

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MISIRIN BAZI BÜYÜME VE VERİM
PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI

OKSAL MACAR

HAZİRAN 2017

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı

Prof. Dr. Başak TAŞELİ

...../...../.....

Müdür

Bu tezin Doktora tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İhsan AKYURT

Bu tezi okuduğumuzu ve Doktora tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Kürşad YAPAR

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ

Doç. Dr. Göktuğ DALGIÇ

ÖZET

GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MISIRIN BAZI BÜYÜME VE VERİM PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI

MACAR, Oksal

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

AĞUSTOS 2017, 44 sayfa

Bu çalışmada, genetiğı değıştirilmiş MON810 mısır hatlarındaki genetik modifikasyonun çimlenme ve erken fide dönemlerinde olan muhtemel etkilerini belirlemek için; çimlenme döneminde mikro nükleus oluşumu, çimlenme başarısı ve morfolojik özellikler ile erken fide döneminde stoma sayıları, fide morfolojileri, pigment içerikleri, malondialdehit ve prolin içerikleri incelenmiştir. Sonuç olarak genetik müdahale verimi etkileyebilecek gözle görülür değışikliklere yol açmamıştır. Bununla birlikte stres göstergesi ve koruyucu olarak çalışan prolin ile antosiyanin seviyeleri GD mısırın erken fide evresinde artmıştır.

Anahtar Kelimeler: Büyüme, Çimlenme, Fide, GDO, Mısır, Transgenik, *Zea mays* L,

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SOME GROWTH AND YIELD PARAMETERS OF GENETICALLY MODIFIED CORN

MACAR, Oksal

Giresun University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Ph. D. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kltiğin AVUŐOđLU

JUNE 2017 44 pages

In this study, to determine possible effects of genetic modifications in genetically modified MON810 maize line on germination and early seedling the periods, micronucleus formation and morphological characteristics during germination, germination success, and stomata number, morphology of seedling, pigment content, malondialdehyde and proline contents during early seedling stage were examined. Consequently genetic modification did not lead to noticeable changes which may affect the yield. However, anthocyanin and proline, which are known as indicator and protector against various stresses, increased in the early seedling stage of GM corn.

Key Words: Corn, Germination, GMO, Growth, Seedling, Transgenic, *Zea mays*

TEŞEKKÜR

Tez alıőmamın tm aşamalarında her trl bilimsel desteği sağlayan değerli hocam Do. Dr. Kltiğin AVUŐOęLU'na, bilgi birikimleri ve değerli grőleriyle katkı sağlayan değerli hocalarım Doç. Dr. Emine YALÇIN ve Prof. Dr. Kürşad YAPAR'a, bu araştırmanın gerçekleőtirilmesinde maddi katkılar sağlayan Giresun Üniversitesi Bilimsel Araőtırmalar Projeler Birimine teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalıőmalarım ve analizlerim sırasında her zaman yanımda olan sevgili eőim Öğr. Gör. Tuğçe KALEFETOğLU MACAR'a teşekkür ederim.

Ayrıca varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim anneme ve babama sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Transgen Teknolojisi	2
1.1.1. GDO üretiminde kullanılan transformasyon yöntemleri.....	2
1.1.1.1. Dolaylı Gen Transformasyonu Yöntemi.....	2
1.1.1.2. Doğrudan Gen Transformasyonu yöntemi.....	3
1.1.1.3. Alternatif Gen Transformasyonu Yöntemleri.....	4
1.1.2. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Faydaları ve Zararları	4
1.1.2.1. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Faydaları.....	4
1.1.2.1.1. Zararlılara ve Hastalıkla Dayanıklı Tarım Ürünleri.....	4
1.1.2.1.2. Çevre Koşullarına Karşı Dayanıklı Tarım Ürünleri.....	4
1.1.2.1.3. Miktarı ve Besin Değeri Arttırılmış Gıdalar.....	5
1.1.2.1.4. Ekonomik Olarak Daha Kazançlı Ürünler.....	5
1.1.2.1.5. Tıp, Sağlık ve Eczacılık Açısından Faydalı Ürünler.....	5
1.1.2.1.6. Endüstriyel Uygulamalar İçin Yeni Hammadde Sağlayacak Ürünler.....	5
1.1.2.2. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Zararları.....	6
1.1.2.2.1. Besin Kalitesindeki Değişiklik ve Gıda Güvenliği Konusundaki Endişeler.....	6
1.1.2.2.2. Alerji ve Zehirlenme Riski	6
1.1.2.2.3. Ekonomik ve Sosyal Kaygılar.....	6
1.1.2.2.4. Çevresel Kaygılar.....	7
1.1.2.2.5. Çeşitli Grupların Kaygıları ile Dini, Kültürel ve Etik Kaygılar.....	7
1.1.2.2.6. Bilinmezliğin Korkusu.....	7
1.1.3. GDO ve GD Tahılların Dünyadaki Durumu.....	7

1.2. Mısır.....	9
1.2.1. Mısırın Sistematikteki Yeri ve Kökeni.....	10
1.2.2. Mısırın Morfolojisi.....	10
1.2.3. Mısırın İklim ve Toprak İsteği	10
1.2.4. Mısırın Dünyadaki ve Türkiye’deki Üretimi.....	11
1.2.3. Genetiği Değiştirilmiş Mısır.....	12
1.2.3.1. Böceklere Karşı Dayanıklı Mısır ve MON810.....	12
2. MATERYAL VE METOT.....	14
2.1. Tohum Temini.....	14
2.2. Çimlenme Dönemi Analizleri.....	14
2.2.1. Kabuk Sterilizasyonu.....	14
2.2.2 Kök (Radikula) Boyunun Tayini	15
2.2.3 Ağırlık Kazancının Tayini.....	15
2.2.4 Çimlenme Yüzdesinin Hesaplanması.....	15
2.2.5. Mikronükleus Testi.....	15
2.2.6. Kromozom Eldesi ve Mitotik İndeks Hesaplanması.....	16
2.3. Erken Fide Dönemi Analizleri.....	17
2.3.1 Fidelerin Yetiştirilmesi.....	17
2.3.2 Fide Boy Uzunluğunun Tayini.....	18
2.3.3. Fide Yaş Ağırlığının Tayini.....	18
2.3.4. Fide Kuru Ağırlığının Tayini.....	18
2.3.5. Yaprak Alanının Tayini	18
2.3.6. Nispi Su İçeriğinin Tayini.....	18
2.3.7. Fidelerdeki Stomaların Sayımları ve Kıyaslamaları.....	18
2.3.8 Mısır Fidesi Yapraklarındaki Pigment İçeriklerinin belirlenmesi.....	19
2.3.9 Mısır Fidelerinin Yapraklarındaki MDA ve Prolin İçerikleri.....	20
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	21
3.1. Kök (Radikula) Boyuları.....	21
3.2. Tohum Ağırlık Kazançları.....	21
3.3. Çimlenme Yüzdesi.....	22
3.4. Mikronükleus.....	22
3.5. Kromozom Eldesi ve Mitotik İndeks.....	22
3.6. Fide Boyu Uzunlukları.....	22

3.5. Fide Yaş Ağırlıkları.....	23
3.6. Fide Kuru Ağırlıkları.....	23
3.7. Yaprak Alanları.....	24
3.8. Nispi Su İçerikleri.....	24
3.9. Fidelerdeki Üst ve Alt Stomaların Sayıları.....	25
3.10. Mısır Fidelerinin Yapraklarındaki Pigment İçerikleri.....	26
3.11. Mısır Fidelerinin Yapraklarındaki MDA ve Prolin İçerikleri.....	27
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ.....	44



ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Şekil 1.1. Dünyada GD tarımsal ürün yetiştirme alanları en fazla olan ülkeler.....	8
Şekil 1.2. Dünyadaki GD tarım alanlarında GD tahılların alan olarak oranları	8
Şekil 1.3. GD tahıllarda en çok uygulanan genetik modifikasyon tiplerinin yüzde olarak oranları.....	9
Şekil 1.4. Türkiye’de 2005-2015 yılları arasındaki mısır üretimi (ton olarak).....	12
Şekil 2.1. Tohumların inkübatörde sabit sıcaklıkta yetiştirilmesi.	14
Şekil 2.2. Kök (Radikula) boyunun tayini.....	15
Şekil 2.3. Feulgen boya ile boyanmış hücre çekirdeği ve kromozomlar	16
Şekil 2.4. Fidelerin yetiştirilmesi.....	17
Şekil 2.5. Mikroskop altında stomaların görünüşleri.....	19
Şekil 3.1. Kök (Radikula) Boyu sonuçları.....	21
Şekil 3.2. Ağırlık kazancı sonuçları.....	21
Şekil 3.3. Fide boyu uzunluğu.....	23
Şekil 3.4. Fide yaş ağırlığı.....	23
Şekil 3.5. Fide kuru ağırlığı.....	24
Şekil 3.6. Yaprak alanı.....	24
Şekil 3.7. Nispi Su İçeriği.....	25
Şekil 3.8. GD ve Kontrol mısır gruplarının üst stoma sayıları.....	25
Şekil 3.9. GD ve Kontrol mısır gruplarının alt stoma sayıları.....	26
Şekil 3.10. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam klorofil miktarları.....	26
Şekil 3.11. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam karotenoid miktarları.....	27
Şekil 3.12. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam antosiyanin miktarları.....	27
Şekil 3.13. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam MDA içeriği.....	28
Şekil 3.14. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam prolin konsantrasyonu.....	28

KISALTMALAR DİZİNİ

Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
cm	Santimetre
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
GD	Genetiği Değiştirilmiş
GDO	Genetiği Değiştirilmiş Organizma
gr	Gram
HA	Hidrate Ağırlık
KA	Kuru Ağırlık
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
MI	Mitotik İndeks
ml	Mililitre
MN	Mikro Nükleus
nm	Nanometre
NSİ	Nispi Su İçeriği
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
TA	Taze ağırlık
TBA	Thioborbütrik Asit
TCA	Trikloroasetik Asit

1. GİRİŞ

Endüstriyel alanlardaki hızlı gelişim ve artan dünya nüfusu, hem tarımsal alanların azalmasına hem de çevre kirliliğine sebep olduğundan, tarımsal ürünlerin miktarında ve kalitesinde önemli kayıplar kaçınılmaz hale gelmiştir. Yüksek teknolojiler kullanarak ve kaliteyi istemeyerek de olsa ikinci plana atarak birim alandan daha fazla ürün elde etmek de günümüzün en önemli seçeneklerinden biri sayılmıştır (1). Bitki genetik mühendisliği, bu alandaki sorunları gidermek için yeni alternatif yollar önermekte ve tarla bitkilerinin modern moleküler ıslahında en önemli moleküler araçlardan biri haline gelmektedir (2).

Günümüzde tarımsal üretimi artırmaya yönelik modern biyoteknolojik çalışmalar içerisinde transgen kullanımına hız verilmiştir. Bir canlı türüne başka bir canlı türünden gen aktarılması veya mevcut genetik yapıya müdahale edilmesi yoluyla yeni genetik özellikler kazandırılmasıyla elde edilen Transgenik (Genetiği Değiştirilmiş - GD) organizmalar, tarımda klasik ıslah yöntemleri ile çözülemeyen ekonomik öneme sahip bazı problemlerin çözümünde önemli katkılar sağlamaktadır (3). Bitki biyoteknolojisi ve özellikle gen teknolojisi alanındaki gelişmeler 1980'li yıllardan itibaren hız kazanmış, genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) yalnızca tarımda değil aynı zamanda tıpta, biyomolekül üretiminde, sanayi ve çevre ürünlerinde de araştırılmaya başlanmıştır. İlk transgenik ürün bitkisi olan uzun raf ömürlü domates FlavırSavr adı ile 1994 yılında pazara sürülmüştür. Bunu gen aktarılmış mısır, pamuk, kolza ve patates bitkileri izlemiştir. Uzun raf ömürlü FlavırSavr domatesi pazarlama stratejilerindeki yanlışlıklar ve tüketiciler tarafından tercih edilmemesi nedeniyle üretimden kaldırılmıştır. Devamında, böcek direnci geliştirilmiş Bt patates çevrecilerin tepkisinden çekinen büyük Fast Food gıda zincirlerinin talep etmemeleri nedeniyle pek geniş ekim alanları bulamamıştır (4). Bu başarısızlıklar; GD organizmaların hastalıklara, stres koşullarına ve zararlılara dayanıklılığını sağlayan genlerin aktarılması sayesinde kullanılan ilaç miktarının azalması ve verimde artış sağlanmasından dolayı, hem geliştirilen GD organizma sayısının hem de üretilen GD ürün miktarının artmasına engel olamamıştır.

1.1. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Transgen Teknolojisi

Genetiği Değiştirilmiş tarımsal ürünlerin ve bunlardan elde edilen yan ürünlerin dünya ticaretine girmesiyle birlikte giderek artan tartışmalar başlamıştır. Günümüzde GD gıdalar, anahtar toksikolojik ve besleyici bileşenleri geleneksel gıdadakilere denk olduğu zaman güvenilir olarak kabul edilmektedir (5). Buna rağmen; ekonomik ve siyasal kaygıların yanında insan sağlığını da doğrudan ilgilendiren bu ürünler; kamuoyunda ve medyada potansiyel yararlarından ziyade, içerdikleri potansiyel riskler ile gündeme gelmektedir.

Bitki genetik mühendisliğindeki ilerlemeler, genlerin akraba olmayan bitkilerden ve hatta bitkisel olmayan organizmalardan tarla bitkilerine transferini mümkün kılmakta; bunun bir sonucu olarak; birçok tarla bitkisi türü hastalık direnci, böcek dayanıklılığı, daha yüksek besin değerleri ve diğer istenen nitelikler bakımından daha iyi zirai özellikler için genetik olarak modifiye edilebilmektedir (6). Buna rağmen, bazı tarla bitkilerinde, yabancı DNA'nın sokulması için etkili transformasyon yöntemlerinin eksikliği, bitki genetik mühendisliğinin uygulanmasında bir engel olarak varlığını sürdürmektedir. Bu yöntemlerin geliştirilmesi genetik mühendisliğinin en önemli araştırma konularındandır.

1.1.1. GDO üretiminde kullanılan transformasyon yöntemleri

Son yıllarda bitkilerdeki yeni ve verimli transformasyon yöntemlerinin geliştirilmesinde dikkate değer başarılar kazanılmıştır. Daha az kullanılan alternatif yöntemler de mevcut olmasına rağmen, ekzojen DNA'nın bitki hücrelerine aktarılma yöntemleri ve gen transformasyonu dolaylı ve doğrudan DNA aktarımı olarak genel olarak iki büyük kategoriye ayrılabilir (7).

1.1.1.1. Dolaylı Gen Transformasyonu Yöntemi

Dolaylı gen transformasyonunda istenilen genler, hedef hücreye *Agrobacterium tumefaciens* ya da *Agrobacterium rhizogenes* gibi bakteriler aracılığıyla sokulmaktadır (8). Diğer bakteriyel suşların kullanımını da içeren çeşitli aktarım yöntemleri bildirildiği halde (9), *Agrobacterium* aracılığıyla transformasyon bitki transformasyonunda tercih edilen yöntem olmayı sürdürmektedir.

