



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SOYA (*Glycine max* L.Merrill) DOKU KÜLTÜRÜNDE ANTİOKSİDAN
SAVUNMA SİSTEMLERİNE OKSİDATİF STRESİN ETKİLERİ**

Alp AYAN

**Biyoloji Anabilim Dalı
Radyobiyoloji Programı**

Danışman

Yard. Doç. Dr. Sema ALİKAMANOĞLU

EKİM, 2010

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SOYA (*Glycine max* L.Merrill) DOKU KÜLTÜRÜNDE ANTİOKSİDAN
SAVUNMA SİSTEMLERİNE OKSİDATİF STRESİN ETKİLERİ**

Alp AYAN

**Biyoloji Anabilim Dalı
Radyobiyoloji Programı**

Danışman

Yard. Doç. Dr. Sema ALİKAMANOĞLU

EKİM, 2010

İSTANBUL

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'nin 3322 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans eğitimimin ikinci yarısından itibaren yanında çalışma fırsatı yakaladığım, başladığım ilk günden itibaren bilimsel açıdan olduğu kadar hayatın diğer birçok alanında da tecrübeleri ile bana önemli değerler katan, sürekli yanımda olarak beni birçok konuda destekleyen değerli Hocam Sayın **Yard. Doç. Dr. Sema ALİKAMANOĞLU**'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında gerekli laboratuvar imkanlarının sunulmasını bana sağlayan İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Hocam Sayın **Prof. Dr. Yavuz ÇOTUK**'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yanında çalışmaktan mutluluk ve gurur duyduğum Sayın Hocam **Prof. Dr. Çimen ATAK** ve yaptığım çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen **Araş. Gör. Dr. Özge ÇELİK** başta olmak üzere tüm T.C. Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Henüz başında olduğum bu yolda karşıma çıkan sayısız engeli atlatmamda sonsuz yardımları dokunan ve sürekli bir sonraki adımı atabilmemi sağlayan kıymetli hocalarım **Araş. Gör. Dr. Orkun YAYCILI** ve **Araş. Gör. Ayşe ŞEN**'e kalpten teşekkürlerimi sunarım.

Burada tek tek saymadığım ancak bu tez çalışmasını yürütebilmemde gerekli bilgi birikimini bana sağlayan tüm hocalarıma ve ilk öğretimden bu yana sürekli yanımda olan dostum **Uğur SERBES** başta olmak üzere hayatı daha anlamlı kılan tüm arkadaşlarıma en derin sevgilerimi sunarım.

Bugünlere gelmemi sağlayan, beni ben yapan asıl değerleri bana hayatım boyunca aşıl原因 ve tüm kararlarımda bana destek çıkan **Sevgili Aileme** sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım. Bu çalışma onlara ithaf edilmiştir.

İstanbul, 2010

Alp AYAN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	v
ÖZET.....	vi
SUMMARY.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. SOYA FASÜLYESİ (<i>Glycine max</i> L. Merrill)	4
2.2.TUZ STRESİ	6
2.3. RADYASYON	10
2.4. OKSİDATİF STRES VE REAKTİF OKSİJEN TÜREVLERİ	12
2.5. ANTİOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMASI	14
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	17
3.1. DENEY MATERYALLERİNİN ELDESİ.....	17
3.2. DOKU KÜLTÜRÜNÜN KURULMASI.....	17
3.2.1. Yüzey Sterilizasyonu.....	17
3.2.2. Radyasyon ve Tuz Uygulamaları İçin Besiyerlerinin Hazırlanması	17
3.2.3. Tohumların Çimlendirilmesi ve Eksplantların Eldesi	18
3.2.4. Tuz ve Radyasyon Uygulaması.....	18
3.3. KÜLTÜR ORTAMINDA BİTKİ VE KÖK REJENERASYONUNUN, ORTALAMA BİTKİ BOYU VE TAZE AĞIRLIĞININ BELİRLENMESİ	19
3.4. SUDA ÇÖZÜNEBİLİR PROTEİN MİKTARI TAYİNİ	19
3.5. PEROKSİDAZ ENZİMİ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	20
3.6. ASKORBAT PEROKSİDAZ ENZİMİ AKTİVİTESİ TAYİNİ	20

3.7. KATALAZ ENZİMİ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	21
3.8. MALONDİALDEHİT MİKTAR TAYİNİ	21
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. TUZ UYGULAMASI	23
4.1.1. Tuz Stresinin Bitki ve Kök Rejenerasyonu, Ortalama Bitki Boyu ve Taze Ağırlığı Üzerine Etkisi	23
4.1.2. Tuz Stresinin Suda Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi.....	26
4.1.3. Tuz Stresinin Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi.....	27
4.1.4. Tuz Stresinin Askorbat Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi	28
4.1.5. Tuz Stresinin Katalaz Enzimi Aktivitesine Etkisi.....	29
4.1.6. Tuz Stresinin Malondialdehit Miktarı Üzerine Etkisi	30
4.2. RADYASYON UYGULAMASI.....	31
4.2.1. Radyasyonun Bitki ve Kök Rejenerasyonu, Ortalama Bitki Boyu ve Taze Ağırlığı Üzerine Etkisi	31
4.2.2. Radyasyonun Suda Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi	33
4.2.3. Radyasyonun Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi	34
4.2.4. Radyasyonun Askorbat Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi	35
4.2.5. Radyasyonun Katalaz Enzimi Aktivitesine Etkisi	36
4.2.6. Radyasyonun Malondialdehit Miktarı Üzerine Etkisi	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	39
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	: Çeşitli hücresel kısımlarda tuz stresine karşı geliştirilen mekanizmalar	9
Şekil 2.2	: Radyasyonun direkt ve dolaylı etkisi.....	10
Şekil 3.1	: Suda çözünebilir protein miktarı ölçümü için BSA konsantrasyonlarına göre standart grafik	20
Şekil 4.1	: Kontrol ve çeşitli konsantrasyonlarda tuz uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürler.....	25
Şekil 4.2	: Kontrol ve çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürler	33

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1	: Hazırlanan Gamborg's B5 besiyerinin içeriği	18
Tablo 4.1	: Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya fasulyesi çeşidine ait 28 günlük kültürlerin eksplant sayısı, bitki ve kök rejenerasyonu yüzdeleri, ortalama bitki boyları ve taze ağırlıkları	24
Tablo 4.2	: Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin suda çözünebilir protein miktarları	27
Tablo 4.3	: Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin peroksidaz enzim aktiviteleri	28
Tablo 4.4	: Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin askorbat peroksidaz enzim aktiviteleri	29
Tablo 4.5	: Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin katalaz enzim aktiviteleri	30
Tablo 4.6	: Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin malondialdehit miktarları	30
Tablo 4.7	: Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya fasulyesi çeşidine ait 28 günlük kültürlerin eksplant sayısı, bitki ve kök rejenerasyonu yüzdeleri, ortalama bitki boyları ve taze ağırlıkları	31
Tablo 4.8	: Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin suda çözünebilir protein miktarları	34
Tablo 4.9	: Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin peroksidaz enzim aktiviteleri	35
Tablo 4.10	: Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin askorbat peroksidaz enzim aktiviteleri	36
Tablo 4.11	: Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin katalaz enzim aktiviteleri	37
Tablo 4.12	: Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin malondialdehit miktarları	38

ÖZET

SOYA (*Glycine max* L. Merrill) DOKU KÜLTÜRÜNDE ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİNE OKSİDATİF STRESİN ETKİLERİ

Kuraklık, ağır metal birikimi, yüksek sıcaklık, don, gibi çevresel stres etmenlerinden biri olan toprak tuzluluğu ülkemizde ve dünyada; çeşitli sebeplerle gün geçtikçe artmaktadır.

Tuz stresi, besinsel ve endüstriyel açıdan önemli bir tarımsal ürün olan soyanın (*Glycine max* L. Merrill) ürün kalitesini ve verimliliğini azaltan en önemli stres faktörlerinden biridir.

Gama radyasyonu, mutasyon ıslahı çalışmalarında genetik varyasyonu arttırmak için sıklıkla kullanılmaktadır. Gama radyasyonu etkileşime girdiği tüm canlı sistemlerde olduğu gibi bitkilerde de strese yol açmaktadır. Farklı stres faktörlerinin meydana getirdiği fizyolojik ve biyokimyasal etkileri tespit etmek, ileride yürütülecek birçok çalışma için kaynak teşkil edecektir.

Çalışmamızda soya bitkisi doku kültürlerine farklı konsantrasyonlarda NaCl ve çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmıştır. Uyguladığımız tüm tuz konsantrasyonları ve radyasyon dozları bitki büyüme parametrelerinde gerilemeye sebep olmuştur. Elde edilen sonuçlara göre suda çözünebilir protein miktarlarında her iki stres faktöründeki tüm deney gruplarında kontrole göre artış saptanmıştır. Tuz ve radyasyon uygulamasında askorbat peroksidaz ve peroksidaz enzim aktivitelerinin arttığı katalaz enzim aktivitesinin ise tuz uygulamasında 30 mM, radyasyon uygulamasında ise 20 Gy'den itibaren azaldığı saptanmıştır. Malondialdehit miktarlarında ise uygulanan tüm tuz konsantrasyonlarında kontrole göre azalış, radyasyon uygulamasında ise 20 Gy'e kadar artış sonraki dozlarda azalış tespit edilmiştir.

SUMMARY

THE EFFECT OF OXIDATIVE STRESS ON ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEMS OF SOYBEAN (*Glycine max* L. Merrill) TISSUE CULTURE

Soil salinity which is one of the environmental stress factors such as drought, heavy metal accumulation, high temperature, cold has been increasing day by day because of the various reasons in our country and all around the world.

Salt stress is one of the most important stress factors that decrease soybean (*Glycine max* L. Merrill) product quality and productivity which is important from the view of nutritional and industrial terms.

Gamma radiation is also used to increase genetic variations on mutation breeding studies. Gamma radiation causes oxidative stress on plants as it's interacted with other living systems. Determining physiological and biochemical effects of different stress factors, will be very useful source for further investigations on this subject.

In our study, different concentration of NaCl and various doses of gamma radiation are applied to soybean tissue cultures. All salt concentrations and radiation doses that we applied caused decrease on growth parametres of plantlets. Obtained results presented increase on soluble protein amounts of all experimental groups of both stress factors comparing to the control. It's determined that ascorbate peroxidase and peroxidase enzyme activities increase on salt and radiation treatments, catalase enzyme activity increases until 30 mM on salt treatment, although it decreases after 20 Gy on radiation treatment. Decrease is determined for all salt concentrations on malondialdehyd amounts comparing to the coltrol, however on radiation treatment decrease is determined after increase until 20 Gy.

1. GİRİŞ

Günümüzde birçok tarım alanında çeşitli abiyotik stres faktörleri nedeniyle ürün verimi ve kalitesi bakımından önemli kayıplar meydana gelmektedir. Tuzluluk kuraklıkla birlikte ürün gelişimini ve verimliliğini sınırlandıran en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Yeryüzündeki toprakların %7'si ve sulama yapılan toprakların %20'si tuzluluk için sınır değer kabul edilen değerlerin üzerinde tuzluluk oranına sahiptir. Tarım arazilerinde tuzluluk ve alkalilik oranlarının artmasının başlıca sebepleri; bilinçsiz sulama, yanlış gübreleme, aşırı yağış, drenaj eksikliği, kayaç tipi, iklim özellikleri şeklinde sıralanabilir (Bakoğlu ve Ayçiçek, 2005; Sincik ve diğ., 2008)

Toprak tuzluluğu, bitkiler üzerinde iki şekilde etkili olmaktadır. Birincisi bitkilerin topraktan su alımını engelleyen ozmotik etki, ikincisi ise bitkilerdeki bazı fizyolojik olayları etkileyen toksik iyon etkisidir (Hirt, 2003; Parida ve Das, 2004).

Tuzluluğa bağlı olarak bitkinin transpirasyonu ve solunumunun yanı sıra su alımı ve kök gelişimi de azalmaktadır. Bunun sonucunda hormonal dengede yıkım meydana gelmekte, fotosentez azalmakta, nitrat alımının düşmesi sonucunda protein sentezinde azalma görülmekte ve bitki boyu kısalmaktadır. Bu durum bitkilerin yaş ve kuru ağırlığını etkilemekte, çiçek sayısını azaltmakta ve sonuç olarak veriminin azalmasına sebep olmaktadır (Çiçek ve Çakırlar, 2008; Iliev ve diğ., 2009; Doğanlar ve diğ., 2010).

Tuzluluğun önemli etkilerinden biri de reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu arttırmasıdır. Bu reaktif oksijen türevlerine karşı bitkiler herhangi bir koruma mekanizması geliştirmedikleri takdirde reaktif oksijen türevleri proteinler, membran lipitleri, nükleik asitler ve klorofil gibi hücre komponentlerine zarar verirler (Parida ve Das, 2004; Mahajan ve Tuteja, 2005; Smirnoff, 2005; Çiçek ve Çakırlar, 2008; Parvaiz ve Satyawati, 2008).

Stres altındaki canlıların genelinde olduğu gibi bitkiler de stres karşısında reaktif oksijen türevlerinin zararsız bileşenlere dönüştürülmesini sağlayan direnç

mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu direnç mekanizmaları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri olarak ikiye ayrılır. Bitkilerin enzimatik antioksidan savunma sistemini oluşturan başlıca antioksidan enzimler; superoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz, askorbat peroksidaz vb. dir. Ayrıca bitkilerin yapılarında strese karşı biriktirdikleri enzimatik olmayan ozmoprotektan moleküller ise; prolin, glisin betain, askorbat, glutatyon, α -tokoferol, β -karetinoid vb. dir (Parida ve Das, 2004; Mahajan ve Tuteja, 2005; Smirnov, 2005; Çiçek ve Çakırlar, 2008; Parvaiz ve Satyawati, 2008).

Gama radyasyonu, insan kaynaklı nükleer kazalar oluşması haricinde bitkinin yaşam ortamında doğal yollarla karşılaşılabileceği bir stres faktörü değildir. Ancak günümüzde başta klinik uygulamalar ve mutasyon ıslahı çalışmaları olmak üzere birçok alanda gama radyasyonu çeşitli amaçlar doğrultusunda canlı sistemlere uygulanmaktadır (Lehnert, 2007; Morita ve diğ., 2009).

İyonizan radyasyon kapsamına giren gama radyasyonu etkileşime girdiği canlı veya cansız tüm sistemlere yüksek miktarlarda enerji transfer eder. Bu enerji aktarıldığı biyolojik yapı üzerinde direkt olarak fiziksel zararlara yol açabildiği gibi, canlı sistemlerin çok büyük bir kısmını oluşturan su molekülü üzerinden de çeşitli reaksiyonlarla aracılığı ile reaktif oksijen türevlerini oluşturabilir. Metabolizma için istenmeyen zararlı reaksiyonları oluşturma potansiyelleri çok yüksek olan bu tür molekül ve radikaller, radyasyonun canlı sistem üzerindeki dolaylı etkisini meydana getirirler. Bitkilerin tuzluluk, kuraklık, sıcaklık, don gibi çevresel abiyotik stres etmenlerine karşı geliştirmiş oldukları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları, radyasyona maruz kalınması durumunda da devreye girer (Özalpın, 2001; Lehnert, 2007; Hameed ve diğ., 2008a).

Mutasyon ıslahı; çeşitli özellikler bakımından üstün bitki çeşitleri geliştirmede gerekli olan genetik varyasyonların elde edilmesi açısından bitki ıslahçılarına büyük avantajlar sağlamaktadır. Özellikle biyoteknolojinin hızla ilerlemesi ile *in vitro* tekniklerin mutagenlerle beraber kombinasyonu, bitkilere istenilen özelliklerin kazandırılmasında ve elde edilen genotipin daha kısa sürede çoğaltılarak seleksiyonuna imkan vermektedir. Fiziksel bir mutagen olan radyasyonun bitki üzerinde meydana getirdiği oksidatif

zararlanmaların ve bu zararlanmalara karşı geliştirilen çeşitli mekanizmaların tespit edilmesi, gelecekte çeşitli stres koşullarına karşı dirençli bitkileri elde etmek amacı ile yürütülecek mutasyon ıslahı çalışmaları için kaynak teşkil edecektir (Yaycılı, 2009)

Bu çalışmada ülkemizde yetiştirilen Adasoy soya çeşidine ait kültürlerde tuz ve radyasyon streslerinin biyokimyasal ve fizyolojik etkilerini belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaçla Adasoy çeşidine ait kültürlere çeşitli dozlarda gama radyasyonu ve farklı konsantrasyonlarda tuz stresi uygulanmış ve kültür ortamında rejenere olmuş bitkilerin ortalama bitki boyu ve taze ağırlığı, suda çözünebilir protein miktarları, antioksidan enzimlerden katalaz, peroksidaz ve askorbat peroksidaz aktiviteleri, lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan malondialdehit miktarında meydana gelen farklılıkları ortaya konmuştur.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. SOYA FASULYESİ (*Glycine max. L. Merrill*)

Leguminosae baklagiller familyasına dahil tek yıllık bir bitki olan soya fasulyesi (*Glycine max L. Merrill*), dünya tarımında yağ üretimi amacıyla yetiştirilen kolza, pamuk, fıstık, ayçiçeği gibi bitkiler arasında % 57'lik oranıyla ilk sırada yer almaktadır. İçerdiği % 20 oranındaki yağın yanı sıra yapısında % 40 oranında protein, % 35 oranında karbonhidrat, % 5 oranında lif, çeşitli mineral ve vitaminler, lesitin, folik asit ve isoflavonlar gibi çeşitli yararlı molekülleri bulunduran soya fasulyesi, bu özelliğinden dolayı besin, yem ve endüstrinin farklı kollarında 200'e yakın kullanım alanına sahiptir (Bakoğlu ve Ayçiçek, 2005; Jenks, 2007; Sincik ve diğ., 2008;).

