

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (TRANSGENİK) MISIR (*ZEA MAYS L.*)
TOHUMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK
PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

TUĞÇE KALEFETOĞLU 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

Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ

Doç. Dr. Göktuğ DALGIÇ

Yrd. Doç. Dr. Aytaç GÜDER

ÖZET

GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (TRANSGENİK) MISIR (*ZEA MAYS* L.) TOHUMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

KALEFETOĞLU MACAR, Tuğçe

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Emine YALÇIN

HAZİRAN 2017, 50 sayfa

Bu çalışma, MON810 hattında pestisit üretimini aktive etmek için eklenen gen veya genlerin tanelerdeki besin bileşimine ve savunma mekanizmalarına olan etkilerini ayrıntılı bir şekilde araştırmayı amaçlamıştır. Tohumlardaki toplam protein ve yağ içerikleri ile karbohidrat ve yağ asidi kompozisyonları belirlenmiştir. Prolin, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içeriği analiz edilmiştir. Modifikasyonun membran fosfolipidlerinin lipid peroksidasyonuna yol açma riski MDA tayini ile değerlendirilmiştir. Stresten kaynaklanan oksidatif hasara karşı savunmada yer alan bazı önemli antioksidan enzimlerin (SOD, POD, GR ve APX) aktiviteleri ölçülmüştür. Çalışma bulguları genetik müdahalenin mısır tanelerinin besin değerlerini ve antioksidan kapasitesini değiştirdiğini göstermiştir. GD ve kontrol grupları arasında incelenen parametreler bakımından önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Besin Değeri, GDO, Mısır, Tohum, Transgenik, *Zea mays*.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SOME BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF GENETICALLY MODIFIED (TRANSGENIC) CORN (*ZEA MAYS* L.) SEEDS

KALEFETOĞLU MACAR, Tuğçe

Giresun University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Ph. D. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emine YALÇIN

JUNE 2017, 50 pages

This study aimed to investigate widely the effects of the gene or genes that inserted to activate the pesticide production in line MON810 to the nutritional composition and defence mechanisms in grains. Total protein and fat content besides carbohydrate and fatty acid composition were determined. Proline, total phenolic and total flavonoid content were analysed. The possible risk of lipid peroxidation of membrane lipids arises from the modification was evaluated by the means of MDA determination. Activities of some important enzymes (SOD, POD, APX and GR) involved in defence against oxidative damage caused by stress were measured. The findings of the study showed that the genetic modification alters the nutritional values and antioxidant capacity of maize kernels. Significant differences were determined between GM and control groups in terms of analysed parameters.

Key Words: Antioxidant, Corn, GMO, Nutritional Value, Seed, Transgenic, *Zea mays*.

TEŞEKKÜR

Tez alıőmamn tım aőamalarında her tırlı bilimsel desteği sağlayan çok değerli hocam Doç. Dr. Emine YALÇIN'a, bilgi birikimleri ve değerli gırüşleriyle katkı sağlayan değerli hocalarım Doç. Dr. Kłltięin AVUŐOęLU'na, Yrd. Doç. Dr. Aytaç GÜDER'e, karbohidrat içeriği tayinindeki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Zehra CAN'a, bu araőtırmaya maddi destek sağlayan Giresun Üniversitesi Bilimsel Araőtırmalar Projeler Birimi'ne teőekkürlerimi sunarım.

Tez boyunca tım araőtırmalarım ve laboratuvar analizlerim sırasında manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen değerli eőim Oksal MACAR'a teşekkür ederim.

Varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim annem Emine KALEFETOğLU'na ve babam şahin KALEFETOğLU'na sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Mısır Bitkisinin Sistematikteki Yeri, Morfolojisi, Kökeni, İklim ve Toprak İsteği, Kullanım Alanları	3
1.1.1. Mısırın Sistematikteki Yeri	3
1.1.2. Mısırın Morfolojisi	3
1.1.3. Mısırın Kökeni	4
1.1.4. Mısırın İklim ve Toprak İsteği	4
1.1.5. Mısırın Kullanım Alanları	5
1.1.6. Dünyadaki ve Türkiye'deki Mısır Üretimi	5
1.1.7. Mısır Tanelerinin Sınıflandırılması ve Antioksidan İçeriği	7
1.1.8. Mısır Tanelerinin Kimyasal Bileşimleri ve Kullanım Alanları.....	10
1.1.9. Transgen Teknolojileri ve Transgenik Mısır	11
1.1.9.1. Transgen Teknolojileri	11
1.1.9.2. Transgenik Mısır	15
2. MATERYAL VE METOT	17
2.1. Tohum Kabuk Sterilizasyonu	17
2.2. Toplam Protein Tayini	17
2.3. Toplam Yağ İçeriğinin ve Yağ Asitleri Kompozisyonun Belirlenmesi ..	17
2.4. Karbohidrat İçeriği Tayini	17
2.5. Prolin Tayini	18
2.6. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi	19
2.7. Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	19

2.8. MDA Tayini	19
2.9. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	20
2.9.1. Aktivite Tayini Yapılacak Grupların Hazırlanması	20
2.9.2. Protein Miktarının Belirlenmesi.....	20
2.9.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi	20
2.9.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi	21
2.9.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi	22
2.9.6. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi	22
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	23
3.1. Toplam Protein İçeriği	23
3.2. Toplam Yağ İçeriği ve Yağ Asitleri Kompozisyonu	23
3.3. Karbohidrat İçeriği	24
3.4. Prolin Konsantrasyonu	25
3.5. Toplam Fenolik Madde İçeriği	26
3.6. Flavonoid İçeriği	27
3.7. MDA Konsantrasyonu	28
3.8. Antioksidan Enzim Aktiviteleri	29
3.8.1. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi	29
3.8.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	29
3.8.3. Peroksidaz (POD) Aktivitesi	30
3.8.4. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesi	31
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	32
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	50

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO

1.1. Türkiye’de 2005-2015 yılları arasındaki mısır üretimi	6
1.2. Mısır tanesini oluşturan kısımların kimyasal bileşimleri	11
1.3. Bitkilerde en çok kullanılan genetik transformasyon yöntemlerinin karşılaştırılması	12
1.4. GDO’ların potansiyel faydaları ve riskleri	15
2.1. Enzim aktivite tayini yapılan gruplar	20
3.1. Mısır tohumlarındaki toplam yağ miktarları ve yağ asidi kompozisyonu	24
3.2. Mısır tohumlarındaki bazı şeker içerikleri	25

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

1.1. Mısır tanesinin kısımları	4
1.2. 2014 yılında dünyada en çok mısır yetiştiren ülkeler	6
1.3. Endosperm yapılarına göre mısır taneleri	7
1.4. Mısırdaki pentoz fosfat yolu ile fenolik bileşiklerin sentezi	10
1.5. Dünyada GD yetiştirme alanları en fazla olan ülkeler	13
1.6. Küresel ekim alanlarında yetiştirilen GD tahıllar	13
1.7. GD tahıllarda en çok uygulanan genetik modifikasyon tipleri	14
3.1. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının protein içeriği	23
3.2. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarında prolin analizi	26
3.3. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının prolin içeriği	26
3.4. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının toplam fenolik madde analizi	27
3.5. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının toplam fenolik madde içeriği	27
3.6. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının toplam flavonoid içeriği	28
3.7. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının MDA içeriği	29
3.8. SOD aktivitesinin ölçülmesi	30
3.9. Şişirilmiş ve çimlendirilmiş tohumlardaki toplam SOD aktivitesi	30
3.10. Şişirilmiş ve çimlendirilmiş tohumlardaki toplam POD aktivitesi	31
3.11. Şişirilmiş ve çimlendirilmiş tohumlardaki toplam GR aktivitesi	31

SİMGELER DİZİNİ

H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
LOOH	Lipid hidroperoksit
OH [·]	Hidroksil radikali
O ₂ ^{·-}	Süperoksit radikali
ROO [·]	Peroksil radikali

KISALTMALAR

APX	Askorbat peroksidaz
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
GD	Genetiği değiştirilmiş
GDO	Genetiği değiştirilmiş organizma
GR	Glutasyon redüktaz
GSSG	Okside glutasyon
MDA	Malondialdehit
POD	Peroksidaz
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Trikloroasetik asit

1. GİRİŞ

Genetik değişim; aynı tür içindeki bireylerin metabolizmalarında, biçimlerinde ve davranışlarında değişimlere sebep olan doğan ve istenen bir süreçtir. Bu süreç aynı zamanda evrime ve adaptasyona da katkıda bulunmaktadır. Tabiattaki iklim değişikliklerine karşı canlıların genetik değişim süreçlerinde itici güç olan doğal seçilim, mevcut türlerin hayatta kalmalarında olduğu kadar yeni türlerin evriminde de büyük pay sahibidir. Doğal seçilim günümüzde genetik değişimin tek itici gücü olmaktan çıkmış ve insanoğlu ıslah çalışmaları için hızlı genetik değişim yöntemlerini keşfetmiştir. İnsanların, bitki örtüsünü oluşturan yabancı türlerden gıda değeri olan tarla bitkilerini geliştirme deneyimleri tarımın tarihi kadar eskiye dayanmaktadır. Başlangıçta oldukça değişken olan popülasyonlardan en güçlü bireylerin seçilmesi için bilinçsizce yapılan bu geliştirme denemeleri, sonrasında sonraki kuşakların geliştirilmesi için en iyi tohumun seçilmesini sağlayacak sistematik bir çerçeveye oturtulmuştur. Zaman içerisinde klasik bitki ıslahının ürün artışı açısından yeterli olmadığı anlaşıldığından; tarımda makineleşme ile azotlu gübrelerin, herbisitlerin ve pestisitlerin üretilmesi ve kullanılması sonucunda tarımda yeni bir döneme geçilmiştir. 1960'larda ve 1970'lerde sadece makineleşme ve zirai kimyasalların kullanılması ile değil aynı zamanda tahıllara cücelik genlerinin aktarılması ile de karakterize edilen bu dönem "Yeşil Devrim" olarak anılmaktadır (1).

Bitki ıslahı aynı zamanda gıda güvenliğine de katkıda bulunmuştur. Bitkiler kendileri üzerinden beslenen hayvanlardan ya da kendilerine zarar verebilecek diğer organizmalardan kaçamadıklarından; kendilerini savunmak için çok çeşitli kimyasallardan oluşan bir cephanelik geliştirmişlerdir. İnsanlar için toksik ya da alerjik olan bu kimyasalların çoğu, bitkinin protein, yağ ve nişasta bakımından zengin olduğu için herbivorlara, zararlı hayvanlara ya da patojenlere çekici gelen tohumlarında birikmektedirler. Bitki ıslahçıları, çeşitli çaprazlama yöntemleriyle bu kimyasalların değerlerini kontrol altında tutarak, gıda olarak kullanılabilir tarla bitkilerini geliştirebilmek için uzun uğraşlar vermişlerdir. Klasik ıslah çalışmalarının başarıya ulaşmasındaki en büyük kısıtlayıcı; araştırmacıların ebeveyn bitkilerin gen havuzunda mevcut olmayan bir geni seçememeleri olduğundan ebeveyn hatlardaki rasgele varyasyonu arttırmak için tohumlarda kimyasal mutajenler ve radyasyon

kullanılmaya başlanmıştır. Tüm bu uygulamalar DNA'ya zarar vermekte; hasarın büyümesi tohumun ölmesine, küçük dozda olması ise DNA sekansında değişikliklere sebep olarak tohum canlı kalsa bile bu tohumdan gelişecek olan bitkinin karakteristiklerinde değişikliklere yol açmaktadır (1). On binlerce genin dahil olduğu varyetelerin ve türlerin çaprazlanması bile bazen beklenmeyen sonuçlar doğururken; rasyasyon ve kimyasallarla teşvik edilen ve tamamen rasgele olan bu mutasyonların sonuçlarını bilmek olanaksızdır. Bu teknikler gıda güvenliğinin değil üretilecek gıda miktarının ön planda olduğu bir döneme ait olup oldukça uzun bir zamandan bu yana kullanıldıklarından dolayı artık geleneksel bitki ıslahının bir parçası olarak anılmaktadırlar (1).

Hem çaprazlamanın hem de rasgele mutasyonların istenen genlerle beraber istenmeyen özellikleri de getirmesi ve uzun zaman alması gibi sebeplerden dolayı 1970'lerin sonlarında spesifik genlerin bitki genomuna yapay olarak eklenmesi olarak tanımlanabilecek yeni bir teknik gündeme gelmiştir. Önceleri gen mühendisliği sonradan ise genetik modifikasyon olarak adlandırılan bu teknik sayesinde gen kaynağı kısıtlaması ortadan kalmış ve spesifik genlerin, istenmeyen genetik yükler olmaksızın, aktarılmasına olanak tanınmıştır (2).

Genetik modifikasyon organizmalara yeni genlerin, genetik bilgilerin ve bileşenlerin eklenmesine olanak tanımaktadır. Ancak istenen özellikleri kazandırması beklenen bu yeni genler canlılarda stres kaynağı olabilecek, istenmeyen metabolik değişikliklere de yol açabilmektedir. Bu değişiklikler; gıda olarak kullanılan genetiği değiştirilmiş organizmaların hücrelerinde toksik ya da alerjik olabilecek kimyasalların üretilmesine sebep olabileceği gibi antioksidan içeriklerindeki ve beslenme açısından önemli bileşenlerin miktarındaki değişimlerle de sonuçlanabilmektedir (3). Olumsuz etkilerine rağmen; günümüzde avantajları sebebiyle bu modern tekniklerden yararlanılarak üretilen tahıllar ve bu tahıllardan elde edilen ürünler dünyada geniş kullanım alanına sahiptir. Sadece zengin besin içeriği ve yüksek verimiyle değil, aynı zamanda pek çok sektörde hem tohumlarının hem de diğer aksamının kullanılmasıyla büyük bir öneme sahip olan mısır bitkisi dünyada en çok tarımı yapılan genetiği değiştirilmiş tahıllar arasında önemli bir yere sahiptir.

1.1. Mısır Bitkisinin Sistematikteki Yeri, Morfolojisi, Kökeni, İklim ve Toprak İsteği, Kullanım Alanları

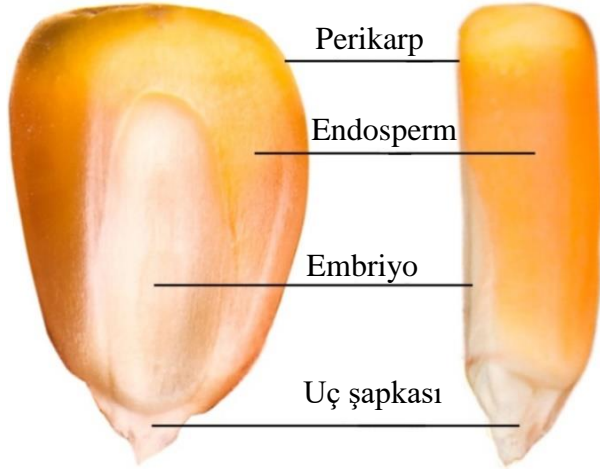
1.1.1. Mısırın Sistematikteki Yeri

Mısır (*Zea mays* L.), Poaceae familyasında bulunan Panicoideae alt familyasının *Zea* cinsine ait önemli bir tahıl bitkisidir (4). *Zea* cinsinde *Zea diploperennis*, *Zea perennis*, *Zea luxurians*, *Zea nicaraguensis* ve *Zea mays* olmak üzere tanımlanmış beş mısır türü bulunmaktadır. Mısır bitkisi tek yıllık olup; çok yıllık *Zea perennis* ($2n = 40$) dışında, $2n = 20$ kromozoma sahiptir (5).

1.1.2. Mısırın Morfolojisi

Mısır stamen ve pistil taşıyan çiçekleri ayrı ayrı olan ancak aynı bitki üzerinde bulunan (monoik) tek çenekli bir bitkidir. Bitki uzun, dar, paralel damarlanma gösteren ve gövde boyunca alternat dizilen yapraklara sahiptir. Optimum koşullarda 1.5 m'ye kadar ulaşabilen iyi gelişmiş bir saçak kök sistemine sahiptir. Belirgin şekilde nodlara ve internodlara ayrılmış olan gövde kısmı genellikle 1.5-3 m boyundadır. Gövde üzerindeki nodlara bağlı olan yapraklar; yaprak kını, dilcik, kulakçık ve aya kısımlarından oluşmakta olup nodun üzerindeki internod kısmının etrafını kuşatırlar. Erkek infloresans tepe püskülünde dişi infloresans ise gövdenin orta kısmında yer alan nodlarda bulunur (6).

Mısır taneleri endosperm, embriyo, perikarp ve uç şapkası kısımlarından oluşur (Şekil 1.1). Perikarp ve uç şapkası tüm taneyi çevrelerken perikarpın altındaki endosperm nişasta granülleri ile dolu hücrelerden oluşur. Endosperm alevron tabakası ile kuşatılmış olup plumula, radikula ve skutellumdan oluşan embriyo tanenin alt kısmına yerleşmiştir.



Şekil 1.1. Mısır tanesinin kısımları.