Bu yöntemde; hedef hücelere, yüksek bitkilere gen taşınmasını sağlama yeteneğine sahip bakteriler aracılığıyla bakterilerde bulunan ve bakteriyel kromozomdan ayrı, bağımsız halkasal DNA molekülleri olan plazmidler sokulmaktadır (10). Transformasyon için kullanılacak bir plazmidin boyutu 5 ile 12 kilobaz çifti arasında değişebilir (11). Plazmidler bakteriyel kromozomlara benzer şekilde kopyalanan ve konak içinde kendi kendini kopyalayabilen birçok gen taşımaktadır. Tek bir hücrede 50 ya da daha fazla sayıda plazmid bulunabilir. *Agrobacterium* konağına tümör-oluşturan bir plazmid taşıyarak, tümör oluşumunu teşvik eden bitki - patojeni bir bakteridir (12). Genetik bitki transformasyonunda *Agrobacterium*'un taşıdığı bu plazmidler vektör olarak kullanılmakta; ancak bu sırada tümör-oluşturan genler vektörden uzaklaştırıldığından artık tümör oluşturmadıkları bilinmektedir.

Agrobacterium aracılığıyla transformasyon; doğrudan DNA aktarım sistemlerine göre kendine özgü avantajlara sahiptir. Bu avantajlar arasında büyük, tek parça DNA segmentlerinin aktarılabilirliği, belirlenmiş sonlara ve düşük kopya sayılarına sahip basit transgenlerin sokulması, kararlı kaynaşma (entegrasyon) ve kalıtım ile nesiller boyunca kararlı gen ifadesi sayılabilir. Sonuç olarak, pek çok dikotil ve bazı monokotil tarla bitkileri için *Agrobacterium* kullanılan verimli ve tekrarlanabilir protokoller geliştirilmiştir (13).

1.1.1.2. Doğrudan Gen Transformasyonu yöntemi

Bakterilerle yapılan dolaylı gen aktarımının monokotillerde ve dirençli dikotil bitki türlerinde düşük başarı oranına sahip olmasından dolayı; mikropartikül bombardımanı gibi doğrudan DNA aktarım yöntemleri geliştirilmiştir. Sıklıkla biyolistik ya da gen tabancası olarak ifade edilen bu teknoloji ilk olarak Sanford ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (14). Partikül bombardımanı agroenfeksiyonun kısıtlı olduğu mısır gibi monokotil bitkilerde yüksek bir başarı oranına sahiptir.

Bu yöntem yaklaşık 2 mikron çapındaki, yüksek yoğunluklu taşıyıcı partiküllerin hızlandırılarak hücrelerden geçmesi ve beraberinde taşıdığı DNA'yı hücre içine bırakması esasına dayanır (15). Nükleer ya da kloroplast transformasyonlarında da uygulanabilen bu yöntemde; hücreler, protoplastlar,

meristemler gibi düzenli dokular, embriyolar ya da kallus hedef olarak kullanılabilir (16). Ancak, biyolistik teknolojisi, *Agrobacterium* ile kıyaslandığında düşük bir transformasyon verimine sahip olması, vektör omurgasının yüksek sıklıkta entegrasyonu, transgen kaset bütünlüğünün kaybı ve çoklu kopya eklenmesi yüzünden transgenin baskılanması gibi kendine özgü dezavantajlara sahiptir (17).

1.1.1.3. Alternatif Gen Transformasyonu Yöntemleri

Bitkilerde gen transferi için elektroporasyon, mikroenjeksiyon, silikon karpit ve kloroplast transformasyonu gibi alternatif aktarım sistemleri de kullanılmaktadır (18). Yine de, bu yöntemlerden her birinin transgenik bitkilerin başarıyla üretilmesi için kendi kısıtlamaları vardır ve yaygın değildir.

1.1.2. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Faydaları ve Zararları

Genetik materyali değiştirme veya bir türden diğerine transfer etme işlemi biyoteknolojinin temeli olup kamuoyunda ateşin keşfi, matbaanın icadı ve atomun parçalanması ile eşdeğer görülmüştür (19). Biyoteknolojik uygulamaların en güncellerinden biri olan genetiği değiştirilmiş organizmaların potansiyel fayda ve zararları hem akademik olarak hem de kamuoyunda hala tartışma konusudur.

1.1.2.1. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Faydaları

1.1.2.1.1. Zararlılara ve Hastalıkla Dayanıklı Tarım Ürünleri

Tarım ürünlerine aktarılan genlerle zararlılara ve hastalıklara karşı dayanıklılık sağlanması ile kullanılan tarım ilaç ve kimyasallarının azaltılması hem çevreye hem üreticiye hem de tüketiciye fayda sağlamaktadır (20). Günümüzde Bt-Mısır gibi böceklere dayanıklı tahılların geniş kullanım alanı bulması bu konuda büyük beklentilere yol açmaktadır.

1.1.2.1.2. Çevre Koşullarına Karşı Dayanıklı Tarım Ürünleri

Artan gıda ihtiyacını karşılamak için daha fazla tarım alanına ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak bu konudaki en büyük sınırlama sıcak, soğuk ve tuzluluk gibi koşullardır. Genetik mühendisliği çalışmalarının bu uygun olmayan koşullarda yetişebilecek organizmalar üretmesi ya da bu koşullarda yetişebilen organizmaların verimini arttırması beklenmektedir (21).

1.1.2.1.3. Miktarı ve Besin Değeri Arttırılmış Gıdalar

Genetiği değiştirilmiş organizmalar sayesinde daha fazla ürün almak ve bu ürünlerin daha çok vitamin, protein ve mineral hatta sağlığa faydalı bileşenler barındırması hedefler arasındadır (22).

1.1.2.1.4. Ekonomik Olarak Daha Kazançlı Ürünler

FlavrSavr gibi uzun raf ömürlü, tüketicinin istediği özelliklere sahip, organoleptik olarak arzulanan, saklaması ve işlemleri daha kolay ürünlerle üreticilerin daha fazla kazanç elde etmesi mümkün olacaktır (23).

1.1.2.1.5. Tıp, Sağlık ve Eczacılık Açısından Faydalı Ürünler

Ürünlerin besin kalitesi dışında sağlığa yönelik faydalarını arttırmak için de GDO üretimi yapılabilmektedir. GDO'lar hem gıda hem de ilaç olarak etki edecek ürünler halinde tüketilebilirler. Yenilebilir ürünlerdeki bu ilaç ve aşılar, bu ürünlerin yetiştirildiği ve düşük maliyetle dağıtıldığı ve özellikle aşı üretimi için kaynağın ve tıbbi alt yapının yetersiz olduğu gelişmekte olan ülkelerde çocuklar için faydalı olacaktır gibi bazı bitkileri ilaç sentezi için değiştirebilmektedir (20). Ayrıca bu bitkisel aşılar uzun bir raf ömrü ve stabil bir depolama kapasitesine sahip olacaklardır. Genetiği değiştirilmiş hayvanlar, hemofili hastaları tarafından kullanılan pıhtılaşma faktörü veya diyabet hastaları tarafından kullanılan insülin gibi farmakolojik proteinleri üretmek için kullanılabilir. Keçi, koyun ve domuz gibi bazı çiftlik hayvanları klonlanabilir ve insana nakil için uygun olan kalp, karaciğer ve böbrek gibi organlar geliştirmek için kullanılabilirler. Böylece hastaların organ nakli için uzun bekleme periyotları da ortadan kaldırılabilir (24).

1.1.2.1.6. Endüstriyel Uygulamalar İçin Yeni Hammadde Sağlayacak Ürünler

Günümüzde genetiği değiştirilmiş organizmalar endüstride kullanılan plastikler, fiberler, polyesterler ve karotenoid gibi malzemeleri üretmek için kullanılmaktadır. GDO'ların aynı zamanda gıda endüstrisinde kullanılan protein, enzim, stabilizatör, kıvam artırıcı, emülgatör, tatlandırıcı, koruyucu, renklendirici ve tat verici gibi gıda katkılarını üretmek için de kullanılabilirler. Ayrıca yakıt amaçlı kullanılan biyoetanolün en büyük kaynağı GDO'lardır.

1.1.2.2. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Zararları

1.1.2.2.1. Besin Kalitesindeki Değişiklik ve Gıda G¼venliđi Konusundaki Endişeler

Gıda ¼r¼nlerine aktarılan transgenler, bazı besin değerlerinin d¼zeyini artırırken diğerlerinin d¼zeyini azaltarak tahmin edilmeyen bir şekilde gıdaların besinsel ¼zelliklerini değerstirebilirler. Bu durum genetiği değerstirilmif ¼r¼nler ve geleneksel eşdeğerleri arasında farklılığa neden olabilir. Bitkisel ve hayvansal gıdaların besin içeriklerindeki değerifimlerin besin etkileşimleri, besin-gen etkileşimi, canlıda besinin varlığı, besin g¼c¼ ve besin metabolizması ¼zerine etkisi hakkında hen¼z yeterli bilgi yoktur (21).

1.1.2.2.2. Alerji ve Zehirlenme Riski

Gen aktarım teknolojisi ile organizmaya yerleştirilen yeni genin ¼zellikleri, insanlar için alerjik reaksiyonlara neden olabilmekte veya mevcut alerjik reaksiyonları şiddetlendirebilmektedir. Bu endişenin geçerliliği, Brezilya fındığında bulunan bir genin soyaya aktarılması ile sağlanan gen modifikasyonunun, Brezilya fındığına alerjisi olan soya t¼keticilerinde alerjik reaksiyonlara neden olması ile somut olarak kanıtlanmıştır (25). Genetiği değerstirilmif organizmalara aktarılmış olan transgenin ekspresyonu ve genetik fonksiyonu tahmin edilemeyecek değerifimlere yol açabilir ve b¼ylece transgenin protein ¼r¼n¼, beklenmeyen reaksiyonlara ve potansiyel toksinlerin ortaya çıkmasına neden olabilir.

1.1.2.2.3. Ekonomik ve Sosyal Kaygılar

G¼n¼m¼zde GDO'lar ile hayatımıza giren genlerin ve canlıların patentlenmesi olayı pek çok endişeye sebep olmaktadır. ¼retici firmaların ¼r¼nlerine terminator genler koyarak çiftçilerin bir sonraki sene kendi tohumunu toplamalarını engellemeleri bu endişeleri arttırmaktadır. Genel endişeler tohumların dolayısı ile genlerin b¼y¼k firmaların tekeline geçerek bu tip pahalı araştırmalar için fakir toplum ve ¼lkelerin baskı altına alınacağı yolundadır.

1.1.2.2.4. Çevresel Kaygılar

GDO'ların çevre üzerinde doğrudan ya da dolaylı olarak olumsuz etkileri ve özellikle türler arasındaki gen kaçışının doğal ekosistemde oluşturacağı riskler yaygın olarak tartışılmaktadır. Bitkiler arasında gen alışverişi hayvanlara göre daha kolay olduğundan gen kaçışı, genetiği değiştirilmiş bitkilerin barındırdığı en önemli risktir (26). Çevre açısından ciddi tehlikelerden biri genetiği değiştirilmiş bitkilerin çevreye salındıktan sonra doğal türlerde genetik çeşitliliğin kaybına yol açması olup; ekosistemdeki tür dağılımının ve dengenin bozulması sebebiyle, genetik kaynakları oluşturan yabani türlerin zarar görmesi ihtimali de endişe vericidir.

1.1.2.2.5. Çeşitli Grupların Kaygıları ile Dini, Kültürel ve Etik Kaygılar

Hayvan hakları grupları, hayvanlarla yapılan genetik çalışmalara ve araştırmalarda hayvan kullanımına şiddetle karşı çıkarken; organik tarım savunucuları ise etiketleme olmamasından dolayı GDO gıdaların organik gıdalara örteceğinden ve insanların organik gıdalara ulaşmasının güçleşeceğinden korkmaktadır. Ayrıca genetiği değiştirilmiş ürünler bazı dini inanışlarda etik sorunlara da neden olmaktadır. Örneğin; Müslümanlar, Hindular ve Yahudiler gibi bazı inanç grupları; içinde böcek, hayvan ve insan geni olan meyve ve sebzelerden uzak durmak istemektedirler. Benzer şekilde bazı vejetaryenler, hayvan geni içeren meyve ve sebzelere karşı olabilmektedirler (19, 20).

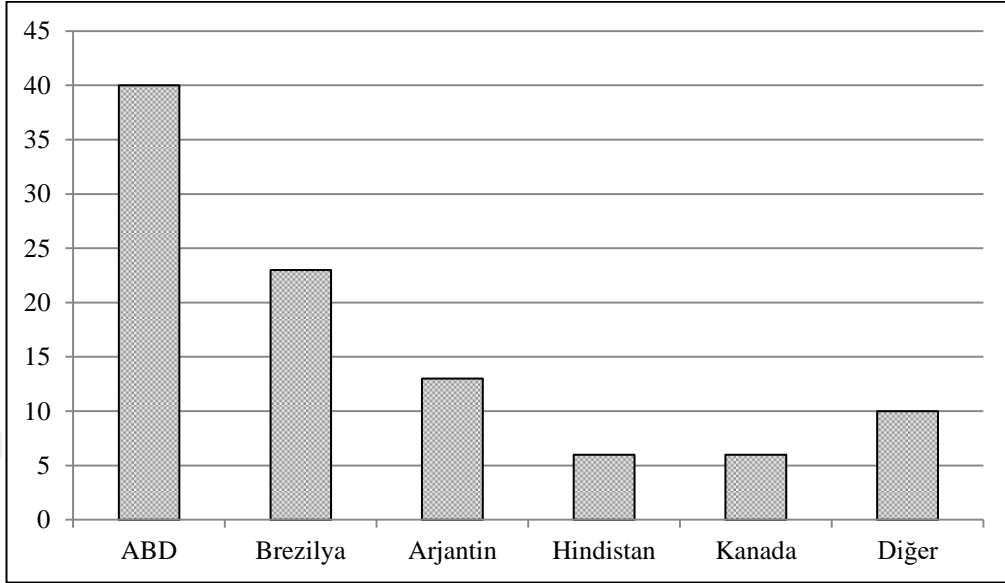
1.1.2.2.6. Bilinmezliğin Korkusu

Genetik mühendisliğinin ve GDO teknolojisinin son derece yeni olması kamuoyunda; yeni tehlikeli türler ve hastalıklar ile gıda kaynaklı toplu zehirlenmeler ya da genlerin insanlara geçmesi gibi muhtemel felaketler konusunda korku uyandırmaktadır.