Soya fasulyesi (*Glycine max L. Merrill*) *Leguminosae* familyasına ait, diploit halde 20 kromozomu bulunan bir bitkidir. Yaklaşık olarak 1,1 Mbp'den oluşan genomu ile soya; Arabidopsis'ten yaklaşık olarak 7,5 kez, pirinçten 2,5 kez büyük, buğdaydan ise yaklaşık olarak 14 kez küçük bir genoma sahiptir. Günümüzde ekimi yapılan soya fasulyesinin (*Glycine max L. Merrill*) kökeni yabani tip soyanın (*Glycine soja* Seib. et Zucc.) antik Çin'de yaklaşık olarak 5000 yıl önce ıslah edilmesine dayansa da, Çin'den dünyaya yayılması çok hızlı olmamıştır. Japonya, Kore gibi Çin'e yakın ülkelerin soya fasulyesi (*Glycine max L. Merrill*) ile tanışması günümüzden 2000 yıl öncesine dayanırken, Kuzey Amerika bu ürünü ilk kez 1765 yılında tanımıştır. Ülkemizde ise soya yetiştiriciliği ilk olarak 1940 yılında Karadeniz Bölgesi'nde başlamıştır. Günümüzde dünya soya üretimi sıralamasında A.B.D. % 33'lük oranla başı çekmektedir, daha sonra % 28'lik oranla Brezilya, % 21'lik oranla Arjantin ve % 6'lık oranla Çin, Amerika'yı takip etmektedir. (Bakoğlu ve Ayçiçek, 2005; Jenks, 2007; Sincik ve diğ., 2008; The American Soybean Association, 2010; USDA, 2010).

Baklagiller familyasından olan soya fasulyesi (*Glycine max L. Merrill*) dünya yemeklik yağlarının 1/3'ünü, protein kaynaklarının ise 2/3'ünü karşılamaktadır. Yapı malzemesi, plastik hammaddesi, baskı mürekkebi bileşeni, boya hammaddesi, hidrolik yağ hammaddesi, kozmetik malzeme bileşeni, farmasötik madde kaynağı, soya-dizeli kaynağı olarak da endüstrinin çok çeşitli kollarında önemli rollere sahiptir. Soya yağının

doymamış yağ asidi/doymuş yağ asidi oranının diğer bitkisel yağlarla karşılaştırıldığında 5,7 gibi yüksek bir değerde olması ve faydalı yağ asitlerini içermesi şeker, koroner kalp ve damar sertliği gibi hastalıkları olan kişilere önerilmesine yol açmaktadır. Ca, Fe, ve Zn elementleri, B ve E vitaminleri bulunduran soya yağı ve değerli aminoasitleri içeren soya proteini yüksek besleyiciliğe sahiptir. Soya, besin oluşturan kısmı alındıktan sonra geriye kalan küspesinin hayvan yemi veya yem katkısı olarak kullanılabilmesi ile de oldukça değerli bir üründür. Soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merrill) bir baklagil bitkisi olması nedeniyle kök nodüllerinde simbiyont olarak yaşayan *Rhizobium (Bradyrhizobium) japonicum* bakterisi sayesinde uygun koşullarda senede 30 kg/da azot fikse edebilmektedir. Bu şekilde hem gübrelemeye gerek kalmadan doğal yollardan azot ihtiyacını karşılayabilmekte hem de kendisinden sonra ekilebilecek bitkiler için azotça zengin topraklar bırakabilmektedir. Ayrıca ülkemizde Ege, Akdeniz ve GAP'ın devreye girmesi ile Güneydoğu Anadolu bölgelerinde tahıl hasadından sonra ikincil ürün olarak yetiştirilebilmesinden dolayı büyük bir tarımsal öneme sahiptir. Ülkemizde soya tarımı için en ideal bölgeler Karadeniz ve Marmara olarak ifade edilirken, soya üretimimizin büyük çoğunluğu % 78 gibi bir oranla Çukurova Bölgesi'nde yapılmaktadır. Ülkemiz 1987 yılında 250.000 ton soya üretmiş iken bu değer 2004 yılında 50.000 tona kadar düşmüştür (Bakoğlu ve Ayçiçek, 2005; Jenks, 2007; Tayyar, 2007; Sincik ve diğ., 2008).

Ülkemizde soya üretiminin arttırılması; toprak verimliliğimizin gübre kullanımına gerek kalmadan korunması ve devam ettirilmesi için gerekli olduğu kadar, aynı zamanda yüksek olan bitkisel yağ ihtiyacımızın karşılanması ve yüksek olan ithalatımızın düşürülmesi için de önemli olduğu ortadadır. Bu sebeple soya fasulyesinin ülkemizde üretiminin uygun olduğu bölgelerde karşılaşılabileceği abiyotik stres koşulları şimdiden tespit edilmeli ve bu abiyotik stres koşulları karşısında bitkinin ortaya koyduğu savunma sisteminin mekanizması incelenmelidir. Ülkemizde ve dünyada çeşitli stres koşullarına dayanıklı bitki çeşitleri geliştirmek amacı ile *in vitro* teknikler ve radyasyon uygulamaları sıklıkla kombine edilmektedir. Radyasyon; bitki ıslahı çalışmalarında klasik ıslah yolu ile çok uzun sürelerde, daha külfetli olarak geliştirilebilecek genomik varyasyonu kısa sürelerde sağlaması açısından önemlidir. Bu bakımdan radyasyonun soya bitkisi üzerinde meydana getirdiği fizyolojik değişikliklerin radyobiyojik açıdan değerlendirilmesi ve ayrıca başta tuzluluk olmak üzere ülkemiz soya çeşitlerinin

gelecekte karşılaşılabilecekleri çeşitli stres koşullarına karşı yürütülecek olan çeşitli mutasyon ıslahı çalışmaları gittikçe önem kazanmaktadır. (Bayar ve Yılmaz, 2004; Bakoğlu ve Ayçiçek, 2005; Sincik ve diğ., 2008)

2.2. TUZ STRESİ

Bitkiler buldukları ortamdan dolayı sürekli olarak biyotik ve abiyotik çevresel stres faktörlerine maruz kalırlar. Bitkiler; kuraklık, tuzluluk, ağır metaller, şiddetli ışık, düşük ve yüksek sıcaklık, besin yetersizliği, radyasyon gibi abiyotik ve çeşitli patojenlerin oluşturduğu biyotik stres faktörlerinin bir veya birden fazlasına maruz kaldıklarında metabolik faaliyetlerinde değişiklikler oluşur. Tuz stresi, su alımında azalma, transpirasyon oranında değişim, fotosentezde ve azot asimilasyonunda azalma, büyüme inhibitörlerinin birikmesi ve metabolik toksisite, gen ekspresyonlarının ve protein sentezinin değişmesi, önemli makromoleküllerin yıkımı, yaşamsal enzimlerin aktivite kaybı, membran sistemlerinin organizasyonunun bozulması gibi değişiklikler büyüme ve gelişimi olumsuz yönde etkileyerek ürün verimliliğini düşürmektedir. Aynı zamanda stres uzun süre devam eder veya stres miktarı aşırı değerlere ulaşır ise, bitkiyi ölüme kadar götürebilmektedir (Hirt, 2003; Parida ve diğ., 2004; Rao, 2006).

Tunçturk ve çalışma arkadaşları (2008) 12 soya çeşidi ile yaptıkları çalışmada 150 mM tuz konsantrasyonunun bitkinin ortalama kuru ağırlığı ve ortalama bitki boyu gibi büyüme parametrelerini tuz toleransına bağlı olarak azalttığını rapor etmişlerdir.

Soussi ve çalışma arkadaşları (1998) nohut bitkisine 100 mM konsantrasyona kadar tuz stresi uyguladıklarında prolin miktarının, total amino asit miktarlarının, fotosentez ve azot fiksasyonunun azaldığını, buna bağlı olarak bitki ortalama kuru ağırlığı gibi büyüme parametrelerinde azalma gözlemlendiğini rapor etmişlerdir.

Hameed ve çalışma arkadaşları (2008b) iki buğday çeşidine 5, 10 ve 15 dS m⁻¹ tuz stresi uygulamış sonuç olarak ortalama bitki boylarının tüm bitkilerde uygulanan her konsantrasyonda azaldığını, ortalama bitki ağırlığının ise bir varyetede değişmediğini diğerinde, 10 dS m⁻¹ tuzluluk değerinden itibaren azaldığını bildirmişlerdir.

Dünyada özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde ürün verimliliğini ve kalitesini olumsuz yönde etkileyen abiyotik stres faktörlerinin en önemlilerinden olan tuzluluk; toprağın en üst katmanlarında suda çözünen tuzların birikmesi durumudur. Elektrik iletkenliği (EC_e) 4 dS m^{-1} üzerinde olan topraklar tuzlu olarak kabul edilmektedir. Fakat bitkiler için zararlı etkilerin başlayabileceği eşik değer; bitki türleri ve hatta aynı türün farklı çeşitleri arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Ayrıca toprağın yağış rejimi ve iklim koşulları gibi çeşitli etmenlerden de etkilenmektedir. Toprak tuzluluğunun başlıca nedenleri arasında; sulamada düşük kalitede suların kullanılması, sulama alanlarında uygun olmayan drenaj, sahil bölgelerinde deniz suyunun fırtınalarla toprağa karışması, kurak ve yarı kurak bölgelerde yetersiz yağış nedeni ile yüzeysel tuzların yeterli yıkanamaması, aşırı ve yanlış gübre kullanımı gösterilebilir. Bu sebepler doğrultusunda artan toprak tuzluluğu; tarihte Sümerler gibi bazı medeniyetlerin kıtlık nedeni ile çöküşüne sebebiyet vermiş, günümüzde ise, dünya topraklarının % 7'sine, sulama yapılan alanların % 20'sine, ekim yapılan alanların % 23'üne ve besinsel amaçlı ekim yapılan alanların % 50'sine hakim olmuştur. Her yıl yaklaşık olarak 10 milyon hektar ekilebilir alan sekonder tuzluluğun olumsuz etkileri nedeni ile tarım için uygunsuz hale gelmekte ve 2050 yılına kadar dünyadaki ekilebilir toprakların % 50'sinin tuzluluktan etkileneceği tahmin edilmektedir. (Narita ve diğ., 2004; Pareek ve diğ., 2007; Chinnusamy ve Zhu, 2006; Pan ve diğ., 2006; Sönmez ve Sönmez, 2007; Doğan ve Saygıdeğer, 2009).

Tuz stresine karşı toleranslarına göre bitkileri, halofitler ve glikofitler olarak iki ana gruba ayırmak mümkündür. Topraktaki tuzluluk oranı % 0,01'i aştığında, glikofit grubuna dahil olan bitkilerin büyüme ve gelişimleri gerileme gösterir. Halofit grubuna dahil olan bitkiler ise, % 2 – 6 civarındaki toprak tuzluluklarında ideal biçimde gelişebilmekte ve toprağın tuzluluk oranı % 20'ye ulaşırsa dahi canlılıklarını koruyabilmektedirler. Dünyada besin amaçlı ekimi yapılan bitki türlerinin hemen hepsi glikofit grubuna dahildir ve tuzluluğa karşı hassastır. Çeşitli tarımsal bitkilerin tuzluluğa karşı toleranslarını tespit etmeye yönelik yapılan çalışmalar; türler arasındaki tuzluluk toleranslarının değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca aynı türün değişik varyeteleri arasında da farklılıklar tespit edilmiştir (Hirt, 2003; Rao, 2006; Doğanlar ve diğ., 2010).

Tuzluluğa karşı tolerans; fotosentez, solunum, su alım etkinliği, hücre zarı – hücre duvarı etkileşimi, yapısal kromozom değişiklikleri gibi temel yaşamsal süreçlerin çeşitli biyokimyasal yollarının değiştirilmesiyle korunmasına bağlıdır. Bitkilerin tuz stresine karşı geliştirmiş oldukları bu biyokimyasal değişiklikler arasında; seçici iyon alımı veya iyonların hücre dışına atılması, iyonların kökten alımını ve yapraklara taşınmasını düzenlemek, hücre ve tüm bitki düzeyinde iyonların kompartımanlaştırılması, çeşitli ozmoprotektanların sentezi (osmotin gibi proteinler; prolin, ektoin gibi amino asitler; glukoz, fruktoz, sukroz, fruktanlar gibi şekerler; spermin, spermidin, glisin betain gibi poliaminler; karotenoid, antosiyanin, betalain gibi pigmentler), fotosentez yollarının değiştirilmesi, membran yapısının farklılaşması, çeşitli antioksidan enzimlerin (peroksidaz, askorbat peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz gibi) ve bitki hormonlarının üretilmesi sıralanabilir (Ashraf ve Harris, 2003; Hirt, 2003; Parida ve Das, 2004; Rao, 2006).

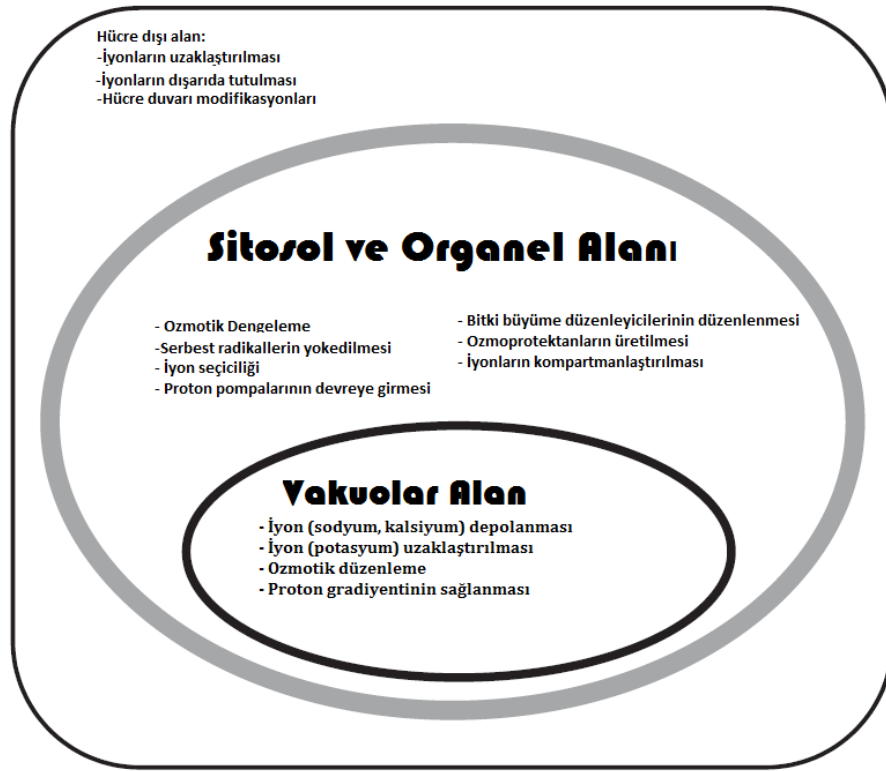
Çiçek ve Çakırlar (2008) yaptıkları çalışmada 6 soya çeşidine 4 farklı konsantrasyonda tuz stresi uygulamış, sonuç olarak glutatyon redüktaz ve peroksidaz enzimlerinin soya bitkisinde artış gösterdiğini askorbat peroksidaz enziminin ise, azaldığını rapor etmişlerdir.

Kaymakanova ve Stoeva (2008) 100 mM tuz uyguladıkları fasulye bitkisinin 3 farklı çeşidinde su alım etkinliğinin, stoma geçirgenliğinin transpirasyon oranının azaldığını bildirmişlerdir.

Othman ve çalışma arkadaşları (2006) arpa bitkisinin 12 farklı çeşidi ile yürüttükleri çalışmada 100, 200 ve 300 mM konsantrasyonlarında tuz stresi uyguladıkları bitkilerde bitki rejenerasyonunda ve iyon alımında değişimler tespit etmişlerdir. Özellikle Na⁺ iyon alımının önemli artışlar sergilediği, K⁺ iyon alımının ise azaldığı rapor edilmiştir.