1.1.3. Mısırın Kökeni

Mısırın, 7000 - 10.000 yıl kadar önce çiftçiler tarafından tarımı yapılan ilk bitkilerden biri olduğu bilinmekte ve Meksika'nın bazı arkeolojik alanlarındaki mağaralarda bulunan küçük mısır koçanlarının 5000 yıldan daha eski olduğu tahmin edilmektedir (6). Mısır Meksika kökenli bir tahıl olup buradan Kanada'ya doğru kuzeye ve Arjantin'e doğru güneye yayılmıştır. Keşfini takiben hızla Avrupa'ya, Afrika'ya ve Asya'ya taşınmış olan mısır; İspanya'dan Fransa, Almanya, Avusturya ve Doğu Avrupa gibi büyüme mevsimi kısa bölgeler olan kuzeye doğru yayılım göstermiştir. Kökenine bakılmaksızın, otsu bitkiler ailesi içerisinde çeşitliliği ve uyum yeteneği en fazla olan üyelerden biridir (7,8).

1.1.4. Mısırın İklim ve Toprak İsteği

Mısır çok seçici olmamasına rağmen organik madde bakımından zengin, derin ve su tutma kapasitesi iyi topraklarda yüksek verim potansiyeline sahiptir. Kumlu topraklardan killi topraklara kadar drenajı iyi olan her tür toprakta yetişebilmekte; asitlik açısından pH'sı 5.0-8.0 arasında değişen yerleri tercih etmektedir.

Mısır bitkisinin vejetasyon süresi çeşidin erkenciliğine bağlı olarak 90 ile 130 gün arasındadır. Erkenci olan mısır çeşitleri kısa sürede ürüne gidebilmekte; hatta silajlık ekim olarak kullanıldıklarından henüz yeşilken toplanmaktadırlar. Erkenci mısır çeşitleri vejetasyon döneminin kısa olduğu bölgelerde tercih edilmekte ya da vejetasyon döneminin uzun olduğu bölgelerde birden fazla hasat yapmak üzere

kullanılmaktadır. Mısırın minimum çimlenme sıcaklığı 8-10 °C, optimum büyüme sıcaklığı ise 20-30 °C'dir (9).

Bir C4 bitkisi olarak mısır; CO₂, su ve azotu C3 bitkilerinden daha etkin biçimde kullanabildiğinden dünyadaki tüm serin iklim ve sıcak iklim tahılları içinde birim alanda en fazla kuru madde üreten ve güneş enerjisini en iyi kullanan bitkilerden biridir (9, 10).

1.1.5. Mısırın Kullanım Alanları

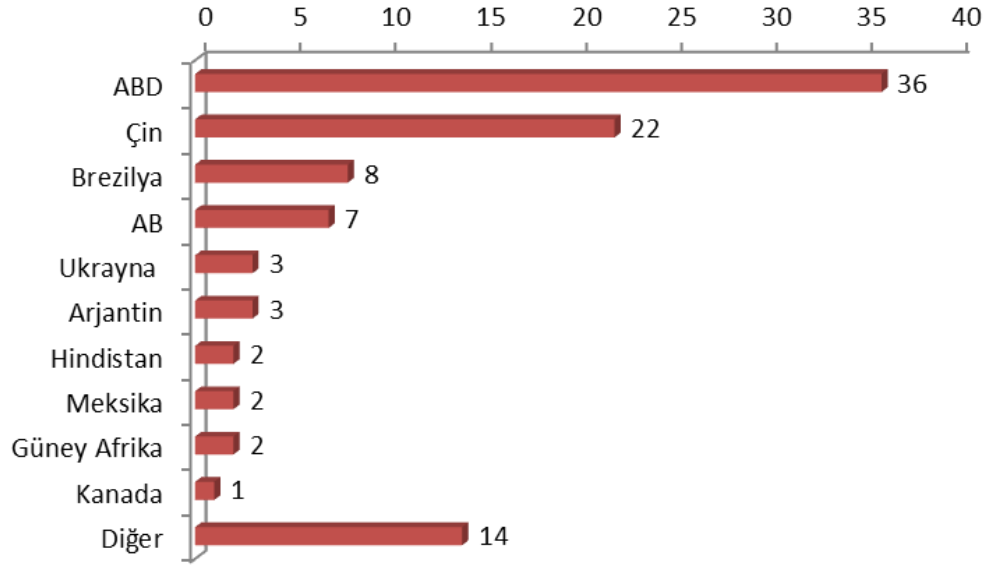
Gıda olarak kullanılan yaklaşık bir düzine tahıl bitkisi bulunduğu halde; bunlar arasında insan gıda kaynağı olarak yalnızca tüm tahıl tüketiminin %94'ünü oluşturan buğday, mısır ve pirinç önemlidir (7).

Mısır yüksek ürün veren tarla bitkilerinden biridir. Bu özelliği ile hem endüstriyel ürünler ve gıdalar için şeker ve nişasta kaynağı hem de hayvan beslenmesi için metabolize edilebilir enerji kaynağı olarak, en önemli ekonomik bitkilerden biri yapmaktadır. Dünya mısır üretiminin %60'ının hayvan yemi, %20'sinin insan gıdası (doğrudan tüketim), %10'unun işlenmiş gıda ve %10'unun da diğer tüketimler ile tohumluk olarak kullanıldığı bilinmektedir (8). Mısır sadece taze olarak tüketilmemekte; aynı zamanda konserve, mısır unu, nişasta, cips, çerez, hayvan yemi (taneleri ve yeşil aksamı), yağ, tatlandırıcı, şekerleme, çiklet, çikolata ürünleri, bebek mamaları, salata sosları, alkol, yüksek fruktozlu mısır şurubu, diş macunu, etanol (benzin katkı maddesi) üretimleri ile otomotiv sanayi, temizlik malzemeleri, tekstil ve kozmetik sanayinde de değerlendirilmektedir (8).

1.1.6. Dünyadaki ve Türkiye'deki Mısır Üretimi

Mısır dünyanın hemen her bölgesinde yetiştirilmekte ve 2014-2015 yılları arasında 1.00968 milyar ton olan küresel mısır üretiminin 2015-2016 döneminde 0.96964 milyar ton olacağı tahmin edilmektedir (11).

Dünya üretiminde tüm hububatlar içerisinde ilk sırada yer alan mısır bitkisinin yetiştiricileri arasında ABD, Çin, Brezilya, Avrupa Birliği, Ukrayna ve Arjantin başı çekmektedir (Şekil 1.2) (12).



Şekil 1.2. 2014 yılında dünyada en çok mısır yetiştiren ülkeler (%) (12).

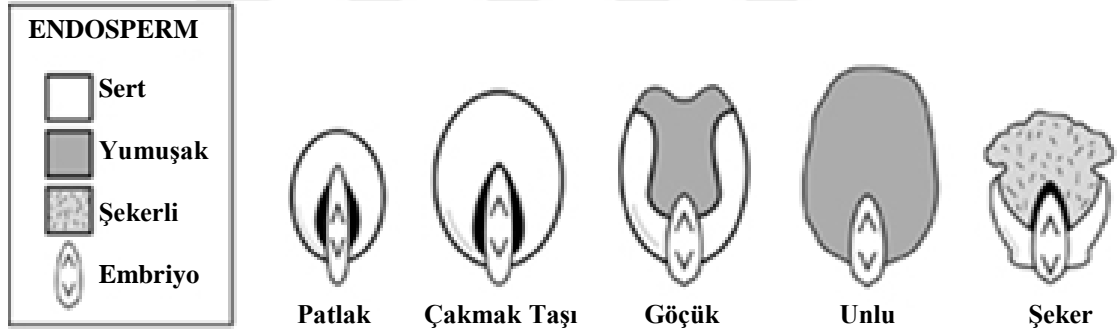
Türkiye’de yetiştirilen tahıllar arasında mısır ekim alanı ve üretim miktarı bakımından buğday ve arpadan sonra üçüncü sırada yer almaktadır (13). 2005 yılında 600.000 hektarlık alanda, 4.200.000 ton mısır üretimi yapılan ülkemizde, 2015 yılında 688.170 hektarlık alanda 6.400.000 tonluk mısır üretimi ile son on yılda önemli verim artışı kaydedilmiştir (Tablo 1.1) (14).

Tablo 1.1. Türkiye’de 2005-2015 yılları arasındaki mısır üretimi (14).

Yıllar	Ekim (Ha)	Üretim (Ton)	Verim (Kg/Da)
2005	600.000	4.200.000	700
2006	536.000	3.811.000	711
2007	517.500	3.535.000	683
2008	595.000	4.274.000	718
2009	592.000	4.250.000	718
2010	594.000	4.310.000	726
2011	589.000	4.200.000	713
2012	622.609	4.600.000	739
2013	659.998	5.900.000	894
2014	658.645	5.950.000	903
2015	688.170	6.400.000	930

1.1.7. Mısır Tanelerinin Sınıflandırılması ve Antioksidan İçeriği

Mısır doğada en çok çeşitlilik gösteren tahıllardan biridir. Dünyada yetiştirilen mısır bitkisinin taneleri beyazdan, sarıya, kırmızıya ve hatta siyaha kadar değişik renklere sahip olabilmektedir (7). Renk dışındaki bir diğer sınıflandırma kriteri tatlılık ya da şeker miktarıdır. Tanelerdeki kalıntı şeker miktarı mısır çeşidine ve mısırın tarladan ne zaman hasat edildiğine bağlıdır. Şeker mısırı taneleri küçüldüğünden, sertleştiğinden ve nişastalandığından dolayı uzun süre depolanmaya uygun değildir (7). İnsanın ve doğanın uyguladığı seçim baskısı, tane endospermalarının özelliklerine göre farklı mısır tiplerinin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Tane tipinin görünüşü endospermının bileşimine, miktarına ve kalitesine göre değişmektedir. Endosperm yapısına göre mısır taneleri patlak mısır (*Zea mays everta*), çakmak taşı mısır (*Zea mays indurata*), göçük mısır (*Zea mays intendata*), unlu mısır (*Zea mays amylaceae*), şeker mısırı (*Zea mays saccharata*) gibi isimler alır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Endosperm yapılarına göre mısır taneleri (15).

Göçük tanelerde tanenin ortasındaki yumuşak nişasta kuruma sırasında dış kısımlardaki yarı şeffaf (sert) kısımlardan daha hızlı küçüldüğünden tanenin taç kısmı içeri doğru bir girinti yapar. Çakmak taşı mısırdaki taneler büyük ölçüde yarı şeffaf nişasta ile orta kısımda çok az miktarda yumuşak nişastadan oluşur; perikarp düz ve serttir. Unlu mısırdaki endosperm yumuşak nişastayla ince perikarptan meydana gelirken; patlak mısırlar temel olarak küçük taneli çakmak taşı benzeri mısırlardır. Şeker mısırı tanelerinin kırışık ve camsı görünümünün sebebi endosperm gelişimi sırasında şekerin nişastaya normal dönüşümünü engelleyen genlerdir (15, 16).

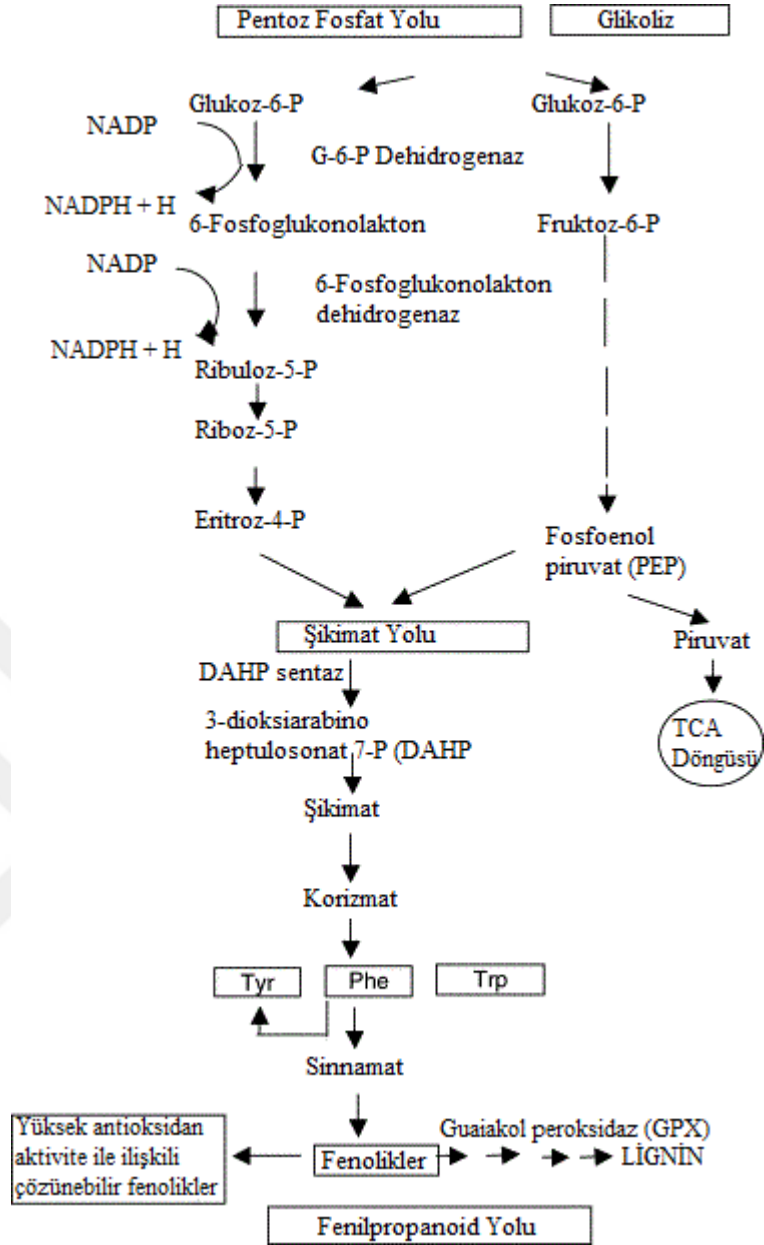
Mısır tohumları ortodoks olarak adlandırılan; düşük sıcaklık ve nem koşullarında içerdikleri nem %5-6'ya düşürüldüğünde canlılığını koruyabilen ve

böylece depolanabilen tohumlardandır. Ortodoks tohumlarda solunum embriyogenezin ilk basamaklarında yoğundur; ancak kuruma evresinde ciddi anlamda azalır ve tohumlar dinlenme evresine geldiğinde biter (17). Tohumlar mısır gibi tahılların üretimindeki en önemli materyallerdir ve bu nedenle çeşitli çevre koşullarında tohum çimlenme yeteneklerinin devam etmesi gerekir. Bununla beraber çimlenme öncesindeki şişme süreci ortodoks tohumlarda ATP ve protein ya da DNA gibi çimlenme sırasında gerekli biyokimyasalları üretmek için mitokondrial solunum hızında güçlü bir artışla ve giderek artan reaktif oksijen türleri (ROT) birikimi ile ilişkilidir (18, 19). Sonuçta tohumların çimlenme sürecine girmiş hücrelerinde ROT üretilir (19, 20). Tohum çimlenmesi sırasında ROT üretilmesinin yararlı bir biyolojik süreç olduğu; bu radikallerin çimlenme ile ilgili sinyalizasyon yollarında yer alarak çimlenme kapasitesinde, fide gelişiminde ve çimlenme sırasında zararlı olabilecek parazitik organizmalara karşı korunmada görev aldığı bilinmektedir (21). Ancak şişmiş tohumlarda üretilen ROT [süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH^\cdot)] hücrelerdeki detoksifikasyon sistemi ile tam denge halinde olmayabilir. Bu durumda ROT, biyomoleküllerin büyük kısmıyla tepkiyerek oksidatif strese neden olabilir ve hücre hasarına yol açabilir (18). Bunlar arasında en iyi bilinenlerden biri membranlardaki çoklu doymamış yağ asitlerinin bozulmasına sebep olan bir serbest radikal zincir süreci olan lipid peroksidasyonudur. Serbest radikalın bir lipid üzerine atak yapmasıyla başlatılır ve bunun sonucunda çift bağa bağlı bir metilen grubundan bir hidrojen atomu çıkarılır. Aerobik koşullarda hidrojenin ayrılmasından kaynaklanan karbon radikali oksijen ile stabilize edilir ve bir peroksil radikali üretilir (ROO^\cdot). Oluşan bu radikal, başka bir yağ asidinden bir hidrojen atomu kopararak bir lipid hidroperoksit ($LOOH$) oluşturur ve hasar yayılır (19). Lipid peroksidasyonu membranlarda ve mısır gibi yağlı tohumların depo lipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini parçalar (22).

Şişme ve çimlenme sırasında tohum hücrelerinde lipid peroksidasyonu ile birlikte membran parçalanmasına, protein ve nükleik asit yıkımına da yol açma potansiyelinde olan ROT birikiminin antioksidan sistem ile dengelenmesi ya da yok edilmesi hayati önem taşımaktadır (18, 19). Bitkilerde ROT hasarını indirmek üzere çalışan çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalar vardır. Süperoksit dismutaz (SOD); süperoksit radikallerinin hidrojen peroksite dismutasyonunda rol

oynayan spesifik bir antioksidan enzim olup (23, 24) bu enzimin aktivitesi sonucu oluşan hidrojen peroksit membranlardan diğer kısımlara taşınma ve böylece oluştuğu yerlerden uzak bölgelerde de hasar verme kapasitesine sahiptir (19). Mitokondrial solunumda kullanılan oksijenin %2-3'ü süperoksit ve hidrojen peroksite dönüştürüldüğünden (25); ortodoks tohumlarda üretilen hidrojen peroksit miktarı doğrudan mitokondrial solunum aktivitesi ile ilişkilidir (26). Hidrojen peroksit glioksizomlarda ve peroksizomlarda yerleşen katalaz enziminin aktivitesi ile ortadan kaldırılabılır (27). Kloroplastlarda, sitoplazmada, mitokondride, peroksizomlarda ve apoplastta bulunan, Halliwell-Asada döngüsü olarak da adlandırılan askorbat-glutasyon döngüsü de H_2O_2 'nin ortadan kaldırılmasında rol oynar ve askorbat peroksidaz (APX), monodehidroaskorbat redüktaz (MDAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutasyon redüktaz (GR) enzimlerini içerir (18). Tohumlarda H_2O_2 'nin yok edilmesinde görev alan enzimlerden biri de peroksidaz (POD) olup; bu enzim tohum çimlenmesinde ve erken fide evresindeki oksidatif stres savunmasında önemli rol üstlenir (28).