1.1.3. GDO ve GD Tahılların Dünyadaki Durumu

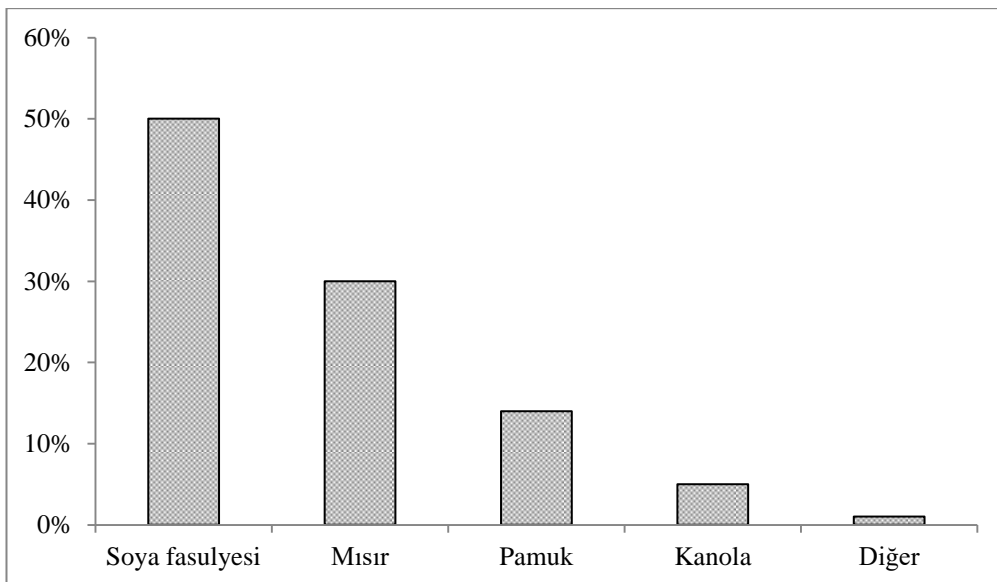
Bütün tartışmalara rağmen GD tahılların sağladığı avantajlar, bu ürünlerin 1996'dan itibaren artan oranda ekilmelerine ve kullanılmasına sebep olmuştur. Günümüzde genetiği değiştirilmiş tahıllar dünya çapında 28 ülkede 170,3 milyon hektara yakın bir alanda ve mevcut tarım alanlarının yüzde 3,7 sinde GD bitkiler

yetiştirilmektedir (27). En çok GD tahıl yetiştiren ilk beş ülke olan ABD, Brezilya, Arjantin, Hindistan ve Kanada dünyadaki GD tahıl üretiminin %90'nını karşılamaktadırlar (Şekil 1.1) (28).



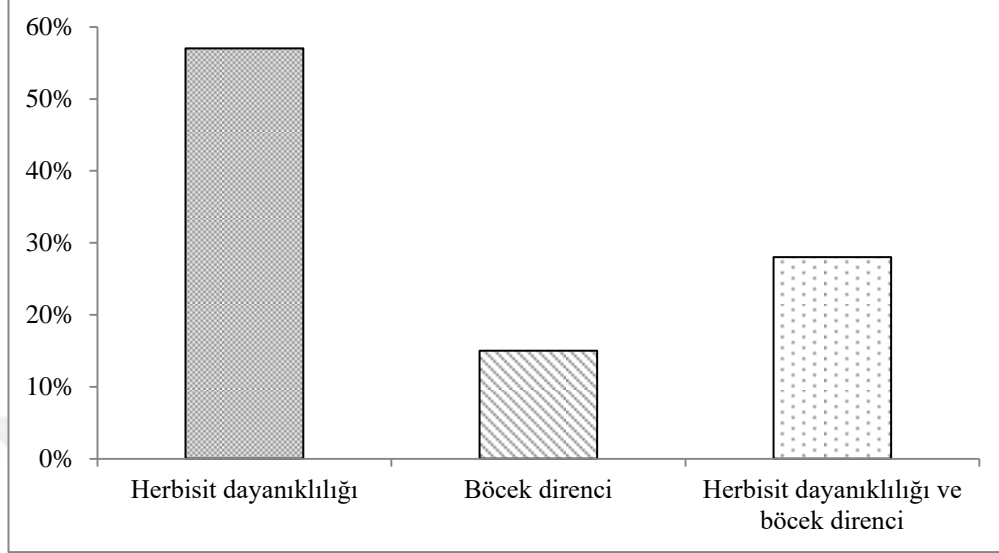
Şekil 1.1. Dünyada GD tarımsal ürün yetiştirme alanları en fazla olan ülkeler (28).

Dünya GD tarımsal ürün üretiminde soya fasulyesi ilk sırayı alırken; mısır % 30 ile ikinci sırada yer almakta ardından gelen pamuk ve kanola ile birlikte bu tahıllar dünyadaki toplam GD tahıl ekim alanlarının %99'unu kaplamaktadır (Şekil 1.2) (28).



Şekil 1.2. Dünyadaki GD tarım alanlarında GD tahılların alan olarak oranları (28).

2014 yılında dünyadaki GD tahılların %57'si herbisite dayanıklı, %15'i böceklere dirençli, %28'i ise hem herbisite dayanıklı hem de böceklere dirençli olarak geliştirilmiştir (Şekil 1.3) (28).



Şekil 1.3. GD tahıllarda en çok uygulanan genetik modifikasyon tiplerinin yüzde olarak oranları.

2014 yılında dünyadaki GD tahılların %57'si herbisite dayanıklı, %15'i böceklere dirençli, %28'i ise hem herbisite dayanıklı hem de böceklere dirençli olarak geliştirilmiştir (Şekil 6) (28).

1.2. Mısır

Mısır, son yıllarda modern dünyanın gıda bitkisi ve çok yönlü kullanılan en önemli tane ürünü haline gelmiştir. İnsan beslenmesinde buğday ve çeltikten sonra en fazla kullanılan bitkilerin başında gelmektedir. En yüksek enerji stokuna sahip olan mısırın birim alan veriminde hibrit çeşitlerin ve modern tarım teknolojilerinin kullanılmasıyla da çok önemli artışlar olmuştur. Gelişme hızı ve verimi buğday ile kıyaslandığında oldukça yüksektir. Mısır bitkisinin hem tanesi hem de bitki aksamı birçok alanda kullanılmaktadır. Mısırın taneleri insan beslenmesinde doğrudan kullanıldığı gibi; yemeklik sıvı yağ, nişasta, glikoz ve yem üretiminde de değerlendirilmektedir. Bitkisel aksamı ise hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (29). Son yıllarda biyo-yakıt ve yem sanayinde yoğun kullanım alanı bulması sayesinde, dünyada en çok üretilen tahıl olmuştur.

1.2.1. Mısırın Sistematikteki Yeri ve Kökeni

Mısır (*Zea mays* L.) Poaceae familyasının Panicoideae alt familyasının *Zea* cinsine ait önemli bir tahıl bitkisidir (30). Yabani teosinteden (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) köken aldığı düşünülen mısırın gen merkezi Meksika ve Orta Amerika'dır. Yerli Amerikan halkları mısır üzerinde 7000 yılı aşkın bir süre boyunca seleksiyon yaparak, yabani bir bitkiyi kendileri için hayati önem taşıyan bir kültür bitkisine dönüştürmüşlerdir. Amerika kıtasının keşfinden sonra (1493) mısır önce İspanya'ya getirilmiş, daha sonra da Afrika ve Asya'ya yayılmıştır. Daha sonra Mısır ve Suriye yoluyla ülkemize kadar gelmiştir (31).

Zea cinsi *Z. perennis* haricinde yirmi kromozoma ($2n=20$) sahiptir. Bu cins *Zea diploperennis*, *Zea perennis*, *Zea luxurians*, *Zea nicaraguensis*, *Zea mays* olmak üzere 5 türe sahiptir. *Zea mays* kendi içinde *Z. m. huehuetenangensis*, *Z. m. mexicana*, *Z. m. parviglumis*, ve *Z. m. mays* olmak üzere dört alt türü vardır. *Zea mays mays* tarımı yapılan mısır bitkisi iken ilk üçü alçak otsu formlarıdır (32).

1.2.2. Mısırın Morfolojisi

Mısır (*Zea mays* L.) uzun, kınları üst üste, yaprakları karşılıklı iki sıra halinde tek evcikli tek yıllık bir otsu bitkidir. Erkek çiçek bitkinin en tepesinde dişi çiçeklerse yanlarda yer alır. Gelişmiş saçak kök sistemine sahiptir. Belirgin şekilde nodlara ve internodlara ayrılmış olan gövde kısmı genellikle 1.5-3.0 m boyunda olmasına rağmen 4 metreyi aşan örneklerde vardır. Gövde üzerindeki nodlara bağlı olan yapraklar; yaprak kını, dilcik, kulakçık ve aya kısımlarından oluşmakta olup nodun üzerindeki internod kısmının etrafını kuşatırlar (33).

1.2.3. Mısırın İklim ve Toprak İsteği

Mısır bitkisinin toprak seçiciliği fazla değildir. Kumlu topraklardan killi topraklara kadar drenajı iyi olan her tür toprakta yetişebilmekte; ancak en iyi derin, besin maddelerince zengin, su tutma kapasitesi yüksek ve iyi drene edilmiş topraklarda yetişmektedir. Toprak pH'ı 6,5- 8,0 olan topraklar yetiştiricilik için uygundur. Mısır bitkisi varyetesine ve koşullara göre 2-3 ayda ürün verebilmektedir (34).

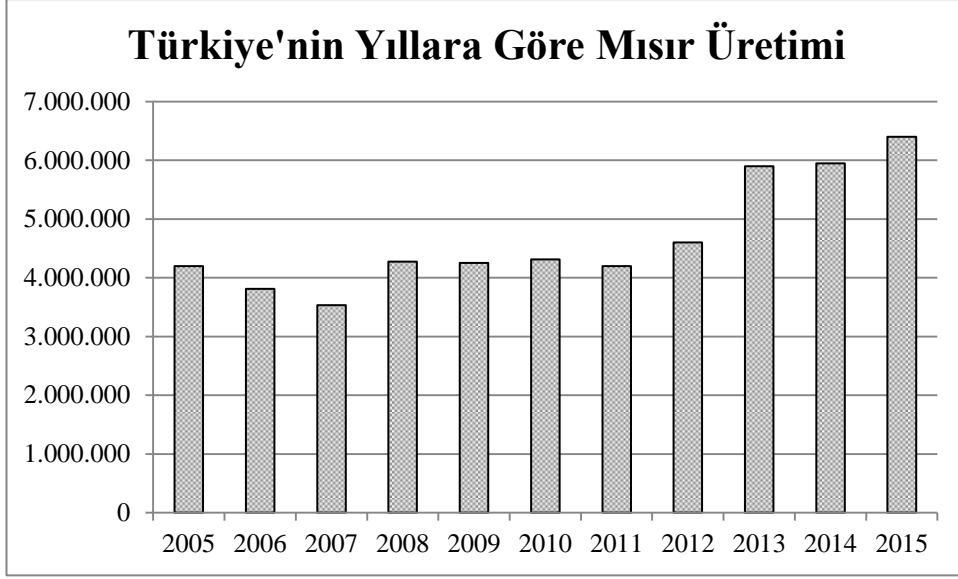
Mısırın minimum çimlenme sıcaklığı 8-10 °C, optimum büyüme sıcaklığı ise 20-30 °C'dir. Sıcaklık 32°C'ye ulaştığında kök ve sap uzamasında ani bir azalma görülür ve sıcaklık 40°C'ye ulaştıkça çimlenme durur (Kırto5). Mısır için optimum ve minimum bağıl nem değerleri sıcaklığa ve alınan su değerlerine bağlı olmakla birlikte; genel olarak %50 düzeylerine inen bağıl nem ortamında bitki, maksimum transpirasyondan sonra stomalarını kapatmak zorunda kalır. Mısır bitkisinin özellikle tozlanma dönemindeki düşük hava neminden olumsuz etkilenmesi tane bağlamayı aksatır ve transpirasyonla su kayıplarını artırır (5, 35).

Mısır bir C4 bitkisi olmasından dolayı; CO₂, su ve azotu C3 bitkilerinden daha etkin biçimde kullanabilmektedir. Bu özelliği dünyadaki tüm serin iklim ve sıcak iklim tahılları içinde birim alanda en fazla kuru madde üreten ve güneş enerjisini en iyi kullanan bitkilerden biri olmasında önemlidir (5).

1.2.4. Mısırın Dünyadaki ve Türkiye'deki Üretimi

Transgenik mısır üretimi oranının her sene artması dünyadaki mısır üretiminin artmasını sağlamıştır. Bu sebepten dolayı 2014-2015 yılları arasında 1009.68 milyon ton olan küresel mısır üretiminin 2015-2016 döneminde 969.64 milyon ton olacağı tahmin edilmektedir (36).

Dünyadaki mısır üretimi ve kullanımındaki artışa paralel olarak, 2005 yılında 4.200.000 ton mısır üretimi yapılan ülkemizde, 2015 yılında 6.400.000 tonluk mısır üretimi ile önemli verim artışı kaydedilmiştir (Şekil 1.4) (37). Hiç kuşkusuz ki son yıllarda mısırın ülkemizde çok ciddi bir sorun olan hayvan yemi üretimine çare olarak görülmesi ve mısır tüketimimizin % 74'ünün bu sektörde olması bu artışı tetikleyen faktörlerden biridir.



Şekil 1.4. Türkiye’de 2005-2015 yılları arasındaki mısır üretimi (ton olarak) (37).

1.2.3. Genetiği Değiştirilmiş Mısır

Biyoteknolojik mısır üretimi, geleneksel mısır üretim teknikleri ile karşılaştırıldığında, son yıllarda büyük önem kazanmış ve mısır dünyada en çok üretilen genetiği değiştirilmiş tahıllar arasında ikinci sıraya yerleşmiştir.

1.2.3.1. Böceklerle Karşı Dayanıklı Mısır ve MON810

Dünyada en çok ekimi yapılan transgenik mısır hatlarından biri olan MON810, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bakterisinin üretmekte olduğu Cry1 Ab böcek öldürücü proteinini sentezlemektedir. Bu protein, ülkemizde de önemli bulunan mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve mısır koçan kurdu (*Sesamia nanogroides*) gibi Lepidoptera takımından zararlı böcek türlerine karşı koruma sağlamaktadır. Bu transgenik mısırlar böceklerin sebep olduğu kayıpları gidererek ürün artışına sebep olurlar. Transgenik MON810 mısır çeşidi, PV-ZMBK07 ve PV-ZMGT10 plazmidlerinin partikül bombardıman yöntemi ile Monsanto firmasına ait YieldGard mısır çeşidine aktarılması sonucu oluşturulmuştur (38).

Bu çalışmada, genetiği değiştirilmiş MON810 mısır (*Zea mays* L.) hattında pestisit üretimini aktive etmek üzere aktarılan yeni gen / genlerin bitkinin gelişimine ve genel kromozomal yapısına etkileri; çimlenme ve fide aşamalarında bazı önemli

sito-genetik, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreler kullanılarak ayrıntılı bir şekilde araştırılmıştır.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Tohum Temini

Araştırmada kullanılacak transgenik mısır (MON810) tohumları yurtdışından, kontrol grubu olarak kullanılacak genetiği değiştirilmemiş mısır tohumları ise yurtiçinden ticari olarak elde edilmiştir.

