Bazzaz, R. B. Carlson and G. L. Rolfe, "The Effect of Heavy Metals on Plants, I Inhibition of Gas Exchange in Sunflower by Pb, Cd, Ni and Ti," *Environ. Pollut.*, no. 7, pp. 241-246, 1974.
- [32] W. R. Gordon, S. S. Schwemmer and W. S. Hillman, "Nickel and the Metabolism of Urea by *Lemna paucicostata* Hegelm. 6746," *Planta*, vol. 140, pp. 265-268, 1978.
- [33] D. R. Hoagland and D. I. Arnon, "The Water-culture Method for Growing Plants without Soil," *Univ. Calif. Coll., Agric. Exp. Sta. Circ.*, vol. 347, pp. 1-32, 1938.
- [34] Y. Okatan, G. M. Kahanak and L. D. Nooden, "Characterization and Kinetics of Soybean Maturation and Monocarpic Senescence," *Physiol. Plant.*, vol. 52, pp. 330-338, 1981.
- [35] T. R. Parsons and J. D. H. Strickland, "Discussion of Spectrophotometric Determination of Marine Pigments, with Revised Equations for Ascertaining Chlorophylls and Carotenoids," *J Mar. Res.*, vol. 21, pp. 115-163, 1963.
- [36] M. M. Bradford, "A Rapid and Sensitive Method for the Quantization of Microgram Quantities of Protein Utilising the Principle of Protein-dye Binding," *Anal. Biochem.*, vol. 72, pp. 248-254, 1976.
- [37] H. Birecka, K. A. Briber and J. L. Catalfamo, "Comparative Studies on Tobacco Pit and Sweet Potato Root Isoperoxidases in Relation to Injury, Indolaceticacid and Ethylene Effects," *Plant Physiol.*, vol. 52, pp. 43-49, 1973.
- [38] R. L. Heath and L. Packer, "Photoperoxidation in Isolated Chloroplast. I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation," *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 125, pp. 189-198, 1968.
- [39] EPA, "Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. Method 3051, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods," 3rd ed: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response. U.S. Government Printing Office: Washington DC, 1986; SW., pp. 846, 1994.
- [40] Ö. Munzuroğlu and H. Geçkil, "Effects of Metals on Seed Germination, Root Elongation and Coleoptile and Hypocotyl Growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*," *Environ. Cont. and Toxi.*, vol. 43, pp. 203-213, 2002.
- [41] S. Akıncı and İ.E. Akıncı, "Nikelin Ispanakta (*Spinacia oleracea*) Çimlenme ve Bazı Fide Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi," *Ekoloji*, c. 20, s. 79, ss. 69-76, 2011.
- [42] W. Li, M. A. Khan, S. Yamaguchi and Y. Kamiya, "Effects of Heavy Metals on Seed Germination and Early Seedling Growth of *Arabidopsis thaliana*," *Plant Growth Regulation*, vol. 46, pp. 45-50, 2005.

- [43] I. V. Seregin, and A. D. Kozhevnikova, "Distribution of Cadmium, Lead, Nickel, and Strontium in Imbibing Maize Caryopses," *Russian Journal of Plant Physiol.*, vol. 52, no. 4, pp. 565-569, 2005.
- [44] L. Espen, L. Pirovano, S.M. Cocucci, "Effect of Ni During the Early Phases of Radish (*Raphanus sativus*) Seed Germination," *Environmental and Experimental Botany*, vol. 38, pp. 187-197, 1997.
- [45] P. Sharma, R. Bhardwaj, N. Arora, H. K. Arora and A. Kumar, "Effects of 28-homobrassinolide on Nickel Uptake, Protein Content and Antioxidative Defence System in *Brassica juncea*," *Biol Plant.*, vol. 52, pp. 767-770, 2008.
- [46] S. Citterio, A. Santagostino, P. Fumagalli, N. Prato, P. Ranalli and S. Sgorbati, "Heavy Metal Tolerance and Accumulation of Cd, Cr, and Ni by *Cannabis sativa* L.," *Plant and Soil*, vol. 256, pp. 243-252, 2003.