Mısır tohumunda bulunan polifenoller ve flavonoidler gibi çeşitli bileşikler de güçlü antioksidan fonksiyonlara sahiptir (29). Çoğu zaman polifenoller olarak adlandırılan fenolik bileşikler bitkilerde hem fizyolojik hem de morfolojik önemi olan en yaygın sekonder metabolitlerdendir ve pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid metabolik yollarının türevleri olarak bilinirler (Şekil 1.4) (30). Yapısal olarak bir ya da daha fazla hidroksil içeren bir aromatik halka taşırlar ve doğal olarak mono- ve polisakkaritlerle birleşmiş olarak bulunurlar (31). En yaygın bitki fenolikleri flavonoidler olup; çimlenme ile artan toplam fenolik içerik mısır tohumlarında gelişimin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (30).



Şekil 1.4. Mısırdaki pentoz fosfat yolu ile fenolik bileşiklerin sentezi (30).

1.1.8. Mısır Tanelerinin Kimyasal Bileşimleri ve Kullanım Alanları

Mısır yaklaşık %72 nişasta, %10 protein, %4 yağ içermekte ve 365 Kcal/100 g enerji vermekte; ayrıca lif ile birlikte çeşitli B vitaminleri ve temel vitamin ihtiyaçlarını karşılamaktadır (7). Bununla beraber mısırın B12 vitamini ve C vitamini içermediği ve genellikle kalsiyum, folik asit ve demir bakımından fakir olduğu kabul edilmektedir (7). Mısır tanesini oluşturan kısımların kimyasal bileşimleri arasında önemli farklılıklar vardır (Tablo 1.2). Mısır tanesinin perikarp kısmını özellikle ham lif oluştururken, endospermin asıl bileşeni nişasta, embriyonunkini ise protein

oluşturmaktadır. Tanede bulunan nişasta gıdalar, yapıştırıcılar, kaplamalar, farmasötik tabletler ve kağıt üretiminde kullanılır. Ayrıca tatlandırıcılara dönüştürülerek meşrubatlar, şekerler, fırıncılık ürünleri ve reçel gibi ürünlerin bileşimine de girer. Embriyodaki yağ yemek yağlarında, margarinlerde ve salata soslarında değerlendirilir. Protein, kabuklar ve mısır tanesinin çözünür kısımları hayvan yemleme ve tavukçulukta kullanılır (31).

Tablo 1.2. Mısır tanesini oluşturan kısımların kimyasal bileşimleri (%) (31).

Kimyasal bileşen	Perikarp	Endosperm	Embriyo
Protein	3.7	8.0	18.4
Eter ekstresi (Ham yağ)	1.0	0.8	33.2
Ham lif	86.7	2.7	8.8
Kül	0.8	0.3	10.5
Nişasta	7.3	87.6	8.3
Şeker	0.34	0.62	10.8

1.1.9. Transgen Teknolojileri ve Transgenik Mısır

1.1.9.1. Transgen Teknolojileri

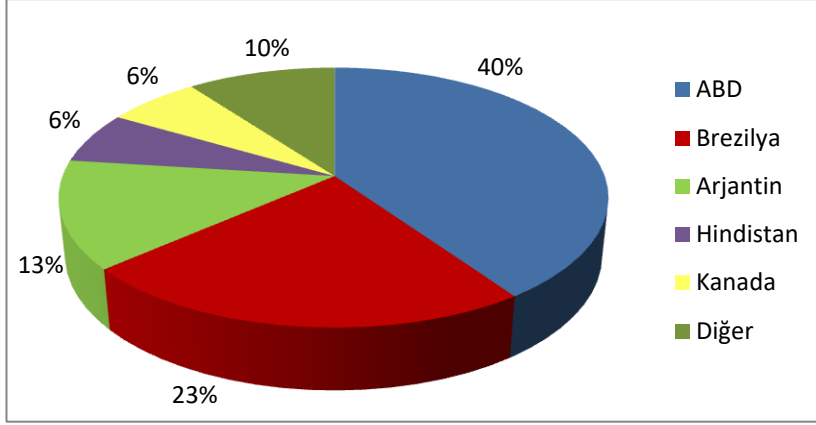
Klasik ıslah çalışmalarından elde edilen verimlilik artışı, ekilebilir alanların kritik sınırlara gelmesi nedeniyle, giderek artan dünya nüfusunun temel gıda ihtiyaçlarının karşılanmasına yetmediğinden, bitki ıslah çalışmalarında yeni teknolojilerin kullanılması gündeme gelmiştir (1). Gen teknolojisi; transgenler oluşturarak akraba olmayan türler arasında genetik değişim ve rekombinasyon yapabilmek için biyolojik bariyerleri aşabilen ve böylece ıslah edilmiş bitki ve hayvanların geliştirilmesinde kullanılan bir yoldur (32). Bitki gen mühendisliği, tarla bitkilerinin modern moleküler ıslahında en önemli araçlardan biri haline gelmiş ve son yıllarda bitkilerdeki yeni ve verimli transformasyon yöntemlerinin gelişiminde gözle görülür ilerleme kaydedilmiştir (Tablo 1.3) (33, 34). Bitkilere; bitkilerin besin ve kalite değerlerini arttırmanın yanı sıra dünyadaki bazı tarımsal sorunlara karşı önemli bir önlem ve çözüm olarak da yeni genler aktarılmıştır. Böylece kirleticilere ve çevresel sınırlayıcılara karşı daha hoşgörülü ya da yabancı ot, böcek ve patojen direnci geliştirilmiş bitkiler üretilmiş ve bitki metabolizmalarının araştırılması için yeni imkanlar doğmuştur (33). “Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO)” kavramı bu şekilde ortaya çıkmış ve 1980’lerden itibaren mısır, tütün, petunya,

domates, pirinç, kereviz, *Brassica napus*, buğday, üzüm, manyok, darı ve krizantem gibi genetik olarak kararlı gen aktarımlı bitkiler elde edilmiştir (33). “Genetik kodu gen teknolojisi kullanılarak değiştirilmiş canlı organizmalar” literatürde artık sadece genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) olarak değil; genetiği değiştirilmiş ürünler (GD), genetik olarak modifiye edilmiş organizmalar (GMO), genetik olarak modifiye edilmiş ürünler (GM), gen aktarımlı organizmalar, transgenik organizmalar, biyo-mühendislik organizmaları gibi değişik adlarla da anılmaktadır (35, 36).

Tablo 1.3. Bitkilerde en çok kullanılan genetik transformasyon yöntemlerinin karşılaştırılması (33).

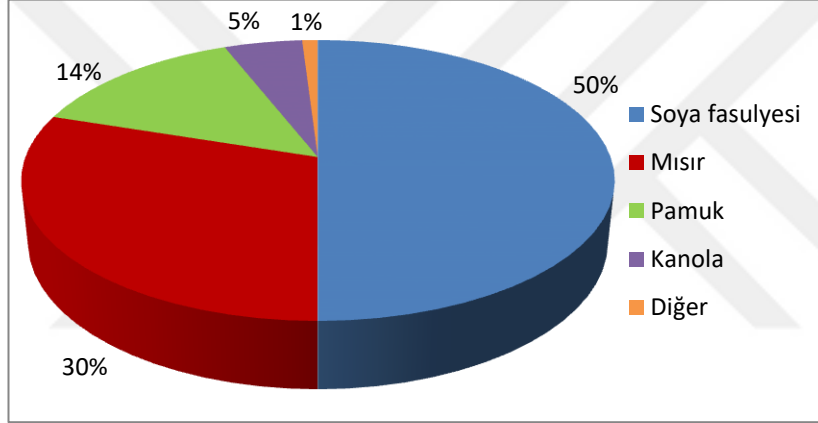
Yöntem	Prosedür	Avantajlar	Dezavantajlar
Agrobacterium	Gen taşıyan bir plasmid aktaran, patojenik bir bakteri.	Genom entegrasyonu kesindir, tanımlanmış uçlar ve düşük kopya sayısı ile transgenlerin yerleştirilmesi kolaydır, genin entegrasyonu ve kalıtımı kararlıdır, gen ifadesi nesiller boyunca istikrarlıdır. Farklı hücre tipleri kullanılabilir. Birçok dikotil bitki ve bazı monokotil tarla bitkileri için etkili ve tekrarlanabilir protokoller geliştirilmiştir. Yüksek verimliliğe sahiptir.	Üstesinden kolay kolay gelinemeyecek çeşitli parametreler, transformasyon etkinliğini ve bitki rejenerasyonunu etkiler. Süreç yavaştır. Bitkide bilinmeyen genetik ifadelere sebep olabilecek gereksiz ortak vektörler aktarılabilir. Steril protokoller gerektirir.
Elektroporasyon	Elektrik atımları, membran geçirgenliğini tetikleyerek, porlar boyunca iyonik ve moleküler taşınımın sağlanması için bölgesel bir itici güç sağlar.	Tüm bitki protoplast çeşitlerine uygulanabilir. Farklı hücre tipleri kullanılabilir. Kolay, hızlı ve ucuzdur.	Zahmetli protokolleri vardır. Çoğunlukla protoplast oluşumu gerektirir. Bitkinin elektrofizyolojik niteliklerine bağlıdır. Transformasyon verimi düşüktür.
Biyolistik	Genlerle kaplanmış küçük partiküller hücre duvarını delmeleri için hızlandırılır.	Kolaydır. Hücre duvarına herhangi bir ön işlem gerekmez. Hücrenin fizyolojik özelliklerinden bağımsızdır. Çoklu transgen aktarımı mümkündür.	Pahalıdır. Sarf malzemelerinin sürekli tedarik edilmesini gerektirir. Aktarılan genlerin çeşitli gereksiz etkilere yol açabilecek çoklu kopyaları üretilir. Transformasyon verimi düşüktür.

Günümüzde; dünyadaki toplam zirai alanların %3.7'sinde GD tahıllar yetiştirilmekte (37) ve 2014 yılı itibariyle GD tahıl yetiştiren 28 ülke bulunmaktadır (38). En çok GD tahıl yetiştiren ülkeler arasında ilk beş sırayı ABD, Brezilya, Arjantin, Hindistan ve Kanada almaktadır (Şekil 1.5) (38).



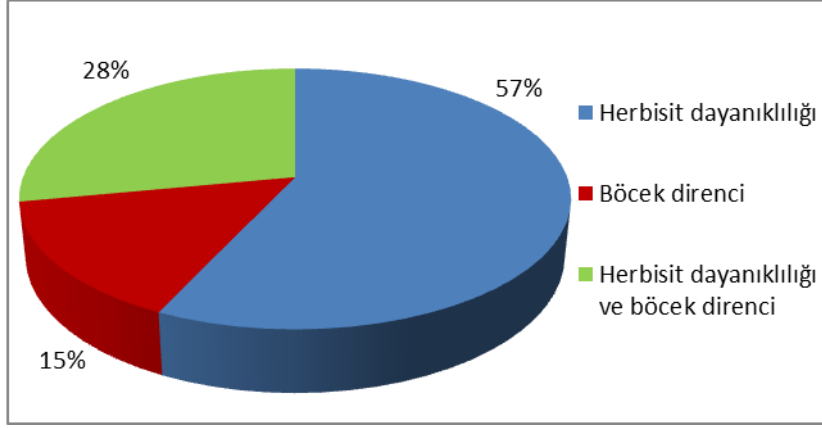
Şekil 1.5. Dünyada GD yetiştirme alanları en fazla olan ülkeler (38).

Bu ülkelerde mısır; soya fasulyesi, pamuk ve kanola ile birlikte küresel GD tahıl ekim alanlarının %99'unu kaplamaktadır (Şekil 1.6) (37).



Şekil 1.6. Küresel ekim alanlarında yetiştirilen GD tahıllar (37).

Özel niteliklere sahip olan transgenik bitkiler klasik ıslah ile üretilen çeşitlerin yarısından fazlasının yerini almıştır (39, 40) 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 1.7) (38).



Şekil 1.7. GD tahıllarda en çok uygulanan genetik modifikasyon tipleri (38).

Böcek ya da herbisit direncine sahip olan, abiyotik stres toleransı geliştirilmiş veya besin değeri arttırılmış GD bitkilerin üretilmesiyle modern zirai biyoteknolojide yeni bir çığır açılmış (41, 42); ancak bu yenilik tartışmaları da beraberinde getirmiştir. GD bitkilerin üretimi yeni bağımsız gen veya genlerin ilgilenilen bitkiye eklenmesine bağlı olup bu süreç; genetik modifikasyonun asıl amaçlarının yerine gelmesiyle sonuçlanabileceği gibi GD bitkilerde istenmeyen etkilere de yol açabilmektedir (Tablo 1.4) (2, 43). Hedeflenmeyen bu etkiler; genetik yeniden düzenlenmelere ve metabolik düzensizliklere bağlı olarak gerçekleşebilir (43). Bu değişimler; içsel toksinlerin veya alerjenlerin artmasına ya da temel besin maddelerinin seviyelerinin azalmasına sebep olan metabolik yolların değişmesiyle veya daha önceden baskılanmış olan toksin ve alerjen kodlayan genlerin ifadesiyle ilişkili olabilir (43). Genetiği değiştirilmiş bitkisel gıdaların güvenliği konusunda birbirleriyle çatışan fikirler mevcuttur; bazı çalışmalara göre genetiği değiştirilmiş gıdalar genetik olarak amaçlanmayan etkilere neden olan potansiyel toksik özelliklere sahipken; diğer çalışmalar bu gıdaların kullanımının güvenli olduğunu bildirmektedir (44). Genetik olarak geliştirilmiş gıdalar besin maddelerinin, alerjenlerin ya da doğal olarak bulunan toksinlerin seviyeleri farklı olmadığında ve yeni alerjen ve toksinler tespit edilmediğinde geleneksel gıdalara denk olarak kabul edilir (44).

Tablo 1.4. GDO'ların potansiyel faydaları ve riskleri (44).

GDO'ların Potansiyel Faydaları	GDO'ların Potansiyel Riskleri
Besin kalitesinin ve sağlığa yönelik faydaların artırılması	Besin kalitesinde değişikliklerin gerçekleşmesi ve gıda güvenliğinin bozulması
Meyve ve sebzelerin raf ömürlerinin ve organoleptik kalitelerinin artırılması	Alerjik reaksiyonların ve toksik etkilerin artması
Bitkisel ve hayvansal ürün veriminin artırılması	Gen patentleme ve terminator teknolojisi konusunda endişelerin artması
Yenilebilir aşuların ve ilaçların üretilmesi	GD gıdaların etiketlenmesi
İnsan hastalıklarının tedavisinde ve organ nakillerinde kullanılması	Gen kaçışı riski ve tarım ilaçlarına dirençli yabancı türlerin ve böceklerin ortaya çıkması
Biyo-fabrikalar ve endüstriyel kullanım için ürün hammaddeleri olarak kullanılmaları	Biyolojik ve genetik çeşitliliğin tehdit edilmesi ve yararlı türlerin zarar görmesi
Direnci artırılmış bitkiler sayesinde tarım ilacı kullanımının azaltılması	Çeşitli grupların kaygılanması ve dini, kültürel ve etik kaygıların oluşması
Bioremediasyon yeteneği olan bitkilerin ve mikroorganizmaların geliştirilmesi	Bilinmeyen korkular

1.1.9.2. Transgenik Mısır

Transgenik mısır dünyada ekimi en çok yapılan GD bitkilerden biridir (41). 2015 itibariyle sadece mısır için 24 genetik modifikasyon ticarileşmiş olup; bu durum muhtemelen 2000'in üzerinde üç özelliğin bir araya getirildiği hat ve 12.000'in üzerinde dört özelliğin bir araya getirildiği hat anlamına gelmektedir (41, 45). Mısır bitkisindeki genetik modifikasyonlar özellikle herbisit ve pestisit kullanımını azaltarak ürün verimini arttırmaya yönelik olarak gerçekleştirilmekte ve transgenik mısır hatlarının yetiştirilmeye başlanmasıyla birlikte hem mısır veriminin arttırıldığı hem de kimyasal pestisit kullanımının önemli ölçüde azaltıldığı belirtilmektedir (46).