2.2. Çimlenme Dönemi Analizleri

2.2.1. Kabuk Sterilizasyonu

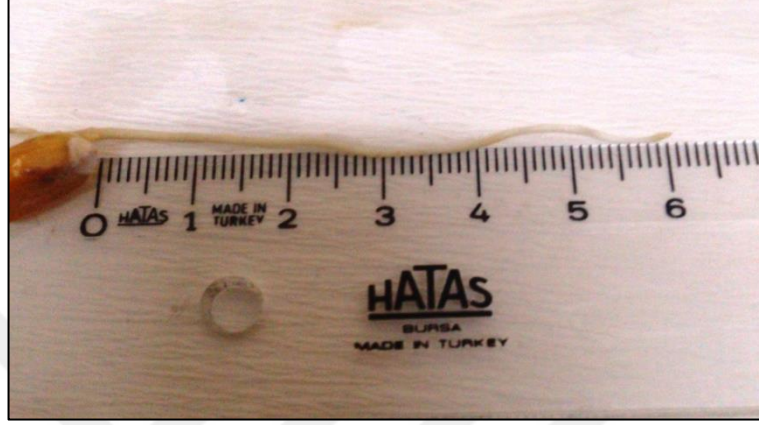
Eşit ağırlıktaki yüz adet transgenik ve yüz adet transgenik olmayan tohum %12'lik teknik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisi ile 10 dakika muamele edilerek ve distile su ile 24 saat yıkanarak kabuk sterilizasyonu yapılmıştır. Tohumlar aseptik koşullar altında, içinde kurutma kağıdı olan petri kaplarına 10'ar adet yerleştirilmiştir. Petri kaplarındaki kurutma kağıtları distile su ile ıslatılmış ve her gün kaybolan nemi karşılayacak kadar distile su petri kaplarına eklenmiştir. Tohumların gelişimleri 7 gün boyunca karanlıkta ve 25 °C'de takip edilmiştir (şekil 2.1.) (39).



şekil 2.1. Tohumların inkübatörde sabit sıcaklıkta yetiştirilmesi.

2.2.2 Kök (Radikula) Boyunun Tayini

Çimlenen tohumların kök uzunlukları (boyu), radikula boyunun tabanından itibaren milimetrik cetvel yardımıyla ölçülmesi ile tespit edilmiştir (Şekil 2.2.)



Şekil 2.2. Kök (Radikula) boyunun tayini

2.2.3 Ağırlık Kazancının Tayini

Çimlenen tohumların çimlenme öncesi ve sonrasında hassas terazi ile ölçülen ağırlıkların farkı olarak belirlenmiştir.

2.2.4 Çimlenme Yüzdesinin Hesaplanması

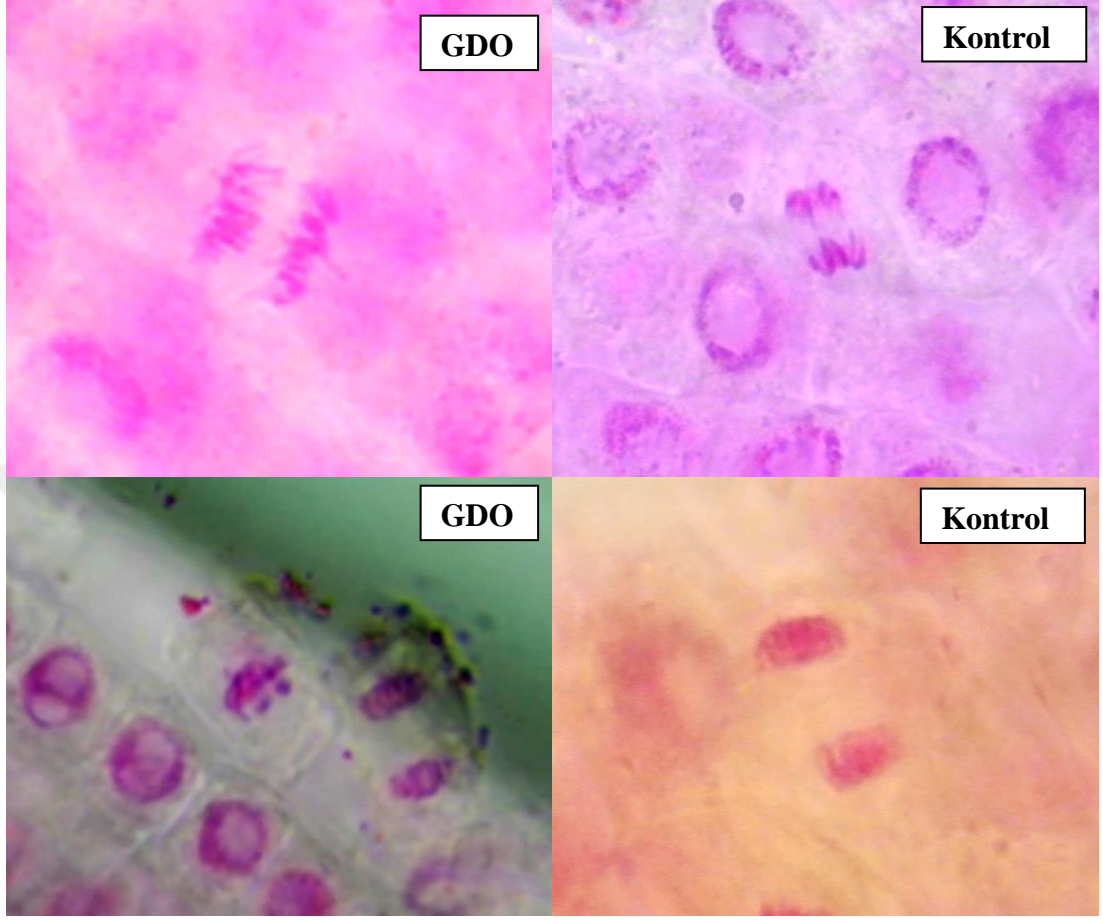
Genetiği değiştirilmiş ve genetiği değiştirilmemiş tohumların çimlenme yüzdeleri aşağıdaki eşitlik (Eşitlik 1.) ile hesaplanmıştır (39).

$$\text{Eşitlik 1. : } \text{Çimlenme (\%)} = (\text{Çimlenen tohumlar/toplam tohum}) \times 100$$

2.2.5. Mikronükleus Testi

Mikronükleusun belirlenmesi için petri kaplarında çimlendirilen mısır tohumlarının kök uçları Clarke fiksatorü (3:1 glasiyel asetik asit ve distile su) içerisinde 24 saat fikse edilmiş, 15 dakika %96'lık etanolle yıkanmış ve mikroskop preparatlarını hazırlayana kadar %70'lik etanolde, 4 °C sıcaklıkta saklanmıştır. 1 N HCl'de, 60 °C'de 13 dakika hidroliz edilen kök uçları, 35 dakika feulgen boyası ile boyanmıştır. Kök meristemleri, boyamadan sonra, %45'lik CH₃COOH çözeltisinde ayrılıp ve ezilmiştir. MN analizinde, MN sıklığını hesaplamak için her preparatta

1000 hücre incelenmiştir. Hücreler binoküler mikroskopta (Japan, Nikon), 1000 büyütmede incelenmiştir (Şekil 2.3) (40).



Şekil 2.3. Feulgen boya ile boyanmış hücre çekirdeği ve kromozomlar

2.2.6. Kromozom Eldesi ve Mitotik İndeks Hesaplanması

Kesilmiş kök uçları Clarke fiksatoründe 24 saat fikse edilmiş ve %70'lik alkolde buzdolabında (4 °C) saklanmıştır. Bu örnekler rutin olarak bölümlere ayrılarak feulgen ile boyanmıştır. Her bir grup için, 10 tane ezilmiş kök ucu preparatı hazırlanmış ve her bir preparatın rastgele bir bölgesinde 500 mitotik hücre sayılmıştır (41,42). Kromozomal analizler; kromatin köprüleri, düğümler ve fragmentler gibi kromozomal değişiklikleri belirlemek için anafazdaki hücrelerde yapılmıştır. Sentromerdeki değişiklikler ve mitotik iğ bozuklukları multipolar anafaz varlığı aracılığıyla izlenmiştir. Mikroskobik preparatlar, mitotik indeks (MI) sayesinde, hücre bölünme yoğunluğunu belirlemek için analiz edilmiş ve MI ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Eşitlik 2):

Eşitlik 2. : $Mitotik\ İndeks = N'/N \times \%100$

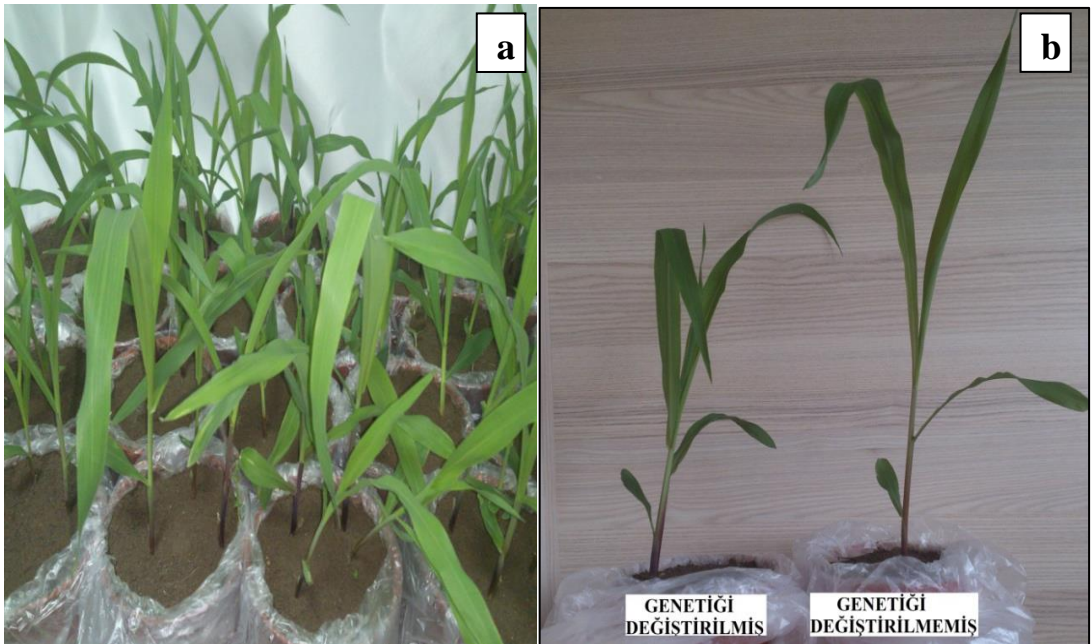
(N' ve N; sırasıyla bölünen hücre ve toplam hücre sayıları).

2.3. Erken Fide Dönemi Analizleri

2.3.1 Fidelerin Yetiştirilmesi

Çalışılması planlanan genetiği değiştirilmiş mısır örneklerinin tarla çalışmaları sırasında rüzgar, böcek veya kuş gibi faktörler ile çevredeki genetiği değiştirilmemiş bitkiler ile tozlaşma tehlikesi olduğundan dolayı, fide çalışmaları kontrollü laboratuvar ortamında yapılmıştır.

Kullanılan toprak Giresun Üniversitesi Şebinkarahisar Kampüsü'ndeki Organik Tarım Bölümü arazisinden alınmış, elenen ve kurutulan toprak aynı ebatlardaki saksılara birer kilogram konulmuştur. Sterilize edilen ve 24 saat şişirilen eşit boy ve büyüklükteki transgenik ve kontrol tohumları iki ayrı grup halinde saksılara dörder adet ekilmiştir. Saksılar 25 °C sabit sıcaklık ve günde 12 saat ışık görecekte sabit koşullarda yetiştirilmiştir (Şekil 2.4.a). Saksılar her gün ihtiyacı karşılayacak kadar sulanmıştır. Onuncu günde saksılardaki fideler, her saksıda birer fide kalacak şekilde seyreltilmiştir (Şekil 2.4.b). Üçüncü haftanın sonunda hasat yapılmıştır.



Şekil 2.4. Fidelerin yetiştirilmesi.

2.3.2 Fide Boy Uzunluğunun Tayini

Fide boylarının uzunlukları, fidelerin en yüksek noktasının yüksekliğinin cetvel ile ölçülmesi ile bulunmuştur.

2.3.3. Fide Yaş Ağırlığının Tayini

Fide Yaş Ağırlığı, toprak hizasından kesilen fidelerin hassas terazide tartılması ile bulunmuştur.

2.3.4. Fide Kuru Ağırlığının Tayini

Fide Kuru Ağırlığı, fidelerin etüvde 80 °C’de 48 saat kurutulduktan sonra hassas terazide tartılması ile bulunmuştur.

2.3.5. Yaprak Alanının Tayini

Yaprak Alanı, dördüncü çıkan yaprakların tarayıcıda tarandıktan sonra elde edilen görüntülerin “Digimizer” (43) programında sayısal olarak incelenmesi ile elde edilmiştir.

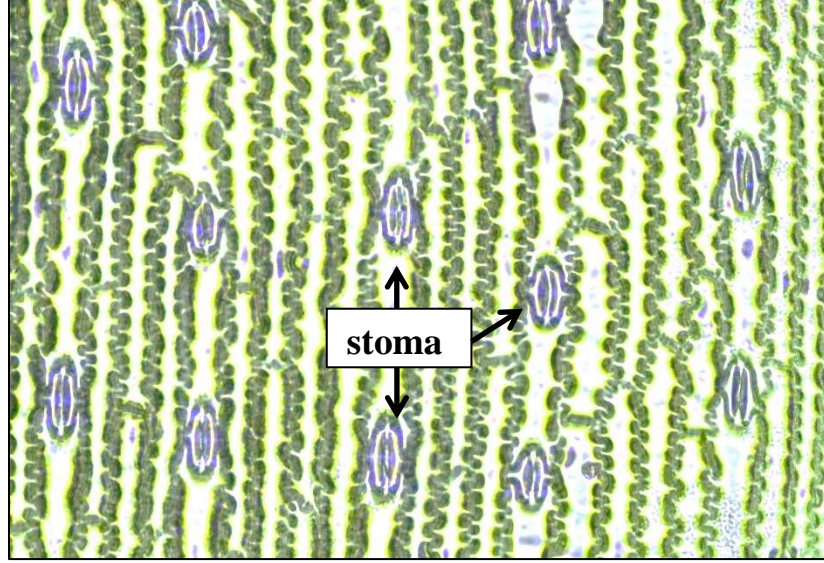
2.3.6. Nispi Su İçeriğinin Tayini

Nispi Su İçeriği, 4. Yapraktan alınan yaprak parçalarının önce taze ağırlıkları (TA) tartılmış, daha sonra 24 saat hidrate edilerek hidrate ağırlıkları (HA), en sonda 48 saat 80 °C’de kurutulularak kuru ağırlıkları (KA) belirlenmiştir. Aşağıdaki formülden (Eşitlik 3) nisbi su içeriği belirlenmiştir (44).

$$\text{Eşitlik 3. } NSI (\%) = (TA - KA) / (HA - KA) \times 100$$

2.3.7. Fidelerdeki Stomaların Sayımları ve Kıyaslamaları

Stoma sayımı için, her fidenin 4. yaprağının orta kısmının hem ön hem de arka kısmına şeffaf tırnak cilası sürülmüştür. Tırnak cilası kuruyunca şeffaf yapışkan bir bant cilanın üstüne yapıştırılmıştır. Bu bant sonradan lamlara yapıştırılarak saklanabilir stoma kalıpları elde edilmiştir (Şekil 2.5). Beş fidenin yapraklarının hem üst hem de alt kısımlarında 1mm²’lik dörder alandaki stomaların sayımı yapılmıştır (45).