- [47] C. D. Jadia and M. H. Fulekar, "Phytoremediation: The Application of Vermicompost to Remove Zinc, Cadmium, Copper, Nickel and Lead by Sunflower Plant," *Environ. Engineering and Management Journal*, vol. 7, no. 5, 547-558, 2008.
- [48] P. K. Das, M. Kar and D. Mishra, "Nickel Nutrition of Plants: Effect of Nickel on Some Oxidase Activities during Rice (*Oryza sativa* L.) Seed Germination," *Z. Pflanzenphysiol.*, vol. 90, pp. 225-233, 1978.
- [49] J. R. Peralta, J. L. Gardea Torresdey, K. J. Tiemann, E. Gomez, S. Arteaga, E. Rascon and J. G. Parsons, "Uptake and Effects of Five Heavy Metals on Seed Germination and Plant Growth in Alfalfa (*Medicago sativa*) L.," *Bull. of Environmental Cont. and Toxic.*, vol. 66, no. 6, pp. 727-734, 2001.
- [50] M. S. A. Ahmad, M. Ashraf, R. Ahmed and M. Y. Ashraf, "Effect of Nickel on Seed Germinability of Some Elite Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Cultivars," *Pak. J. Bot.*, vol. 41, pp. 1871-1882, 2009.
- [51] G. R. Rout, S. Samantary and P. Das, "Effects of Chromium and Nickel on Germination and Growth in Tolerant and Non-Tolerant Populations of *Echinochloa colona*," *Chemosphere*, vol. 40, pp. 855-859, 2000.
- [52] F. Kırbağ-Zengin and Ö. Munzuroğlu, "Effects of Lead and Copper on the Growth of Root, Shoot and Leaf of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seedlings," *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, vol. 17, no. 3, pp. 1-10, 2004.
- [53] P. C. Lolkema, M. H. Donker, A. J. Schouten and W. H. O. Ernst, "The Possible Role of Metallothioneins in Copper Tolerance of *Silene cucubalus*," *Planta*, vol. 162, pp. 174-179, 1984.
- [54] J. C. Fernandes and F. S. Henriques, "Biochemical, Physiological and Structural Effect of Excess Copper in Plants," *The Bot. Rev.*, vol. 57, pp. 246-273, 1991.
- [55] C. Gonnelli, F. Galardi and R. Gabbrielli, "Nikel and Copper Tolerance and Toxicity in Three Tuscan Populations of *Silene paradoxa*," *Physiologia Plantarum*, vol. 113, pp. 507-514, 2001.
- [56] I. V. Seregin, A. D. Kozhevnikova, E. M. Kazyumina and V. B. Ivanov, "Nikel Toxicity and Distribution in Maize Roots," *Russian Journal of Plant Physiology*, vol. 50, no. 5, pp. 711-717, 2003.



- [57] S. R. Lavado, A. C. Porcelli and R. Alvarez, "Nutrient and Heavy Metal Concentration and Distribution in Corn, Soybean and Wheat as Affected by Different Tillage Systems in the Argentina Pamps," *Soil and Tillage Research*, vol. 62, pp. 55-60, 2001.
- [58] X. Yang, V. C. Baligar, D. C. Martens and R. B. Clark, "Plant Tolerance to Nickel Toxicity: II. Nickel Effects on Influx and Transport of Mineral Nutrients in Four Plant Species," *J. Plant Nutr.*, vol. 19, pp. 265-279, 1996.
- [59] B. U. Z. Rahmatullah, M. Salim and K. Hussin, "Influences of Ni Supply on Tomato Growth and N Uptake," *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 3, no. 2, pp. 320-323, 2001.
- [60] H. Kupper, E. Lombi, F. J. Zhao, G. Wieshammer and S. P. Mcgrath, "Cellular Compartmentation of Nickel in the Hyperaccumulators *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*," *J. Exp. Bot.*, vol. 52, pp. 2291-2300, 2001.
- [61] S. Clemens, M. G. Palmgren and U. Kramer, "A Long Way a Head: Understanding and Engineering Plant Metal Accumulation," *Trends Plant Sci.*, vol. 7, pp. 309, 2002.
- [62] E. Gajewska, M. Skłodowska, M. Słaba and J. Mazur, "Effect of Nickel on Antioxidative Enzyme Activities, Proline and Chlorophyll Contents in Wheat Shoots," *Biol. Plant.*, vol. 50, pp. 653-659, 2006.