Avrupa mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ülkemiz dahil ABD, Kanada, Avrupa, Kuzey Afrika ülkeleri ile İran'da en önemli mısır zararlıları içerisinde yer almakta ve türün larvaları mısırın tüm yaşam evrelerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (47). Bu zararlılarla mücadelede en çok kullanılan yöntem kimyasal ilaçlama (insektisit) olup, bu yöntemle mücadele bitkinin kök, gövde ve meyvesi içerisinde gelişme gösteren ergin böcek ve larvalarına karşı etkisiz kaldığından, yoğun ilaçlamalara rağmen, ürün kayıpları %20'leri bulabilmektedir. İnsektisit kullanımı yol açtığı bu ekonomik kayıplara ek olarak kendisi kadar

kalıntıları ile de hem insan sağlığını tehdit etmekte, hem toprak ve su kaynaklarının kirlenmesine yol açmakta, hem de bitkisel üretimde büyük rol üstlenen yararlı böceklerle zarar vermektedir. Bu nedenlerden dolayı insektisit kullanımını yerine böceklerle dayanıklı genetiği değiştirilmiş türlerin geliştirilmesine gereksinim doğmuş ve bu türlerin kullanımı zaman içerisinde giderek artmıştır (46).

Biyoteknolojik olarak üretilen GD mısırlardan MON810; PV-ZMBK07 ve PV-ZMGT10 plazmidlerinin partikül bombardımanı yöntemi ile Monsanto firmasına ait YieldGard mısır çeşidine aktarılması sonucu oluşturulmuştur (48). Bu hat, böceklerle dayanıklı bir mısır olarak ilk kez 1996'da piyasaya sürülmüş olup, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bakterisinin üretmekte olduğu Cry1 Ab böcek öldürücü proteinini sentezlemektedir. Bu protein, Avrupa mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve mısır koan kurdu (*Sesamia nanogroides*) gibi Lepidoptera takımından böcek türlerine karşı koruma sağlamaktadır. Buna karşın, MON810'daki genetik modifikasyonun genotipte ve bitki metabolizmasında öngörülemeyen ve istenmeyen değişikliklere yol açtığı bilindiğinden (49); tohumda pestisit üretimini aktive etmek üzere aktarılan yeni gen veya genlerin tohumun içeriğindeki toplam protein, karbohidrat ya da lipid gibi besin öğelerini değiştirip değiştirmeyeceği sorusu endişe uyandırmaktadır. Genetik modifikasyon uygulamasının tohumda membran fosfolipidlerinin lipid peroksidasyonu gibi hasarlara sebep olacak veya enzimatik / enzimatik olmayan antioksidan mekanizmaların çalışmasına yol açabilecek bir stres unsuru olup olmadığı da tohum gelişimi ve ürün verimi açısından araştırılmalıdır.

Bu alışma, genetiği değiştirilmiş MON810 mısır hatlarındaki genetik modifikasyonun tanelerdeki muhtemel etkileri fizyolojik ve biyokimyasal parametreler kullanılarak ayrıntılı olarak araştırmayı amaçlamaktadır. Sonuçta, zararlıların mısırdaki oluşturdukları ekonomik kayıpları ve insektisit ya da kimyasal kullanımını önlemek amacıyla aktarılmış genlerin; mısır hatlarının tanelerindeki besin değerleri ve stres göstergeleri üzerindeki etkileri açığa kavuşturulmuş olacaktır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Tohum Kabuk Sterilizasyonu

Araştırmada kullanılan transgenik mısır tohumları (GD) yurtdışından, kontrol grubu (Kon) olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş mısır tohumları ise yurtiçinden ticari olarak temin edilmiştir. Çalışmada kullanılacak tohumlar eşit boy ve ağırlıkta seçilmiştir. Tohumlar, analizlerden önce, üstlerinde kalması muhtemel fungusit ve diğer kontaminantları uzaklaştırmak amacıyla, %12'lik teknik sodyum hipoklorit (NaOCl) zeltisi ile 20 dakika muamele edilmiş ve distile su ile 3 kere yıkanmıştır.

2.2. Toplam Protein Tayini

Protein tayini için; 1.5 ml potasyum fosfat tamponunda (0.1 mM, pH = 7.5) ekstrakte edilen 0.5 g mısır unu kullanılmıştır. Santrifijlenen ekstraktların süpernatant kısmında proteinlerin nicel analizi için Biüret Metodu kullanılmıştır (50). Örneklerdeki protein konsantrasyonlarını belirlemek için spektrofotometrede 540 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Konsantrasyonların nicel olarak belirlenmesinde 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.0 mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan sığır serum albümin (BSA) standardı kullanılmıştır ($R^2 = 0.9829$).

2.3. Toplam Yağ İçeriğinin ve Yağ Asitleri Kompozisyonun Belirlenmesi

Tohumların toplam yağ içeriği ve yağ asitleri kompozisyonu analizleri; T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Samsun Gıda Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü tarafından yapılmıştır. Tohumlarda toplam yağ miktarının belirlenmesi için TS 4967 analiz metodu kullanılmıştır. Bu yöntem; öğütme işlemine takiben, numunelerin etanol ve formik asit varlığında hidroklorik asit aracılığı ile hidrolizine ve daha sonra yağın hekzan aracılığı ile ztlenmesine dayanmaktadır. Yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan analiz metodu TGK 2010/36'dır. Yağ asitlerinin metil esterleri gaz kromatografisi ile tayin edilmiştir.

2.4. Karbohidrat İçeriği Tayini

Tohumlarda 10 farklı karbohidrat parametresi (fruktoz, glukoz, sakkaroz, maltoz, arabinoz, riboz, trehaloz, ksiloz, melesitoz, melebioz) tayin edilmiştir.

Yöntemin esası; karbohidrat içeriğinin RI-dedektör ile HPLC’de tayinine dayanmaktadır. Öncelikle cihazın kalibrasyonu için bu karbohidratların standart çözeltileri hazırlanmış; bu standart çözeltileri HPLC cihazında RI-dedektörüne okutulurken geliş zamanlarına göre kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Analiz için Elite LaChrom, Hitachi HPLC cihazı kullanılmıştır. Analizler ters faz –NH₂ kolonu (200/ 4,6 Nucleosil 100-5 NH₂) kullanılarak ve %79 asetonitril ve %21 saf su izokratik program uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Numune ve standartların enjeksiyon hacmi 25 µl’ye, mobil akış hızı 1,5 ml.dk⁻¹’ya ve kolon sıcaklığı 50 °C’ye ayarlanarak çalışma optimizasyonu sağlanmıştır (51).

Her numuneden 2 gram tartılarak 20 ml metanol ilavesi ile 24 saat süreyle oda sıcaklığında magnetik karıştırıcı kullanılarak metanolik ekstraktlar hazırlanmıştır. Ekstraktlar mevcut olası katı partiküllerden, safsızlıklardan kurtulmak ve ileri homojenlik sağlamak için mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzölmüştür. Elde edilen ekstrakt çözücüsü 60 °C’deki döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmıştır. Balon içeriği 10 ml ultra saf suda çözümlenerek, işlem sonunda 0.45 µm filtreden geçirilerek viallere alınmış ve analiz edilmiştir.

2.5. Prolin Tayini

1.5 g mısır unu 15 ml %3’lük sülfosalisilik asit ile 1 saat boyunca sürekli çalkalanmıştır. Daha sonra filtre kağıdından süzölmüş ve Bates (1973)’e göre prolin miktarı tayini yapılmıştır (52). 2 ml filtrat, 2 ml asit -ninhidrin ve 2 ml glasiyel asetik asit ile bir test tüpünde 100 °C’de reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyon, buz banyosunda durdurulduktan sonra reaksiyon karışımı 4 ml toluen ile 15-20 saniye güçlü bir şekilde karıştırılarak özütlenmiştir. Oda sıcaklığına gelene kadar beklendikten sonra kromofor içeren toluen sulu fazdan ayrılmıştır. 520 nm’de toluen kör olarak kullanılarak absorbans ölçümü yapılmış ve örneklerdeki prolin konsantrasyonu; 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.0 µmol/ml konsantrasyonlarında hazırlanan prolin standardının kalibrasyon grafiğinden ($R^2 = 0.9997$) yararlanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\mu\text{mol prolin} / \text{g taze ağırlık} = [(\mu\text{g prolin/ml} \times \text{ml toluen}) / 115.5 \mu\text{g}/\mu\text{mol}] / [(g \text{ örnek}) / 5]$$

2.6. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Marinova ve ark. (2005)'a göre ekstraksiyon işlemi yapılmıştır (53). Örneklerdeki toplam fenolik içeriği Folin – Ciocalteau yöntemine göre belirlenmiştir. 750 nm'de okunan absorbans değerlerinden, hazırlanan gallik asit standardına (20, 40, 60, 80 ve 100 mg/l) göre ($R^2 = 0.9818$) toplam fenolik içeriği hesaplanmış ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE) / 100 g tohum ağırlığı olarak ifade edilmiştir (53).

2.7. Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstraksiyon işlemi, toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde olduğu gibi Marinova ve ark. (2005)'a göre yapılmıştır (53). Örneklerdeki toplam flavonoid içeriği alüminyum klorür kolorimetrik yöntemine göre belirlenmiştir. 510 nm'de okunan absorbans değerlerinden, hazırlanan kateşin standardına (20, 40, 60, 80 ve 100 mg/l) göre ($R^2 = 0.9872$) toplam flavonoid içeriği hesaplanmış ve sonuçlar mg kateşin eşdeğerleri (CE) / 100 g tohum ağırlığı olarak ifade edilmiştir (53).

2.8. MDA Tayini

Membranlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sırasında ortaya çıkan malondialdehit (MDA) konsantrasyonu TBARS testi ile belirlenmiştir. MDA tayini için; 1'er g mısır unu tartılmıştır. Mısır unlarının üzerine 15 ml %5'lik asit trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi eklenerek homojenizasyon yapılmış ve daha sonra örnekler 25 °C'de, 12000 rpm'de, 15 dakika santrifüjlenmiştir. Eşit hacimde süpernatant ile taze olarak hazırlanan %0.5'lik tiyobarbitirik asit (TBA) ve %20'lik TCA çözeltisi karıştırılmıştır. 100 °C'de, 25 dakika inkübasyondan sonra buz banyosuna alınan örnekler, 10000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. MDA ve TBA arasındaki tepkime 532 nm'de maksimum absorbans gösteren kırmızı bir renk oluşumuna neden olmaktadır. TBARS testi, Heath ve Packer (1968) protokolüne göre yürütülmüştür (54). 532 nm ve 600 nm'deki absorbans değerleri okunmuş ve MDA konsantrasyonu, ekstinksiyon katsayısı $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kullanılarak, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

MDA İçeriği (nmol. gTA⁻¹) = $[(A_{532} - A_{600}) \times \text{ekstraksiyon hacmi (15 ml)}] / [155 \times \text{örnek miktarı (1g)}]$

2.9. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.9.1. Aktivite Tayini Yapılacak Grupların Hazırlanması

Kabuk sterilizasyonundan sonra tohumlar enzim aktivite tayini için oda sıcaklığında ve distile suda 48 saat bekletilerek şişirilmiştir. Bu aşamadan sonra hem GD hem de Kon grubundaki tohumlar iki alt gruba ayrılmış (Tablo 2.1); birer grup hemen blender yardımıyla un haline getirilmiştir. Bu gruptaki mısır unları (Kon 1 ve GD 1) daha sonra potasyum fosfat tamponunda (0.1 mM, pH = 7.5) +4 °C'de 20 dakika 14000 rpm'de santrifüjlenerek özütlenmiştir. Diğer alt gruptaki tohumlar (Kon 2 ve GD 2) kurutma kağıdı ile kaplanmış petri kaplarına ekilerek her gün 3 ml distile su ile sulanmak suretiyle inkübatörde oda sıcaklığında çimlenmeye bırakılmıştır. Bu şekilde 48 saat çimlendirilen –radikulası çıkan- tohumlar yine un haline getirilerek aynı şekilde özütlenmiştir.

Tablo 2.1. Enzim aktivite tayini yapılan gruplar.

Grup	Uygulama
Kon 1	48 saat şişirme
GD 1	48 saat şişirme
Kon 2	48 saat şişirme + 48 saat çimlenme
GD 2	48 saat şişirme + 48 saat çimlenme

2.9.2. Protein Miktarının Belirlenmesi

Enzim aktivitelerinin tayini için hazırlanan ekstraktlardaki proteinlerin nicel analizi için Biüret Metodu kullanılmıştır. Örneklerdeki protein konsantrasyonlarını belirlemek için spektrofotometrede 540 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Konsantrasyonların nicel olarak belirlenmesinde 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.0 mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan sığır serum albümin (BSA) standardı kullanılmıştır ($R^2 = 0.9829$). Enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılacak ekstraktlardaki çözülebilir protein konsantrasyonları mg/ml olarak hesaplanmıştır.

2.9.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) enzim aktivitesi için Wang ve ark. (1991)'in metodu kullanılmıştır (55). Tohumlar 48 saat şişirildikten sonra öğütülerek

un haline getirilmiştir. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesinde reaksiyon ortamına eklenecek enzimin ekstraksiyonu Rao ve ark. (1996)'a göre yapılmıştır (56). Buna göre; mısır unlarının protein miktarı tayini için; 3 ml Tris – HCl tamponunda (50 mM, pH = 7.2) ekstrakte edilen 1 g mısır unu kullanılmıştır. Ekstraksiyon tamponu %2 polivinilpirolidon, 1 mM EDTA ve 2 mM askorbat içermektedir. Santrifüjlenen ekstraktların supernatant kısmında proteinlerin nicel analizi için Biüret Metodu kullanılmıştır. Örneklerdeki protein konsantrasyonlarını belirlemek için spektrofotometrede 540 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Konsantrasyonların nicel olarak belirlenmesinde 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18 ve 0.20 mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan sığır serum albümin (BSA) standardı kullanılmıştır ($R^2 = 0.971$).

100 µg protein içeren enzim ekstraktına 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH=6.6), 2.5 mM askorbat ve 10 mM H₂O₂ eklenmesiyle oluşturulan reaksiyon karışımı; enzim aktivitesinin nmol askorbat.dak⁻¹.mg protein⁻¹ birimine göre hesaplanması için 3 dakika boyunca 290 nm dalga boyunda enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine (kör) karşı okunmuştur.

2.9.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) aktivitesi, nitrobluetetrazolyum'un (NBT) fotokimyasal indirgenmesini esas alan yöntemle göre 560 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (57). 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8), 9.9 mM L-Metiyonin, 57µM (NBT) ve %1 Triton X-100 karıştırılmış ve bu karışımdan alınan 1mL çözeltiye 20 µl süpernatant eklenmiştir. Örneğin konulmasını takiben reaksiyonu başlatmak için üzerine 10µL riboflavin ilave edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra küvetler 15 dakika ışığa (375 µmol.m⁻².s⁻¹) maruz bırakılmış ve absorbans değerleri köre karşı spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda okunmuştur. Toplam SOD aktivitesi ünite.mg protein⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesinin aktivitesi, NBT redüksiyonunda %50'lik bir inhibisyon yaratmak için gereken SOD miktarı olarak tanımlanır.

2.9.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi

POD (POD; EC 1.11.1.7) aktivitesi Bergmeyer (1974)'e göre belirlenmiştir (58). Reaksiyon karışımı 3 ml olup 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 20.1 mM guaiakol, 12.3 mM H₂O₂ ve enzim ekstraktı içermektedir. Reaksiyon enzim ekstraktının ilavesiyle başlatılmış ve 1 dakikalık süre içinde izlenmiştir. Enzim aktivitesi, guaiakol'ün ekstinksiyon katsayısı (26.6 mM.cm⁻¹. 470 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından hesaplanmıştır.

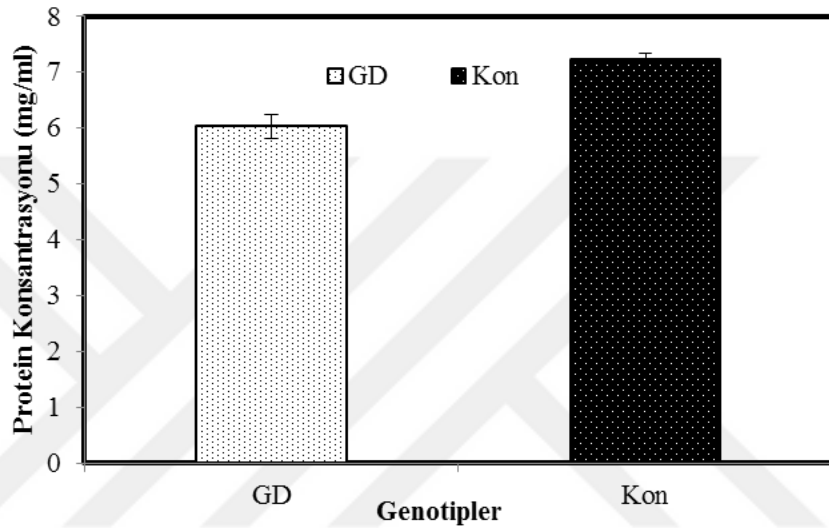
2.9.6. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi

Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) aktivitesi Sgherri ve ark. (1994)'in metoduna göre analiz edilmiştir (59). 200 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.5), 0.2 mM Na₂EDTA, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 mM GSSG, 50 µM NADPH ve 100 µg protein içeren enzim ekstraktı son hacim 1 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon, ortama NADPH'in eklenmesiyle başlatılmış ve örneklerin absorbansı spektrofotometrede 340 nm'de okunmuştur. NADPH'in enzimatik olmayan oksidasyonu için 340 nm dalga boyunda GSSG eklenmeyerek kaydedilen azalışla düzeltme yapılmıştır. Enzim aktivitesi, NADPH'in ekstinksiyon katsayısı (6.2 mM.cm⁻¹. 340 nm) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Toplam Protein İçeriği

GD ve kontrol grubundaki mısır tohumlarının toplam protein içeriği Şekil 3.1’de verilmiştir. Örneklerin protein konsantrasyonları; GD mısırlarda 6.03 mg/ml, kontrol grubu mısırlarda ise 7.22 mg/ml olarak hesaplanmıştır ve aradaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).