Şekil 2.5. Mikroskop altında stomaların görünüşleri.

2.3.8 Mısır Fidesi Yapraklarındaki Pigment İçeriklerinin belirlenmesi

Üç haftalık mısır fidelerinin yapraklarındaki toplam klorofil ve karotenoid miktarları Lichtenthaler'e (46) göre belirlenmiştir. Yaprak dokularındaki pigment içeriklerinin belirlenmesinde GD ve Kontrol grubundaki fidelerden yaprak parçaları 3 tekrarlı olacak şekilde alınmıştır. Fidelerin alttan 4. yapraklarından alınan küçük parçaların üzerine toplam klorofil (a+b) ve karotenoid içeriğini belirlemek amacıyla 3 ml, %100'lük aseton eklenmiştir. Örnekler, pigmentlerin yaprak dokusundan çözeltiye geçmesi için 1 hafta buzdolabında (+4 °C), karanlıkta bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansları spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 470, 644.8 ve 661.6 nm dalga boylarında okunmuştur.

Antosiyanin içeriği Mancinelli'ye (47) göre belirlenmiştir. Yaprak dokularındaki antosiyanin miktarını (mg/ml.gY.A.) belirlemek için ependorf tüplerine alınan yaprak parçaları, üzerlerine 2 ml %79 metanol (saf), %20 distile su ve %1 HCl'den oluşan karışım eklenerek ezilmiştir. Örnekler, antosiyanin pigmentinin yaprak dokusundan çözeltiye geçmesi için 1 hafta buzdolabında (+4 °C), karanlıkta bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansları spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 530 ve 657 nm dalga boylarında okunmuştur.

2.3.9 Mısır Fidelerinin Yapraklarındaki MDA ve Prolin İçerikleri

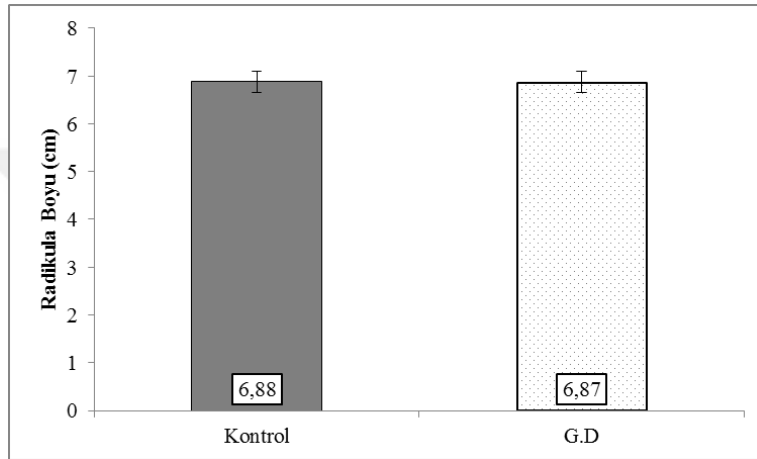
Üç haftalık mısır fidelerinin yapraklarındaki malondialdehit (MDA) miktarı Ohkawa'nın (48) metodu kullanılarak araştırılmıştır. Tartılan 0.1 g taze yaprak örneği küçük parçalara ayrıldıktan sonra 1,5 ml %5 Trikloroasetik Asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Bu karışım 25°C'de 12000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiş ve malondialdehit miktarı belirlemek için süpernatant kısmı kullanılmıştır. Eşit hacimde süpernatant ve içinde % 0.5 Thioborbütrik Asit (TBA) bulunan %20'lik TCA çözeltisi karıştırılarak 95°C'de 30 dakika su banyosunda tutulmuş ve buz banyosuna konularak reaksiyonlar durdurulmuştur. Bu işlemde sonra, tüpler 5 dakika 1000 rpm'de santrifüjlenip spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbanları ölçülmüştür.

Üç haftalık mısır fidelerinin yapraklarındaki prolin miktarını belirlemek için özütler Weimberg'in (49) metoduna göre hazırlanmıştır. Fidelerden alınan yaprak örnekleri 3 tekrarlı olarak 20'er mg tartılmıştır. 10 ml distile su eklenen materyal 95 °C'de 10 dakika sıcak su banyosunda tutulduktan sonra soğutulmuş ve süzümüştür. Örnekler, prolin analizi için, asit-ninhidrin metoduna göre hazırlanmış ve örneklerin absorbanları spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 520 nm'de okunmuştur (50).

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Kök (Radikula) Boyuları

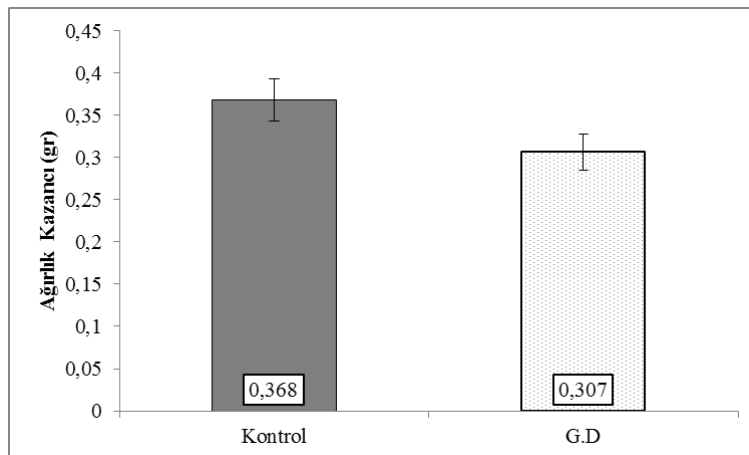
Bir haftalık çimlenmenin sonunda kontrol grubu tohumların radikula boyları ile genetiği değiştirilmiş tohumların radikula boyları arasındaki % 0,145'lik farkın (0,01 cm.) istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ($p < 0.05$) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kök (Radikula) Boyu sonuçları.

3.2. Tohum Ağırlık Kazançları

Bir haftalık çimlenmenin sonunda genetiği değiştirilmiş tohumların ağırlık kazançları kontrol grubu tohumların ağırlık kazançlarından % 16,6 daha (0,061 gr.) azdır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Ağırlık kazancı sonuçları.

3.3. Çimlenme Yüzdesi

Bir haftalık çimlenme sürecinin sonunda kontrol grubu tohumların çimlenme yüzdesinin genetiği değiştirilmiş tohumların çimlenme yüzdesinden % 2 daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Genetiği değiştirilmiş mısır tohumlarının çimlenme yüzdesi %91 olarak; genetiği değiştirilmemiş (kontrol) mısır tohumlarının çimlenme yüzdesi ise %93 olarak bulunmuştur.

3.4. Mikronükleus

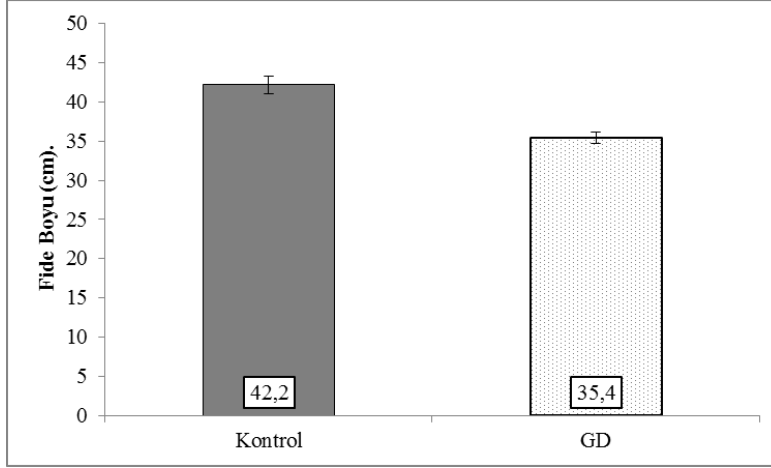
Genetiği Değiştirilmiş ve Kontrol gruplarından hazırlanan preparatlarda nükleus ve kromozomlar görülebilmesine karşın, standartlara uyan (çapı ana nükleusunun 1/3'ü olan, net bir nükleus sınırı belirlendiği sürece ana nükleusa nükleus kenarında temas eden ya da ana nükleustan ayrı olan ve nükleusla benzer şekilde boyanmış) bir mikronükleus varlığına rastlanılmamıştır.

3.5. Kromozom Eldesi ve Mitotik İndeks

Mikroskopik incelemeler sonucunda kromozomlar görülmesine rağmen, fragment, C- mitoz, yapışmış kromozom, kromatinin eşit olmayan dağılımı, kromozom köprüsü vb. kromozomal hasarlara rastlanmamıştır.

3.6. Fide Boyu Uzunlukları

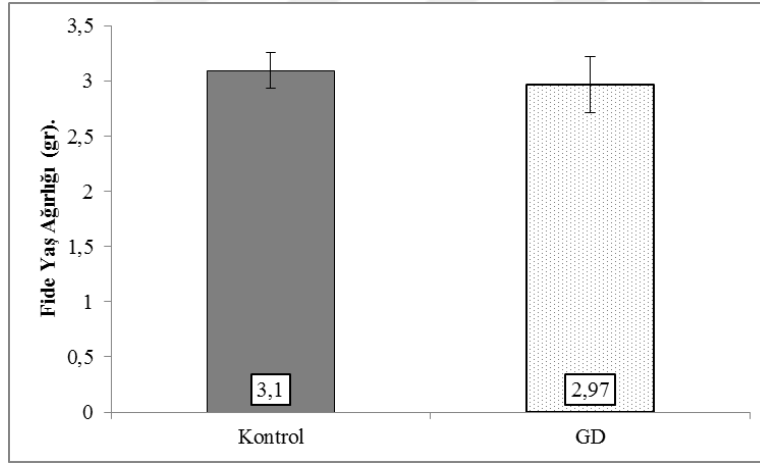
Genetiği değiştirilmiş ve kontrol grubu filelerde morfolojik incelemeler yapılmış ve fidelerin boy uzunlukları ölçülmüştür. Üç haftalık genetiği değiştirilmiş fidelerin boyları kontrol grubu fidelerinin boylarından olarak % 16.11 daha kısa olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.3). Bu fark istatistiksel olarak ($p < 0.05$) önemlidir.



Şekil 3.3. Fide boyu uzunluğu.

3.5. Fide Yaş Ağırlıkları

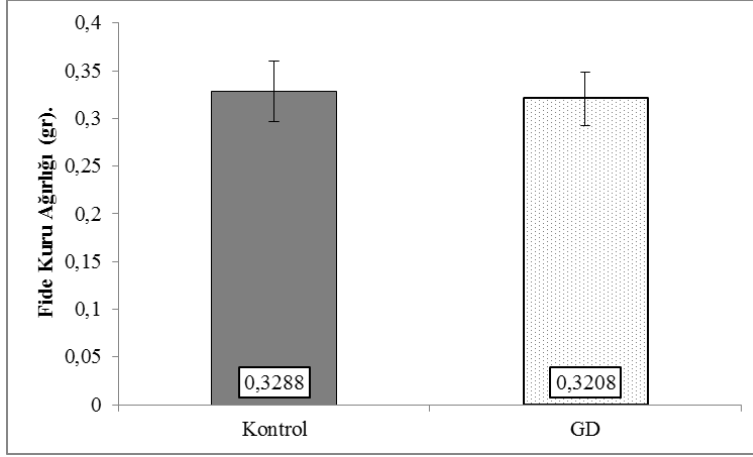
Genetiği değiştirilmiş ve kontrol grubu mısır fidelerinin toprak üstü kısımlarının ağırlıkları belirlenmiştir (Şekil 3.4). Üç haftalık genetiği değiştirilmiş fidelerin yaş ağırlıkları kontrol grubu fidelerin yaş ağırlıklarından % 4,19 azdır. Bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.



Şekil 3.4. Fide yaş ağırlığı.

3.6. Fide Kuru Ağırlıkları

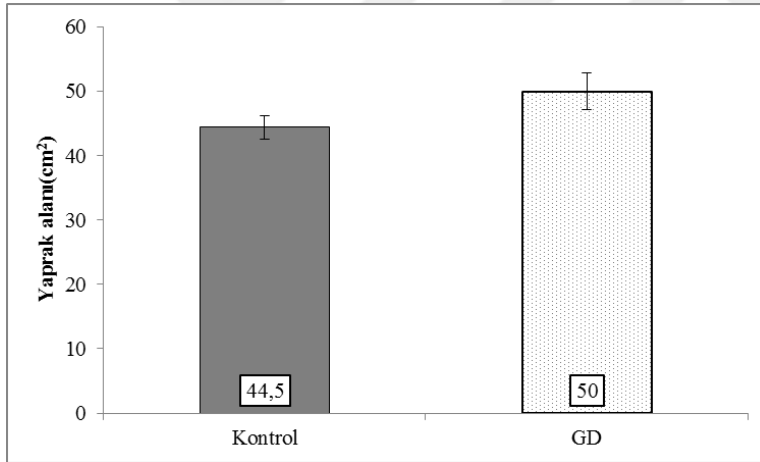
Genetiği değiştirilmiş ve kontrol grubu mısır fidelerinin toprak üstü kısımlarının kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Şekil 3.5). Üç haftalık genetiği değiştirilmiş fidelerin kuru ağırlıkları kontrol grubu fidelerin kuru ağırlıklarından % 2.43 (0,008 gr.) daha azdır. Bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 3.5. Fide kuru ağırlığı.

3.7. Yaprak Alanları

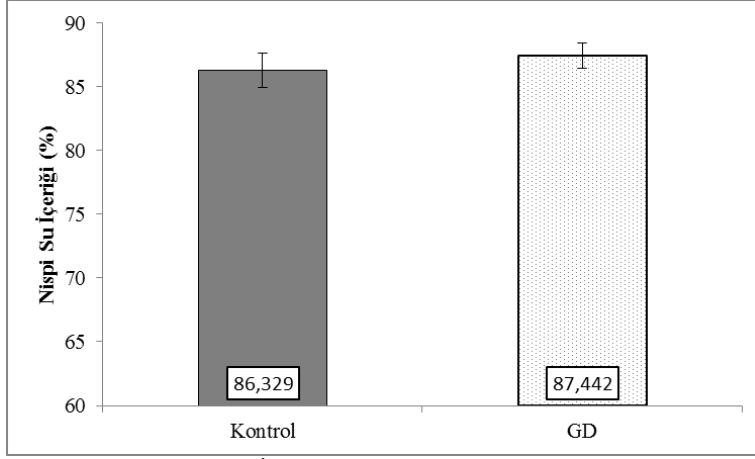
Üç haftalık genetiği değiştirilmiş fidelerin yaprak alanları kontrol grubu fidelerin yaprak alanlarından % 12,35 (5,5 cm².) daha geniş bulunmuştur (Şekil 3.6). Aradaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir.