Normal gelişim süreçlerinin vazgeçilmez bir parçası olan iyon alımı ve kompartımanlaşması; tuzluluk stresi sırasında bozulan hücre içi iyon dengesini sağlaması açısından son derece önemlidir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında yaşamaya adapte olmuş halofit bitkiler bile, yüksek konsantrasyonda tuzu sitoplazmada tolere

edemezler ve hücre içi iyon dengesini sağlamak için vakuollerinde veya bitkinin çeşitli dokularında tuzu biriktirerek daha sonra ölen bu dokuyu bitkiden uzaklaştırırlar. Bitkiler vakuollerindeki iyon dengesini sağlamak için sitoplazmada düşük molekül ağırlıklı çeşitli ozmoprotektanları biriktirirler. Bu ozmoprotektanlar normal biyokimyasal reaksiyonlara katılmazlar, bunun yerine biyokimyasal reaksiyonlarda suyun yerini alırlar. Ozmoprotektanların genel fonksiyonları arasında; CO₂ asimilasyonu, şaperon olarak görev alma, stres tarafından uyarılan oksijen türevlerinin yok edilmesi, ozmotik düzenleme, karbon ve azot depolama, hücresel makromoleküllerin korunması, hücresel pH'ın ayarlanması, hücre detoksifikasyonu sayılabilir (Ashraf ve Harris, 2003; Chinnusamy ve Zhu, 2006; Rao, 2006; Parvaiz ve Satyawati, 2008)



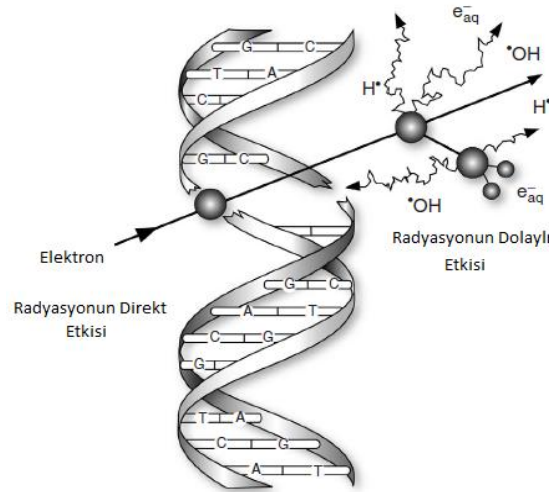
Şekil 2.1: Çeşitli hücresel kısımlarda tuz stresine karşı geliştirilen mekanizmalar.

Garcia ve çalışma arkadaşları (1997) çeltik bitkisi ile yürüttükleri çalışmada %1 NaCl içeren besiyerlerinde yetiştirdikleri sürgünlerde inositol, sitrat, malat, askorbat, sorbitol, mannitol gibi ozmoprotektanların artış gösterdiğini rapor etmişlerdir.

2.3. RADYASYON

Enerji yüklü partiküllerin veya enerji dalgalarının uzayda yayılımı olarak tanımlanan radyasyon iyonizan ve iyonizan olmayan radyasyon olarak ikiye ayrılmaktadır. Etkileşime girdiği atom veya molekülün orbitalinden elektron koparabilecek düzeyde enerjiye sahip olan radyasyon türüne iyonizan radyasyon adı verilir. Ekzitasyonlara da sebebiyet verebilen iyonizan radyasyon, partiküler ve elektromagnetik olmak üzere iki gruba ayrılır. Biyolojik sistemlerle yapılan çalışmalar ve klinik uygulamaların birçoğu elektromagnetik radyasyon kapsamına giren X-ışınlarını ve γ -ışınlarını kullanır (Özalpan, 2001; Lehnert, 2007; Morita ve diğ., 2009).

Radyasyonun tüm çeşitleri canlı sistemlerle etkileşime girdiğinde yolları üzerinde bulunan hücre membranı, DNA gibi yapılarla direkt olarak etkileşime geçerek yapılarında değişikliğe sebep olabilir. Radyasyonun canlıda oluşturduğu biyolojik etkiler canlı tarafından absorbe edilen enerjinin bir fonksiyonudur. Radyasyon başta oksijen ve su olmak üzere çeşitli atom ve moleküllerle etkileşimde bulunabilir. Bu etkileşimler önemli hedeflere zarar verebilen serbest radikallerin oluşumuna sebep olurlar. Radyasyonun bu etkisi dolaylı etki olarak adlandırılır (Şekil 2.2) (Özalpan, 2001; Lehnert, 2007; Morita ve diğ., 2009).



Şekil 2.2 : Radyasyonun direkt ve dolaylı etkisi (Lehnert, 2007).

Hücre membranını oluşturan çift katmanlı lipid tabakasının bazı karbon atomları hidroksil, hidrojen ve oksijen radikallerinin oluşturduğu etkileşimlere karşı hassastır. Bu radikaller hücre membranında lipid peroksitlerin oluşmasına sebep olarak hücre membranının küçük moleküllere ve bazı iyonlara karşı olan geçirgenliğini arttırlar.

Hücre içi iyon dengesinde kontrolsüz bir değişikliğe neden olan bu durum hücreleri ölüme sürükler. Radyasyona maruz kalınması ile direkt olarak tek veya çift zincir kırılmaları oluşabileceği gibi, son derece reaktif olan hidroksil radikalının etkileşimleri sonucu baz modifikasyonları, baz delesyonları, proteinlerin oksidasyonu sonucu proteolitik yıkım apürinik ve apirimidinik bölgelerin oluşması gibi zararlanmalar da meydana gelir. (Özalpan, 2001; Lehnert, 2007; Hameed ve diğ., 2008a).

Hameed ve çalışma arkadaşları (2008a) nohut bitkisinin iki farklı çeşidine uyguladıkları 100 – 1000 Gy arasındaki gama radyasyonu dozlarında, lipid peroksidasyonunun canlı sistemlerdeki belirteci olan malondialdehit miktarını ölçmüşler ve sonuç olarak bitki çeşidine bağlı olarak 700 ve 1000 Gy gama radyasyon dozlarında ilk dozlara oranla 3 kat arttığını bildirmişlerdir.

Hücrelerin radyasyon duyarlılığını hücre döngüsünün çeşitli safhalarında tespit etmeye yönelik yapılan çalışmalar, hücrelerin mitotik evrede radyasyondan en yüksek düzeyde etkilendiğini ortaya koymuştur. Mitotik evrede nükleus membranı ortadan kalkmış ve kromatin materyali kromozomları oluşturmak üzere fonksiyonel katlanmalarını meydana getirmektedir. Başta histon proteinleri olmak üzere DNA'ya bağlanan suda eriyebilen çeşitli proteinler ve poliaminler DNA'yı kırılmalara karşı korumaktadırlar. Bu proteinler ile fonksiyonel katlanmalarını tamamlayamadan radyasyona maruz kalan kromatin materyalinde, tek vuruş inaktivasyonu ile kromatin kırılmaları daha kolay gerçekleşebilmektedir. Yapılan çalışmalar hücrelerin radyasyon hassasiyeti ile kromatin kondensasyonu arasında ters orantı tespit etmiş, kromatin kondensasyonu arttıkça radyasyonun meydana getirdiği kromatin zararlanmaları azalmıştır (Özalpan, 2001; Lehnert, 2007).

Radyasyonun hücreler üzerindeki zararlı etkilerinden bir diğeri oluşturduğu kromozom aberasyonlarıdır. Oluşan bu aberasyonlar hücrenin radyasyona maruz kaldığı hücre döngüsü safhasına bağlı olarak kromozom veya kromatit aberasyonu şeklinde ortaya çıkabilirler. İnterfazın erken safhasında maruz kalınan radyasyon kromozom tipi aberasyona sebep olur. Kromozomdaki bu aberasyon, S fazında kromozomun replike olması sonucu aynı bölgede iki kardeş kromatitide etkileyecektir. Radyasyona maruz kalınan hücre bölünmesinin safhasına bağlı olarak kromozomlarda simetrik veya

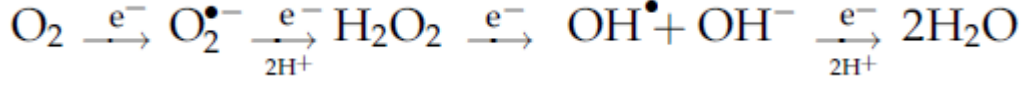
asimetrik translokasyonlar, inversiyonlar, delesyonlar ve disentrik kromozom, halka kromozom gibi yapıları oluşabilir. DNA replikasyonunun tamamlandığı S ve G₂ fazlarından sonra maruz kalınan radyasyonda bir kromozomun yalnızca bir kromatidi zarar görür ve kromatit tipi zararlanma ortaya çıkar. Radyasyona maruz kalması sonucu genotipte meydana gelebilecek bu değişiklikler bitkilerin fenotipinde fide boyunda kısalık, yapraklarda klorofil yıkımları, köklenmede gerileme gibi değişiklikler ortaya çıkar ve bitki verimliliği ciddi oranda etkilenebilir (Alikamanoğlu, 2000; Alikamanoğlu ve diğ., 2007).

2.4. OKSİDATİF STRES VE REAKTİF OKSİJEN TÜREVLERİ

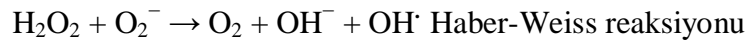
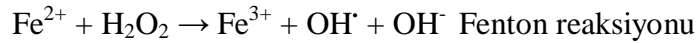
Oksijen; aerobik solunum yapan tüm canlılar için olduğu kadar bitkiler için de büyüme ve gelişme için gereklidir. Hücre içerisinde fotosentez esnasında elektron transfer zinciri başta olmak üzere moleküler oksijen sürekli olarak süperoksit radikali (O₂[•]), singlet oksijen (¹O₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi reaktif oksijen türevlerine (ROT) indirgenir. Normal fizyolojik durumların dışında bir stres faktörü ile karşılaşıldığında bu moleküllerin hücre içerisinde artması ve çeşitli hücre içi bileşenleri ile etkileşimleri, hücreleri ölüme götürebilecek düzeyde zararlanmalara sebep olabilir. Çeşitli fizyolojik süreçler sonucu meydana gelen reaktif oksijen türevlerini ortadan kaldırmak için özelleşmiş antioksidan mekanizmalar (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimler, mannitol, prolin gibi ozmoprotektanlar ve askorbik asit, glutatyon, tioredoksin, karotenoidler gibi antioksidan bileşikler), hücre içerisindeki redoks dengesini sağlarlar. Bitkiler bu dengeyi bozacak biyotik veya tuzluluk, kuraklık, sıcaklık, besin eksikliği, radyasyon gibi abiyotik çevresel stres koşullarına maruz kaldıklarında bu streslerin ikincil bir etkisi olarak oksidatif stres ortaya çıkar (Arora ve diğ., 2002; Grene 2002; Parida ve Das, 2004; Smirnoff, 2005; Chinnusami ve Zhu, 2006).

Stres altında bulunmayan bitkilerde gerçekleşen metabolik süreçlerde oksijenin dört elektronu, mitokondride sitokrom oksidaz enzimi tarafından indirgenir ve ürün olarak su oluşur. Eğer oksijenin tek bir elektronu indirgenirse süperoksit radikali (O₂[•]) açığa çıkar. Süperoksit radikali solunum zincirinde; NADH dehidrogenazın flavoprotein kısmında ve ubiquinon – sitokrom aşamasında olmak üzere iki aşamada ortaya çıkar. Kararsız bir

molekül olan süperoksit, tekrar moleküler oksijene veya süperoksit dismutaz enziminin aracılığı ile hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüşebilir (Greene, 2002; Smirnov, 2005; Lehnert, 2007).



Süperoksitin, lipid membranlardan geçebilme özelliği olmamasından dolayı etkisi üretildiği hücre bölümü ile sınırlıdır. Hidrojen peroksit (H₂O₂) ise yüksüz bir molekül olmasından dolayı hem su, hem de lipid moleküllerine difüze olabilir. Süperoksit göre daha uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir ve yüksüz olduğundan süperoksitin aksine membranlardan geçebilir, geçiş metalleri ile etkileşimi sonucu hidroksil radikali gibi diğer reaktif oksijen türlerinin oluşmasında görev alabilir. Daha az reaktif olan süperoksit ve hidrojen peroksit (H₂O₂) etkileşime girerek demir, bakır gibi geçiş metallerinin aracılığı ile Haber – Weiss veya Fenton reaksiyonlarını başlatarak hidroksil radikalini (OH[•]) oluşturabilirler (Arora ve diğ., 2002; Greene, 2002; Smirnov, 2005)



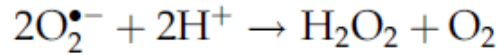
Hidroksil radikali hücredeki en reaktif oksijen türüdür. Kısa ömürlüdür ve etki etmeden önce en fazla 4 nm uzaklığa ulaşabilir. Lipid peroksidasyonuna sebebiyet vermenin yanında, başta DNA ve proteinler olmak üzere birçok molekül ile etkileşime girerek zararlanmalar meydana getirir. Oksidatif stres esnasında oluşan bu serbest radikaller hücre membranındaki lipidlerle etkileşime geçerek lipidlerin metilen grupları arasında bulunan bağlardan elektron koparırlar. Bu lipid peroksidasyonu reaksiyonunun son ürünlerinden biri malondialdehidir. Serbest radikallerin aktiviteleri ile orantılı

olarak sitosolde miktarının artması malondialdehiti oksidatif stres için bir biyomarkör durumuna getirmiştir (Arora ve diğ., 2002; Parida ve Das, 2004; Smirnoff , 2005; Sunkar, 2010).

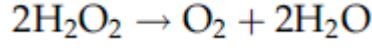
2.5. ANTIOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMASI

Bitkiler sürekli olarak maruz kaldıkları çevresel stres faktörleri sonucu hücre içerisinde oluşan reaktif oksijen türevlerine karşı evrimsel süreçte bazı antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Hücresel antioksidan savunma mekanizmaları enzimatik antioksidan sistem ve enzimatik olmayan antioksidan sistem olmak üzere iki gruba ayrılır. Enzimatik antioksidan sistem içerisinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz, glutatyon peroksidaz, GSH-bağlantılı diğer enzimler (glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz) ve thioredoksin sayılabilir. Enzimatik olmayan antioksidan sistemde ise, düşük molekül ağırlıklı ozmoprotektanlar olan amino asitler (prolin, glisin betain vb...), basit şekerler (fruktoz, glukoz vb...), vitaminler (askorbik asit, α -tokoferol vb...) sıralanabilir (Arora ve diğ., 2002; Grene, 2002; Parida ve Das, 2004; Smirnoff, 2005; Parvaiz ve Satyawati, 2008;).

Metabolik süreç içerisinde meydana gelen süperoksit molekülü SOD enziminin kataliz ettiği reaksiyon sonucu hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürülür (Arora ve diğ., 2002; Grene, 2002; Candan ve Tarhan , 2003; Parida ve diğ., 2004; Smirnoff, 2005; Parvaiz ve Satyawati, 2008;).



Katalaz hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene parçalandığı peroksizomlarda bulunan, demir içeren bir enzimdir. Asıl görevi hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve su molekülüne parçalamak olan katalaz, aynı zamanda alkoller ve fenol bileşiklerini de hücreye zararsız hale getirir. Ayrıca NADPH enzimine bağlanarak bu enzimin inaktif hale geçmesini de önler. (Arora ve diğ., 2002; Grene, 2002; Parida ve Das, 2004; Smirnoff, 2005; Parvaiz ve Satyawati, 2008).



Çeşitli peroksitleri parçalama görevini üstlenen katalaz enzimi kloroplastlarda bulunmaz. Bu organelde oluşan peroksitler askorbat peroksidaz enzimi tarafından askorbat – glutasyon döngüsü ile kataliz edilir. Askorbat aynı zamanda doğrudan süperoksit ile reaksiyona girerek oksitlenme özelliğine de sahiptir. α -tokoferol'ün oksitlenmesi ile oluşan α -kromoksil radikalini indirgeme görevi de askorbata aittir (Arora ve diğ., 2002; Grene, 2002; Parida ve Das, 2004; Smirnoff, 2005; Parvaiz ve Satyawati, 2008).

Peroksidaz çok çeşitli organik bileşiği oksitleme özeliğine sahip hem grubu içeren bir enzimdir. Antioksidant bir enzim olan peroksidaz, hidrojen peroksiti indirgeme fonksiyonuna sahiptir. 37 kDa boyutunda olan peroksidaz enzimi diğer enzimlerin denatüre olabileceği pH ve sıcaklık koşullarında çalışabilmesi açısından büyük öneme sahip bir enzimdir. Antioksidan faaliyetlerinin yanında peroksidazın lignifikasyonda, senesenste, oksin katabolizmasında rol aldığı bilinmektedir (Arora ve diğ., 2002; Grene, 2002; Candan ve Tarhan 2003; Parida ve Das, 2004; Smirnoff, 2005; Parvaiz ve Satyawati, 2008).

Alikamanoğlu ve çalışma arkadaşları (2010) soya bitkisi tohumlarına uyguladıkları 100 – 500 Gy arası gama radyasyon dozlarının rejenere olan bitkilerin superoksit dismutaz enzim aktivitelerini % 3,47 – 31,28 oranında, peroksidaz enzim aktivitelerini % 191,88 – 2125,0 oranlarında arttırdığını rapor etmişlerdir.