Şekil 3.1. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının protein içeriği.

3.2. Toplam Yağ İçeriği ve Yağ Asitleri Kompozisyonu

Kontrol grubu ve GD tohum örneklerinde belirlenen toplam yağ içeriği ve yağ asitleri kompozisyonu Tablo 3.1’de verilmiştir. Kontrol grubu tohumların toplam yağ miktarlarının GD’den daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yağ asitleri kompozisyonuna bakıldığında kaproik asit, kaprilik asit, kaprik asit, laurik asit, erusik asit, lignoserik asit, nervonik asit, eikosenoik asit (C20:2) ve dokosadienoik asit iki grupta da tespit edilememiştir. Tohumların miristik asit, eikosenoik asit (C20:1) ve behenik asit miktarları benzer bulunmuştur. GD’de bulunan palmitik asit, palmitoleik asit ve margarik asit varlığına kontrol grubu örneklerinde rastlanmamıştır. Kontrol grubuna ait örneklerde heptadekenoik asit, stearik asit, oleik asit ve araşidik asit yüksek bulunurken; linoleik asit ve linolenik asit ise GD örneklerde daha yüksek miktarda bulunmuştur.

Tablo 3.1. Mısır tohumlarındaki toplam yağ miktarları ve yağ asidi kompozisyonu.

GENOTİP		
	Kon	GD
TOPLAM YAĞ (%)	2.83	2.2
YAĞ ASİDİ (%)		
Kaproik asit C6:0	*N.D.	*N.D.
Kaprilik asit C8:0	*N.D.	*N.D.
Kaprik asit C10:0	*N.D.	*N.D.
Laurik asit C12:0	*N.D.	*N.D.
Miristik asit C14:0	0.03	0.03
Palmitik asit C16:0	*N.D.	11
Palmitoleik asit C16:1	*N.D.	0.1
Margarik asit C17:0	*N.D.	0.08
Heptadekenoik asit C17:1	13.8	0.04
Stearik asit C18:0	2.7	2
Oleik asit C18:1	31.2	29.2
Linoleik asit C18:2	49.6	55.1
Linolenik asit C18:3	0.96	1
Araşidik asit C20:0	0.5	0.4
Eikosenoik asit C20:1	0.2	0.2
Behenik asit C22:0	0.1	0.1
Erusik asit C22:1	*N.D.	*N.D.
Lignoserik asit C24:0	*N.D.	*N.D.
Nervonik asit C24:1	*N.D.	*N.D.
Eikosenoik asit C20:2	*N.D.	*N.D.
Dokosadienoik asit C22:2	*N.D.	*N.D.

*N.D. Belirlenemedi.

3.3. Karbohidrat İçeriği

Tohumların HPLC ile belirlenen karbohidrat profilleri (fruktoz, glukoz, sakkaroz, maltoz, arabinoz, riboz, trehaloz, ksiloz, melesitoz, melebioz) incelendiğinde hem GD hem de kontrol grubu tohumların riboz, arabinoz, maltoz ve melebioz içeriklerini ihtiva etmediği belirlenmiştir (Tablo 3.2). Monosakkarit içeriklerine bakıldığında GD tohumların ksiloz ve fruktoz içeriği bakımından zengin olduğu; glukoz miktarının ise iki tohum grubunda benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Disakkaritler arasında yer alan trehaloza GD tohumlarda rastlanmaz iken; GD tohumlardaki sukroz içeriğinin kontrol grubuna kıyasla 9.96 kat fazla olduğu belirlenmiştir. Bir trisakkarit olan melesitoz, GD tohumlarda kontrol grubu örneklerle kıyasla 2.6 kat daha yüksek oranda bulunmaktadır.

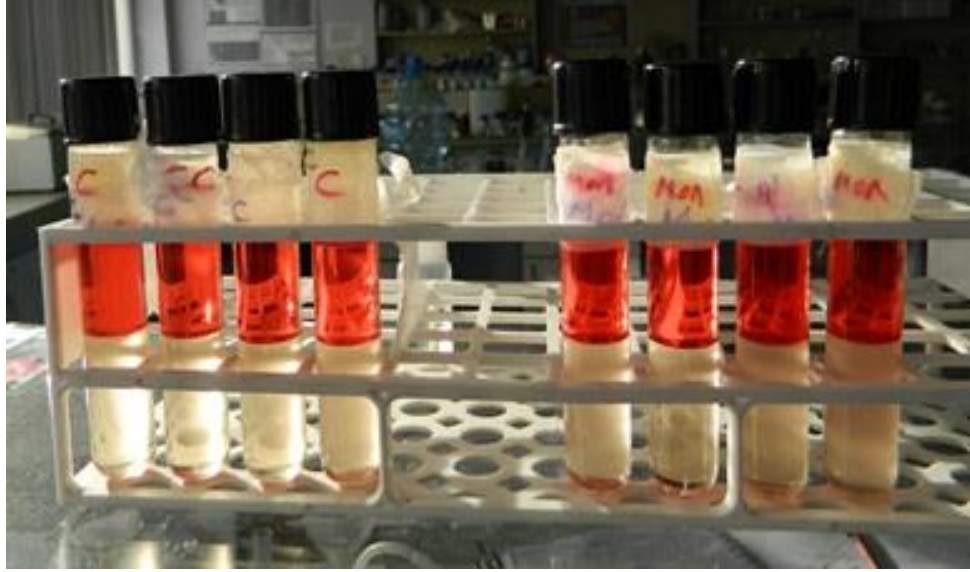
Tablo 3.2. Mısır tohumlarındaki bazı karbohidrat içerikleri.

KARBOHİDRAT (mg/g)	Kon	GD
Riboz	*N.D.	*N.D.
Arabinoz	*N.D.	*N.D.
Ksiloz	1.83 ± 0.02	2.11 ± 0.07
Fruktoz	0.65 ± 0.05	1.09 ± 0.03
Glukoz	1.63 ± 0.10	1.61 ± 0.04
Sukroz	0.53 ± 1.24	5.28 ± 0.12
Maltoz	*N.D.	*N.D.
Trehaloz	1.90 ± 0.06	*N.D.
Melebioz	*N.D.	*N.D.
Melesitoz	1.11 ± 0.07	2.90 ± 0.09

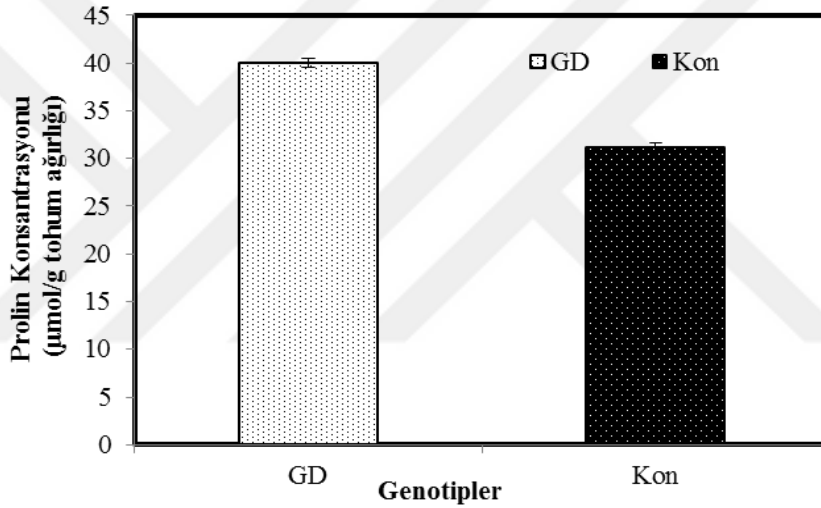
*N.D. Belirlenemedi.

3.4. Prolin Konsantrasyonu

Bitki hücrelerinde birçok stres faktörü sırasında artan prolin, hücrede osmotik dengenin düzenlenmesinde, hücresel yapıların korunmasında ve antioksidan faaliyetlerin yürütülmesinde rol almaktadır (60). Bitkilerde stresin bir göstergesi olarak kabul edilen prolin, önceki çalışmalarda mısır tanelerinde de tespit edilmiştir (61). Mevcut çalışmada örneklerdeki prolin içerikleri belirlenmiştir (Şekil 3.2). GD mısırlarda 40.05 µmol/g tohum ağırlığı, kontrol grubu mısırlarda ise 31.19 µmol/g tohum ağırlığı olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.2. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarında prolin analizi.



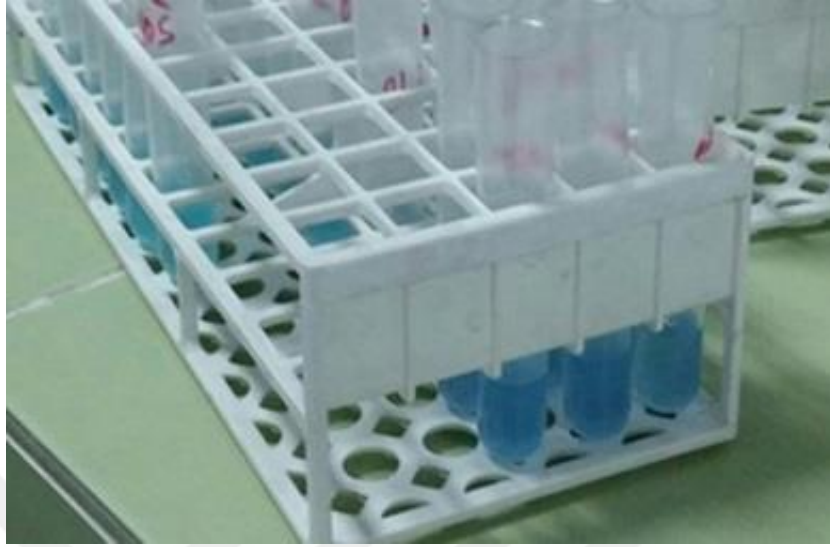
Şekil 3.3. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının prolin içeriği.

3.5. Toplam Fenolik Madde İçeriği

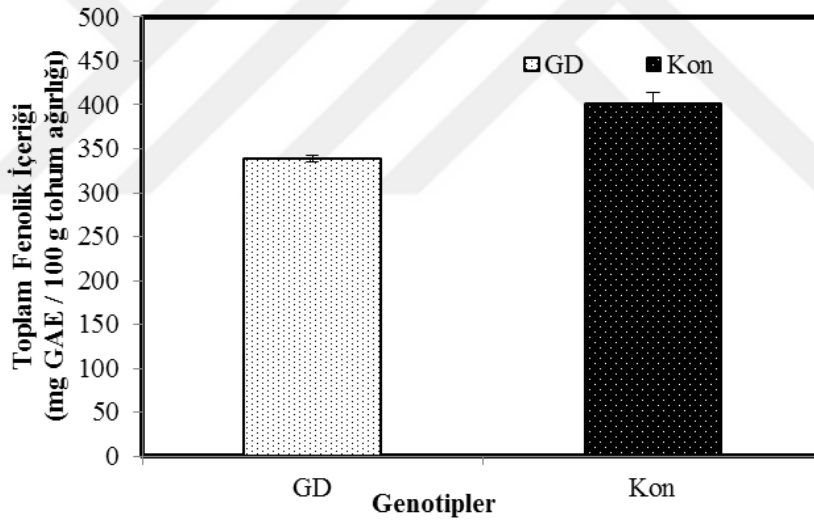
Bitkiler ve hayvanlar arasındaki en belirgin fark; bitkilerin uzun metabolik süreçlerden kaynaklanan ve sekonder metabolitler olarak bilinen düşük moleküler ağırlıklı bileşenleri biriktirebilme yetenekleridir (62). Sekonder metabolitler içinde yer alan fenolik bileşikler patojenlere karşı savunmada, mekanik destekte, tozlaştırıcıları ve meyve dağıtıcıları cezbetmede, zararlı UV radyasyonu absorbe etmede ve rakip bitkilerin büyümesini azaltmada önemli görevler almaktadırlar (63).

Örneklerdeki toplam fenolik madde içerikleri Şekil 3.4'te verilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı GD mısırlarda 338.42 mg GAE / 100 g tohum ağırlığı, kontrol

grubu mısırlarda ise 401.13 mg GAE / 100 g tohum ağırlığı olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.4. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının toplam fenolik madde analizi.

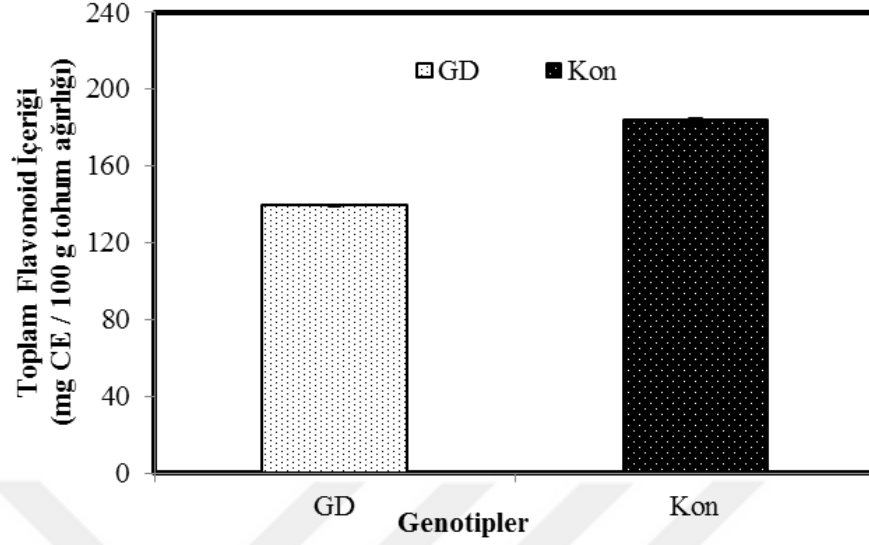


Şekil 3.5. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının toplam fenolik madde içeriği.

3.6. Flavonoid İçeriği

Flavonoidler birçok bitki tohumunda biriken sekonder metabolitlerden olup tohumlarda dormansi ve canlılığın korunabilmesi gibi fizyolojik fonksiyonlarda yer almaktadırlar (64). Örneklerdeki toplam flavonoid madde içerikleri; GD mısırlarda 139.24 mg CE / 100 g tohum ağırlığı, kontrol grubu mısırlarda ise 183.71 mg CE / 100 g tohum ağırlığı olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.6). Kontrol grubundaki toplam

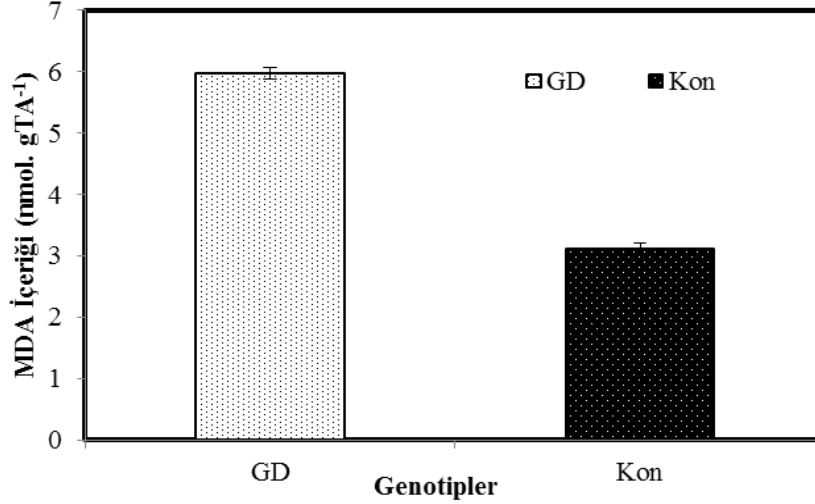
flavonoid madde içeriği, genetiği değiştirilmiş gruptakine göre önemli düzeyde yüksektir ve bu fark istatikselsel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).



şekil 3.6. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının toplam flavonoid içeriği.

3.7. MDA Konsantrasyonu

Hücre membranlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonundaki son ürünlerden biri olarak ortaya çıkan MDA'nın örneklerdeki varlığı araştırıldığında; MDA konsantrasyonlarının GD mısırlarda $5.97 \text{ nmol. gTA}^{-1}$, kontrol grubu mısırlarda ise $3.11 \text{ nmol. gTA}^{-1}$ olduğu belirlenmiştir (şekil 3.7). GD örneklerde belirlenen MDA içeriğinin kontrol grubu örneklerinde elde edilen içeriğe kıyasla 1.9 kat fazla olduğu belirlenmiştir ve bu artışın istatikselsel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Malondialdehit konsantrasyonundaki artış; pek çok stres faktörünün tetiklediği radikal oluşumundan doğan oksidatif stresin hücrelerdeki en önemli göstergelerindendir.



Şekil 3.7. GD ve kontrol grubu mısır tohumlarının MDA içeriği.

3.8. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

3.8.1. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi

Bu tayin yöntemi, reaksiyon karışımına H₂O₂'nin eklenmesiyle tepkimenin başlaması ve askorbatın okside olması nedeniyle askorbat konsantrasyonunun azalması prensibine dayanmaktadır. Tekrarlı çalışılan tayin yönteminde her iki hatta ait tohum ekstraktlarında herhangi bir askorbat peroksidaz enzim aktivitesinin olmadığı belirlenmiştir.