Şekil 3.6. Yaprak alanı.

3.8. Nispi Su İçerikleri

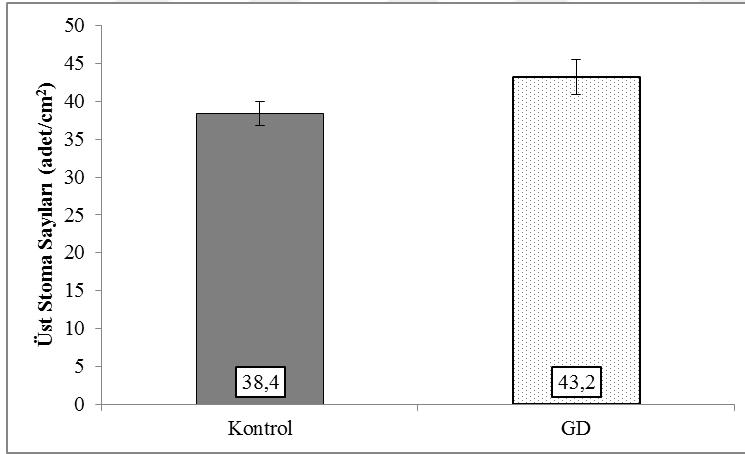
Üç haftalık genetiği değiştirilmiş fidelerin nispi su içeriği kontrol grubu fidelerin nispi su içeriği % 1,113. daha fazla bulunmuştur (Şekil 3.7). Fidelerin nispi su içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur.



Şekil 3.7. Nispi Su İçeriği.

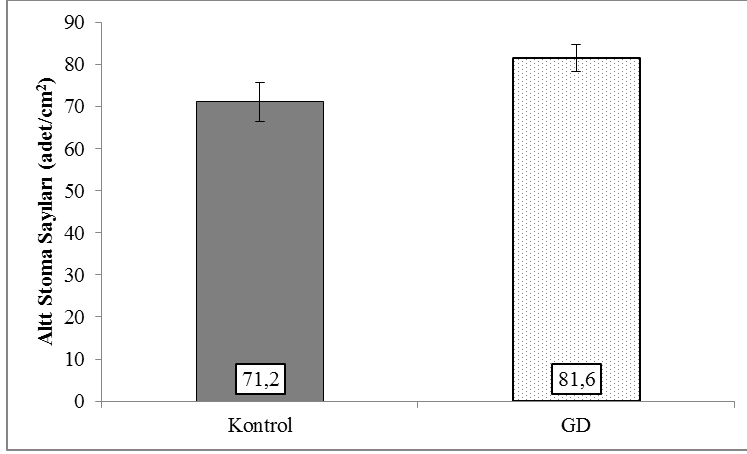
3.9. Fidelerdeki Üst ve Alt Stomaların Sayıları

Genetiği değiştirilmiş ve kontrol mısır fidelerinde yaprakların alt ve üst epidermisindeki stoma sayılarına bakıldığında; alt epidermisteki stoma sayısının üst epidermise göre daha fazla olduğu görülmüştür. Genetiği değiştirilmiş mısır fidelerinin üst stoma sayıları kontrol grubunun stoma sayılarından yüksek olmasına rağmen arada istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. GD ve Kontrol mısır gruplarının üst stoma sayıları.

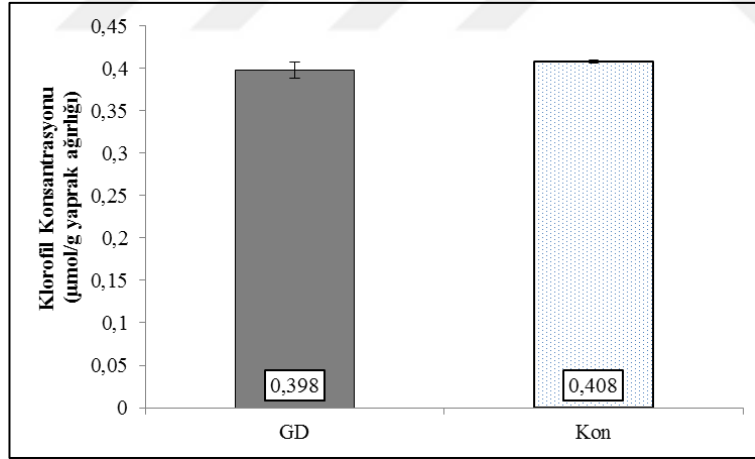
Genetiği değiştirilmiş mısır fidelerinin alt stoma sayıları kontrol grubunun stoma sayılarından yüksek olmasına rağmen arada istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. GD ve Kontrol mısır gruplarının alt stoma sayıları.

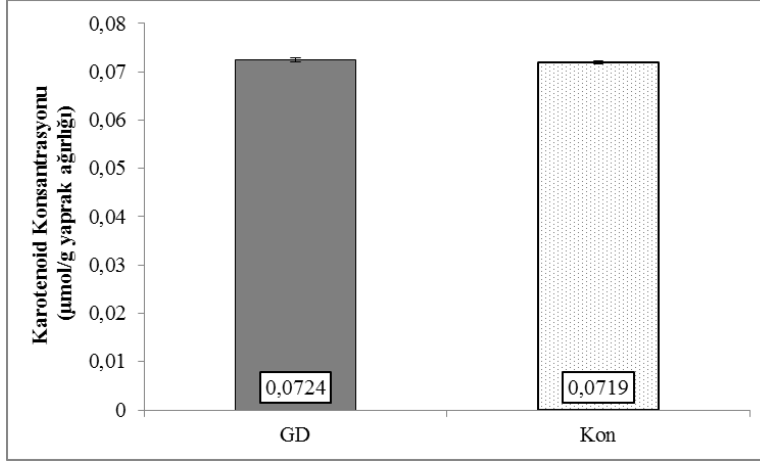
3.10. Mısır Fidelerinin Yapraklarındaki Pigment İçerikleri

Genetiği değiştirilmiş mısır fideleri ile kontrol grubundaki mısır fidelerinin yapraklarındaki pigment içeriklerinin kıyaslanması için yapraklardaki toplam klorofil, toplam karotenoid ve toplam antosiyanin pigmentlerinin miktarları araştırılmıştır. Üç hafta büyütülen genetiği değiştirilmiş ve kontrol grubu fidelerin yapraklarındaki klorofil miktarları benzer bulunmuştur (Şekil 3.10).



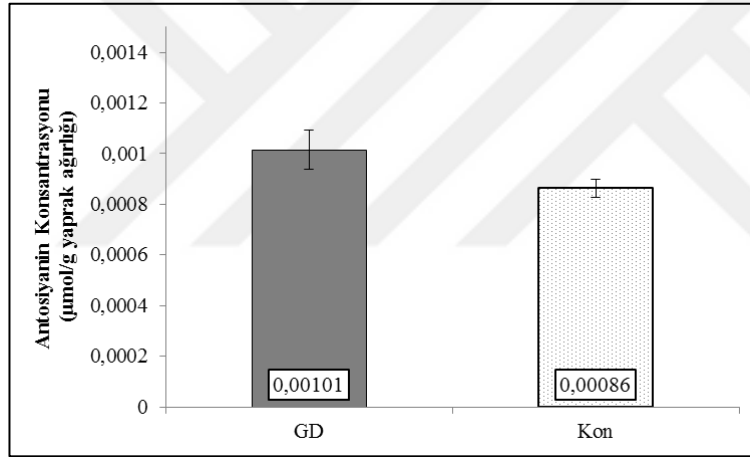
Şekil 3.10. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam klorofil miktarları.

Üç haftalık fidelerin yapraklarındaki toplam karotenoid pigment içerikleri incelendiğinde, genetiği değiştirilmiş fideler ile kontrol grubu fideler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı görülmüştür (Şekil 3.11)



Şekil 3.11. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam karotenoid miktarları.

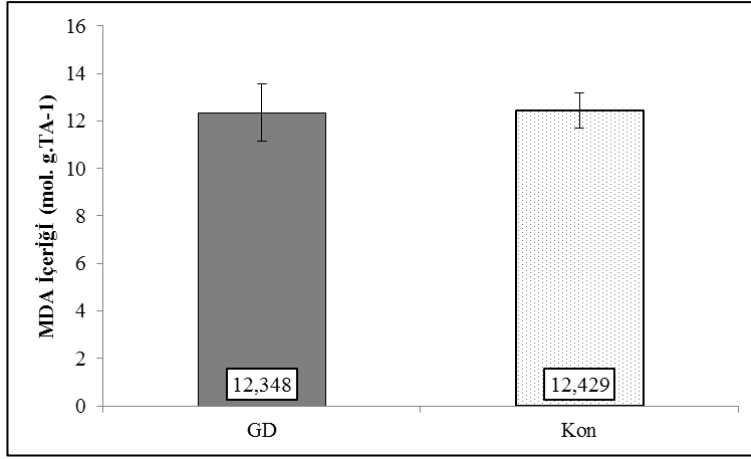
Genetiği değiştirilmiş mısır fidelerinde antosiyanin toplam miktarı ve kontrol grubu mısır fidelerinin yapraklarındaki toplam antosiyanin konsantrasyonundan önemli derecede fazladır. (Şekil 3.12)



Şekil 3.12. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam antosiyanin miktarları.

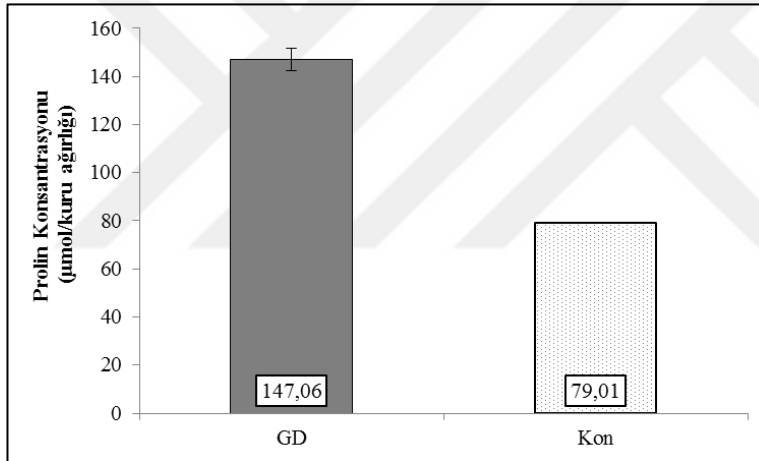
3.11. Mısır Fidelerinin Yapraklarındaki MDA ve Prolin İçerikleri

GD ve kontrol grubu fidelerin yapraklarında hücre zarlarındaki lipid peroksidasyonunu araştırmak amacıyla MDA miktarları belirlenmiştir (Şekil 3.13). Analiz sonucuna göre GD ve Kontrol grubundaki fidelerin yapraklarındaki MDA miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 3.13. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam MDA içeriği.

GD grubu fidelerdeki prolin içeriği Kontrol grubundakilerden istatistiksel açıdan önemli derecede fazla olup ($p < 0.05$); Kontrol grubundaki içeriğin yaklaşık 1,9 katıdır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Üç haftalık fide yapraklarındaki toplam prolin konsantrasyonu.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

MON 810 mısır hattında Lepidoptera takımındaki zararlı böcek türlerine karşı koruma sağlamak amacıyla yapılan genetik modifikasyonlar böceklerin sebep olduğu kayıpları gidererek ürün artışına sebep olmuştur. Ancak pestisit üretimini aktive etmek üzere aktarılan yeni gen / genlerin bitkinin genel kromozomal yapısını, bitki gelişimini ve sonuç olarak ürün verimini nasıl etkilediği açık değildir. Bu konu insan ve çevre sağlığı açısından olduğu kadar ekonomik açıdan da önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın bulgularına göre Genetiği Değiştirilmiş (GD) ve Kontrol (Kon) grupları arasında radikula boyu, fide yaş ağırlığı, fide kuru ağırlığı, yaprak alanı, % nispi su içerikleri, fidelerde alt ve üst stoma sayıları, fidelerde klorofil ve karotenoid pigment içerikleri ve fidede MDA içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli derecede fark yoktur. Çimlenme aşamasındaki ağırlık kazancı ile erken fide aşamasındaki fide boyu kontrol grubunda daha yüksektir. Ayrıca antosiyanin ve prolin içeriği transgenik mısır fidelerinde istatistiksel olarak önemli derecede daha fazladır.

Hücrede önemli bir osmolit olarak görev yapan ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol oynayan prolinin GD mısırdaki artışı bu mısırdaki bir oksidatif stress olduğunun göstergesidir. Ancak, iki hat arasında MDA bakımından fark olmaması oksidatif stresin membranlardaki lipid peroksidasyonundan kaynaklanmadığını göstermektedir. Çimlenmede ağırlık artışı ve fidelerdeki uzmanın kontrol grubunda daha yüksek olması genetik müdahalenin transgenik mısırdaki çimlenme ve fide büyümesini azalttığının göstergesidir. Çimlenme ve fide evresindeki bu olumsuz etkinin çiçeklenme ve tohum dolumu aşamalarını etkilemesi sonuç olarak ürün veriminde farklara yol açması muhtemeldir. Bu bilgilerden yola çıkardığımız çalışmanın daha ileri aşamalara genişletilmesi ve mısırın diğer gelişim evrelerindeki farkların araştırılması iki hat arasındaki farkların ortaya konulması açısından büyük öneme sahiptir.

İnsan gıdası, yemelik yağ ve hayvan yemi gibi kullanım alanları olan mısır (*Zea mays* L.) buğday ve çeltikle birlikte dünyada en çok üretilen tahıllardan biridir. Mısır, tüm dünyada çok çeşitli çevresel koşullarda yetiştirilebilmesi ve C4 bitkisi olması sayesinde yüksek verimi ile her geçen gün önemini arttırmakta ve yeni

kullanım alanları bulmaktadır (51). Model bir bitki olması ve öneminden dolayı mısır, üzerinde en çok ıslah çalışması yapılan tahıllardan biridir.