- [63] C. M. Luna, C. A. Gonzalez and V. S. Trippi, "Oxidative Damage Caused by Excess of Copper in Oat Leaves," *Plant Cell Physiol.*, vol. 35, pp. 11-15, 1994.
- [64] A. Cuypers, K. M. Koistinen, H. Kokko, S. Kärenlampi, S. Auriola and J. Vangronsveld, "Analysis of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Proteins Affected by Copper Stress," *Journal of Plant Physiology*, vol. 162, pp. 383-392, 2005.
- [65] R. Athar and M. Ahmad, "Heavy Metal Toxicity: Effect on Plant Growth and Metal Uptake by Wheat, and on Free Living Azotobacter," *Water Air Soil Pollut.*, vol. 138, pp. 165-180, 2002.
- [66] H. Rahman, S. Sabreen, S. Alam and S. Kawai, "Effects of Nickel on Growth and Composition of Metal Micronutrients in Barley Plants Grown in Nutrient Solution," *J. Plant Nutr.*, vol. 28, pp. 393-404, 2005.
- [67] P. H. Brown, R. M. Welch, E. E. Cary and R. T. Checkai, "Beneficial Effects of Nickel on Plant Growth," *Journal of Plant Nutrition*, vol. 10, pp. 2125-2135, 1987.
- [68] B. Mocquot, J. Vangronsveld, H. Clijestres and M. Mench, "Copper Toxicity in Young Maize (*Zea mays* L.) Plants: Effects on Growth, Mineral and Chlorophyll Contents and Enzyme Activities," *Plant Soil*, vol. 182, pp. 287-300, 1996.
- [69] P. Vijayarangan and D. Dhanavel, "Effects of Nickel on Chlorophyll Content of Black Gram Cultivars," *Adv. Plant Sci.*, vol. 18, pp. 253, 2005.
- [70] D. Mishra and M. Kar, "Nickel in Plant Growth and Metabolism," *Bot. Rev.*, vol. 40, pp. 395-452, 1974.
- [71] E. A. Ewais, "Effects of Cadmium, Nickel and Lead on Growth, Chlorophyll Content and Proteins of Weeds," *Biol. Plant.*, vol. 39, pp. 403-410, 1997.
- [72] S. Monni, C. Uhlig, E. Hansen and E. Magel, "Ecophysiological Responses of *Empetrum nigrum* to Heavy Metal Pollution," *Environ. Pollut.*, vol. 112, pp. 121-129, 2001.

- [73] H. Helmy-Latif, "The Influence of Nickel Sulphate on Some Physiological Aspects of Two Cultivares of *Raphanus sativus* L. Arch.," *Biol. Sci. Belgrade*, vol. 62, no. 3, pp. 683-691, 2010.
- [74] D. D. K. Prasad and A. R. K. Prasad, "Effect of Lead and Mercury on Chlorophyll Synthesis in Mung Bean Seedlings," *Phytochemistry*, vol. 26, pp. 881, 1987.
- [75] M. Rizwan, M. G. Mostofa, M. Z. Ahmad, Y. Zhou, M. Adeel, S. Mehmood, M. A. Ahmad, R. Javed, M. Imtiaz and O. Aziz, "Hydrogen Sulfide Enhances Rice Tolerance to Nickel through the Prevention of Chloroplast Damage and the Improvement of Nitrogen Metabolism under Excessive Nickel," *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 138, pp. 100-111, 2019.
- [76] A. J. M. Baker, "Accumulators and Excluders, Strategies in the Response of Plants to Heavy Metals," *Journal of Plant Nutr.*, no. 3, pp. 643-654, 1981.
- [77] W. Maksymiec, R. Russa, T. Urbanik-Sypniewska and T. Baszynski, "Effect of Excess Cu on the Photosynthetic Apparatus of Runner Bean Leaves Treated at Two Different Growth Stages," *Physiologia Plantarum*, vol. 91, pp. 715-721, 1994.
- [78] M. Ciscato, R. Valcke, K. Van Loven, H. Clijsters and F. Navari-Izzo, "Effects of in Vivo Copper Treatment on the Photosynthetic Apparatus of Two *Triticum durum* Cultivars with Different Stress Sensitivity," *Physiol. Plant.*, vol. 100, pp. 901-908, 1997.
- [79] A. K. Tripathi, T. Sadhna and S. Tripathi, "Changes in Some Physiological and Biochemical Characters in *Albizia lebbek* as Bio-indicators of Heavy Metal Toxicity," *J. Environ Biol.*, vol. 20, pp. 93-98, 1999.
- [80] V. K. Kashin, "Physiological Role of Nickel in Living Organisms," *Mikroelem. Sib.*, no. 6, pp. 78-87, 1968.
- [81] V. G. Lapa, G. M. Prilutskii, M. Z. Skuratovskaya and N. K. Tribel, "Effect of Trace Elements Copper, Zinc, Nickel and Cobalt on Biosynthesis in Potatoes and Harvest Qualities of Tubers," *Nauch. Tr. Zhitomir. Sel'skokhoz. Inst.*, vol. 16, pp. 120-123, 1969.
- [82] G. E. Bartley and P. A. Scolnik, "Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction and Human Health," *The Plant Cell*, no. 7, pp. 1027-1038, 1995.
- [83] D. Mishra and B. Samal, "Interaction of Benzimidazole and Nickel in Delaying the Senescence of Detached Rice Leaves," *Z. Naturforsch.*, vol. 26, pp. 1377-1380, 1971.
- [84] J. M. Palma, L. M. Sandalino, F. J. Corpas, M. C. Romero-Puertas, I. McCarthy and L. A. Del Rio, "Plant Proteases, Protein Degradation and Oxidative Stress: Role of Peroxisomes," *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 40, pp. 521-530, 2002.
- [85] S. Sagner, R. Kneer, G. Wanner, J. P. Cosson, B. Deus-Neumann and M. H. Zenk, "Hyperaccumulation, Complexation and Distribution of Nickel in *Sebertia acuminata*," *Phytochemistry*, vol. 47, pp. 339-347, 1998.
- [86] R. R. Brooks, S. Shaw and A. A. Marfil, "The Chemical Form and Physiological Function of Nickel in Some Iberian *Alyssum* species," *Physiol. Plant.*, vol. 51, pp. 167-170, 1981.
- [87] S. Hayat, B. Ali, H. S. Aiman and A. Ahmad, "Brassinosteroids enhanced antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*," *Environ. Exp. Bot.*, vol. 60, pp. 33-41, 2007.
- [88] D. A. Priestley, "*Seed Aging*," Cornell University Press, London, 1986.

- [89] T. Gaspar, C. Penel, D. Hagege and H. Greppin, "Peroxidases in Plant Growth, Differentiation, and Development Processes," In: Łoborzewski, J., Greppin, H., Penel, C., Gaspar, T. (ed.), *Biochemical, Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*, University M. Curie-Skłodowska, Lublin, 1991, pp. 249-280.
- [90] A. Riquelme and L. Cardemil, "Peroxidases in the Cell Walls of Seed, Seedlings of *Araucaria araucana*," *Phytochemistry*, vol. 32, pp. 15-20, 1993.
- [91] R. J. Bruce and C. A. West, "Elicitation of Lignin Biosynthesis, Isoperoxidase Activity by Pectic Fragments in Suspension Culture of Castor Bean," *Plant Physiol.*, vol. 91, pp. 889-897, 1989.
- [92] D. F. Cippolini, Jr., "The Induction of Soluble Peroxidase Activity in Bean Leaves by Wind-Induced Mechanical Perturbation," *American Journal of Botany*, vol. 85, pp. 1586-1591, 1998.
- [93] J. Diaz, A. Bernal, F. Pomar and F. Merino, "Induction of Shikimate Dehydrogenase and Peroxidase in Pepper (*Capsicum annuum* L.) Seedlings in Response to Copper Stress and its Relation to Lignification," *Plant Sci.*, vol. 161, pp. 179-188, 2001.
- [94] R. K. Tewari, P. Kumar, P. N. Sharma and S. S. Bisht, "Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt," *Plant Sci.*, vol. 162, pp. 381-388, 2002.
- [95] R. Gabbrielli, T. Pandolfini, L. Espen and M. R. Palandri, "Growth, Peroxidase Activity and Cytological Modifications in *Pisum sativum* Seedlings Exposed to Ni<sup>2+</sup> Toxicity," *J. Plant Physiol.*, vol. 155, pp. 639-645, 1999.
- [96] Y. Ekmekçi and S. Terzioğlu, "Effects of Oxidative Stress Induced by Paraquat on Wild Cultivated Wheats," *Pesticide Biochemistry Physiology*, vol. 83, pp. 69-81, 2005.
- [97] C. A. Placer, L. L. Cushman and B. C. Johnson, "Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malondy Dialdehyde) in Biochemical Systems," *Anal. Biochem.*, vol. 16, pp. 259-264, 1990.
- [98] U. Mercan, "Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi," *YYU Vet. Fak. Derg.*, c. 15, s. 2, ss. 91-96, 2004.
- [99] J. E. J. Weckx and H. M. M. Clijsters, "Zn Phytotoxicity Induces Oxidative Stress in Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris*," *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 35, no. 5, pp. 405-410, 1997.
- [100] N. Candan and L. Tarhan, "Changes in Chlorophyll-carotenoid Contents, Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation Levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*," *Turk J. Chem.*, vol. 27, pp. 21-30, 2003.
- [101] K. V. Madhava Rao and T. V. Sresty, "Antioxidative Parameters in the Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses," *Plant Sci.*, vol. 157, pp. 113-128, 2000.
- [102] I. Nouairi, W. B. Ammar, N. B. Youssef, D. D. B. Miled, M. H. Ghorbal and M. Zarrouk, "Antioxidant Defense System in Leaves of Indian Mustard (*Brassica juncea*), Rape (*Brassica napus*) under Cadmium Stress," *Acta Physiol Plant*, vol. 31, pp. 237-247, 2009.
- [103] M. Tester and R. A. Leigh, "Partitioning of Nutrient Transport Processes in Roots," *J. Exp. Bot.*, vol. 52, pp. 445-457, 2001.
- [104] S. Verma and R. S. Dubey, "Lead Toxicity Induces Lipid Peroxidation and Alters the Activities of Antioxidant Enzymes in Growing Rice Plants," *Plant Sci.*, vol. 164, pp. 645-655, 2003.

- [105] E. O. Uthus and R. A. Poellot, "Dietary Folate Affects the Response of Rats to Nickel Deprivation," *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 52, pp. 23, 1996.
- [106] D. G. Barceloux, "Nickel," *Clin. Toxicol.*, vol. 37, pp. 239, 1999.
- [107] G. D. Clayton and F. E. Clayton, "*Patty's Industrial Hygiene Toxicology*," 4th ed.; A Wiley-Interscience Publication: New York, pp. 2157-2173, 1994.
- [108] P. H. Collery, A. J. Corbell, J. L. Domingo, J. C. Etienne and J. Uobet, "Metal Ions in Biology and Medicine", *John Libbey Eurotext: Paris*, vol 4, pp. 172-174, 1996.
- [109] W. H. O., World Health Organization, "*Quality directive of potable water*," WHO 2nd ed., pp. 197, 1994.
- [110] A. M. Einhardt, S. Ferreira<sup>1</sup>, G. M. F. Souza, A. C. R. Mochko and F. A. Rodrigues, "Cellular Oxidative Damage and Impairment on the Photosynthetic Apparatus Caused by Asian Soybean Rust on Soybeans are Alleviated by Nickel," *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 42, pp. 115, 2020.
- [111] M. Amjad, N. Ameen, B. Murtaza, M. Imran, M. Shahid, G. Abbas, M.A. Naeem and S. E. Jacobsen, "Comparative Physiological and Biochemical Evaluation of Salt and Nickel Tolerance Mechanisms in Two Contrasting Tomato Genotypes," *Physiol. Plant.*, vol. 168, pp. 27-37, 2020.
- [112] H. R. Boostani, M. Najaf-Ghiri and A. Mirsoleimani, "The Effect of Biochars Application on Reducing the Toxic Effects of Nickel and Growth Indices of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) in a Calcareous Soil," *Environ Sci Pollut Res.*, vol. 26, no. 2, pp. 1751-1760, 2019.