3.8.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

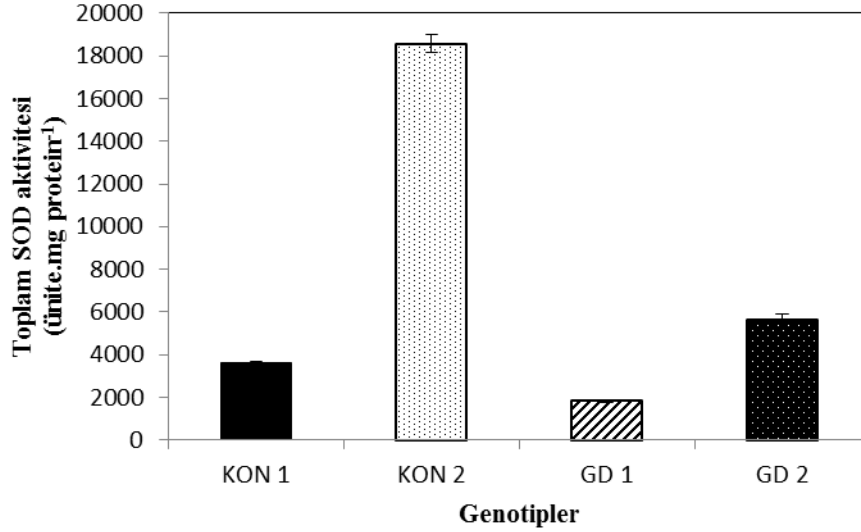
Negatif yüklü bir molekül olduğundan biyolojik membranlardan geçemeyen ve bu yüzden, hücrede, bulunduğu yerde giderilmesi gereken süperoksit radikali (O₂⁻)'nin, hidrojen peroksit ve oksijen oluşumuna yol açan enzimatik dismutasyon reaksiyonu SOD enzimi tarafından katalizlenmektedir ($2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$) (65).

Hem şişirilmiş hem de çimlendirilmiş GD ve kontrol grubu mısır tohumlarından elde edilen hücre özütlerinde SOD enzim aktivitesi belirlenmiştir (Şekil 3.8). Kontrol grubu tohumlarda SOD aktivitesinin başlangıçtaki seviyesi GD grubundakilerden daha yüksek olduğu halde, çimlenmenin SOD enzim aktivitesini her iki grupta da önemli derecede arttırdığı belirlenmiştir (Şekil 3.9). Kontrol 2 grubundaki enzim aktivitesi Kontrol 1 grubunun yaklaşık 5.2; GD 2 grubundaki

enzim aktivitesi ise GD 1 grubunun 3.1 katına çıkmıştır. Kon 1’de belirlenen SOD aktivitesinin GD 1 grubunun yaklaşık iki katı olduğu görülmüştür.



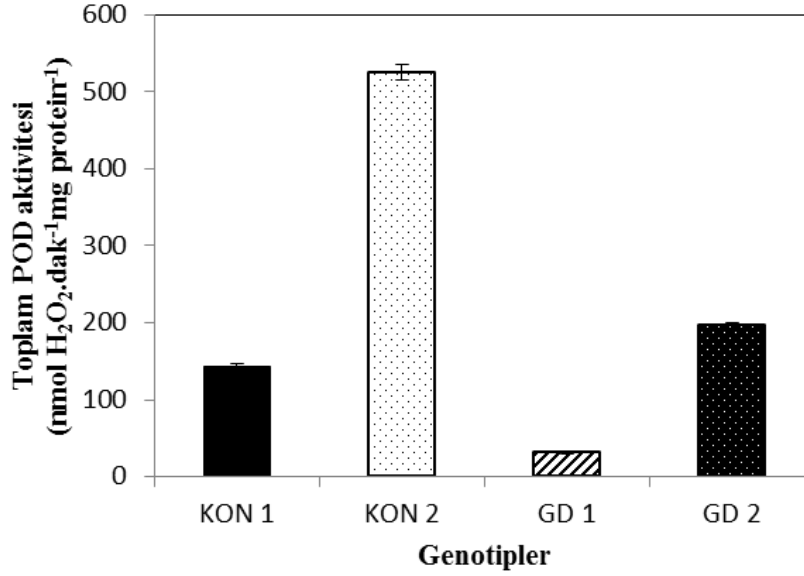
Şekil 3.8. SOD aktivitesinin ölçülmesi.



Şekil 3.9. Şişirilmiş ve çimlendirilmiş tohumlardaki toplam SOD aktivitesi.

3.8.3. Peroksidaz (POD) Aktivitesi

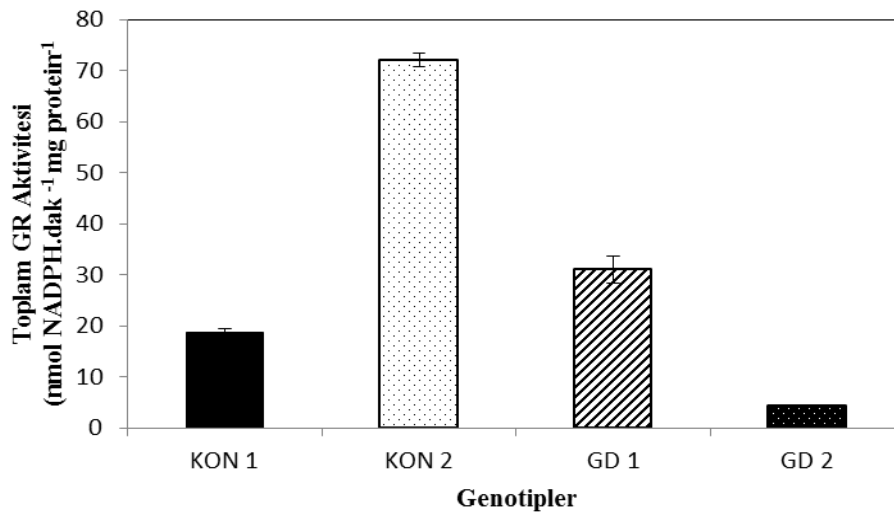
Sitoplazma ve apoplastik bölgedeki hidrojen peroksit (H_2O_2)’in giderilmesinde önemli rol oynayan guaiakol peroksidaz enziminin aktivitesinin süperoksit dismutaz enzimi ile paralellik gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.10). Kontrol 1’de belirlenen POD aktivitesinin GD 1 grubunun yaklaşık 4.6 katı olduğu ve çimlenmenin her iki tohum grubunda POD aktivitesini önemli derecede arttırdığı belirlenmiştir. Kontrol 2’de belirlenen POD aktivitesi Kontrol 1’in yaklaşık 3.7 katı iken; GD 2’de belirlenen POD aktivitesi GD 1’in yaklaşık 6.4 katıdır.



Şekil 3.10. Şişirilmiş ve çimlendirilmiş tohumlardaki toplam POD aktivitesi.

3.8.4. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesi

NADPH kullanarak yükseltgenmiş glutasyonu indirgediği bilinen glutasyon redüktaz enziminin başlangıç seviyesinin; GD 1’de Kontrol 1’in 1.7 katı olduğu hesaplanmıştır (Şekil 3.11). Çimlenmenin GR enzim aktivitesini Kontrol grubu tohumlarda önemli derecede arttırdığı; GD grubu tohumlarda ise önemli derecede azalttığı görülmüştür. Kontrol 2’deki GR aktivitesi Kontrol 1’in yaklaşık 3.8 katı iken; GD 2’deki GR aktivitesi GD 1’in yaklaşık 1/7’sidir.



Şekil 3.11. Şişirilmiş ve çimlendirilmiş tohumlardaki toplam GR aktivitesi.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kültür bitkilerinin tohumları; toplanan, test edilen, kopyalanan, depolanan ve ekim zamanlarında yeniden çevreye dağıtılan bilginin kaynakları ve taşıyıcıları olarak yaşamın en önemli yapıtaşlarıdır. Tohumlardaki bu bilgi doğanın ve insan toplumlarının tarih boyunca geçirdiği birlikte evrimin hikayesini barındırır. Bu nedenle genetik ve kültürel bir miras gibi bir insan neslinden diğerine aktarılır. Tohumun bünyesinde saklanan bu zirai bilgi iklim değişiklikleri gibi faktörlere uyumun ve gıda üretiminin devamlılığı için de gereklidir (66, 67). Bu nedenle zirai tohumların zaman içerisindeki seçilimi gıda ve yem üretimine, ticarete ve bilgi alışverişine eşsiz katkılarda bulunmuştur (66). Ancak günümüzde; hızlı nüfus artışı ve hızla artan gıda gereksinimi, tarımı, yerel satışlar için üretimden küresel pazar merkezli bir gıda sistemine dönüştürmüştür. Gen teknolojileri tarla bitkilerinin bileşimlerinin, mevcut ve gelişmekte olan besinsel ve endüstriyel kullanımları karşılamak üzere değiştirilmesine önemli bir fırsat sağlamaktadır (68). GDO teknolojileri aracılığı ile verimi en üst seviyeye çıkarırken işçilik maliyetini en düşük düzeye indirme anlayışı; tohumlar aracılığıyla geleneksel bilgi birikimi ve aktarımı fikrinin yerine geçmiştir (67). Transgenik çeşitlerin geliştirilmesi için yapılan büyük yatırımlar; genetiği değiştirilmiş tohumların, ticari bitki yetiştiriciliğinde ve dünya tahıl piyasasında baskın duruma gelmesine neden olmuştur. Transgenik yöntemler; nesiller boyunca mutasyon, çapraz dölleme ve seleksiyon yoluyla değişmiş olan genleri birleştirmek için mevcut hatların ya da çeşitlerin çaprazlanmasına dayanan geleneksel ıslah yöntemlerinin aksine, bir türdeki DNA'nın başka bir türe eklenmesi şeklinde gerçekleştirilmektedir. Genleri tek tek değiştirmek ve başka türlere aktarmak sadece transgenik yöntemlerle mümkün olsa da; oluşturulan bu yeni genetik kombinasyonların; tarımsal ekosistemlerde karşılaşılabilecek çoklu biyotik ve abiyotik streslere zaman içerisinde hiç maruz kalmaması bir dezavantajdır (67, 69). Ayrıca; transgen teknolojilerindeki yükseliş; bu sürecin biyolojik çeşitlilik kaybını hızlandırıp hızlandırmayacağı, uzun vadede beklenen faydalarından sapıp sapmayacağı ve çevreye olan olumsuz etkilerinin artıp artmayacağı gibi endişeleri de beraberinde getirmiştir (67). Ancak bu konudaki endişelerin büyük kısmı gıda olarak kullanılan bitkiler üzerindeki gen değişikliklerinin istenmeyen besin değeri kayıplarına, toksik ya da alerjenik metabolit üretimlerine, antioksidan bileşenlerde

beklenmeyen değişikliklere ya da kayıplara yol açıp açmadığı üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu konuda soya, mısır, pamuk, kanola gibi transgenik bitkileri de kapsayan birçok çalışma olmasına rağmen, mısırla ilgili olan araştırmaların çoğu fideler üzerindedir (70).

Tohum çimlenmesi ve çimlenme sonrası fide gelişimi; bitki fizyolojisinde spesifik enzimlerin uygun zamanlarda aktifleşmesi ile bu aktivitelerin düzenlenmesini içeren, yüksek metabolik faaliyet gerektiren ve hücrede ROT oluşmasına neden olan karmaşık bir süreçtir (28, 71). Bu süreçte; çimlenmenin yüksek enerji gereksinimini karşılamak üzere oksijen alımı ile oksidatif fosforilasyon hızı artmakta ve bu olayları takiben tohumlar şişmektedir (72). Hem oksidatif fosforilasyon hem de besin depolarının taşınması hücrelerde yapısal ve fonksiyonel hasara sebep olan ROT oluşmasına sebep olur (71). ROT; sitotoksin fonksiyonlarına ek olarak; tohumlarda çimlenme kapasitesinin artması, fide gelişiminin düzenlenmesi ve çimlenme sırasında embriyonun patojenlere karşı korunması gibi yararlı biyolojik roller de üstlenmektedir (21, 71). Bu moleküller normalde hücre içindeki enzimatik ya da enzimatik olmayan antioksidanlarla denge halindedir. Üretilmeleri ile ortadan kaldırılmaları arasındaki muhtemel bir dengesizlik oksidatif strese yol açacağından dolayı; ROT'ye karşı savunmada görev alan antioksidanlar şişme ve çimlenme sürecinin başarılı olmasında özel bir öneme sahiptir (19, 28).

ROT'nin sitotoksik etkilerinden biri lipidlere, proteinlere ve biyolojik membranların seçici geçirgenliğine hasar vererek membranlarda sızıntılara yol açması ve membranlara bağlı enzimlerin aktivitelerini değiştirmesidir (28). Hücresel membranlardaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehit olarak bilinen oldukça reaktif bir ürünün birikimi ile sonuçlanır ve bu ürün, oksidatif stresin hücre membranlarında yol açtığı yıkımın önemli bir göstergesidir. Wattanakulpakin ve ark. (2012) *Zea mays* tanelerinde su ile şişirmenin MDA seviyesinde bir artışa sebep olduğunu göstermiştir (18). Bu çalışmada; su ile şişirilmiş GD ve kontrol grubu tanelerdeki MDA seviyesi araştırılmış ve GD mısırdaki kontrolün yaklaşık iki katı kadar MDA biriktiği belirlenmiştir. GD mısır tanelerinin MDA seviyesindeki bu anlamlı artış; transgen eklenen mısır tanelerinde hücre - içi oksidatif hasar olduğunu; ancak antioksidan enzimlerden, antioksidanlardan ve ROT-üreten enzimlerden

oluşan zengin ve karmaşık ROT savunma ağının hücrel membranlarda bütünlüğün sağlanmasında yeterli olmadığını düşündürmüştür.

SOD, APX, GR ve POD gibi antioksidan enzimler bitkilerde ROT stresini sıkı kontrol altında tutan enzimatik savunma sistemi içerisinde yer aldığından; bu enzimlerin takım halinde çalışması hücrelerin çimlenme sürecinden büyüme, gelişme ve hatta yaşlanma süreçlerine kadar oksidatif hasardan korunmasında büyük öneme sahiptir. Bitkilerde metal kofaktörüne göre sınıflandırılan SOD enzimi tiplerinin aktif merkezinde yer alan geçiş metali; iki süperoksit radikali arasında elektron aktarımı gerçekleştirerek bu radikalın H_2O_2 ve oksijene dismutasyonunu katalizlemekte (65) ve bu enzim mitokondri, kloroplast, mikro cisimcikler, sitosol ve apoplastta çalışmaktadır (73). Apoplastik bölgede SOD tarafından üretilen H_2O_2 'nin suya dönüştürülerek ortadan kaldırılmasında görev alan enzim POD enzimidir. Kiran ve ark., (2012) kapok (*Ceiba pentandra*) tohumlarında SOD ve POD aktivitelerinin çimlenme boyunca arttığını belirlemiştir (28). Benzer şekilde bu çalışmada hem kontrol hem de genetiği değiştirilmiş mısır tanelerinde SOD ve POD aktivitelerinin çimlenmiş tanelerde şişirilmiş tanelerden önemli derecede daha yüksek bulunması; bu iki enzimin çimlenme sürecindeki hücrelerde antioksidan sistemin önemli üyeleri olarak görev aldığı düşünmektedir. Bu durumda çimlenen tanelerin doğal antioksidanlar gibi hizmet ettiği ve tedavi amaçlı kullanılabilecekleri söylenebilir (28). SOD ve POD'un şişirilmiş ve çimlendirilmiş tanelerdeki paralel davranışı; bu enzimlerin GD ve kontrol mısırlarda şişmeden çimlenme sonrasındaki sürece kadar takım halinde çalıştığının göstergesi olabilir. Şişirilmiş GD tohumlarında apoplastik bölgede çalışan POD enzim aktivitesinin kontrolden daha düşük bulunması; bu enzimin bu gruptaki membran hasarının önlenmesinde yeterli koruyucu rol oynamadığını işaret etmektedir.

Oksijen toksisitesine maruz kalan bitkilerde H_2O_2 'nin giderilmesinde rol oynayan enzimlerden biri de askorbat peroksidazdır. Askorbat peroksidaz aktivitesinin özellikle kloroplastlarda ve sitosolde görüldüğü; ancak son çalışmalarda mitokondride de bu aktiviteye rastlandığı bildirilmiştir (74). Çalışmada şişirilmiş mısır tanelerinden elde edilen mısır unlarında APX aktivitesi araştırılmış; ancak ne GD grubunda ne de kontrol grubunda böyle bir aktiviteye rastlanmamıştır. Sonuç olarak; çalışmada kullanılan GD ve kontrol grubu mısır tanelerinin APX aktivitesi

bakımından benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Literatürde genç embriyoların embriyogenezin erken safhalarında askorbat sentezleyemedikleri; ancak büyük miktarda askorbat içerdikleri ve kullandıkları belirtilmiştir. Bu durum genç embriyoların askorbat tedariki açısından üzerinde bulunduğu bitkiye bağımlı olduğunu göstermektedir (75). De Gara ve ark. (1997) kuru embriyoların APX'ten yoksun olduğunu ve hidrojen peroksitin giderilmesinde rol oynayan bu enzimin; çimlenme sırasında, askorbat sentezinden sonra sentezlendiğini ve askorbattaki artışla paralel olarak arttığını belirtmektedir (76).

Glutasyon (GSH); bitkilerin çoğunda bulunan, enzimlerin tiyol gruplarının korunmasında, singlet oksijen ve hidroksil radikallerinin giderilmesinde görev alan düşük moleküler ağırlıklı bir bileşiktir. Ayrıca; dehidroaskorbat redüktaz enzimi aracılığıyla askorbatın dehidroaskorbattan rejenere edilmesinde yer almaktadır. Bu tip reaksiyonlarda GSH glutasyon disülfide (GSSH) yükseltgenmekte; GSH, glutasyon redüktaz enzim aracılığıyla NADPH-bağımlı bir tepkime sonucunda rejenere edilmektedir (74). GR enziminin mısır bitkisinde kloroplastta, mitokondride ve sitosolde aktivite gösterdiği belirtilmiştir (77). GR enziminin şişirilmiş mısır tanelerindeki başlangıç aktivitesinin; SOD ve POD enzimlerinin aksine, GD mısırdaki kontrol grubuna göre gözle görülür derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Şişirilmiş GD mısır tanelerindeki prolin içeriğinin nispeten yüksek; toplam fenoliklerin, flavonoidlerin ve diğer iki antioksidan enzimin başlangıç seviyelerinin düşük bulunması ve ayrıca MDA ile gösterilen membran hasarının kontrole göre daha belirgin olması; şişirilmiş GD tanelerindeki antioksidan savunma sisteminde GR aktivitesinin önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Çimlenme ile birlikte GD mısır tanelerinde GR aktivitesi gözle görülür bir düşüş kaydetmiştir. Çimlenme evresinde bu enzimin aktivitesinde gözlenen düşüş; bu evrede H₂O₂'den kaynaklanan oksidatif stresin azalmasında POD gibi diğer antioksidan mekanizmaların ön çıktığının göstergesi olabilir. Bunun aksine; çimlenme evresi, kontrol grubu mısır tanelerinde SOD ve POD aktivitesi ile beraber GR enzim aktivitesinde de önemli artışa neden olmuştur. Bu durum, çimlenme evresindeki kontrol grubu hücrelerinin oksidatif strese karşı savunulmasında her üç enzimin de önemli rol üstlendiğinin göstergesidir.

Bitki fenolikleri; DNA, proteinler, lipidler gibi biyolojik molekülleri oksidatif hasardan koruyan ve büyüme sırasında hücre duvarlarının, ligninlere ve lignanlara polimerizasyon yoluyla, güçlenmesinde görev alan önemli bileşiklerdir (30). ROT'nin inhibe edilmesinde ya da ortadan kaldırılmasında, verdikleri hidrojen ile özellikle singlet oksijenin giderilmesinde, elektrofillerin yok edilmesinde ve metalleri şelatlamada oynadıkları roller ile sadece bitki hücrelerinin korunmasında değil aynı zamanda insan beslenmesinde de büyük yere sahiplerdir (78). Bitkilerdeki flavonoidler benzo- γ -piron yapısına sahip olan ve kendilerini üreten bitkilere pek çok yarar sağlayan büyük bir polifenolik bileşik grubu olarak bilinmektedir (78). Fenolik bileşikler bakımından zengin beslenmenin; insanlarda kalp damar hastalıklarını azalttığı, felç ve kanser riskini azalttığı; tümörlere, virüslere ve diğer mikroorganizmalara karşı koruyucu rol oynadığı, tansiyonu düşürdüğü ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (30). Fenolik maddeler ile flavonoidler; bitkinin farklı kısımlarında bulunabilen biyolojik olarak aktif fitokimyasallar arasında yer almakta ve güvenilir doğal antioksidanlar olarak bu hastalıkların önlenmesinde önemli görev üstlenmektedirler (78, 79). Arabidopsis ve Brassica gibi bazı türlerdeki flavonoidlerin ve fenolik asitlerin biyosentezleri ve birikimleri hakkında oldukça fazla miktarda çalışma olduğu halde; mısır tanelerinde az sayıda flavonoid ve fenolik bileşik tanımlanmıştır (80). Le Clere ve ark. (2007) mısır tanelerindeki fenolik bileşiklerin miktarlarının bitkilerin genetik geçmişinden etkilendiğini ve bu bileşiklerin birikiminde yaşa bağlı olarak bir artış olduğunu belirtmiştir (80). Çalışmada GD ve kontrol grubu mısır unu özütlerindeki toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri spektrofotometrik olarak belirlenmiş; GD mısır tanelerinde her iki bileşik grubunun kontrol grubundan düşük bulunması; mısır tanelerindeki gen değişikliğinin tohumun fenolik ve flavonoid madde sentez yollarını etkilediğini ve bu bileşiklerin sentezinde azalmaya yol açtığını düşündürmüştür. Benzer şekilde Nie ve ark. (2005) Bt mısırdaki bazı fenolik asitlerin, transgenik olmayan atalarına göre daha düşük seviyelerde olduğunu göstermiştir (81). Şişirilmiş GD mısır tanelerindeki toplam fenolik ve flavonoid miktarlarında olduğu gibi; SOD ve POD enzim aktivitelerinin kontrolden daha düşük bulunması, MDA konsantrasyonunun bu hatta ait tanelerdeki yüksek dereceleri ile birlikte düşünüldüğünde, bu hatlardaki oksidatif hasara karşı bu savunma sistemlerinin yeterli olmadığına bir göstergesi olabilir. Randhir ve Shetty (2005); mısır

filizlerdeki hem antioksidan aktivitenin hem de toplam fenolik içeriğin çimlenmenin birinci gününden itibaren sabit bir artış halinde olduğunu göstermiş ve erken büyüme evresindeki antioksidan aktivitenin hem POD aktivitesiyle hem de serbest çözülebilir fenoliklerle ilişkili olduğunu önermiştir (30).

Prolin aminoasidi tuz, kuraklık, aşırı sıcaklık, UV radyasyonları ve ağır metallere gibi çevresel streslere maruz kalmış birçok bitki türünde biriken organik bir osmotik korucudur (60). Bu birikim prolinin artan biyosentezinden olduğu kadar, mevcut prolinin düşük seviyelerdeki kullanımından ve prolin yıkımındaki azalmadan kaynaklanmaktadır (82). Mısır tanelerindeki varlığı önceki çalışmalarda (61) da tespit edilmiş olan prolinin hücre içindeki miktarlarını belirlemek için distile suda bekletilerek şişirilmiş mısır tanelerinin öğütülmesi ile elde edilen mısır unlarından yararlanılmıştır. Prolin birikiminin GD mısır tanelerinde; kontrol grubundakine göre belirgin derecede fazla olması GD mısırdaki gen müdahalesinin hücrelerde bir stres sebebi olabileceği ihtimalini akla getirmektedir. Yang ve ark. (2009)'nın artan prolin birikiminin, bitkilerdeki stresin bir göstergesi olarak, streslere karşı geliştirilen en tipik hücresel adaptasyonlardan biri olduğunu belirtmesi de bu görüşü destekler niteliktedir (83). Türden türe değişmekle beraber; prolin birikiminin en çok çiçeklerde ve tohumlarda gerçekleştiği bilinmekte ve bu şekilde artan prolinin; hücrelerdeki osmotik dengenin sağlanmasında, reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasında ve hücre yapısının korunmasında görev aldığı belirtilmektedir (60). Prolin; membranlardaki ve proteinlerdeki hasarları önleyerek stres toleransının iyileştirilmesinde önemli bir yardımcı olarak kabul edilmektedir (60, 84). Çalışmada GD mısır tanelerinden elde edilen hücre özütlerinin protein içeriği kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur. Bu durum, protein içeriği bakımından zengin olduğu bilinen mısır tanelerinde gen eklenmesinin besin içeriğini değiştirdiğini göstermiştir. Bu değişiklik; GD mısırdaki önemli prolin artışının tanelerdeki protein seviyesinin iyileştirilmesinde yeterli olmadığını düşündürmektedir. Bu bulgular; McCann ve ark. (2007)'nin herbisit ve böcek dayanıklılığı arttırılmış transgenik mısır taneleriyle yaptığı ve bu tanelerin, kontrol grubuyla benzer protein içeriği gösterdiği araştırmasıyla uyumsuzdur (85).

Mısır tanelerinin bileşiminin; tohum olarak kullanılan tanelerden gelişen fidelerin sağlıklı olmasında olduğu kadar, insan ve hayvan beslenmesinde de önemli

olduğu bilinmektedir (86). Özellikle monosakkaritler ve disakkaritler olarak bilinen çözülebilir şekerler, yaşayan tüm hücrelerin yapı ve fonksiyonlarının korunmasında önemli bir görev üstlenmektedirler (18). Mısır tanelerinin gelişimleri sırasında önemli miktarlarda karbohidrat biriktirdikleri; tanelerdeki çözülebilir şeker bileşimlerindeki değişikliklerin yaşlanan mısır tohumlarındaki canlılık kaybı ile büyük ölçüde bağlantılı olduğu belirtilmiştir (18). Herbisite karşı dayanıklı ve böceklere karşı dirençli mısır taneleriyle yapılan bir araştırmada; tanelerdeki toplam karbohidrat içeriği bakımından iki genotip arasında önemli fark olmadığı gösterilmiştir (85). Çözülebilir şekerler arasında yer alan sukroz, glukoz ve fruktozun bitki yapısında ve metabolizmasında hem hücresel hem de tüm organizma düzeyinde belirgin bir merkezi rol oynadığı bilinmektedir (87). Bu çalışmada çeşitli monosakkaritlerin, disakkaritlerin ve trisakkaritlerin miktarları ile GD ve kontrol grubu mısır tanelerindeki karbohidrat profilleri belirlenmiştir. Analizleri yapılan iki genotip arasında glukoz miktarları bakımından önemli bir fark bulunamazken; bir diğer monosakkarit olan fruktoz içeriğinin GD tohumda daha zengin olduğu belirlenmiştir. GD taneler disakkarit olan sukroz miktarı bakımından kontrol grubunun 10 katı kadar bir içeriğe sahiptir. Önemli birer besin maddesi olan bu moleküllerin; çeşitli streslere karşı cevaplarda da gen ifadelerinde önemli değişikliklere sebep olacak sinyalizasyon molekülleri olarak çalıştıkları bildirilmektedir (87). Mitokondrial solunum gibi reaktif oksijen türlerinin üretildiği çeşitli metabolik tepkimeler çözülebilir şekerlerle doğrudan bağlantılı olup; bu şekerler, fenolik maddelerin üretildiği pentoz-fosfat yolu gibi antioksidan süreçlerle de doğrudan ilişkilidir (87). Riboz, arabinoz, maltoz ve melebioz içeriklerine her iki genotipte de rastlanmazken; GD tanelerin indirgen-olmayan bir disakkarit olan trehaloz içeriği bakımından da kontrolün aksine noksan olduğu belirlenmiştir. Almeida ve ark. (2003) trehalozun mısırdaki özellikle çeşitli stresler altında protein stabilizasyonunda ve hücre membranlarının korunmasında görev aldığını belirtmiştir (88). GD mısır tanelerindeki baskın çözülebilir şeker olduğu belirlenen sukrozun yağ asidi metabolizmasıyla bağlantılı olabileceği ifade edilmiştir (89).

Mısır tanelerindeki protein, nişasta ve yağın nispi bileşimleri önemli bir genetik bileşen olarak kabul edilmekte (90) ve yağ asidi içeriğinin mısırözü yağının besin değerinin belirlenmesinde önemli bir kriter olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada

GD ve kontrol grubundaki mısır tanelerinin toplam yağ içerikleri ve yağ asidi kompozisyonları kıyaslanmıştır. Buna göre kontrol grubu tanelerdeki toplam yağ miktarının transgenik tanelere göre daha fazla olduğu ve mısır tanelerindeki baskın yağ asitlerinin her iki grupta da linoleik asit (C18:2) ve oleik asit (C18:1) olduğu saptanmıştır. GD ve geleneksel mısır tanelerinden elde edilen işlenmemiş yağların karşılaştırıldığı çalışmalarda; tanelerdeki toplam lipidlerin kuru ağırlığın %3.2-3.4'ünü oluşturduğu ve genetik modifikasyonun bu tanelerdeki toplam yağ içeriğinde çok küçük bir değişime sebep olduğu belirlenmiştir (3). Bahsedilen araştırmadaki (3) toplam yağ miktarlarının, bu çalışmadakinin aksine kontrol grubunda kısmen daha fazla olduğu bulunmuştur. Mısırözü yağındaki doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine oranla daha fazla olduğu (%75'ten yüksek oranda) ve linoleik asidin oleik asitle beraber tüm yağların bileşiminde en çok bulunan doymamış yağ asidi olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak; hücre membranları genellikle fosfolipidlerden oluşmakta ve tohum gelişiminin erken safhaları aşırı hücre bölünmesiyle karakterize edilmektedir. Yüksek oranda oleik asit ve linoleik asit biyosentezi gelişen tohumlardaki hücrelerin membran permeabilitesini ve akışkanlığını düzenleyen fosfolipidlerin sentezi için gereklidir (91). El-Sanhoty ve ark. (2006)'ın Bt mısır ve kontrol grubu mısır tanelerindeki 10 farklı yağ asidi içeriklerini kıyasladığı araştırmalarında (3), Bt mısırdaki yağ asidi kompozisyonlarının kontroldeki ile kıyaslanabilir seviyelerde olduğu ve linoleik asidin, bu araştırmadaki bulgularla benzer şekilde, mısır tanelerinde en çok bulunan yağ asidi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, herbisitlere ve böceklere karşı dayanıklılığı arttırılmış GD mısır tanelerindeki yağ asidi bileşimlerini araştıran bir başka çalışmada yine linoleik asidin ve oleik asidin bu tanelerdeki baskın yağ asitleri olduğu ve GD ile kontrol grubu genotipler arasında bu iki yağ asidinin bileşimi bakımından gözle görülür bir fark olmadığı belirtilmiştir (85). Mısırözü yağındaki oleik asit oranının arttırılmasıyla yağın oksidatif stabilitesinin arttırılabileceği ve böylece elde edilebilecek olan daha sağlıklı yağ kompozisyonu sayesinde kalp damar hastalıklarının azaltılabileceği önerilmiştir (92, 93). Kontrol grubunda varlığı tespit edilemeyen ve doymuş bir yağ asidi olan palmitik asit (C16:0) GD mısırdaki linoleik asit ve oleik asitten sonra en çok bulunan yağ asididir. Mısırözü yağında; palmitik asit ve stearik asit (C18:0) gibi doymuş yağ asitlerinin yağ bileşimindeki oranlarının arttırılması; gıda üreticilerinin istenmeyen trans yağ asidi oluşumu gerçekleştirmeksizin, margarin üretmelerine olanak

sağlamaktadır (92). Sonuç olarak bu çalışma ile kontrol grubu mısır tanelerindeki genetik müdahalenin tanelerdeki toplam yağ miktarını azalttığı; ancak palmitik asit ve heptadekenoik asit dışındaki yağ asidi kompozisyonlarında büyük farklara yol açmadığını gösterilmiştir.

Sonuç olarak; biyoteknolojik olarak geliştirilen tohumlarda, eklenen gen ya da genlerin tohumlardaki besin değerlerine, stres göstergelerine ve antioksidan parametrelere olan etkisini inceleyen bu araştırma bu alandaki çalışmalar arasında özgün bir değere sahiptir. GD ve kontrol mısır taneleri arasında, incelenen parametreler bakımından önemli farklılıklar olduğu ve bu farklılıklara sebep olan fizyolojik ve genetik mekanizmaların daha ayrıntılı araştırmalara ihtiyaç duyduğu açıktır. Gen mühendisliği çalışmalarında en çok kullanılan bitkilerden biri olan mısır bitkisinin hem tanelerinin hem de bu tanelerden elde edilen yan ürünlerin gıda sektöründeki yeri ve insan sağlığı açısından önemi düşünüldüğünde: bu çalışmadan elde edilen bulguların bu alandaki diğer çalışmalara ışık tutacağı kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Halford, N.G. 2012. *Genetically Modified Crops 2nd Edition*. Imperial College Press, London, UK.
2. Çelik, V. ve Balık, D.T. 2007. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO), *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 23 (1-2): 13-23.
3. El-Sanhoty, R., Shahwan, T. and Ramadan, M. F. 2006. Application of Artificial Neural Networks to Develop a Classification Model Between. Genetically Modified Maize (Bt-176) and Conventional Maize by Applying Lipid Analysis Data. *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (6): 628-636.
4. Dickerson, G.W. 2008. *Specialty Corns: Guide H-232*. Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Home Economics, New Mexico State University.
5. 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.
6. Sapkota, U. (2012). Morphology of maize. <http://oceanicumes.blogspot.com.tr/2012/12/morphology-of-maize.html>. Web adresinden 06 Haziran 2016 tarihinde erişilmiştir.
7. Ranum, P., Peña-Rosas, J.P. and Garcia-Casal, M.N. 2014. Global Maize Production, Utilization, and Consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1312 (1): 105-112.
8. Özcan, S. 2009. Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime Katkısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2 (2): 01-34.
9. Nafziger, E.D. 2010. Growth and Production of Maize: Mechanized Cultivation. In: *Soils, Plant Growth and Crop Production* (Verheye, W.H., Ed.), EOLSS Publishers Co. Ltd., United Kingdom.
10. Kırtok, Y. 1998. *Mısır Üretimi ve Kullanımı*. Kocaelik Yayıncılık, İstanbul.
11. USDA. (2016). World agricultural production. *World Production, Markets, and Trade Reports May 10, 2016*. <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. Web adresinden 06 Haziran 2016 tarihinde erişilmiştir.

12. The Statistics Portal. (2015). Global corn production in 2015, by country (in 1,000 metric tons). <http://www.statista.com/statistics/254292/global-corn-production-by-country>. Web adresinden 06 Haziran 2016 tarihinde erişilmiştir.
13. Kuşvuran, A. ve Nazlı, R.İ. 2014. Orta Kızılırmak Havzası Ekolojik Koşullarında Bazı Mısır (*Zea mays* L.) Çeşitlerinin Tane Mısır Özelliklerinin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 24 (3): 233-240.
14. TMO. (2016). Türkiye mısır ekiliş - üretim - verim ve TMO alımları (1938-2015). <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/istatistikler/tablolari/5misireuva.pdf>. Web adresinden 06 Haziran tarihinde erişilmiştir.
15. Dickerson, G.W. 2003. *Specialty corns: Guide H-232*. Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Home Economics, New Mexico State University, New Mexico, USA.
16. Brown, W.L. and Darrah, L.L. 1985. Origin, Adaptation, and Types of Corn. In: *National Corn Handbook* (Crom, R.L., Ed.), A Publication of the National Corn Handbook Project, Iowa, USA.
17. Bewley, J.D. and Black, M. 1994. *Seeds*. Springer, US, New York.
18. Wattanakulpakin, P., Photchanachai, S., Ratanakhanokchai, K., Kyu, K.L., Ritthichai, P., and Miyagawa, S. 2014. Hydropriming Effects on Carbohydrate Metabolism, Antioxidant Enzyme Activity and Seed Vigor of Maize (*Zea mays* L.). *African Journal of Biotechnology* 11 (15): 3537-3547.
19. Bailly, C. 2004. Active Oxygen Species and Antioxidants in Seed Biology. *Seed Science Research* 14 (02): 93-107.
20. Mittler, R. 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends in Plant Science* 7 (9): 405-410.
21. Schopfer, P. 2001. Hydroxyl Radical-Induced Cell-Wall Loosening in Vitro and in Vivo: Implications for the Control of Elongation Growth. *The Plant Journal* 28 (6): 679-688.
22. Beckman, K.B. and Ames, B.N. 1997. Oxidative Decay of DNA. *Journal of Biological Chemistry* 272 (32): 19633-19636.
23. Møller, I.M. 2001. Plant Mitochondria and Oxidative Stress: Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species. *Annual Review of Plant Biology* 52 (1): 561-591.

24. Bowler, C., Montagu, M.V., and Inze, D. 1992. Superoxide Dismutase and Stress Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 43 (1): 83-116.
25. Puntarulo, S., Sánchez, R.A., and Boveris, A. 1988. Hydrogen Peroxide Metabolism in Soybean Embryonic Axes at the Onset of Germination. *Plant Physiology* 86 (2): 626-630.
26. Staniek, K. and Nohl, H. 2000. Are Mitochondria a Permanent Source of Reactive Oxygen Species?. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1460 (2): 268-275.
27. Willekens, H., Inzé, D., Van Montagu, M., and Van Camp, W. 1995. Catalases in Plants. *Molecular Breeding* 1 (3): 207-228.
28. Kiran, C. R., Rao, D. B., Sirisha, N., and Rao, T.R. 2012. Impact of Germination on Biochemical and Antioxidant Enzymes of *Ceiba pentandra* (Kapok) Seeds. *American Journal of Plant Sciences* 3 (9): 1187-1192.
29. Aalen, R.B. 1999. Peroxiredoxin Antioxidants in Seed Physiology. *Seed Science Research* 9 (04): 285-295.
30. Randhir, R. and Shetty, K. 2005. Developmental Stimulation of Total Phenolics and Related Antioxidant Activity in Light-and Dark-Germinated Corn by Natural Elicitors. *Process Biochemistry* 40 (5): 1721-1732.
31. FAO Corporate Document Repository. (1988). Maize in human nutrition. <http://www.fao.org/docrep/t0395e/T0395E02.htm>. Web adresinden 06 Haziran tarihinde erişilmiştir.
32. Holst-Jensen, A. 2009. Testing for Genetically Modified Organisms (GMOs): Past, Present and Future Perspectives. *Biotechnology Advances* 27 (6): 1071-1082.
33. Rivera, A.L., Gómez-Lim, M., Fernández, F., and Loske, A.M. 2012. Physical Methods for Genetic Plant Transformation. *Physics of Life Reviews* 9 (3): 308-345.
34. Barampura, S. and Zhang, Z.J. 2011. Recent Advances in Plant Transformation. *Plant Chromosome Engineering: Methods and Protocols* 1-35.
35. Atsan T. ve Kaya E.T. 2008. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Tarım ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (2): 1-6.

36. Uzogara, S.G. 2000. The Impact of Genetic Modification of Human Foods in the 21st Century: A review. *Biotechnology Advances* 18(3): 179-206.
37. CBAN. (2015). Where in the world are GM crops and foods?. GMO Inquiry. <http://gefreakamloops.org/wp-content/uploads/2015/07/where-in-the-world-gm-crops-foods.pdf>. Web adresinden 06 Haziran tarihinde erişilmiştir.
38. James, C. 2015. ISAAA Brief 49–2014: *Executive summary. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2014*. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications.
39. Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M. and Toulmin, C. 2010. Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* 327 (5967): 812-818.
40. Vain, P. 2007. Thirty Years of Plant Transformation Technology Development. *Plant Biotechnology Journal* 5 (2): 221-229.
41. Rayan, A.M. and Abbott, L.C. 2015. Compositional Analysis of Genetically Modified Corn Events (NK603, MON88017× MON810 and MON89034× MON88017) Compared to Conventional Corn. *Food Chemistry* 176: 99-105.
42. Shrestha, H.K., Hwu, K.K., Wang, S.J., Liu, L.F., and Chang, M.C. 2008. Simultaneous Detection of Eight Genetically Modified Maize Lines Using a Combination of Event-and Construct-Specific Multiplex-PCR Technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (19): 8962-8968.
43. 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.
44. 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.
45. Stein, A.J. and Rodríguez-Cerezo, E. 2009. *The Global Pipeline of New GM Crops*. European Commission Joint Research Centre, Spain.
46. Drury, S.M., Reynolds, T.L., Ridley, W.P., Bogdanova, N., Riordan, S., Nemeth, M.A., Sorbet, R., Trujillo, W.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.
47. EPPO. (2011) PQR - EPPO database on quarantine pests, <http://www.eppo.int>. Web adresinden 06 Haziran tarihinde erişilmiştir.
 48. TBBDM. (2011). Yem amaçlı kullanılmak istenilen genetiği değiştirilmiş MON810 mısır çeşidi ve ürünleri için bilimsel değerlendirme raporu. <http://www.tbbdm.gov.tr/Files/arsiv/yem/misir/risk/MON810.pdf>. Web adresinden 06 Haziran 2016 tarihinde erişilmiştir.
 49. Greenpeace. (2007). Toxin in GM maize: New research reveals risks of Bt Maize grown in Europe <http://stopogm.net/sites/stopogm.net/files/ToxininGMMaize.pdf>. Web adresinden 06 Haziran 2016 tarihinde erişilmiştir.
 50. Doumas, B.T., Waston, W.A., and Biggs, A.G. 1971. Biuret Method for Quantitative Estimation of Total Protein in Serum or Plasma. *Clinica Chimica Acta* 31: 87-91.
 51. Can, Z., Yıldız, O., Şahin, H., Turumtay, E.A., Silici, S., and Kolaylı, S. 2015. An Investigation of Turkish Honeys: Their Physico-Chemical Properties, Antioxidant Capacities and Phenolic Profiles. *Food Chemistry* 180: 133-141.
 52. 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.
 53. Marinova, D., Ribarova, F., and Atanasova, M. 2005. Total Phenolics and Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy* 40: 255-260.
 54. Heath, R.L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts. I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189–198.
 55. Wang, S.Y., Jiao, H.J., and Faust, M. 1991. Changes in Ascorbate, Glutathione, and Related Enzyme Activities During Thidiazuron-Induced Bud Break of Apple. *Physiologia Plantarum* 82 (2): 231-236.
 56. Rao, M.V., Paliyath, G., and Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B- and Ozone-Induced Biochemical Changes in Antioxidant Enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 110:125–136.

57. Burke, J.J. and Oliver, M.J. 1992. Differential Temperature Sensitivity of Pea Superoxide Dismutases. *Plant Physiology* 100: 1595-1598.
58. Bergmeyer, H.U. 1974. *Methods of Enzymatic Analysis, vol. II, Section C: Methods for Determination of Enzyme activity, 2nd Edition*, Academic Press, New York and London.
59. Sgherri, C.L.M., Liggini, B., Puliga, S., and Navari-Izzo, F. 1994. Antioxidant System in *Sporobolus stapianus*: Changes in Response to Desiccation and Rehydration. *Phytochemistry* 35: 561-565.
60. 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 & Biochemistry* 7 (3): 235-241.
61. Kravić, N., Anđelković, V., Šukalović, V.H.T., and Vuletić, M. 2009. Antioxidant Activity in Seeds of Maize Genotypes with Different Percentage of Exotic Germplasm. *Genetika* 41 (1): 21-28.
62. Harborne, J. B. 1997. Plant Secondary Metabolism. In: *Plant Ecology* (Crawley, M.J., Ed.). pp. 132-155, Blackwell Science, Oxford.
63. Taiz, L. and Zeiger, E. 1998. Plant Defense. In: *Plant Physiology*, pp. 347-376. Sinauer Associates, Sunderland.
64. Lepiniec, L., Debeaujon, I., Routaboul, J.M., Baudry, A., Pourcel, L., Nesi, N., and Caboche, M. 2006. Genetics and Biochemistry of Seed Flavonoids. *Annual Review of Plant Biology* 57: 405-430.
65. Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G., and Therios, I. 2006. Boron-Induced Oxidative Damage and Antioxidant and Nucleolytic Responses in Shoot Tips Culture of the Apple Rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh). *Environmental and Experimental Botany* 56 (1): 54-62.
66. Odum, H.T. and Odum, E.C. 2011. *A prosperous way down*. University Press of Colorado, Colorado.
67. Rótolo, G.C., Francis, C., Craviotto, R.M., Viglia, S., Pereyra, A., and Ulgiati, S. 2015. Time to Re-think the GMO Revolution in Agriculture. *Ecological Informatics* 26: 35-49.
68. Greiner, R. and Konietzny, U. 2008. Presence of Genetically Modified Maize and Soy in Food Products Sold Commercially in Brazil from 2000 to 2005. *Food Control* 19 (5): 499-505.

69. ISAAA. (2010). Pocket, K. No:1: Q and A about genetically modified crops. <http://isaaa.org/resources/publications/pocketk/1/default.asp>. Web adresinden 06 Haziran 2016 tarihinde erişilmiştir.
70. Ibrahim, M., Ahmad, N., Shinwari, Z. K., Bano, A., and Ullah, F. 2013. Allelopathic Assessment of Genetically Modified and Non Modified Maize (*Zea mays* L.) on Physiology of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Botany* 45 (1): 235-240.
71. Prodanović, O., Prodanović, R., Bogdanović, J., Mitrović, A., Milosavić, N., and Radotić, K. 2007. Antioxidative Enzymes During Germination of Two Lines of Serbian Spruce [*Picea omorika* (Panč.) Purkyně]. *Archives of Biological Sciences* 59 (3): 209-216.
72. Tommasi, F., Paciolla, C., de Pinto, M. C., and De Gara, L. 2001. A Comparative Study of Glutathione and Ascorbate Metabolism during Germination of *Pinus pinea* L. Seeds. *Journal of Experimental Botany* 52 (361): 1647-1654.
73. Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., and Yoshimura, K. 2002. Regulation and Function of Ascorbate Peroxidase Isoenzymes. *Journal of Experimental Botany* 53 (372): 1305-1319.
74. Arora, A., Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative Stress and Antioxidative System in Plants. *Current Science* 82 (10): 1227-1238.
75. Arrigoni, O., Zacheo, G., Arrigoni-Liso, R., Bleve-Zacheo, T., and Lamberti, F. 1979. Relationship between Ascorbic Acid and Resistance in Tomato Plants to *Meloidogyne incognita*. *Phytopatholog* 69 (6): 579-581.
76. De Gara, L., Pinto, M. D., and Arrigoni, O. 1997. Ascorbate Synthesis and Ascorbate Peroxidase Activity during the Early Stage of Wheat Germination. *Physiologia Plantarum* 100 (4): 894-900.
77. Creissen, G., Firmin, J., Fryer, M., Kular, B., Leyland, N., Reynolds, H., Pastori, G., Wellburn, F., Baker, N., Wellburn, A., and Mullineaux, P. 1999. Elevated Glutathione Biosynthetic Capacity in the Chloroplasts of Transgenic Tobacco Plants Paradoxically Causes Increased Oxidative Stress. *The Plant Cell* 11 (7): 1277-1291.
78. Gurnani, N., Gupta, M., Mehta, D., and Mehta, B.K. 2015. Chemical Composition, Total Phenolic and Flavonoid Contents, and in vitro Antimicrobial

- and Antioxidant Activities of Crude Extracts from Red Chilli Seeds (*Capsicum frutescens* L.). *Journal of Taibah University for Science*, In Press.
79. Al-Saeedi, A.H. and Hossain, M.A. 2015. Total Phenols, Total Flavonoids Contents and Free Radical Scavenging Activity of Seeds Crude Extracts of Pigeon Pea Traditionally Used in Oman for the Treatment of Several Chronic Diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 5 (4): 316-321.
 80. LeClere, S., Schmelz, E.A., and Chourey, P.S. 2007. Phenolic Compounds Accumulate Specifically in Maternally-Derived Tissues of Developing Maize Kernels. *Cereal Chemistry* 84 (4), 350-356.
 81. Nie, C.R., Luo, S.M., Lin, C.X., Zeng, R.S., Huang, J.H., and Wang, J.W. 2005. Status of DIMBOA and Phenolic Acids in Transgenic Bt Corn. *Crop and Pasture Science* 56 (8): 833-837.
 82. Delauney, A.J. and Verma, D.P.S. 1993. Proline Biosynthesis and Osmoregulation in Plants. *The Plant Journal* 4 (2): 215-223.
 83. Yang, S.L., Lan, S.S., and Gong, M. 2009. Hydrogen Peroxide-Induced Proline and Metabolic Pathway of its Accumulation in Maize Seedlings. *Journal of Plant Physiology* 166 (15): 1694-1699.
 84. Santarius, K.A. 1992. Freezing of Isolated Thylakoid Membranes in Complex Media. VIII. Differential Cryoprotection by Sucrose, Proline and Glycerol. *Physiologia Plantarum* 84 (1): 87-93.
 85. McCann, M.C., Trujillo, W.A., Riordan, S.G., Sorbet, R., Bogdanova, N.N., and Sidhu, R.S. 2007. Comparison of the Forage and Grain Composition from Insect-Protected and Glyphosate-Tolerant MON 88017 Corn to Conventional Corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (10): 4034-4042.
 86. Houx, J.H., Wiebold, W.J., and Fritschi, F.B. 2016. Long Term Tillage Treatment Effects on Corn Grain Nutrient Composition and Yield. *Field Crops Research* 191: 33-40.
 87. Couée, I., Sulmon, C., Gouesbet, G., and El Amrani, A. 2006. Involvement of Soluble Sugars in Reactive Oxygen Species Balance and Responses to Oxidative Stress in Plants. *Journal of Experimental Botany* 57 (3): 449-459.

88. Almeida, A.M., Araújo, S., Cardoso, L.A., Fevereiro, P., Torné, J.M., and Santos, D. 2003. Genetic Engineering of Maize towards Desiccation Tolerance: Electroporation with the Trehalose Gene. *Genetika* 35 (2): 111-121.
89. Gentinetta, E., Zambello, M., and Salamini, F. 1979. Free Sugars in Developing Maize Grain. *Cereal Chemistry* 56 (2): 81-83.
90. Baye, T.M., Pearson, T.C., and Settles, A.M. 2006. Development of a Calibration to Predict Maize Seed Composition Using Single Kernel near Infrared Spectroscopy. *Journal of Cereal Science* 43 (2): 236-243.
91. Saousse, H., Sadok, B., Habib, K., and Mayer, P.M. 2009. Fatty Acid Accumulation in the Different Fractions of the Developing Corn Kernel. *Food Chemistry* 117 (3): 432-437.
92. Duvick, S.A., Pollak, L.M., Edwards, J.W., and White, P.J. 2006. Altering the Fatty Acid Composition of Corn Belt Corn through *Tripsacum* Introgression. *Maydica* 51: 409-416.
93. White, P.J. and Weber, E.J. 2002. Lipids of the kernel. In: *Corn Chemistry and Technology* (White, P.J. and Johnson, L.A. Eds.), pp. 355-405, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, USA.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Adana'da doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 1998 yılında girdiği Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2003 yılında mezun oldu. Aynı yıl başladığı Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans öğrenimini 2006 yılında tamamladı. 2005-2009 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.