1980'li yıllardan itibaren klasik ıslah çalışmalarının yerini gen mühendisliği çalışmaları almış ve mısır; yüksek ürün verme kapasitesine ve sadece taneleriyle ve yeşil aksamıyla değil bunlardan elde edilen yan ürünleriyle de diğer tarla bitkileri arasında ön plana çıkan bitkilerden biri olmuştur. Dünyadaki zirai ürün kayıplarının yaklaşık yarısı böceklerden kaynaklandığından (52) biyoteknolojik araştırmalarda, çevreye ve insan sağlığına pek çok olumsuz etkisi olan pestisitlere alternatifler bulunması esas çalışma konularından biri olmuştur. *Bacillus thuringiensis* (Bt) bakterisinden elde edilen Cry proteinini sentezleyen ve bu sayede böceklere karşı dayanıklı olan transgenik Bt mısırın geliştirilmesi bu konudaki büyük atılımlardan biri olup bu GD tahılın yetiştirildiği alanların son yıllarda düzenli olarak arttığı bilinmektedir (53).

Bt mısır pestisitlere olan ihtiyacın azalmasını sağladığı gibi, böceklerin sebep olduğu ürün kayıplarını düşürmekte ve bitkilerde böceklerin oluşturduğu yaraları enfekte eden funguslardan bulaşan mikotoksin oranlarını da en aza indirmektedir (54). Böylece ürün artışı sağlanmakta; ancak bu kazanımlar, Bt mısırın insan sağlığı, gıda kalitesi ve güvenliği, doğal ve yapay çevrelerdeki olası etkileri hakkındaki endişeleri ortadan kaldırmaya yetmemektedir. Bunun temel sebebi gen aktarım işlemi ile istenilen özelliklerin kazandırılmasının yanı sıra genetik yeniden-düzenlenmeler ve metabolik düzensizliklerden kaynaklanan ve GD bitki ile geleneksel eşleniği arasında farklara yol açabilecek istenmeyen etkilerin olabilmesidir. Metabolik yolların değişmesi veya daha önce baskılanmış durumdaki genlerin ifade edilmesi sonucunda, endojen toksin ve alerjenler artabilmekte veya temel besin öğeleri azalabilmektedir (55). Gen transformasyonu; moleküler düzeydeki etkilerinin yanı sıra bitkinin yaşam döngüsü içerisinde çimlenmeden ürün oluşumuna kadar pek çok evreyi etkileyebilecek değişikliklere de sebep olabilmektedir.

Tohum çimlenmesi, bitkinin sonraki büyüme başarısını ve ürün oluşumunu etkileyecek ilk ve en önemli aşamadır (56, 57). Bu evre bitkinin normal büyüme ve gelişme gösterebilmesi için oldukça kritik olan kök gelişimi ile karakterize edilmektedir (58).

Kök uzaması kök ucundaki meristamatik hücrelerin bölünmesi ile oluşturulan genç hücrelerin uzamasına bağlı olarak gerçekleşmektedir ve bitkinin rizosferden mineral madde ve su alımının devam etmesine bağlıdır (58, 59). Bu açıdan; mısır tohumunun çimlenme aşamasında çıkan temel kökü olan radikulanın boyu, bitkinin sonraki evrelerindeki başarısını tahmin edebilmek için iyi bir dayanak noktası olarak düşünülebilir. Bu çalışma; GD mısır ile kontrol grubu olarak seçilen genetiği değiştirilmemiş mısır arasında gen transformasyonundan doğabilecek olan farkları belirlemek üzere çimlenme ve erken fide olmak üzere iki aşamada yürütülmüştür. İki mısır genotipi çimlenme evresinde; çimlenme yüzdesi, radikula boyu ve ağırlık artışı bakımından kıyaslanmıştır. Hiç şüphesiz ki çimlenme yüzdesi tarım bitkilerinin en önemli kalite kıstaslarından biri olup bu parametre; tohum canlılığını gösterdiği için araştırmanın ileriki aşamalarının sağlıklı ilerlemesi için hayatidir. Khayatnezhad ve ark. (2010)'ın yaptığı çalışmada, farklı mısır tiplerinde farklı çimlenme oranları bulunmuş olması, herhangi bir stres unsuru olamamasına rağmen genetik alt yapının çimlenme oranını etkileyebileceğini göstermektedir (56). Çalışmamızda kullanılan mısır taneleri özel tohumluk olarak üretilmedikleri halde hem GD hem de kontrol grubu tohumlarda yüzde doksanın üzerinde çimlenme olduğu belirlenmiş; çimlenme oranları bakımından iki genotipin benzer sonuçlar verdiği görülmüştür. Hatlar arasında çimlenme yüzdeleri bakımından yakın sonuçlar olması, genetik müdahalenin tohum canlılığına olumsuz bir etki göstermediğini belirtmektedir.

Yedi günlük çimlenme süreci sonunda GD mısır ile kontrol arasında radikula boyları bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuç GD ve kontrol grubu tohumların toprağa tutunma ve toprak ile madde alışverişi konusunda bir fark göstermediği şeklinde yorumlanabilir. Genotiplere ait tohumların, çimlenme öncesinde uygulanan şişme olayı gerçekleşmeden, kuru ağırlıkları alınarak bu değerler, yedi günlük çimlenme sonundaki ağırlıklarla kıyaslanmıştır. Bu şekilde belirlenen ağırlık kazancı bakımından da mısır hatları arasında, çimlenme yüzdesi ve radikula uzamasında olduğu gibi, önemli bir fark görülmemesi tohumlar arasında gen değişikliğinden kaynaklanabilecek olan farkların çimlenme döneminde ortaya çıkmadığını düşündürmüştür.

Mikronükleus (MN)'ler tam kromozom veya asentrik kromozom parçalarından köken alan oluşumlardır. Hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya

çıkan ve esas çekirdeğe dahil olmayan bu yapıların sayısındaki artış; somatik hücrelerdeki genomik kararsızlığın ve genetik materyalde bir hasar olduğunun habercisi olarak bilinmektedir (60). Araştırmada üç gün boyunca çimlendirilmiş iki mısır hattının hücre çekirdeklerinde mikronükleus oluşumu aranmıştır. Epitel hücre çekirdekleri başarı ile boyanmasına rağmen GD ve kontrol grubu hücrelerinde hiç mikronükleus tespit edilmemesi mısıra yapılan genetik müdahalenin mitoz bölünme sırasında kromozom kırıkları ya da eşlenmeyen kromozom oluşturacak düzeyde bir genetik hasara sebep olmadığını gösterir. Ancak MN testi DNA dizilimindeki değişiklikler hakkında bir fikir vermez.

Genetiği değiştirilmiş bitkilerdeki gen transformasyonları mikroskobik ve kimyasal düzeydeki etkilerine ilaveten bitkinin makroskopik özelliklerini etkileyebilecek değişimlere de yol açabilmekte , Bt mısırdaki artan lignin miktarı bu etkiye örnek olarak gösterilmektedir (61). Bunun aksine böceğe dayanıklı transgenik mısırdaki yeşil aksamın ve tohumun kompozisyon olarak geleneksel mısır ile benzer yani güvenli olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (62, 63). Bitki morfolojisi üzerinde; gen eklenmesinden ya da gen değişimine bağlı metabolik süreçlerden kaynaklanabilecek etkileri araştırmak için erken fide dönemi çalışmaları yapılmıştır. Erken fide dönemi çalışmaları için sabit sıcaklık ve 12 saatlik foto-periyot da yetiştirilen üç haftalık mısır fideleri kullanılmıştır. Bu süre sonunda fideler hasat edilerek bazı morfolojik ölçümler ve biyokimyasal analizler yapılmıştır. Yapılan çalışma laboratuvar koşullarında düzenlendiğinden tane dolumuna gidilmemiş olsa da bitkilerdeki vejetatif dönemin başarılı geçmesi tane veriminin temel belirleyicisi olduğundan, bu aşamadaki bulgulara bakarak, ürün verimi üzerinde yorum yapmak mümkündür. Ayrıca mısır bitkisinin vejetatif kısımları; hayvan beslenmesinde yeşil yem, silaj ve kompost yapımı için çok tercih edilen bir zirai ürün olduğundan, bitkinin fide dönemindeki gelişimi oldukça önemlidir.

Üçüncü haftanın sonunda GD ve genetiği değiştirilmemiş mısır gruplarının morfolojik özelliklerini karşılaştırmak için fide boyları, fide yaş ağırlığı, fide kuru ağırlığı ve yaprak alanları belirlenmiştir. Ölçümlerin sonunda GD ve genetiği değiştirilmemiş mısırlar fidelerinin yaş ağırlıkları, fide kuru ağırlıkları ve yaprak alanları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Bu durum gen müdahalesinin iki genotip arasında çimlenmeden sonraki büyüme sürecini

etkilemediğini düşündürmüştür. Ancak yaprak alanı, kuru ağırlık ve yaş ağılıklar benzer olduğu halde; GD fidelerin boylarının kontrol grubu fidelerin boylarından kısa olduğunun belirlenmesi, GD fidelerin yaprak alanlarının istatistiksel olarak önemli olmasa bile kontrol grubu fidelerden fazla olmasıyla bağlantılı olabilir. GD fidelerin yapraklarının genetiği değiştirilmemiş fidelerin yapraklarından daha uzun ama daha dar olması iki genotip arasında, kuru ağırlıkta fark olmaksızın gözlenen, boy farkını açıklayabilir. Aradaki morfolojik bu fark gen transferin etkisi olarak yorumlanabilir. Bu farkın daha uzun, daha ayrıntılı ve daha kapsamlı çalışılmasında önemlidir.

Stomalar bitkinin iç dokuları ile dış ortam arasındaki ilişkiyi sağlayan mikroskobik porlar veya gözeneklerdir. Yaprak ile atmosfer arasındaki CO₂, O₂ ve su dengesini ayarlayarak transpirasyon ve fotosentez olaylarında önemli bir rol oynarlar (64). Mısır bitkisi amfistomatik yapıda olduğundan çalışmada üç haftalık fide yapraklarının hem altlarında hem de üstlerinde birim alandaki stoma sayımları yapılmıştır. Yapılan sayımlar sonunda GD ve kontrol gruplarının stoma sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yokken, hem GD hem de genetiği değiştirilmemiş mısır fidelerinde yaprakların altlarındaki stoma sayılarının yaprakların üstlerindeki stoma sayılarından fazla olduğu belirlenmiştir. C4 bitkilerinde yaygın olarak görülen bu sonuç Çarpıcı ve Çelik (64)'in sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Bitkilerdeki gen değişikliği transpirasyonun %90'ından sorumlu olan stomaları etkilememiş; ancak organik madde üretiminde rol oynayan fotosentetik mekanizma üzerindeki farkı araştırmak için genotiplerin fotosentetik pigmentleri karşılaştırılmıştır.

Bitkinin ihtiyaç duyduğu organik maddeyi üretmesi fotosentetik bir süreç olup, fotosentez kloroplastlara, kloroplast oluşumu ise klorofil ve karotenoidlere bağlıdır (65). Fotosentetik pigmentler olan klorofil a, klorofil b ve karotenoidler ışık toplayıcı pigment olmaları sebebiyle miktarları bitkinin biyokütle miktarını artmasında çok önemlidirler. Ayrıca karotenoidlerin ışık toplayıcı kompleksteki işlerine ek olarak ekşite klorofil-oksijen kompleksinden oksijeni uzaklaştırarak ve triplet klorofil moleküllerinin oluşumunu engelleyerek klorofil ve membranları yıkımdankoruduğu bilinmektedir (66). Genotipler arasında toplam klorofil ve karotenoid pigment içerikleri bakımından önemli bir fark yoktur. Yapraklardaki

pigment içerikleriyle birlikte stoma miktarlarının ve fotosentezin doğrudan sonucu olan kuru ağırlığın genotipler arası fark göstermemesi gen eklenmesinin bitkilerdeki bu parametreleri etkileyecek olan mekanizmalar üzerinde bir etkisi olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Fotosentetik olarak aktif ışığı yansıtarak ve ışık-klorofil etkileşimlerini engelleyerek fotosentezi koruyan mekanizmalardan biri de bitki hücrelerindeki antosiyanin pigmenti birikimidir. Bu pigmentler, aynı zamanda, antioksidanlar olarak, çeşitli stresler altında serbest radikallerden kaynaklanan oksidatif hasarın azaltılmasında rolü olan hücre içi savunma sistemlerinin önemli bir bileşenidir (67). Çalışmada GD mısır fidelerindeki toplam antosiyanin miktarının genetiği değiştirilmemiş fide yapraklarındaki seviyelerden yüksek olması, Gd fidelerde olası bir strese karşı bir savunma sisteminin aktifleştiğinin göstergesi olabilir. Farrant (2000) doğrudan ışığa maruz kalan yapraklarda biriken antosiyaninlerin klorofil pigmentini maskeleyerek fotooksidasyonu azalttığını ve böylece fotosentetik mekanizmanın korunmasında görev yaptığını bildirmiştir (44).

Bitkilerin streslere karşı en önemli hücresel cevaplarından biri aralarında prolin aminoasitinin de olduğu ozmolitleri büyük oranlarda biriktirmeleridir (68, 69). Prolin konsantrasyonundaki bu artış hücrede osmotik dengenin düzenlenmesinde, hücresel yapıların korunmasında ve antioksidan faaliyetlerin yürütülmesinde rol almaktadır (70). Bu aminoasidin belirlenmesi bitkilerdeki stres toleransını ve genel fizyolojik durumu anlamak için oldukça yararlı bir araçtır (71). Çalışmada fide yapraklarındaki toplam prolin miktarları belirlenmiş; GD fidelerin kontrol fideleri ile kıyaslandığında önemli miktarda prolin biriktirdiği görülmüştür. Tan ve Halloran (1982)'ın da belirttiği gibi (72) stres altındaki tahılların yapraklarında önemli düzeyde serbest prolin biriktiğinden; bu amino asidin üretimindeki artışın mısır bitkisinde genetik müdahaleden kaynaklanabilecek strese karşı koruyucu rol oynamak üzere aktifleştiği söylenebilir.

Hücrelerde streslerden kaynaklanan serbest radikallerin arttırdığı oksidatif hasarın belirtilerinden biri membranlardaki lipid peroksidasyonun göstergesi olan malondialdehit (MDA) artışıdır. Mısır bitkisine yapılan gen ilavesinin hücreler için hayati öneme sahip membran sistemlerine hasar verebilecek bir strese yol açıp

açmadığını araştırmak için yapraklardaki toplam MDA seviyelerine bakılmıştır. GD ve genetiği değiştirilmemiş mısır fidelerinin yapraklarındaki MDA sevipleri arasında fark bulunmaması gen transformasyonunun hücre zarlarına hasar vermediğinin göstergesidir. GD fidelerdeki artan prolin ve antosiyanin konsantrasyonlarının bu genotipe hücreyel membranların korunmasında rol oynadığı düşünölmektedir.

Prolin hücrelerdeki ozmotik streslere karşı birikimi artan bir ozmolit olduğundan GD fidelerdeki prolin artışıının bu fidelerin yapraklarındaki su içeriği ile ilişkisini değerlendirmek üzere genotiplerin yapraklarında nispi içeriklerine bakılmıştır. İki genotip arasındaki hem nispi su içerikleri bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemesi hem de membran hasarı bulunmaması prolin artışıının su stresine karşı değil olası diğer hasarları önlemek üzere gerçekteştiğini düşünörmektedir. Hücrelerdeki su içeriğinin korunmasında önemli rolü olan stomaların sayılarının yaklaşık seviyelerde bulunması bu fikri destekler niteliktedir.