Ghorbanli ve çalışma arkadaşlarının (2004) tuz stresinin soya antioksidan enzimlerine etkilerini tespit etmeye yönelik yaptıkları çalışmada 100 mM tuz konsantrasyonunda peroksidaz enzim aktivitesinin direkt olarak arttığını, katalaz enzim aktivitesinin 50 mM'da etkilenmeyip, 100 ve 150 mM'da artış sergilediğini, askorbat peroksidaz enzim aktivitesinin 100 ve 150 mM'da belirgin olarak arttığını rapor etmişlerdir.

Neto ve diğ. (2005) mısır bitkisinde tuz stresinin antioksidan enzimlere etkisini tespit etmeye yönelik yürüttükleri çalışmada, superoksit dismutaz, katalaz, askorbat

peroksidaz enzim aktivitelerini kök ve yapraklardaki aktivitelerinin kontrole göre artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEY MATERYALLERİNİN ELDESİ

Araştırmamızda kullanılan Adasoy soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merrill) çeşidine ait tohumlar Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından sağlanmıştır.

3.2. DOKU KÜLTÜRÜNÜN KURULMASI

3.2.1. Yüzey Sterilizasyonu

Adasoy soya (*Glycine max* L. Merrill) çeşidine ait tohumların yüzey sterilizasyonu için tohumlar; 20 dakika % 20'lik ticari çamaşır suyunda bekletildi. Bu süre boyunca belirli aralıklarla karıştırılan tohumlar sürenin sonunda çamaşır suyunu uzaklaştırmak amacı ile 3 kez steril saf su serilerinden geçirildiler. Bu aşamadan sonra % 99'luk absollü etil alkol ve 3 kez steril saf su serilerinden geçirildikten sonra son olarak steril kurutma kağıdına alınarak kurutuldular (Alikamanoğlu ve Atak, 1994).

3.2.2. Radyasyon ve Tuz Uygulamaları İçin Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmamızda radyasyon uygulanacak Adasoy soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merrill) çeşidine ait ilk gerçek yapraklardan kurulacak olan kültürlerde rejenerasyonun sağlanması amacı ile Gamborg's B5 besiyeri (Tablo 3.1) hazırlandı. Besiyerine 13,5 gr/lt agar ilave edildi. Hazırlanan besiyeri otoklavda 1,2 atmosfer basınç, 121 °C'de 20 dakika steril edildi. Otoklav sonrasında besiyerine 1 ml/lt steril Gamborg's B5 vitamin ilave edildi. Besiyeri aseptik koşullarda steril kültür tüplerine döküldü. Tuz stresi uygulaması için yine aynı şekilde hazırlanan besiyerlerine 10, 20, 30, 40, 50, 60 ve 80 mM NaCl ilave edildi (Alikamanoğlu ve Atak, 1994).

Tablo 3.1 : Hazırlanan Gamborg's B5 besiyerinin içeriği

İnorganik Tuzlar	mg/lt
Amonyum sülfat	134,0
Borik asit	3,0
Calsiyum klorid	113,24
Kobalt klorid 6H ₂ O	0,025
Bakır sülfat 5H ₂ O	0,025
Na ₂ -EDTA	37,3
Demir sülfat 7H ₂ O	27,8
Magnezyum sülfat	122,09
Magnezyum sülfat H ₂ O	10,0
Molibdik asit	0,25
Potasyum iyodid	0,75
Potasyum nitrat	2500,0
Sodyum fosfat	130,5
Çinko sülfat 7H ₂ O	2,0

3.2.3. Tohumların Çimlendirilmesi ve Eksplantların Eldesi

Yüzey sterilizasyonu tamamlanan tohumlar steril koşullarda 10 tohum / petri olacak şekilde % 0,8 agar içeren petrilere yerleştirildiler ve 26 °C'de 16 saat ışık / 8 saat karanlık gün periyodunda çimlenmeye alındılar. Beşinci günde aseptik koşullar altında steril pens ve bistüri yardımı ile iki kotiledon ayrılarak 2 - 3 mm uzunluğundaki ilk gerçek yapraklar eksplant olarak alındı.

3.2.4. Tuz ve Radyasyon Uygulaması

Adasoy soya (*Glycine max* L. Merrill) çeşidinden elde edilen eksplantlar tuz uygulaması için aseptik koşullarda steril pens yardımı ile hazırlanan ve farklı konsantrasyonlarda NaCl içeren besiyerlerine alındılar. Kültürler 26 °C'de 16 saat ışık / 8 saat karanlık gün periyodunda 28 gün boyunca gözlemlendiler.

Radyasyon uygulaması için ise, elde edilen eksplantlar ışınlama petrilерinde İ.Ü. Çapa Tıp Fakültesi Kan Merkezi, kan ışınlama ünitesinde bulunan, aktivitesi 4,5 Gy/dk olan

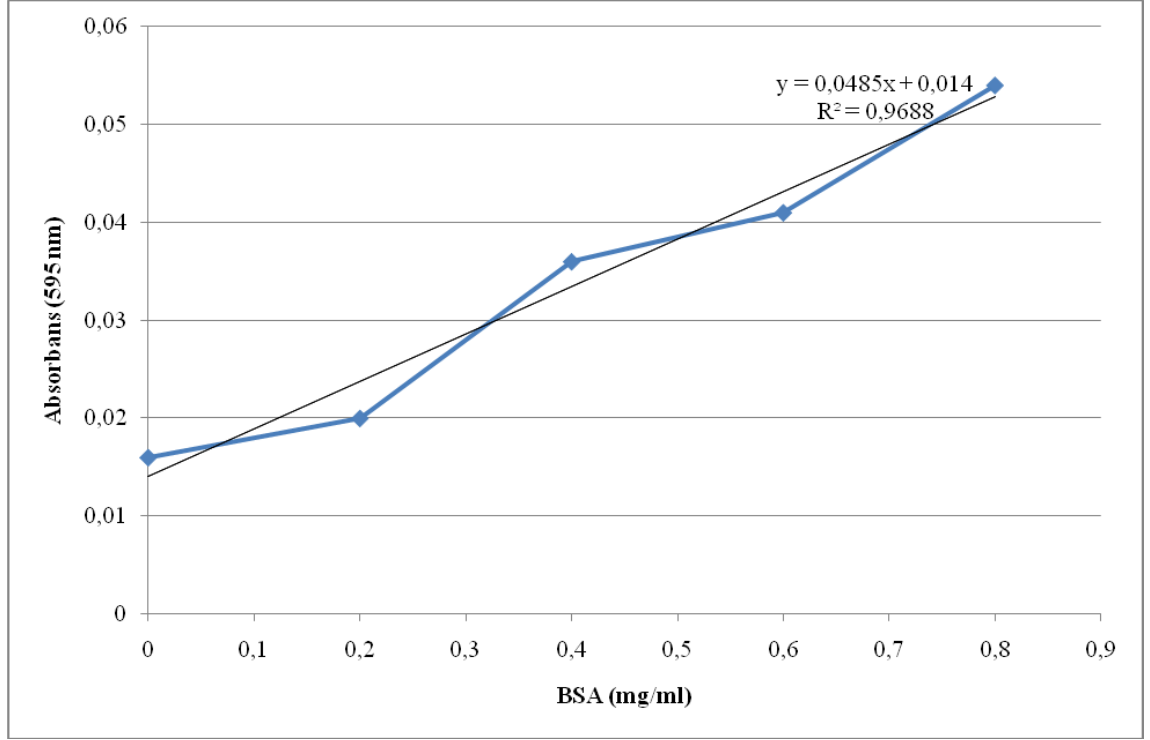
Sezyum - 137 (Cs¹³⁷) kaynağında 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 Gray (Gy) gama radyasyonu dozlarına maruz bırakıldılar. Daha sonra içerisinde taze besiyortamı bulunan kültür tüplerine aseptik koşullarda aktarılan eksplantlar 26 °C'de 16 saat ışık / 8 saat karanlık gün periyodunda 28 gün boyunca gözlemlendiler.

3.3. KÜLTÜR ORTAMINDA BİTKİ VE KÖK REJENERASYONUNUN, ORTALAMA BİTKİ BOYU VE AĞIRLIĞININ BELİRLENMESİ

Farklı konsantrasyonlarda tuz ve farklı dozlarda radyasyon uygulanan soya (*Glycine max* L. Merrill) eksplantlarından kurulan kültürlere ait kontrol ve deney gruplarının rejenerasyon yüzdeleri, rejenere olan bitkilerin taze ağırlıkları, ortalama bitki boyları ve kök rejenerasyon yüzdeleri 28. günde belirlendi.

3.4. SUDA ÇÖZÜNEBİLİR PROTEİN MİKTARI TAYİNİ

Tuz ve radyasyon uygulamasına maruz bırakılan kültürlerin rejenere olan bitkilerinden alınan 28 günlük yaprakların suda çözünebilir protein miktarı Bradford (1976) yöntemine göre tayin edildi. Standart olarak kullanılmak üzere farklı konsantrasyonlarda bovin serum albümin (BSA) hazırlanarak 595 nm dalga boyundaki absorban değerleri kaydedildi. Değerlerden yararlanılarak standart grafiği çizildi (Şekil 3.1) ve doğru denklemi oluşturuldu. Rejenere olan bitki örneklerinden alınan yapraklar 1/10 (w/v) olacak şekilde 100 mM'lık fosfat tamponu (pH 7,0) kullanılarak homojenize edildi. Homojenat +4 °C'de 15000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Elde edilen üst sıvıdan 40 µl alınarak Bradford belirteci ile 2 ml'ye tamamlanarak 595 nm dalga boyunda absorban değeri ölçülür. Elde edilen değer doğru denklemine yerleştirildi ve suda çözünebilir protein miktarı saptandı.



Şekil 3.1 : Suda çözünebilir protein miktarı ölçümü için BSA konsantrasyonlarına göre standart grafik.

3.5. PEROKSİDAZ ENZİMİ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Çalışmamızda kullanılan bitki materyallerinin peroksidaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi için 0,1 gr yaprak örneği 1/10 (w/v) olacak şekilde 0,1 M (pH 7,0) fosfat tamponu eklenerek havan yardımı ile homojenize edildi. Homojenat +4 °C'de 15000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Üst sıvıdan 25 µl alınarak içerisinde 20 mM guaicol ve 20 mM H₂O₂ içeren 100 mM (pH 7,0) fosfat tamponu ile 1 ml'ye tamamlandı. Peroksidaz enzim aktivitesi 1 dakika boyunca 10'ar saniye ara ile 470 nm dalga boyundaki absorbansın kaydedilmesi ile saptandı (Alikamanoğlu, 2010).

3.6. ASKORBAT PEROKSİDAZ ENZİMİ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Tuz ve radyasyon uygulanan deney gruplarının ve kontrol gruplarının askorbat peroksidaz enzim aktivitelerinin Nakano ve Asada (1947) metoduna göre tayin edildi. Örnekler 0,5 mM askorbat içeren 50 mM fosfat tamponu (pH 7,0) ile havan yardımı

kullanılarak homojenize edildi. 0,5 mM askorbat içeren 50 mM (pH 7,0) fosfat tamponuna 0,1 mM H₂O₂ ilave edilerek ölçüm tamponu hazırlandı. 25 µl ekstrakt ölçüm tamponu ile 1 ml hacime tamamlandı ve reaksiyon başlatıldı. Askorbatın H₂O₂-bağımlı oksidasyonu 290 nm dalga boyunda ölçülerek hesaplandı.

3.7. KATALAZ ENZİMİ MİKTAR TAYİNİ

Çalışmamızda kullanılan bitkilerin katalaz enzimi miktarları Aebi (1984) yöntemine göre saptandı. Alınan 0,1 gr yaprak örneği önceden soğutulmuş havanda 50 mM (pH 7,0) fosfat tamponu ilave edilerek homojenize edildi. Homojenat +4 °C'de 15000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen üst sıvıdan 25 µl alınarak içerisinde 30 mM hidrojen peroksit (H₂O₂) bulunan 50 mM fosfat tamponu ile 1 ml'ye tamamlandı. Absorbans değerleri 240 nm dalga boyunda ölçülerek hesaplandı.

3.8. MALONDİALDEHİT MİKTAR TAYİNİ

Çalışmamızda kullanılan kontrol ve deney gruplarının malondialdehit (MDA) miktarları Stewart ve Bewley (1980) metoduna göre kolorimetrik olarak saptandı. Örneklerden alınan 0,1 gr yaprak 1ml distile su eklenerek havan yardımı ile homojenize edildi. Eşit hacimde içerisinde % 0,5 oranında tiobarbitürik asit bulunan % 20'lik trikloroasetik asit çözeltisinden eklendi ve 95 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Örnekleri buz banyosuna yerleştirmek sureti ile reaksiyon sonlandırıldı. Daha sonra örnekler 10000 g'de 30 dakika santrifüj edildi ve üst sıvının 532 ve 600 nm'de absorbans değerleri kaydedildi. Ölçülen veriler µmol MDA / (g x TA) cinsinden hesaplandı.

3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerde, büyüme parametrelerinden ortalama bitki boy uzunluğu ve ortalama bitki taze ağırlığının istatistiksel değerlendirilmesi GraphPad Prism 4.0 istatistik programındaki tek yönlü ANOVA analizine göre yapıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan bitkilerin büyüme parametrelerinin karşılaştırılmasında Student - Newman Keuls testi uygulandı (Zar, 1984).

4. BULGULAR

4.1. TUZ UYGULAMASI

4.1.1. Tuz Stresinin Bitki ve Kök Rejenerasyonu, Ortalama Bitki Boyu ve Taze Ağırlığı Üzerine Etkisi

Adasoy soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merrill) çeşidine ait tohumlardan kurulan kültürlere 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 ve 80 mM NaCl uygulandı. Konsantrasyona bağlı olarak tuz stresinin bitki ve kök rejenerasyonu , ortalama bitki boyu ve ortalama bitki taze ağırlığı üzerinde oluşturduğu değişiklikler 28 gün boyunca gözlenerek saptandı.

28. günün sonunda Adasoy çeşidine ait bitki ve kök rejenerasyonu, ortalama bitki boyu ve ortalama bitki taze ağırlığı değerleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna ait kültürlerin tamamında rejenerasyon gözlenirken; ilk tuz konsantrasyonu olan 10 mM grubuna ait bitkilerde bu değer % 96,6, 20 mM tuz konsantrasyonuna ait kültürlerde ise % 90’dır. 30 mM tuz konsantrasyonundan itibaren bitki rejenerasyonu belirgin olarak azalma göstermiş ve % 73,3’e gerilemiştir. 40 mM tuz konsantrasyonu için % 56,6, 50 mM tuz konsantrasyonu için % 40, 60 mM tuz konsantrasyonu için % 26,6 olarak gözlenmiştir. Çalışmamızda uygulanan en yüksek tuz konsantrasyonu olan 80 mM’da kültür ortamına ekilen eksplantların hiçbirinde rejenerasyon gözlenmemiştir.

Tablo 4.1. Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya fasulyesi çeşidine ait 28 günlük kültürlerin eksplant sayısı, bitki ve kök rejenerasyonu yüzdeleri, ortalama bitki boyları ve taze ağırlıkları.

Deney Grupları	Eksplant sayısı	Rejenerasyon (%)	Ortalama Bitki Boyu (cm)	Ortalama Bitki Taze Ağırlığı (gr)	Kök Oluşumu (%)
Kontrol	30	100	12,56 ±1,77a*	0,685±0,16 a	100
10 mM	30	96,6	9,02 ±1,69b	0,482±0,12 b	100
20 mM	30	90	9,00 ±1,94 b	0,471±0,13 b	96,6
30 mM	30	73,3	5,2 ±1,93c	0,329±0,13 c	96,6
40 mM	30	56,6	3,7 ±1,65 d	0,328±0,17 c	93,3
50 mM	30	40	2,94 ±1,4d	0,324±0,12 c	93,3
60 mM	30	26,6	1,47 ±0,98e	0,300±0,13 c	76,6
80 mM	30	0	-	-	-

* Aynı harfle gösterilmeyenler, kontrol ve NaCl uygulanmış deney gruplarının ortalama bitki boyu ve ortalama bitki taze ağırlığı bakımından aralarındaki farkların, Student-Newman-Keuls Metodu testine göre en az 0,05 önemli olduğunu ifade etmektedir.
± Standart Sapma

28. günde Adasoy çeşidinin kontrol grubuna ait bitkilerin ortalama bitki boyu 12,56 cm olarak ölçülmüştür (Tablo 4.1). 10 mM ve 20 mM tuz konsantrasyonu uygulanan gruplar arasında ortalama bitki boyu açısından belirgin bir farklılık gözlenmezken bu değerler sırası ile 9,02 ve 9,0 cm'ye gerilemiştir. 30 mM tuz konsantrasyonu uygulanan bitkilerin ortalama bitki boyu gözle görülür biçimde azalmış ve 5,2 cm olarak ölçülmüştür.

40 mM ve 50 mM tuz konsantrasyonu uygulanan grupların ortalama bitki boyları arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.1). Bu gruplara ait ortalama bitki boyu değerleri sırası ile 3,7 ve 2,94 cm'dir. Uygulanan en yüksek tuz konsantrasyonu olan 60 mM'da bitkilerin ortalama boyları 1,47 cm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.1: Kontrol ve çeşitli konsantrasyonlarda tuz uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürler.

Deney gruplarının birbiri ile karşılaştırılmasında Newman Keuls testi uygulanmıştır. Testin sonuçlarına göre ortalama bitki boyu bakımından kontrol ile uygulanan tüm tuz konsantrasyonları arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$). 10 ve 20 mM tuz konsantrasyonu içeren deney grupları arasındaki fark önemsizdir. Aynı şekilde 40 mM ile 50 mM tuz uygulanan deney grupları arasındaki fark önemsizdir ($P<0,05$). Ancak bu deney gruplarının kontrol ve diğer deney grupları ile arasındaki farklar önemlidir. 30 mM tuz uygulanan deney grubu ile 60 mM tuz uygulanan deney grubunun kontrol ve diğer deney grupları arasındaki ilişki önemlidir ($P<0,05$).

Adasoy çeşidinin 28. günde kontrol grubuna ait ortalama bitki taze ağırlığı 0,685 gr olarak tartıldı. Bu değer 10 mM tuz konsantrasyonu uygulanan grup için 0,482 gr'a azalmıştır. 50 mM tuz konsantrasyonu uygulanan deney grubunda ortalama bitki taze ağırlığı 0,324 gr'a gerilerken, uygulanan en yüksek tuz konsantrasyonu olan 60 mM grubuna ait bitkilerde ortalama bitki taze ağırlığı belirgin bir düşüş göstererek 0.300 gr olarak ölçülmüştür.

Yapılan istatistiksel analizler sonucu ortalama bitki taze ağırlığı bakımından kontrol ile uygulanan tüm tuz konsantrasyonu içeren deney grupları arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. 10 ve 20 mM tuz konsantrasyonları arasındaki farklılıklar önemsiz, diğer grupları ile olan ilişkileri önemlidir ($P<0,05$). 30 mM, 40 mM, 50 mM ve 60 mM tuz konsantrasyonlarını içeren deney gruplarının kendi aralarındaki farkın önemsiz, kontrol ve diğer deney grupları ile aralarındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan tuzun, kök rejenerasyonu üzerine etkisini tespit etmek amacı ile Adasoy çeşidine ait kültürlerde 28. günde köklenme gösteren bitkiler belirlendi. Kontrol grubuna ve 10 mM tuz konsantrasyonu uygulanmış deney grubundaki eksplantların tamamında kök rejenerasyonu gözlemlendi. 20 mM ve 30 mM tuz konsantrasyonu uygulanan deney gruplarında % 96,6, 40 mM ve 50 mM tuz konsantrasyonu uygulanan deney gruplarında % 93,3 oranında kök rejenerasyonu gözlemlendi. Uygulanan en yüksek tuz konsantrasyonu olan 60 mM'a maruz kalan deney grubunda bu oran % 76,6'ya geriledi. Tuz uygulamasının bitki kök oluşumu üzerine belirgin bir etkisi tespit edilmedi.

4.1.2. Tuz Stresinin Suda Çözünabilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Kontrol ve çeşitli konsantrasyonlarda tuz stresi uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürlerin yapraklarında bulunan suda çözünabilir protein miktarları standart grafik kullanılarak spektrofotometrik olarak hesaplandı. Tablo 4.2'de gösterildiği gibi uygulanan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM ve 50 mM deney gruplarında gruplarında suda çözünabilir protein bakımından kontrole göre bir artış tespit edildi. Uygulanan en yüksek tuz konsantrasyonu olan 60 mM'da daha önceki konsantrasyonlara göre bir azalış olsa da, elde edilen suda çözünabilir protein miktarının kontrole göre yüksek olduğu belirlendi.

Tablo 4.2 : Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin suda çözünebilir protein miktarları.

Uygulanan NaCl Konsantrasyonları	Protein miktarı mg/(g x TA)
Kontrol	2,33±0,10
10 mM	2,59±0,10
20 mM	6,59±0,06
30 mM	6,86±0,19
40 mM	7,42±0,10
50 mM	7,82±0,06
60 mM	5,36±0,02

± Standart Sapma

4.1.3. Tuz Stresinin Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi

Kontrol ve çeşitli konsantrasyonlarda tuz stresi uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürlerin peroksidaz enzim aktiviteleri 470 nm dalga boyunda absorbans değerlerinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile saptandı. Artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak kültürlerdeki peroksidaz enzim aktivitelerinde kontrole göre artış tespit edildi (Tablo 4.3). 10 mM’da 138,75 olan peroksidaz enzim aktivitesinin uygulanan en yüksek konsantrasyon olan 60 mM’da kontrolün 5,26 katına çıkarak 482,58 değerine ulaştığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.3 : Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin peroksidaz enzim aktiviteleri.

Uygulanan NaCl Konsantrasyonları	Peroksidaz aktivitesi $\Delta A / (dk \times g \times TA)$
Kontrol	91,73±5,19
10 mM	138,75±1,75
20 mM	256,07±11,25
30 mM	258,88±2,27
40 mM	317,97±1,98
50 mM	346,56±7,37
60 mM	482,58±18,35

± Standart Sapma

4.1.4. Tuz Stresinin Askorbat Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi

Adasoy çeşidine ait kurulan kültürlerde kontrol ve çeşitli konsantrasyonlarda tuz uygulanmış bitkilerdeki askorbat peroksidaz aktivitesini tespit etmek amacı ile 290 nm dalga boyunda yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucu saptanan değerler Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

10 mM, 20 mM, 30 mM ve 40 mM tuz konsantrasyonlarında askorbat peroksidaz aktivitesi kontrole göre bir artış göstermiştir. 50 mM ve uygulanan en yüksek konsantrasyon olan 60 mM'daki askorbat peroksidaz aktiviteleri kontrole göre yüksek olsalar da en yüksek aktivitenin gözlemlendiği 40 mM tuz konsantrasyonuna göre azalma sergilemişlerdir. Kontrolde 14,06 olan askorbat peroksidaz enzim aktivitesi 40 mM da 30,94 değerine ulaşmıştır.

Tablo 4.4 : Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin askorbat peroksidaz enzim aktiviteleri.

Uygulanan NaCl Konsantrasyonları	Askorbat Peroksidaz aktivitesi $\Delta A / (dk \times g \times TA)$
Kontrol	14,06±0,51
10 mM	18,24±0,73
20 mM	18,47±0,99
30 mM	24,51±2,37
40 mM	30,94±2,56
50 mM	25,76±1,09
60 mM	22,16±1,12

± Standart Sapma

4.1.5. Tuz Stresinin Katalaz Enzimi Aktivitesine Etkisi

Adasoy çeşidine ait kurulan kültürlerde kontrol ve çeşitli konsantrasyonlarda tuz uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki katalaz aktivitesini tespit etmek amacı ile 240 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler yapıldı. Elde edilen ölçümler sonucu yapılan hesaplamalara göre 28 günlük yapraklardaki katalaz aktivitesi kontrol grubunda 13,2 dir bu değer 10 mM tuz konsantrasyonunda kontrole göre artış göstermiş ve 23,2 değerine ulaşmıştır. 20 mM tuz konsantrasyonunda katalaz enzim aktivitesi kontrole göre artış gösterse de, 10 mM tuz konsantrasyonundaki aktiviteye göre göre azalmıştır. 30 mM, 40 mM, 50 mM, ve 60 mM tuz konsantrasyonlarında katalaz enzim aktivitesinin kontrole ve 20 mM tuz konsantrasyonuna göre azaldığı saptanmıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 : Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin katalaz enzim aktiviteleri.

Uygulanan NaCl Konsantrasyonları	Katalaz Aktiviteleri $\Delta A / (dk \times g \times TA)$
Kontrol	13,2±0,055
10 mM	23,2±0,038
20 mM	18,4±0,102
30 mM	10,8±0,029
40 mM	8,8±0,013
50 mM	8,4±0,022
60 mM	8,0±0,008

± Standart Sapma

4.1.6. Tuz Stresinin Malondialdehit Miktarı Üzerine Etkisi

Adasoy çeşidine ait kurulan kültürlerde kontrol ve çeşitli konsantrasyonlarda tuz uygulanmış 28 günlük bitkilerin yapraklarındaki malondialdehit miktarını tespit etmek amacı ile 532 nm ve 600 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kontrolde 5,99 olan malondialdehit miktarı 30 mM da 4,52, 60 mM'da ise 2,44 değerine düşmüştür (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 : Çeşitli konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin malondialdehit miktarları.

Uygulanan NaCl Konsantrasyonları	Malondialdehit Miktarları $\mu\text{molMDA}/(g \times TA)$
Kontrol	5,99±0,04
10 mM	4,90±0,05
20 mM	5,54±0,09
30 mM	4,52±0,03
40 mM	3,91±0,06
50 mM	3,83±0,08
60 mM	2,44±0,07

± Standart Sapma

4.2. RADYASYON UYGULAMASI

4.2.1. Radyasyonun Bitki ve Kök Rejenerasyonu, Ortalama Bitki Boyu ve Taze Ağırlığı Üzerine Etkisi

Adasoy soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merrill) çeşidine ait tohumlardan kurulan kültürlere 0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 Gy dozlarında Sezyum-137 kaynaklı gama radyasyonu uygulandı. Doza bağlı olarak radyasyonun meydana getirdiği oksidatif stresin bitki ve kök rejenerasyonu, ortalama bitki boyu ve ortalama bitki taze ağırlığı üzerinde oluşturduğu değişiklikler 28 gün boyunca gözlenerek saptandı.

28. günün sonunda Adasoy çeşidine ait bitki ve kök rejenerasyonu, ortalama bitki boyu ve ortalama bitki taze ağırlığı değerleri Tablo 4.7’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna ait eksplantların tamamında rejenerasyon gözlenirken; uygulanan ilk doz olan 5 Gy’de % 86,6 rejenerasyon gözlenmiştir. 10 Gy’de % 73,3 oranında bitki rejenerasyonu oluşmuş, 15 Gy’de ise bu oran % 53,3’e gerileyerek kontrole göre yarıya inmiştir. 20 Gy gama radyasyonu dozunda rejenerasyon oranı % 40’a gerilemiştir. Rejenerasyon yüzdesi 25 Gy’de % 13,3 iken, 30 Gy radyasyon dozunda rejenerasyon gözlenmemiştir.

Tablo 4.7: Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya fasulyesi çeşidine ait 28 günlük kültürlerin eksplant sayısı, bitki ve kök rejenerasyonu yüzdeleri,

Deney Grupları	Eksplant sayısı	Rejenerasyon (%)	Ortalama Bitki Boyu (cm)	Ortalama Bitki Taze Ağırlığı (gr)	Kök Oluşumu (%)
Kontrol	30	100	14,78±1,14a*	0,756±0,23 a	100
5Gy	30	86,6	14,22±1,06a	0,732±0,34 a	97,5
10Gy	30	73,3	11,21±2,76 b	0,612±0,09 b	97,2
15Gy	30	53,3	7,31 ±1,15c	0,496±0,23 c	69,7
20Gy	30	40	5,48 ±0,65 d	0,459±0,25 c	65
25Gy	30	13,3	3,70 ±2,25e	0,240±0,13 d	11,9
30Gy	30	0	-	-	-

* Aynı harfle gösterilmeyenler, kontrol ve gama radyasyonu uygulanmış deney gruplarının ortalama bitki boyu ve ortalama bitki taze ağırlığı bakımından aralarındaki farkların, Student-Newman-Keuls Metodu testine göre en az 0,05 önemli olduğunu ifade etmektedir.

± Standart Sapma

28 günlük Adasoy çeşidine ait bitkilerde kontrol grubuna ait ortalama bitki boyu 14,78 cm olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu ile 5 Gy radyasyon dozu uygulanmış bitki grubunda ortalama bitki boyu bakımından önemli bir farka rastlanmamıştır. 5 Gy'de ortalama bitki boyu 14,22 cm olan ortalama bitki boyu 15 Gy gama radyasyonu uygulanmış grupta 7,31 cm'ye gerilemiştir. 20 Gy uygulanmış deney gruplarında ortalama bitki boyu 5,48 iken, 25 Gy'de bu değer 3,70 cm'ye gerilemiştir.

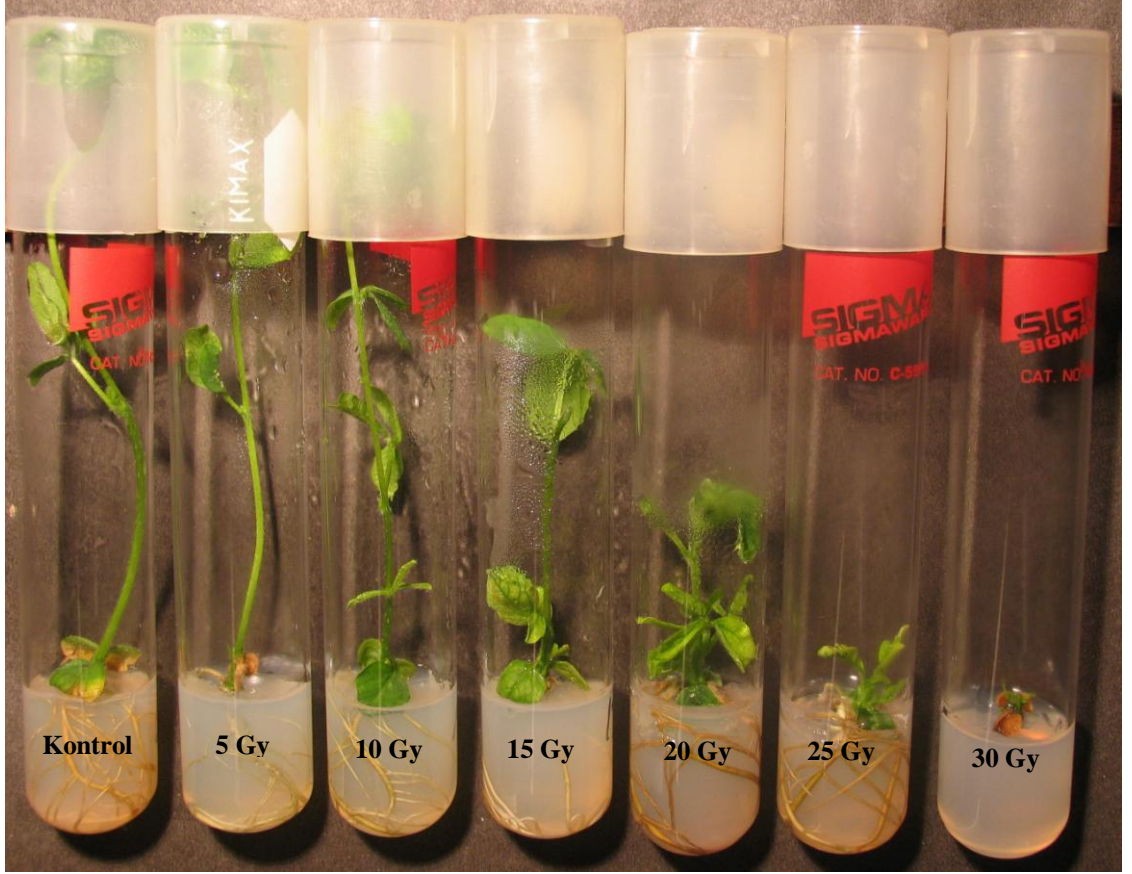
Deney gruplarının birbiri ile karşılaştırılmasında Newman Keuls testi uygulanmıştır. Testin sonuçlarına göre ortalama bitki boyu bakımından 5 Gy gama radyasyonu uygulanan grup haricinde ki tüm deney gruplarının hem kendi hem de kontrol arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$). 5 Gy'lik deney grubunun kontrol grubu ile arasındaki farklar önemsiz ancak diğer deney grupları ile aralarındaki farklar önemlidir.

Adasoy çeşidinin ait radyasyon uygulanmış bitkilerde ortalama bitki taze ağırlığı ölçülmüş ve kontrol grubunda 0,756 gr olarak tespit edilmiştir. 5 Gy gama radyasyonu uygulanan deney grubunda ortalama bitki boyunda olduğu gibi kontrole göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir. 5 Gy'de ortalama bitki taze ağırlığı 0,732 gr olarak tartılmıştır. Bu değer 10 Gy'de 0,612 gr, 20 Gy'de 0,459 gr ve 25 Gy'de ise 0,240 gr olarak tespit edilmiştir.

Yapılan istatistiksel analizler sonucuna göre kontrol ve 5 Gy deney grubundaki ortalama bitki taze ağırlığının kendi aralarındaki farklar önemsiz, diğer deney grupları arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Aynı şekilde 15 ve 20 Gy gama radyasyonu uygulanan deney grupları arasındaki farklar önemsiz, ancak kontrol ve diğer deney grupları arasındaki farklar önemlidir. 10 Gy ile 25 Gy gama radyasyonu uygulanan deney gruplarının hem kendi hem de diğer deney grupları arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$).

Adasoy soya çeşidinde kurulan 28 günlük kültürlerde kök oluşum yüzdeleri hesaplanmış ve kontrol grubuna ait tüm bitkilerde kök rejenerasyonu gözlenmiştir. 5 ve 10 Gy'de bu oran sırası ile % 97,5 ve % 97,2' ye gerilemiştir. 15 Gy uygulanan grupta kök rejenerasyonu oranı % 69,7 olarak belirlenmiştir. 20 Gy'de kök rejenerasyonu

% 65'e düşerken, 25 Gy'de 20 Gy'e göre belirgin bir azalma tespit edilmiş ve bitkilerin kök rejenerasyonu % 11,9'a gerilemiştir.



Şekil 4.2 : Kontrol ve çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürler.

4.2.2. Radyasyonun Suda Çözünabilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Kontrol ve çeşitli dozlarda radyasyon uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürlerin yapraklarında bulunan suda çözünabilir protein miktarları standart grafik (Şekil 3.1) kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve uygulanan radyasyon dozuna bağlı olarak kontrol grubuna göre protein miktarlarının arttığı saptanmıştır. Tablo 4.8'de gösterildiği gibi 15 Gy gama radyasyonu uygulanan deney grubunda kontrole göre 3,26 kat oranında artış gözlenmiştir.

Tablo 4.8 : Çeşitli dozlarda radyasyon uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin suda çözünebilir protein miktarları.

Radyasyon Dozu	Protein miktarı mg/(g x TA)
Kontrol	2,13±0,02
5 Gy	3,67±0,07
10 Gy	5,35±0,18
15 Gy	6,95±0,31
20 Gy	5,22±0,09
25 Gy	5,30±0,04

± Standart Sapma

4.2.3. Radyasyonun Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi

Kontrol ve çeşitli dozlarda radyasyon uygulanmış Adasoy çeşidine ait 28 günlük kültürlerin peroksidaz enzim aktiviteleri 470 nm dalga boyunda absorbans değerlerinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile saptandı. Uygulanan en yüksek doz olan 25 Gy'e kadar tüm dozlarda peroksidaz aktivitesi kontrole göre yükselme sergilemiştir (Tablo 4.9). 25 Gy'de peroksidaz aktivitesi kontrol ve 5 Gy'e oranla yüksek olsa da, 10, 15 ve 20 Gy'in gerisinde kalmıştır. Peroksidaz aktivitesinin en yüksek olduğu 20 Gy'de aktivite kontrole oranla % 144 artarken, uygulanan en yüksek doz olan 25 Gy'de bu artış % 44,8 oranında tespit edilmiştir.

Tablo 4.9 : Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin peroksidaz enzim aktiviteleri.

Radyasyon Dozu	Peroksidaz aktivitesi $\Delta A / (dk \times g \times TA)$
Kontrol	82,75±2,28
5 Gy	103,55±2,43
10 Gy	169,33±1,67
15 Gy	199,21±2,1
20 Gy	201,92±2,90
25 Gy	119,84±1,13

± Standart Sapma

4.2.4. Radyasyonun Askorbat Peroksidaz Enzimi Aktivitesine Etkisi

Adasoy çeşidine ait kurulan kültürlerde kontrol ve çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki askorbat peroksidaz aktivitesini tespit etmek amacı ile 290 nm dalga boyunda yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucu saptanan değerler Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Askorbat peroksidaz aktivitesi kontrolde 14,75 iken 20 Gy radyasyon dozunda 35,02 değerine ulaşmıştır. 25 Gy'de ise bu değer 23,86 olarak kontrole göre % 61,76 lık bir artış göstermiştir.

Tablo 4.10 : Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin askorbat peroksidaz enzim aktiviteleri.

Radyasyon Dozu	Askorbat Peroksidaz aktivitesi $\Delta A / (dk \times g \times TA)$
Kontrol	14,75±0,65
5 Gy	16,74±0,26
10 Gy	16,89±0,46
15 Gy	20,49±0,24
20 Gy	35,02±0,22
25 Gy	23,86±0,44

± Standart Sapma

4.2.5. Radyasyonun Katalaz Enzimi Aktivitesine Etkisi

Adasoy çeşidine ait kurulan kültürlerde kontrol ve çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki katalaz aktivitesini tespit etmek amacı ile 240 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler yapıldı. Elde edilen ölçümler sonucu yapılan hesaplamalara göre 28 günlük kültürlerde kontrole göre en yüksek katalaz aktiviteleri 15 Gy gama radyasyonu uygulanmış deney grubunda tespit edildi. Kontrolde 11,82 olan katalaz enzim aktivitesi 15 Gy de 32,82 ye ulaşmış 25 Gy de ise 8,35 değerine inerek bir azalış göstermiştir (Tablo 4.11).

Tablo 4.11 : Çeşitli dozlarda radyasyon uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin katalaz enzim aktiviteleri.

Radyasyon Dozu	Katalaz Aktiviteleri $\Delta A / (dk \times g \times TA)$
Kontrol	11,82±0,81
5 Gy	14,75±0,53
10 Gy	26,8±0,91
15 Gy	32,82±0,86
20 Gy	8,84±0,11
25 Gy	8,35±0,44

± Standart Sapma

4.2.6. Radyasyonun Malondialdehit Miktarı Üzerine Etkisi

Adasoy çeşidine ait kurulan kültürlerde kontrol ve çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış 28 günlük bitkilerin yapraklarındaki malondialdehit miktarını tespit etmek amacı ile 532 nm ve 600 nm dalga boylarında ki absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçüldü (Tablo 4.12). Radyasyon uygulanan deney gruplarındaki malondialdehit miktarlarının 25 Gy e kadar kontrol grubuna göre bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrolde 4,44 olan malondialdehit miktarı 15 Gy de 7,18 değerine ulaşmış 25 Gy ise 3,54 değerine inerek bir azalış gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 4.12. Çeşitli dozlarda gama radyasyonu uygulanmış Adasoy soya çeşidine ait 28 günlük kültürlerin malondialdehit miktarları.

Radyasyon Dozu	Malondialdehit Miktarları $\mu\text{molMDA}/(\text{g x TA})$
Kontrol	4,44±0,08
5 Gy	6,11±0,30
10 Gy	6,99±0,08
15 Gy	7,18±0,09
20 Gy	4,59±0,05
25 Gy	3,54±0,14

± Standart Sapma

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda başta besin sektörü olmak üzere endüstrinin çeşitli alanlarında önemli yere sahip olan soya (*Glycine max* L. Merrill) bitkisine ait doku kültürleri kurulmuştur. Kurulan bu kültürler, çeşitli konsantrasyonlarda NaCl ve değişen dozlarda gama radyasyonuna maruz bırakılarak farklı oksidatif stres kaynaklarının bitkinin antioksidan savunma mekanizmaları üzerine etkileri biyokimyasal yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmamızda soya (*Glycine max* L. Merrill) bitkisinden kurulan kültürlerde, alınan eksplantların rejenerasyonu Gamborg's B5 besiyeri (Tablo 3.1) kullanılarak sağlanmıştır. Yapılan birçok *in vitro* çalışmada çeşitli bitkilerin en yüksek oranda rejenerasyon sergileyebildiği besiyeri koşulları tespit edilmiş ve kullanılacak bitki çeşitlerine göre optimize edilmiştir. Çeşitli araştırmalarda soya *in vitro* kültürleri için farklı besiyerlerinin kullanılabilmesi bildirilmesine rağmen (Liu, 2000; Tripathi ve Tivari, 2003) soya bitkisinden kurulan *in vitro* kültürlerde rejenerasyonu teşvik etmek amacı ile birçok araştırmacı Gamborg's B5 besiyerini kullanmıştır (Droste ve diğ., 1993; Sharma ve diğ., 2004; Sobkowiak ve diğ., 2004; Yoshida, 2004; Atak ve diğ., 2007; Radhakrishnan ve diğ., 2007; Hoa ve diğ., 2008).

Atak ve çalışma arkadaşları (2007) soya bitkisine manyetik alanın etkilerini araştırdıkları *in vitro* çalışmada sürgün gelişimi için Gamborg's B5 inorganik bileşenlerini ve vitaminini kullanmış, besiyerine 40 mg/lt adenin sülfat, 0,1 gr/lt glutamin, 0,1 mg/lt 2,4-D ilave etmişlerdir.

Sharma ve diğ. (2004) soya bitkisi ile yürüttükleri *in vitro* çalışmada elde ettikleri kotiledon eksplantlarını 0,05 mg/lt IBA, 3 mg/lt BAP içeren Gamborg's B5 besiyerinde yetiştirmişlerdir.

Çalışmamızda soya bitkisinden kurulan *in vitro* kültürlerde tuz stresinin etkisini belirlemek amacı ile hazırlanan besiyeri içerisine 10, 20, 30, 40, 50, 60 ve 80 mM konsantrasyonlarında olacak şekilde NaCl uygulanmıştır. 28 günlük kültürlerde bitkilere

ait rejenerasyon yüzdesi, bitki ortalama taze ağırlığı, ortalama bitki boyları ve kök oluşum yüzdeleri gibi büyüme parametreleri ölçülmüştür.

Büyüme parametrelerinden biri olan bitki rejenerasyon yüzdesi, çalışmamızda uygulanan tuz konsantrasyonlarından etkilenerek tüm deney gruplarımızda kontrole göre azalma sergilemiştir. 80 mM tuz konsantrasyonu hariç uygulanan tüm konsantrasyonlarda rejenerasyon gözlenirken, kontrolde % 100 olan bitki rejenerasyonu 40 mM tuz konsantrasyonunda % 56,6'ya, 60 mM tuz konsantrasyonunda ise % 26,6'ya gerilemiştir.

Ortalama bitki taze ağırlığı, uygulanan en düşük tuz konsantrasyonu olan 10 mM'de % 70,36, en yüksek konsantrasyon olan 60 mM'de ise % 43,8 oranına gerilemiştir. Ortalama bitki taze ağırlığındaki bu azalış ortalama bitki boylarında da gözlenmiştir. 10 mM tuz konsantrasyonu içeren besi yerinde rejenere olan 28 günlük bitkilerin ortalama bitki boyları kontrole göre % 71,82 oranına, 60 mM tuz konsantrasyonunda ise % 11,7 oranına gerileme göstermiştir.

Artan konsantrasyonlarda uygulanan NaCl'nin, bitki kök oluşum yüzdelerine belirgin bir etkisi 60 mM'a kadar gözlenmemiştir. Tuz içermeyen besi ortamlarında yetiştirilen tüm kontrol grubu bitkilerinde köklenme gözlenirken, 60 mM tuz konsantrasyonu uygulanmış bitkilerde bu oran % 76,6'ya gerilemiştir.

Elde edilen bu veriler bize, bitki rejenerasyonunda ve ortalama bitki boylarında 40 mM tuz konsantrasyonu ortalama bitki taze ağırlıklarında ise 30 mM tuz konsantrasyonunun üzerine çıkılması durumunda bir gerileme olduğunu göstermiştir.

Tuz stresi birçok tarımsal bitkide ortalama bitki boyu, ortalama bitki taze ağırlığı gibi büyüme parametrelerinde azalmaya sebep olmaktadır (Blanco ve diğ., 2007). Tuz stresinin bir sonucu olarak ortaya ozmotik stres, iyon dengesizlikleri ve iyon toksisitesi açığa çıkmaktadır. Böylelikle su ve suda çözülmüş besin alımı kısıtlanan bitkinin metabolik faaliyetlerinde değişiklikler meydana gelmektedir (Tunçtürk ve diğ., 2008). Metabolik faaliyetlerdeki bu değişiklikler sonucu büyüme parametrelerinde gerileme

meydana geldiği birçok çalışma ile saptanmıştır (Essa, 2002; Blanco ve diğ., 2007; Aghaei ve diğ., 2009).

Aghaei ve çalışma arkadaşları (2009) soya fasulyesi ile yaptıkları çalışmalarında, 50 mM tuzluluğun bitki taze ağırlığını % 20 civarında azalttığını, 200 mM'da ise, bu oranın % 80'e yükseldiğini rapor etmişlerdir. Ortalama bitki kök uzunluğu bakımında da 200 mM tuz konsantrasyonunda kontrole göre % 70'e varan azalmalar tespit etmişlerdir.

Blanco ve diğ. (2007) tuz stresinin mısır ve soya bitkilerinin gelişimine etkisini belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada 0,3 – 5,9 dS m⁻¹ aralığında stres uygulamışlardır. Sonuçlara göre soya bitkisinde uygulanan en düşük dozda ortalama bitki boyu 18,7 cm iken uygulanan en yüksek dozda bu değer 14,2'ye gerilemiştir. Ortalama yaprak taze ağırlıkları uygulanan en düşük dozda 307 mg iken uygulanan en yüksek dozda 199 mg'a düşmüştür.

Çalışmamızda uygulanan diğer bir oksidatif stres etmeni olan gama radyasyonunun bitki üzerindeki etkilerini tespit etmek amacı ile çimlenmelerinin 5. gününde bulunan tohumlardan alınan eksplantlar Sezyum-137 kaynağı ile 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 Gy'lik dozlarla maruz bırakılmışlardır.

Uygulanan radyasyon dozlarındaki artışa bağlı olarak, rejenere olan bitkilerin yüzdesi çalışmamızda azalma göstermiştir. Kontrolde % 100 bitki rejenerasyonu gözlenirken uygulanan ilk doz olan 5 Gy'de bu oran 86,6'ya, 15 Gy'de 53,3'e gerilemiştir. Uygulanan en yüksek doz olan 30 Gy'de hiçbir bitkide rejenerasyon gözlenmemiştir.

28 günlük kültürlere uygulanan en düşük doz olan 5 Gy'de ortalama bitki taze ağırlığının kontrole göre % 96,83 oranına, en yüksek doz olan 25 Gy'de ise % 31,75 oranına gerilediği tespit edilmiştir. Ortalama bitki taze ağırlığına paralel olarak ortalama bitki boyları ise 5 Gy uygulanan deney grubunda % 96,21 oranına azalır iken, 25 Gy uygulanan bitkilerde % 25 oranına gerilemiştir. Çalışmamızda artan gama radyasyonuna bağlı olarak kök oluşumunda azalma gözlenmiştir. En belirgin azalma en yüksek doz olan 25 Gy de % 11,9 olarak saptanmıştır.

Gama radyasyonunun kromozomlarda yapısal değişikliklere sebep olarak gerekli gen kombinasyonlarının oluşumunu engellediği (Hossain ve Alam, 2001), dolayısı ile sentezlenen proteinlerde değişimlere yol açarak çeşitli büyüme parametrelerinin azalmasına sebep olduğu yapılan birçok çalışmada bildirilmektedir (Cheema ve Atta, 2003; Minn ve diğ., 2008; Shereen ve diğ., 2009; Borzouei ve diğ., 2010).

Ayrıca radyasyon serbest radikal üretimini hızlandırarak reaktif oksijen türevlerinin meydana getirdiği zararlanmalara sebep olmakta, protein sentezi ve enzim aktiviteleri uygulanan doza bağlı olarak artışlar ve ya azalışlar sergileyebilmektedir (Alikamanoğlu ve diğ., 2007; Al-Rumaih ve Al-Rumaih, 2008; Aghaei ve diğ., 2009).

Alikamanoğlu ve çalışma arkadaşları (2007) Paulowinia bitkisinin *in vitro* kültürleri üzerinde manyetik alan ve gama radyasyonunun etkilerini incelemişler, sonuç olarak iyonizan radyasyonun enzimatik onarım süreçlerini direkt etkilediğini bildirmişlerdir.

Al-Rumaih ve Al-Rumaih (2008) 3 Trigonella çeşidine ⁶⁰Co kaynağı ile 100 Krad'a varan çeşitli dozlar uygulamış, gama radyasyonunun askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz, superoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığını katalaz aktivitesini ise düşürdüğünü rapor etmiştir.

Bitkiler, çeşitli stres koşullarına maruz kalmaları durumunda açığa çıkan oksidatif strese karşı hücresel mekanizmalarında bazı değişikliklere giderler. Doğrudan gen anlatımı modifikasyonlarına yol açan bu değişiklikler, çeşitli metabolitlerin ve proteinlerin hücre içerisinde artmasına veya azalmasına sebep olurlar (Aghaei ve diğ., 2009). Çalışmamızda meydana gelen bu değişiklikleri tespit etmek amacı ile NaCl ve gama radyasyonu uygulanan soya bitkilerinin suda çözünebilir protein miktarları ölçülmüştür.

Çalışmamızda suda çözünebilir protein miktarları uygulanan tüm tuz konsantrasyonlarında artış göstermiştir. Kontrole göre 50 mM tuz konsantrasyonuna kadar 1,11 – 3,36 kat olan bu artış, 60 mM tuz konsantrasyonunda 2,30 dur.

Bitkilerde tuz stresinden etkilenen mekanizmalardan biri protein sentezidir. Suda çözünebilir protein miktarı aynı zamanda bitkinin içerisinde bulunduğu fizyolojik

durumu gösteren önemli bir parametredir. Çalışmamızda bitkiler tuz stresini 50 mM konsantrasyonuna kadar tolere edebilmiş, strese yanıt olarak antioksidan savunmada görev alan çeşitli proteinlerin üretimi artış göstermiştir. Belirli doz artışlarının sonucu olarak çeşitli bitkilerin protein miktarlarında değişiklikler oluşabileceği birçok çalışmada farklı bitkiler için rapor edilmiştir (Parida ve diğ., 2004; Aghaei ve diğ., 2009; Sakr ve Arafa, 2009; Doganlar ve diğ., 2010; Sobhanian ve diğ., 2010).

Doğanlar ve çalışma arkadaşları (2010), 25 - 200 mM tuz konsantrasyonları arasındaki NaCl'nin 3 farklı domates çeşidinin çeşitli pigment ve suda çözünebilir protein miktarları üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, her üç domates çeşidinde suda çözünebilir protein miktarlarının artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak artış azalabileceğini bildirmişlerdir.

Sobhanian ve çalışma arkadaşları (2010) 20 – 80 mM arasında NaCl uyguladıkları soya bitkisinin yaprak ve kökleri ile proteonom çalışmasında metabolik faaliyetlerden sorumlu proteinlerin regülasyonunda azalma gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Aghaei ve çalışma arkadaşları (2009) soya bitkisi ile yürüttükleri çalışmalarında 100 mM tuz stresine maruz kalan bitkilerin çeşitli proteinlerinin anlatımlarında artışlar ve azalışlar tespit etmişlerdir. Gözlemleri sonucu bitki büyüme parametrelerinde azalmalara rastlamış bunun nedenini tuz stresinin birçok genin anlatımını azaltması ve bunun sonucu olarak o genin ürünü olan proteinin yetersiz üretilmesi olarak rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda radyasyon uygulanan soya bitkilerinde 15 Gy doza kadar suda çözünebilir protein miktarları 1,72 – 3,26 kat artış göstermiştir. 20 Gy gama radyasyon dozu uygulanan grup, 15 Gy uygulanan gruba göre azalma göstermekle birlikte kontrole göre 2,45 katlık bir artış sergilemiştir.

Çalışmamızda daha düşük radyasyon dozlarında suda çözünebilir protein miktarlarının artış göstermesi, yükselen dozlarda ise bu miktarların azalması uygulanan radyasyon dozu ile suda çözünür protein bakımından bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır. Yüksek dozlardaki radyasyon, bitkilerde gelişim aşamasında RNA sentez ve işlevlerini

engelleyerek proteinlerin sentezini kısıtlamaktadır. Ayrıca radyasyonun dozu ile birlikte artan reaktif oksijen türevleri proteinler üzerinde yapısal değişikliklere yol açarak protein yıkımlarına neden olabilmektedir (Kiong ve diğ., 2008). Bu durum çalışmamızda 20 Gy dozdan itibaren görülmektedir. Uyguladığımız iki oksidatif stres kaynağı kendi aralarında karşılaştırıldıklarında radyasyonun soya bitkisi protein miktarlarını, NaCl'ye göre daha belirgin bir biçimde negatif yönde etkilediği saptanmıştır.

Kiong ve çalışma arkadaşları (2008) ilaç üretiminde kullanılan *Ortosiphon stamineus* bitkisine gama radyasyonu uygulayarak oluşacak olan fizyolojik değişiklikleri araştırmışlardır. 10 – 70 Gy dozlar arasında çeşitli dozlarda ışınlamalar yaptıklarında 10 ve 20 Gy'de suda çözünebilir protein miktarı bakımından kontrole göre artış, uygulanan diğer dozlarda ise sürekli bir düşüş rapor etmişlerdir.

Bitkiler strese maruz kaldıklarında yapraklarda su kaybı, yaprak alanlarında küçülme, klorofil pigmentinde azalma gibi fotosentez ile doğrudan ilişkili fizyolojik durumlar meydana gelir. Tuz stresine maruz kaldığında bitkide klorofil yıkımından sorumlu enzim olan klorofilaz miktarı hücrede artar. İyon dengesizlikleri sonucu hücresel membran sistemlerinde düzensizlikler oluşarak kloroplast yıkımları gerçekleşir, pigment – protein komplekslerinde düzensizlikler meydana gelir (Alikamanoğlu ve diğ., 2007; Beinsan ve diğ., 2006).

Bitkiler, tuzluluk veya ionizan radyasyon gibi çeşitli stres koşullarına maruz kaldıkları durumlarda antioksidan savunma sistemleri devreye girer. Peroksidaz, askorbat peroksidaz ve katalaz bu antioksidan savunma sisteminin bileşenlerinden olup hücre için zararlı reaktif oksijen türevlerinden biri olan hidrojen peroksidin zararsız hale getirilmesinden sorumludurlar.

Guaiacol'ü oksitleyerek hidrojen peroksidi redükleme fonksiyonuna sahip hem grubu antioksidan enzimlerden biri olan peroksidazın aktivitesi, uyguladığımız tüm NaCl konsantrasyonlarında artış göstermiştir. Çalışmamızda peroksidaz aktivitesi 60 mM'da kontrole göre % 526,1 seviyesine kadar çıkmıştır.

Ghorbanli ve çalışma arkadaşları (2004) tuz stresinin soya antioksidan enzimlerine etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada; 50, 100, 150 mM NaCl konsantrasyonlarını uygulamışlardır. 50 mM NaCl konsantrasyonunda % 139 ve uyguladıkları en yüksek konsantrasyon olan 150 mM'da peroksidaz enzim aktivitesinde % 191 artış rapor etmişlerdir.

M'barek ve çalışma arkadaşları (2007) arpa bitkisinde peroksidaz aktivitesi ile tuz stresinin ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında 5 farklı arpa çeşidine 3, 6 ve 9 gr/lt NaCl uygulamış ve tüm çeşitlerin peroksidaz aktivitelerinde 9 gr/lt konsantrasyonuna kadar artış, 9 gr/lt konsantrasyonunda ise azalış rapor etmişlerdir.

Peroksidaz aktivitesi çalışmamızda uyguladığımız tüm gama radyasyonu dozlarında kontrole göre yükseliş sergilemiştir. 20 Gy gama radyasyonu uygulanan grupta kontrole göre % 244 oranına yükselen peroksidaz aktivitesi, uyguladığımız en yüksek doz olan 25 Gy'de 20 Gy'e göre azalmış ancak kontrolün % 44,82 üzerinde aktivite sergilemiştir.

Alikamanoğlu ve çalışma arkadaşları (2010) soya bitkisi tohumlarına uyguladıkları 100 – 500 Gy arasındaki gama radyasyonu dozlarının rejenere olan bitkilerin peroksidaz enzim aktivitesini % 191,88 – 2125,0 arasında arttırdığını rapor etmişlerdir.

Hameed ve çalışma arkadaşlarının (2008a) nohut bitkisi tohumlarına uyguladıkları 100 – 1000 Gy aralığındaki gama radyasyonu dozlarında rejenere olan bitkilerin peroksidaz enzim aktivitelerinin 100 Gy'de kontrole göre azaldığını, sonraki dozlarda 500 Gy'e kadar arttığını ve bu dozdan sonra tekrar kontrole göre azaldığını rapor etmişlerdir.

Hücre içerisinde hidrojen peroksiti parçalama görevini üstlenen bir diğer antioksidan enzim askorbat peroksidazdır. Çalışmamızda askorbat peroksidaz enzim aktiviteleri 40 mM tuz konsantrasyonuna kadar artış sergilemiştir. 40 mM'da kontrole göre % 220,1 oranına yükselen aktivite bu konsantrasyondan sonra düşmeye başlamıştır. Uygulanan en yüksek konsantrasyon olan 60 mM'da enzim aktivitesinin kontrole göre % 157,6 oranına ulaştığı tespit edilmiştir.

Neto ve çalışma arkadaşlar (2005) mısır yapraklarında askorbat peroksidaz aktivitesinin tuz stresine maruz kalındığında katalaza göre daha düşük seviyede kaldığını fakat artan dozlara bağlı olarak yükseliş gösterdiğini rapor etmişlerdir. Buğday bitkisi ile yapılan başka bir çalışmada da artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak askorbat peroksidaz enzim aktivitesinde artış rapor edilmiştir (Heidari ve Mesri, 2008).

Çalışmamızda uyguladığımız tüm radyasyon dozları, askorbat peroksidaz bakımından kontrole göre artış sergilemiştir. En yüksek aktivite artışı kontrole göre % 237,42 oranla 20 Gy uygulanan bitki grubunda gözlenmiştir. 25 Gy radyasyona maruz kalan soya bitkilerinde hem katalaz hem de askorbat peroksidazda elde edilen düşük değerler, oksidatif stresin bitkinin tolere edemeyeceği düzeylere yükselmesi ve protein denatürasyonlarına sebebiyet vermesi ile bağlantılı olabilir. Çalışmamızda 25 Gy uygulanan soya bitkilerinden elde edilen suda çözünebilir protein miktarı verileri, radyasyonun RNA fonksiyonları ve dolayısı ile protein ve enzimler üzerine inhibe edici etkisini desteklemektedir.

Al-Rumaih ve Al-Rumaih (2008) üç *Trigonella* çeşidine uyguladıkları 0-100 Krad aralığındaki gama radyasyonunun antioksidan enzimlere etkilerini araştırdıkları çalışmada askorbat peroksidaz enzim aktivitelerinin her üç çeşitte de kontrole göre 1,5 – 2 kat arasında arttığını katalaz enzim aktivitelerinin ise % 30 – 50 arasında azaldığını rapor etmişlerdir.

Reaktif oksijen türevlerinden biri olan hidrojen peroksidi parçalama görevini üstlenen antioksidan enzimlerden biri de katalazdır. Katalaz, doğrudan hidrojen peroksitle reaksiyona girerek onu su ve oksijene parçalayan bir metaloenzimdir. Hücre içi redoksun sağlanmasında büyük görevi olan katalazın, tuz stresine maruz kalan buğday ve pirinç bitkilerinde azalma gösterdiği rapor edilmiştir (Hameed ve diğ., 2008b).

Çalışmamızda 10 ve 20 mM tuz konsantrasyonlarında katalaz aktivitesi kontrole göre sırası ile % 175,76 ve % 139,39 değerlerine ulaşmıştır. 20 mM'dan sonra artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak katalaz aktivitesi düşüş sergilemiştir. Askorbat peroksidaz ve katalaz hücrede hidrojen peroksitin ortadan kaldırılması görevini üstlenen

başlıca iki enzimdir. Katalaz enzimindeki bu azalma peroksidaz ve askorbat peroksidaz enziminin aktivitesinde bir artışın gözlenebileceğini bize hatırlatmaktadır.

Esfandiari ve çalışma arkadaşlarının buğday bitkisine 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl uyguladıkları çalışmalarında, her iki varyetede katalaz aktivitelerinin 50 mM tuz konsantrasyonunda kontrole göre yükseldiğini ve uygulanan diğer dozlarda kontrolün gerisinde kaldığını bildirmektedirler (Esfandiari ve diğ. 2007).

Çalışmamızda çeşitli dozlarda radyasyona maruz bırakılan soya bitkilerinde 15 Gy gama radyasyonu dozuna kadar katalaz aktivitesinde artış gözlenmiştir. Oksidatif stres, artan radyasyon dozlarına bağlı olarak artmaya devam ettiğinden 20 Gy'den itibaren katalaz aktivitesinde belirgin bir düşüş gözlenmiştir. 15 Gy radyasyona maruz kalan bitkilerde katalaz aktivitesi kontrole göre % 277,66 oranına yükselirken, uygulanan en yüksek doz olan 25 Gy'de katalaz aktivitesi % 70,6 oranına azalmıştır.

Radyasyon, reaktif oksijen türevleri bakımından dengede olan hücresel metabolizmayı antioksidan sinyal kaskadını tetikleyecek şekilde bozar. Reaktif oksijen türevlerinin, özellikle de hidrojen peroksitin ortadan kaldırılmasında görev alan katalaz enziminin aktivitesinin radyasyona maruz kalan bitkilerde değişme gösterdiği bildirilmektedir. Katalaz inaktivasyonunun askorbat peroksit miktarında artışa neden olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. (Al-Rumaih ve Al-Rumaih, 2008).

Bitkilerin strese maruz kalmaları sonucu oluşan reaktif oksijen türevleri hücre membranındaki lipidler ile etkileşime girerek lipidlerin metilen gruplarından elektron koparırlar. Meydana gelen reaksiyonun bir son ürünü olan malondialdehit sitosolde birikerek oksidatif stresin membranda oluşturduğu zararlanma için bir göstergedir. Malondialdehitin oluşumu doğrudan reaktif oksijen türevlerine bağlı olduğundan katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin görevlerini düzgün yapmaları durumunda miktarı sabit kalmaktadır. Antioksidan enzimler yüksek oksidatif stres altında aktivite kayıplarına uğradıklarında malondialdehit miktarı artar (Esfandiari ve diğ., 2007; Ashraf ve diğ., 2010; Wang ve diğ., 2010).

Çalışmamızda NaCl uygulanan tüm bitkilerin malondialdehit miktarları kontrole göre azalma göstermiştir. Kontrol ile uygulanan en yüksek tuz konsantrasyonu olan 60 mM arasında % 59,27 oranında azalma tespit edilmiştir. 10 mM tuz konsantrasyonunda malondialdehit miktarının 20 mM tuz konsantrasyonu uygulanan bitkilere göre düşük çıkması 10 mM tuz konsantrasyonu uyguladığımız bitkilerdeki katalaz enzimi aktivitesinin tüm tuz konsantrasyonu uygulanan gruplar arasında en yüksek değerde olması ile açıklanabilir. Özellikle oksidatif stresten dolayı lipid peroksidasyonun ve dolayısıyla malondialdehit miktarının en yüksek olmasını beklenebileceği 60 mM tuz konsantrasyonunda malondialdehit miktarının düşük kalması, peroksidaz enziminin bu konsantrasyonda en yüksek değerde olması arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

Kaymakova ve Stoeva (2008) fasulye bitkisinin tuz stresine verdiği fizyolojik tepkileri ortaya koyamaya yönelik yaptıkları çalışmada 100 mM NaCl uyguladıklarında malondialdehit miktarının kontrole göre 1,5 kat arttığını rapor etmişlerdir.

Neto ve çalışma arkadaşları (2005) tuzluluğa dayanıklı ve hassas mısır çeşitleri ile yaptıkları çalışmada 100 mM tuz stresini 5, 10, 15, 20, 25 gün sürelerle bitkilere uygulamış ve malondialdehit miktarı üzerine etkilerini gözlemlemişlerdir. Malondialdehit miktarının 20. güne kadar artış gösterdiğini 20. günden sonra kontrole göre azaldığını rapor etmişlerdir.

Ashraf ve arkadaşları (2010) 2 farklı buğday genotipine 0 - 150 mM NaCl tuz stresini bitkinin vejetasyon, köklenme ve reprodaktif olmak üzere üç farklı gelişim evresinde uygulamış ve yapraklardaki malondialdehit miktarlarının her gelişim evresinde kontrole göre artış gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Çeşitli radyasyon dozları uyguladığımız bitkilerde malondialdehit miktarı 15 Gy gama radyasyonu uygulanan doza kadar artış sergilemiştir. 15 Gy'lik dozdan sonra azalma gösterip en yüksek doz olan 25 Gy de kontrolün gerisinde kalmıştır. 10 ve 15 Gy'lik dozlarda katalaz ve peroksidaz enzimlerinin diğer gruplara göre yüksek değerlerde olmasına rağmen malondialdehitin bu gruplarda yüksek çıkması H₂O₂'in

konsantrasyonunun arttığını ve buna neden olan süperoksit radikalinin radyasyonun bu dozlarından etkilenecek büyük oranda artış gösterdiğini bizlere düşündürmektedir.

Stajner ve Popoviç (2009) gama radyasyonunun soya bitkisi antioksidan enzimlerine ve MDA miktarına etkisini araştırdıkları çalışmada uyguladıkları en yüksek doz olan 200 Gy'de MDA miktarının kontrole göre % 21,6 oranında arttığını rapor etmişlerdir.

Bu tez çalışması dahilinde yürütülen deneyler sonucunda;

Tuz ve radyasyon uygulamalarının, soya (*Glycine max* L. Merrill) bitkisinin Adasoy çeşidi doku kültürleri üzerine etkisi incelenmiş, artan tuz konsantrasyonları ve radyasyon dozlarına bağlı olarak çeşitli büyüme parametrelerinde ve antioksidan savunma sistemlerinde değişimler saptanmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda tuz ve çeşitli dozlarda radyasyon uygulanan Adasoy çeşidine ait kültürlerde, artan konsantrasyon ve dozlara bağlı olarak özellikle bitki rejenerasyonunda önemli azalmalar tespit edilmiştir.

Uygulanan en yüksek tuz konsantrasyonu olan 80 mM'da ve uyguladığımız en yüksek radyasyon dozu olan 30 Gy'de rejenerasyona rastlanmamıştır.

Artan tuz konsantrasyonları ve radyasyon dozları peroksidaz, askorbat peroksidaz, katalaz antioksidan savunma mekanizmaları ile suda çözünebilir protein ve malondialdehit miktarında değişimlere sebep olmuştur.

Besinsel değeri ve endüstrinin farklı kollarına hammadde teşkil etmesi nedeniyle önemli bir tarımsal ürün olan soya fasulyesinin, tuzluluk oranı gün geçtikçe artan ülkemiz topraklarında daha verimli bir şekilde yetiştirilebilmesini sağlamak amacı ile gelecekte yürütülecek olan çeşitli ıslah çalışmaları için bu bitkinin tuzluluğa verdiği enzimatik ve enzimatik olmayan yanıtları belirlemek önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasında tuzluluk ve radyasyon gibi iki farklı oksidatif stres kaynağının antioksidan savunma mekanizmasına etkileri tespit edilmiştir. Elde edilen veriler bu iki stres faktörünün bir

arada kullanılması ile yapılacak olan mutasyon ıslahı çalışmalarına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

AEBI, H., 1984, Catalase *in vitro*, *Methods in Enzymology*, Vol. 105, 121-126.

AGHAEI, K., EHSANPOUR, A. A., SHAH, A. H., KOMATSU, S., 2009, Proteome analysis of soybean hypocotyl and root under salt stress, *Amino Acids* 36: 91-98.

ALIKAMANOGLU, S., YAYCILI, O., SEN, A., 2010, Effect of Gamma Radiation on Growth Factors, Biochemical Parameters, and Accumulation of Trace Elements in Soybean Plants (*Glycine max* L. Merrill), *Biological Trace Element Research* (DOI 10.1007/s12011-010-8709-y).

ALIKAMANOGLU, S., YAYCILI, O., ATAK, Ç., RZAKOULIEVA. A., 2007, Effects of magnetic field and gamma radiation on *Paulownia tomentosa* tissue culture, *Biotechnol. & Biotechnol. EQ.* 21/2007/1: 49-53.

ALİKAMANOĞLU, S., 2000, *In vitro* Tekniklerle Haploid Şeker Pancarı (*Beta vulgaris* L.) Bitkisinin Eldesi ve Somatik Mutasyonların Oluşturulmasında Gama Radyasyonunun Kullanılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

ALİKAMANOĞLU, S., ATAK, Ç., 1994, Radiosensitivity in Callus Tissues of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill), *Turkish Journal of Nuclear Science*, 21(2): 95-103.

AL-RUMAIH, M. M., AL-RUMAIH, M. M., 2008, Influence of Ionizing radiation on antioxidant enzymes in three species of *Trigonella*, *American Journal of Environmental Sciences* 4 (2): 151-156.

ARORA, A., SAIRAM, R. K., SRIVASTAVA, G. C., 2002, Oxidative stress and antioxidative systems in plants, *Current Science*, Vol. 82, No. 10.

ASHRAF, M., HARRIS, P. J. C., 2003, Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants, *Plant Science* 166 (2004) 3-16.

ASHRAF, M. A., ASHRAF M., ALI, Q., 2010, Response of two genetically diverse wheat cultivars to salt stress at different growth stages: Leaf lipid peroxidation and phenolic contents, *Pak. J. Bot.*, 42(1): 559-565.

ATAK, Ç., ÇELİK, Ö., OLGUN, A., ALİKAMANOĞLU, S., RZAKOULIEVA, A., 2007, Effects of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue culture, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 21/2007/2.

BAKOĞLU, A., AYÇİÇEK, M., 2005, Elazığ şartlarında soya fasulyesinin (*Glycine max L*) tarımsal özellikleri ve tohum verimi, *F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17 (1), 52-58.

BAYAR, R., YILMAZ, M., 2004, Türkiye’de soya fasulyesi ve önemi, *Uluslararası İnsan Bilimleri Dergisi*, ISSN: 1303-5134.

BLANCO, F. F. , FOLEGATT, M. V., GHEYI, H. R., FERNANDES, P. D., 2007, Emergence and growth of corn and soybean under saline stress, *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.64, n.5, p.451-459.

BEINSAN, C., CAMEN, D., SUMALAN, R., BABAU, M., 2006, Study concerning salt stress effect on leaf area dynamics and chlorophyll content in four bean local landraces from Bant area, *44th Croatian & 4th International Symposium on Agriculture* 416-419

BORZOUEI, A., KAFI, M., KHAZAEI, H., NASERİYAN, B., MAJDABADI, A., 2010, Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum L.*) seedlings, *Pak. J. Bot.*, 42(4): 2281-2290.

BRADFORD, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding, *Anal. Biochem.*; 72: 248-54.

CANDAN, N., TARHAN, L., 2003, Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*, *Turk J Chem* 27 (2003), 21-30.

CHEEMA, A. A., ATTA, B. M., 2003, Radiosensitivity studies in Basmati rice, *Pak. J. Bot.*, 35(2): 197-207.

CHINNUSAMY, V., ZHU, J., 2006, Salt stress signalling and mechanism of plant salt tolerance, *Genet Eng (NY)*. 27:141-77.

ÇİÇEK, N., ÇAKIRLAR, H., 2008, Changes in some antioxidant enzyme activities in six soybean cultivars in response to long-term salinity at two different temperatures, *Gen. Appl. Plant Physiology Special Issue*, 34 (3-4), 267-280.

DOGANLAR, Z. B., DEMIR, K., BASAK, H., GUL, I., 2010, Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars, *African Journal of Agricultural Research* Vol. 5(15), pp. 2056-2065.

DOGAN, M., SAYGIDEGER, S. D., 2009, Effect of NaCl salinization on germination of *Glycine max* (L.) Merr. Seeds in supplement with or without external proline or cysteine, *Journal of Applied Biological Sciences* 3(2): 60-65.

DROSTE, A., BODANESE-ZANETTINI, M. H., HU, C., 1993, Meristem culture of Brazilian soybean cultivars, *Rev. Brasil. Genet.* 16, 1, 135-144.

ESFANDIARI, E., SHEKARI, F., SHEKARI, F., ESFANDIARI, M., 2007, The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling, *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. Volume 35, Issue 1, 48-56.

ESSA, T. A., 2002, Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars, *J. Agronomy & Crop Science* 188, 86-93.

GARCIA, A. B., ENGLER, J. A., IYER, S., GERATS, T., MONTAGU, M. V., CAPLAN, A. B., 1997, Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice, *Plant Physiol.* 115: 159-169.

GHORBANLI, M., EBRAHIMZADEH, H., SHARIFI, M., 2004, Effects of NaCl and mycorrhizal fungi on antioxidative enzymes in soybean, *Biologia Plantarum* 48 (4): 575-581.

GRENE, R., 2002, Oxidative stress and acclimation mechanisms in plants, *American Society of Plant Biologists*, DOI: 10.1199/tab.0036.1.

HAMEED, A., SHAH, T. M., ATTA, B. M., HAQ, M. A., SAYED, H., 2008a, Gamma irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity, lipid peroxidation in Desi and Kabuli chickpea, *Pak. J. Bot.*, 40(3): 1033-1041.

HAMEED, A., NASEER, S., IQBAL, T., SYED, H., HAQ, M. A., 2008b, Effects of NaCl salinity on seedling growth, senescence, catalase and protease activities in two wheat genotypes differing in salt tolerance, *Pak. J. Bot.*, 40(3): 1043-1051.

HEIDARI, M., MESRI, F., 2008, Salinity Effects on compatible solutes, antioxidants enzymes and ion content in three wheat cultivars, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11 (10): 1385-1389.

HIRT, H., 2003, *Plant responses to abiotic stress*, Springer, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 3-540-20037-1.

HOA, T. T. C., HAI, T. V., THANG, L. C., 2008, Transformation efficiencies of the soybean variety PC 19 (*Glycine max* (L.)) using *Agrobacterium tumefaciens* and the cotyledonary node method, *Omenrice* 16: 1-8.

HOSSAIN, M. F., ALAM, M. S., 2001, Effect of gamma irradiation on the callus, developed from Indica rice, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4 (6): 670-671.

ILIEV, I., KREZHOVA, D., YANEV, T., KIROVA, E., ALEXIEVA, V., 2009, Response of chlorophyll fluorescence to salinity stress on the early growth stage of the soybean plants (*Glycine max* L.), *Recent Advances in Space Technologies*, 403-407.

JENKS, M. A., 2007, *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*, Springer, Springer-Verlag New York, 9781402055775.

KAYMAKANOVA, M., STOEVA, N., 2008, Physiological reaction of bean plants (*Phaseolus vulg.* L.) to salt stress, *Gen. Appl. Plant Physiology Special Issue* 34 (3-4), 177-188.

KIONG A. L. P., LAI, A. G., HUSSEIN, S., HARUN, A. R., 2008, Physiological responses of *Orthosiphon stamineus* Plantlets to gamma irradiation, *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 2(2): 135-149.

LEHNERT, S., 2007, *Biomolecular action of ionizing radiation*, Taylor & Francis Group, USA, New York, 978-0-7503-0824-3.

LIU, T., STADEN, J., 2000, Selection and characterization of sodium chloride-tolerant callus of *Glycine max* (L.) Merr cv. Acme, *Plant Growth Regulation* 31, 195-207.

MAHAJAN, S., TUTEJA, N., 2005, Cold, salinity and drought stresses: An overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444, 139-158.

M'BAREK, B. N., HATEM, C. M., LEILA, B. K., 2007, Relationship between peroxidase activity and salt tolerance during barley seed germination. *Journal of Agronomy* 6 (3): 433-438.

MINN, M., KHAI, A. A., LWIN, K. M., 2008, Study on the effect of gamma radiation on rice Sin Thwe Latt, *International Conference on Sustainable Development: Issues and Prospects for the GMs*.

MORITA, R., KUSABA, M., IIDA, S., YAMAGUCHI, H., NISHIO, T., NISHIMURA, M., 2009, Molecular characterization of mutations induced by gamma irradiation in rice, *Genes Genet. Syst.* 84, p. 361-370.

NAKANO, Y., ASADA, K., 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22:867- 880.

NARITA, Y., TAGUCHI, H., NAKAMURA, T., UEDA, A., SHI, W., TABAKE, T., 2004, Characterization of the salt-inducible methionine synthase from barley leaves, *Plant Science* 167: 1009-1016.

NETO, A. D. A., PRISCO, J. T., ENEAS-FILHO, J., ABREU, C. E. B., GOMES-FILHO, E., 2005, Effect of salt stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes, *Environmental and Experimental Botany* 56, 87-94.

OTHMAN, Y., AL-KARAKI, G., AL-TAWAHA, A. R., AL-HORANI, A., 2006, Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions, *World Journal of Agricultural Sciences* 2 (1): 11-15.

ÖZALPAN, A., 2001, *Temel radyobioloji*, Haliç Üniversitesi, İstanbul, 975-8574-00-0.

PAN, Y., WUL, J., YU, Z. L. 2006, Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch), *Plant Growth Regul*, 49:157-16, DOI 10.

PAREEK, A., SINGLA-PAREEK, S., SOPORY, S. K., GROVER, A., 2007, Analysis of salt stress-related transcriptome fingerprints from diverse plant species, R.K. Varshney and R. Tuberosa (eds.), *Genomics-Assisted Crop Improvement: Vol. 1: Genomics Approaches and Platforms*, 267-287.

PARIDA, A. K., DAS, A. B., MITTRA, B., MOHANTY, P., 2004, Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove *Bruguiera parviflora*, *Z. Naturforsch.* 59c, 408-414.

PARIDA, A. K., DAS, A. B., 2004, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60, 324-349.

PARVAIZ, A., SATYAWATI, S., 2008, Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review, *Plant Soil Environ.*, 54, (3): 89-99.

RADHAKRISHNAN, R., 2007, Callus induction and plant regeneration of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr. cv. CO3) via half seed explant culture, *Journal of Agricultural Technology* 3(2): 287-297.

RAO, M. K. V., 2006, *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*, Springer, Netherlands, Dordrecht, 1-4020-4224-8.

SAKR, M. T., ARAFA, A. A., 2009, Effects of some antioxidants on canola plants grown under soil salt stress conditions, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12(7): 582-588.

SHARMA, V. K., DABHEECH, P. K., KOTHARI, S. L., 2004, Plant regeneration in *Glycine clnadestina* Wendl. From explants of cultured cotyledons, *Plant Tissue Cult.* 14(1): 17-23.

SHEREEN, A., ANSARI, R., MUMTAZ, S., BUGHIO, H. R., MUJTABA, S. M., SHIRAZI, M. U., KHAN, M. A., 2009, Impact of gamma irradiation induced changes on growth and physiological responses of rice under saline conditions, *Pak. J. Bot.*, 41(5): 2487-2495.

SİNCİK, M., ORAL, H. S., GOKSOY, A. T., TURAN, Z. M., 2008, Farklı soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merr.) hatlarında Bursa ekolojik koşullarında bazı verim ve

kalite özelliklerinin belirlenmesi, *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, Cilt 22, Sayı 1, 55-62.

SMIRNOFF, N., 2005, *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*, Blackwell Publishing, UK, Garsington Road, Oxford, 978-1-4051-2529-1.

SOBHANIAN, H., RAZAVIZADEH, R., NANJO, Y., EHSANPOUR, A. A., JAZII, F. R., MOTAMED, N., KOMATSU, S., 2010, Proteom analysis of soybean leaves, hypocotyls, and roots under salt stress, *Proteome Sciences* 8:19.

SOBKOWIAK, R., RYMER, K., RUCINSKA, R., DECKERT, J., 2004, Cadmium-induced changes in antioxidant enzymes in suspension culture of soybean cells, *Acta Biochimica Polonica* Vol. 51 No. 1/2004: 219-222.

SOUSSI, M., OCANA, A., LLUCH, C., 1998, Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chick-pea (*Cicer arietinum* L.), *Journal of Experimental Botany*, Vol. 49, No. 325, pp. 1329-1337.

SÖNMEZ, İ., SÖNMEZ, S., 2007, Tuzluluk ve gübreleme arasındaki ilişkiler, *Tarımın Sesi Dergisi*, 16: 13-16.

STAJNER, D., POPOVIC, B. M., BOZA, P., KAPOR, A., 2009, Antioxidant capacity of *Melampyrum barbatum* – weed and medicinal plant, *Phytother Res.* 23(7): 1006-10.

SUNKAR, R., 2010, *Plant stress tolerance*, Humana Press, UK, Hatfield, 978-1-60761-702-0.

STEWART, R. R. C., BEWLEY, J. D., 1980, Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes, *Plant Physiology* 65:245-248.

TAYYAR, Ş., 2007, Bazı soya fasulyesi (*Glycine max* (L.) Merr.) genotiplerinin ana ürün olarak biga şartlarında performansları, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 17(2): 55-59.

THE AMERICAN SOYBEAN ASSOCIATION, 2010, <http://soystats.com/2010/Default-frames.htm> , [Ziyaret Tarihi: 5 Mayıs 2010].

TRIPATHI, M., TIVARI, S., 2003, Epigenesis and high frequency plant regeneration from soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) hypocotyls, *Plant Tissue Cult.* 13(1): 61-73.

TUNÇTURK, M., TUNÇTURK, R., YAŞAR, F., 2008, Changes in micronutrients, dry weight and plant growth of soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars under salt stress, *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (11), pp. 1650-1654.

USDA, 2010, United States Department of Agriculture Natural Sources Conservation Service [online], <http://plants.usda.gov> [Ziyaret Tarihi: 10 Ekim 2008].

WANG, X., OU-YANG, C., FAN, Z., GAO, S., CHEN, F., TANG, L., 2010, Effects of exogenous silicon on seed germination and antioxidant enzyme activities of *Momordica charantia* under salt stress, *Journal of Animal & Plant Sciences*, Vol. 6, Issue 3: 700-708.

YAYCILI, O., 2009, *Patates (Solanum tuberosum L.) Doku kültüründe somatik mutasyonların gama radyasyonu ile teşviki*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

YOSHIDA, T., 2004, Adventitious shoot formation from hypocotyl sections of mature soybean seeds, *Breeding Science* 52: 1-8.

ZAR, J.H., 1984, *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Tolbuhin/Bulgaristan'da doğdum. İlköğretimimi ve orta öğrenimimi İstanbul Doğa İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra lise öğrenimimi Pertevniyal Anadolu Lisesi'nde 2001 – 2002 eğitim öğretim yılında tamamladım.

Yüksek öğretim hayatıma 2002 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başladım. 2005 ve 2006 senelerinin yaz dönemlerinde Amerika'da work and travel programına dahil oldum. 2007 senesinde bölümümden mezun oldum ve aynı sene İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün açtığı Genel Biyoloji yüksek lisans programına kayıt oldum.

Şubat 2010 tarihinden bu yana T.C. İstanbul Kültür Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde araştırma görevlisi pozisyonunda çalışmaktayım.