Araştırma bulguları birlikte incelendiğinde hem çimlenme hem de erken fide evresindeki mısır bitkisinde böceklere karşı dayanıklılık sağlamak için aktarılan genlerin gözle görölr bir strese yol açmadığı ve GD fideler ile kontrol grubu fidelerde sonraki ürün oluşumunu etkileyebilecek önemli fark görölmediği söylenebilir. Yeni eklenen genlerden kaynaklanması beklenen olası bir stres çimlenme evresinde ortaya çıkmamış; ancak GD mısırın erken fide evresinde streslere karşı hem gösterge hem de koruyucu olarak çalışan prolin ile antosiyanin seviyeleri artmıştır. Fide evresindeki diğer parametrelerde GD fideler ile kontrol grubu fideler arasında önemli bir farkın ortaya çıkmamasının bu iki koruyucu molekül tarafından önlenmiş olması muhtemeldir. Araştırmanın bu konudaki mekanizmaların aydınlatılması ve ürün oluşum evresine kadar genişletilmesi gerektiği açıktır. Yine de bu çalışmanın bu alandaki araştırmalar arasında özgün bir yere sahip olduğu ve bundan sonraki diğer araştırmalar için değerli bir referans olabileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Dikilitas M. 2013. Bitkilerde Strese Karşı Yeni Yöntemler: Mikroorganizmalar ve Halofit bitkiler. *Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal Of Natural Sciences* 15 (4): 64-65.
2. Kefi S. 2002 Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO'ların) Dünyada 2002 Yılı İtibariyle Mevcut Durumu, Ortak Tarım Politikası. 7. Dönem AB Uzmanlık Kursu, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi.
3. Atsan T., Kaya E.T. 2008. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Tarım ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2): 1-6.
4. Venneria E., Fanasca S., Monastra G., Finotti E., Ambra R., Azzini E., Durazzo A., Foddai M.S., Maiani G. 2008. Assessment of the Nutritional Values of Genetically Modified Wheat, Corn, and Tomato Crops, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(19): 9206-9214.
5. Kırtok, Y. 1998. Mısır Üretimi ve Kullanımı. Kocaoluk Yayıncılık, İstanbul.
6. Vain, P. 2007. Thirty years of plant transformation technology development. *Plant Biotechnology Journal*. 5, 221–229.
7. Barampuram, S. And Zhang, Z.J. 2011. Recent advances in plant transformation. In: *Plant Chromosome Engineering: Methods and Protocols*, 1-35.
8. Tzfira, T. and Citovsky, V. 2006. Agrobacterium-mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*. 17, 147–154.
9. Broothaerts, W., Mitchell, H.J., Weir, B., Kaines, S., Smith, L.M., Yang, W., Mayer, J.E., Roa-Rodríguez, C., and Jefferson, R.A. 2005 Gene transfer to plants by diverse species of bacteria. *Nature* 433, 629–633.
10. Hagemann R. 2004. The sexual inheritance of plant organelles. In: *Molecular biology and biotechnology of plant organelles* (Daniell H, Chase C., ed).

Dordrecht: Springer, p. 93–113.

- 11 Bendich AJ. 1987. Why do chloroplasts and mitochondria contain so many copies of their genome? *BioEssays*. 6:279–82
- 12 Meyers B, Zaltsman A, Lacroix B, Kozlovsky S.V. and Krichevsky A. 2010. Nuclear and plastid genetic engineering of plants: comparison of opportunities and challenges. *Biotechnology Advances* 28(6):747–56
- 13 Hiei, Y., Ohta, S., Komari, T. and Kumashiro, T. 1994. Efficient transformation of rice (*Oryza sativa*) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *The Plant Journal* 6: 271–282.
- 14 Sanford, J.C. 1990. Biolistic plant transformation. *Physiologia Plantarum* 79: 206–209
- 15 Zhang P, Jaynes J.M, Potrykus I, Gruissem W. and Puonti-Kaerlas J. 2003 Transfer and expression of an artificial storage protein (ASP1) gene in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Transgenic Research* 12(2):243–5
- 16 Sanford J.C., Smith F.D. and Russell JA. 1993. Optimizing the biolistic process for different biological applications. *Methods in Enzymology*. 217:483–509].
- 17 Taylor, N.J. and Fauquet, C.M. 2002. Microparticle bombardment as a tool in plant science and agricultural biotechnology. *DNA and Cell Biology* 21:963–977.
- 18 Rakoczy-Trojanowska, M. 2002. Alternative methods of plant transformation – a short review. *Cellular and Molecular Biology Letters* (7): 849–858.
- 19 Uzogara, S.G., 2000. The Impact of Genetic Modification of Human Foods in The 21st Century, *Biotechnology Advances* 18 (3): 179-206
- 20 Çelik, V. ve Balık, D. T. 2007. Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO). *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 23(1-2), 13-23.
- 21 Whitman D. B. 2000. “Genetically Modified Foods: Harmful or Helpful?”. *CSA Discovery Guides*. April 2000

- 22 Lu, Bao-Rong, and Allison A. S. 2005. "Gene Flow from Genetically Modified Rice and Its Environmental Consequences." *BioScience*. 55 (8). 697-698.
- 23 Arda, M. 1995. Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler), *KÜKEM Derneği Bilimsel Yayınları* No:3, Ankara.
- 24 Kıyak, S. 2004. Genetik Olarak Değiştirilmiş Gıdalar, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve Türkiye'de Duru. *Çevreye Genç Bakış* 4, 14-22
- 25 Nordlee J.A., Taylor S.L. and Townsend J.A. 1996. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *The New England Journal of Medicine* 334(11): 688-92.
- 26 Verma, C., Nanda, S., K Singh, R., B Singh, R. and Mishra, S. 2011. A review on impacts of genetically modified food on human health. *The Open Nutraceuticals Journal* 4.
- 27 Network, C. B. A., Slater, A., and Holtslander, C. 2015. *Where in the world are GM crops and foods?. GMO Inquiry*. Network, Canadian Biotechnology Action 2015.
- 28 James, C. 2015. *ISA2014: Executive summary. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2014*. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications.
- 29 Kırtok, Y. 1998. *Mısır Üretimi ve Kullanımı*. Kocaoluk Yayıncılık Sanayi ve Ticaret. Ltd. Cağaloğlu-Istanbul.
- 30 Dickerson, G.W. 2008. *Specialty Corns: Guide H-232*. Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Home Economics, New Mexico State University
- 31 Özcan, S. 2009. Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime Katkısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2 (2): 01-34
- 32 Ellneskog-Staam, P., Henry Loaisiga, C. and Merker, A. 2007. Chromosome C-

- banding of the Teosinte *Zea nicaraguensis* and Comparison to Other *Zea* Species. *Hereditas* 144 (3): 96-101.
- 33 Doebley J. (2003). The Morphology of Maize and Teosinte. <http://teosinte.wisc.edu/morphology.html>. Web adresinden 30 Mayıs 2016 tarihinde erişilmiştir
- 34 Erdal, Ş. ve Pamukçu, M. 2005. TATLI MISIR (*Zea mays saccharata* Sturt.). *Derim* 22(2), 41-46.
- 35 Biber, Ç. ve Kara, T. 2006. Mısır Bitkisinin Bitki Su Tüketimi Ve Kısıtlı Sulama. Uygulamaları. *Journal of Agricultural Faculty of Ondokuz Mayıs University* 21(1): 140-146.
- 36 USDA. (2016). World Agricultural Production. *World Production, Markets, and Trade Reports*. <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. Web adresinden 30 Mayıs 2016 tarihinde erişilmiştir
- 37 TMO. (2016). Türkiye Mısır Ekiliş - Üretim - Verim ve TMO Alımları (1938-2015). <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/istatistikler/tablolalar/5misireuva.pdf>. Web adresinden 30 Mayıs 2016 tarihinde erişilmiştir
- 38 TBBDM (2011). Yem Amacli Kullanilmak İstenilen Genetiği Değiştirilmiş MON810 Mısır Çeşidi ve Ürünleri İçin Bilimsel Değerlendirme Raporu. <http://www.tbbdm.gov.tr/Files/arsiv/yem/misir/risk/MON810.pdf>. Web adresinden 30 Mayıs 2016 tarihinde erişilmiştir.
- 39 Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Şengül, B. and Şengül Ü. 2009. Protective Role of Lycopene on Refinery Wastewater-Induced Cytotoxicity in Maize Root Tip Cells *Fresenius Environmental Bulletin* 18 (10): 1779–1787.
- 40 Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S. and Zeiger E. 2003. Human micronucleus Project, HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures, *Mutation Research* 534 (1–2): 65–75.

- 41 Inceer H, Ayaz S and Beyazoglu O. 2003 Cytogenetic effects of copper chloride on the root tip cells of *Helianthus annuus* L. *Turkish Journal of Biology* 27:43–46.
- 42 Wei Q.X. 2004. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*. 5 (12): 1570–1576.
- 43 Digimizer. 2016. Free image analysis software. <http://www.digimizer.com/download.php>. Web adresinden 30 Mayıs 2016 tarihinde erişilmiştir.
- 44 Farrant, J. M. 2000. A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. *Plant Ecology* 151(1), 29-39.
- 45 Gülen, H., Köksal, N., ve Atilla, E. 2004. Farklı anaçlar üzerine aşılı bazı kiraz ve elma çeşitlerinde stoma yoğunluğu ve stoma boyutları. *Bahçe* 33(1).
- 46 Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- 47 Mancinelli, A.L., Yang, C.P.H., Lindquist, P., Anderson, O.R. and Rabino, I. 1975. Photocontrol of anthocyanin synthesis III. The action of streptomycin on the synthesis of chlorophyll and antyocyanin. *Plant Physiology* 55: 251-257.
- 48 Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, Y. 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95: 351-358.
- 49 Weimberg, R. 1987. Solute adjustments in leaves of two species of wheat at two different stages of growth in response to salinity. *Physiologia Plantarum* 70: 381–388.
- 50 Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies. *Plant and Soil* 39: 205-208

- 51 Aydinşakir, K., Erdal, Ş and Pamukçu, M. 2013. The effects of different salt concentrations on germination and seedling parameters of silage corn (*Zea mays L.*) varieties. *Anadolu Journal of Agricultural Sciences* 28(2).
- 52 Querke E.C., Dehwe H.W., Schönbeck E. and Weber A. 1994. *Crop production and crop protection*, Elsevier, Amsterdam-NL., Pp: 808.
- 53 James, C. (2007). *Global status of commercialized biotech/GM crops, 2007* (Vol. 37). ISAAA, IthacaNova Yorque.
- 54 Hellmich, R. L., Albajes, R., Bergvinson, D., Prasifka, J. R., Wang, Z. Y. ve Weiss, M. J. 2008. The present and future role of insect-resistant genetically modified maize in IPM. In *Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs* (pp. 119-158). Springer Netherlands.
- 55 Abdo, E. M., Barbary, O. M. and Shaltout, O. E. 2013. Chemical analysis of Bt corn “Mon-810: Ajeeb-YG®” and its counterpart non-Bt corn “Ajeeb.”. *IOSR Journal of Applied Chemistry* 4(1), 55-60.
- 56 Khayatnezhad, M., Gholamin, R., Jamaati-e-Somarin, S. H. and Zabihi-Mahmoodabad, R. 2010. Effects of peg stress on corn cultivars (*Zea mays L.*) at germination stage. *World Applied Sciences Journal* 11(5): 504-506.
- 57 El-Keblawy, A. and Al-Rawai, A. 2006. Effects of seed maturation time and dry storage on light and temperature requirements during germination in invasive *Prosopis juliflora*. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 201(2): 135-143.
- 58 Fan, L. and Neumann, P. M. 2004. The spatially variable inhibition by water deficit of maize root growth correlates with altered profiles of proton flux and cell wall pH. *Plant Physiology* 135(4): 2291-2300.
- 59 Shahriari, S., Puteh, A. A. B., Saleh, G. B. and Rahim, A. B. A. 2015. Germination at low osmotic potential as a selection criteria for drought stress tolerance in sweet corn. *African Journal of Biotechnology* 13(2).
- 60 Şekeroğlu, V. ve Atlı-Şekeroğlu, Z. (2011). Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 68(4): 241-252.

- 61 Saxena, D., Flores, S. and Stotzky, G. 2002. Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. *Soil Biology and Biochemistry* 34(1): 111-120.
- 62 Drury, S. M., Reynolds, T. L., Ridley, W. P., Bogdanova, N., Riordan, S., Nemeth, M. A., and Breeze, M. L. 2008. Composition of forage and grain from second-generation insect-protected corn MON 89034 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(12), 4623-4630.
- 63 Tyshko, N. V., Aksyuk, I. N. and Tutelyan, V. A. 2007. Safety assessment of genetically modified organisms of plant origin in the Russian Federation. *Biotechnology journal* 2(7): 826-832.
- 64 Çarpıcı, E. B. ve Çelik, N. (2011). Farklı Bitki Sıklıkları ve Azot Dozlarının Silajlık Mısırın Stoma Özellikleri Üzerine Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(1).
- 65 MAYFIELD, S. P. and TAYLOR, W. C. (1984), Carotenoid-deficient maize seedlings fail to accumulate light-harvesting chlorophyll a/b binding protein (LHCP) mRNA. *European Journal of Biochemistry*, 144: 79–84.
- 66 Young, A. J. (1991). The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiologia Plantarum*, 83(4), 702-708.
- 67 Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist* 125(1): 27-58.
- 68 Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R. N., Laxmi, P. S., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S. and Sreenivasulu, N. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* 88(3): 424-438.
- 68 Tan, Y., Liang, Z., Shao, H. and Du, F. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix Astragali* at seeding stage. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* 49(1): 60-65.

70 Bhamburdekar S.B. and, Chavan P.D. 2011. Effect of Some Stresses on Free Proline Content During Pigeonpea (*Cajanas cajan*) Seed Germination. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 7 (3): 235-241.

71 Carillo, P. and Gibbon, Y. (2011). Protocol: extraction and determination of proline. https://www.researchgate.net/profile/Petronia_Carillo/publication/211353600_PROTOCOL_Extraction_and_determination_of_proline/links/0e314d341e2d393224693c9d.pdf. Web adresinden 30 Mayıs 2016 tarihinde erişilmiştir.

72 Tan, B. H. and Halloran, G. M. 1982. Variation and correlations of proline accumulation in spring wheat cultivars. *Crop Science* 22(3): 459-463.



ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Ankara'da doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 1996 yılında girdiği Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldu. Aynı yıl başladığı Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans öğrenimini 2004 yılında tamamladı. 2003-2009 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak görev yaptı. 2013 yılında Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda başladığı Doktora öğrenimini 2017 yılında tamamladı. 2012 yılından beri Giresun Üniversitesi Şebinkarahisar Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Bölümü'nde Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir.