

ÇİMLENEN FASULYE TOHURLARINDA α -AMİLAZ ENZİM AKTİVİTESİ VE ERKEN BÜYÜME PARAMETRELERİ ÜZERİNE MEMELİ CİNSİYET HORMONLARININ ETKİLERİ**EFFECTS OF MAMMALIAN SEX HORMONES ON EARLY GROWTH PARAMETERS and α -AMYLASE ACTIVITY IN GERMINATING BEAN SEEDS**Serkan ERDAL^{1*} ve Mesut TAŞKIN¹*Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye***Geliş Tarihi:** 09 Aralık 2009 **Kabul Tarihi:** 29 Nisan 2010**ÖZET**

Bu çalışmada, memeli cinsiyet hormonları olan progesteron, β -östradiol ve androsteronun çimlenen fasulye tohumlarında erken büyüme parametreleri (çimlenme yüzdesi, kök ve gövde uzunluğu) ve çimlenmede önemli rol oynayan α -amilaz enzim aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-12} , 10^{-15} M) hazırlanan progesteron, β -östradiol ve androsteron çözeltilerinde yaklaşık 6 saat şişirilen fasulye tohumları 5 gün süreyle çimlendirilmiştir. 1., 3. ve 5. günlerin sonunda yapılan ölçümlerde, bu hormonların çalışılan bütün konsantrasyonlarda çimlenme oranını, kök ve gövde uzamasını ve α -amilaz aktivitesini önemli oranda artırdıkları gözlenmiştir. Tüm parametrelerde maksimum artışlar 10^{-9} M progesteron, 10^{-6} - 10^{-9} M β -östradiol ve 10^{-9} M androsteronda kaydedilmiştir.

Anahtar kelimeler: amilaz, çimlenme, fasulye, progesteron, β -östradiol, androsteron.

ABSTRACT

In this study, effects of mammalian sex hormones progesterone, β -estradiol and androsteron on early growth parameters (germination rate, root and shoot length) in germinating bean seeds and the activity of α -amylase which plays important roles in seed germination, were investigated. Bean seeds, that are imbibed about 6 hours in the solutions of hormone prepared in various concentrations (10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-12} , 10^{-15} M), were germinated during 5 day. Measurements were made at the end of 1st, 3rd and 5th days. It was observed that these hormones at all concentrations studied, significantly increased the germination rate, root and shoot lengths and α -

* Sorumlu Yazar: serkanerdal25@hotmail.com

amylase activity. The maximum increases at all parameters were recorded at 10^{-9} M progesterone, 10^{-6} - 10^{-9} M β -estradiol and 10^{-9} M androsterone.

Keywords: amylase, germination, bean, progesterone, β -estradiol, androsterone.

1. GİRİŞ

Steroidler, hayvanlar aleminde olduğu gibi bitkiler aleminde de yaygın olarak bulunan, kompleks gelişim ve üreme süreçlerinde membran bileşeni, kimyasal haberci, vitamin, sitotoksin ve hormon olarak rol oynayan, düşük molekül ağırlıklı, lipofilik bileşiklerdir (Geuns, 1978; Barrington, 1979; Sandor, 1979). Memelilerde üreme ve gelişim sürecinde çok önemli roller oynayan memeli cinsiyet hormonları da (MCH) steroid ailesinin bir üyesi olup, doğal olarak bitki yapısında bulunmaktadır. İlk olarak 20. yüzyılın başlarında Dohrn vd., (1926) tarafından bitkilerde memeli cinsiyet hormonlarının (MCH) tespit edilmesiyle birlikte bu hormonların bitkilerde varlığı ve etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Gelişmiş ve hassas cihazlar kullanılarak yapılan bu çalışmalarda, MCH'nin (östrojen, progesteron, testosteron ile bunların öncül ve türevi olan birçok madde) kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum, polen ve bulb gibi bitkilerin tüm organ ve dokularında doğal olarak bulunduğu belirlenmiş ve bitkideki rolleri hakkında birçok bilgiye ulaşılmıştır (Heftmann, 1975; Kopcewicz, 1970; Young vd., 1977, Simons ve Greenwich, 1989). Ancak bu steroidlerin bitkilerde oluşumu ve fonksiyonları tam olarak açıklanamamıştır (Simerky vd., 2009, Janeczko, 2005). Bu steroidler özellikle bitkinin üreme organlarında yüksek oranda belirlendikleri için cinsiyet oluşumuyla ilgili oldukları düşünülmektedir. Diğer yandan eksojen olarak bitkilere uygulanan MCH'nin büyüme, gelişme ve çiçeklenme üzerine olumlu etkiler gösterdikleri belirlenmiş, fakat neden oldukları fizyolojik ve biyokimyasal değişimler yeterince araştırılmamıştır (Janeczko, 2005). Özellikle bitki yaşamının en kritik dönemlerinden biri olan tohum çimlenmesi üzerine MCH'nin etkilerini belirlemeye yönelik çok az sayıda çalışma yapılmış olup, bu steroidlerin etkileri ve kullanılabilirliği hakkında ortak bir fikir ileri sürülemediği. Çimlenme, tohumun durgun ve etkisiz bir halden, etkin ve metabolik hale dönüşümünü sağlayan çok kompleks bir süreçtir (Dow ve Schwintzer, 1999). Tohum çimlenmesi hem iç (ör. hormonlar arası

etkileşimler) hem de dış kaynaklı (ör. sıcaklık, kuraklık) birçok faktör tarafından önemli oranda etkilenmektedir. Gerek iç gerekse dış kaynaklı faktörler çimlenmeyi (olumlu ya da olumsuz) önemli ölçüde etkilerler. MCH'da tohum çimlenmesini etkileyen faktörlerden biridir. MCH'nın çimlenme üzerine etkilerini belirlemek için, çimlenme hızında önemli rol oynayan α -amilaz enzim aktivitesinde neden olduğu değişimlerinde belirlenmesi gerekmektedir. Bilindiği gibi yüksek bitkilerin tohumları karbonhidrat ve protein gibi maddeleri kotiledon ya da endospermelerinde depo ederler (Bewley and Black, 1994). Tohumlar çimlenmeye başladıkları zaman ihtiyaç duydukları enerjiyi bu depo maddelerin yıkımından elde ederler (Subbarao vd., 1998). Çimlenme olayının devam etmesi için embriyonun enerji ihtiyacını karşılamada kullandığı karbonhidrat ve şekerlerin sürekli olarak temin edilmesi gereklidir. Oysa tohumlarda karbonhidratların depo formu nişastadır ve embriyo bu formda karbonhidratları kullanamamaktadır (Ricard vd., 1998; Guglielminetti vd., 2000). Bu nedenle çimlenmenin başlamasıyla beraber depo maddelerini embriyonun kullanabileceği forma dönüştüren hidrolitik enzimlerin sentezi uyarılır (Uriyo, 2001). Çimlenmede rol oynayan hidrolitik enzimlerin en önemlilerinden biri α -amilaz'dır. α -amilaz çimlenme süresince nişastanın şekerlere parçalanmasında rol oynar (Perata vd., 1997; Vartapetian and Jackson, 1997).

Bu nedenle α -amilaz miktarındaki meydana gelecek bir değişim tohumun çimlenme hızını etkileyeceği için, mevcut çalışmada çimlenen tohumların α -amilaz enzim aktivitesi ve buna bağlı olarak erken çimlenme parametreleri (çimlenme yüzdesi, kök ve gövde uzunluğu) üzerine MCH'nın etkilerinin araştırılması ve çimlenmeyi teşvik eden optimal hormon konsantrasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla protein bakımından zengin olan ve gelişmekte olan ülkelerde insanların protein ihtiyacının önemli bir bölümünü karşılama da kullanılan fasulye tohumları seçilmiştir.

2. MATERYAL METOT

2.1. Hormon Muamelesi ve Tohumların Ekilmesi

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) tohumları %1'lik sodyum hipokloritle oda sıcaklığında 20 dakika steril edildikten sonra saf su ile iyice yıkanmıştır (Aisien ve Stark, 1983). Hormonlar çok düşük miktarda (2-3 ml) metanol içerisinde çözülerek 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-12} and 10^{-15} M'lık progesteron, β -estradiol ve androsteron çözeltileri hazırlanmıştır. Tohumlar bu çözeltilerde (kontrol grubu olarak kullanılan tohumlarda 2-3 ml metanol içeren saf suda) yaklaşık 6 saat şişirilmiş ve daha sonra içerisinde 10 ml saf su bulunan Petri kaplarına ekilip, 25°C' de karanlıkta çimlenmeye bırakılmışlardır (Kato-Noguchi ve Macias, 2005; Marero vd., 1988).

2.2. Çimlenme Yüzdesi

Kök uzunluğu 1 mm veya daha fazla olan tohumlar çimlenmiş kabul edilmiştir. Çimlenme yüzdesi hormon muameleli tohumların ekiminden sonraki 1., 3. ve 5. günler sonundaki çimlenen tohumların sayılmasıyla belirlenmiştir.

2.3. α -Amilaz Aktivitesi

α -amilaz aktivitesini belirlemek için 1, 3 ve 5. günlerde hasat edilen tohumların endospermeleri 0,05M (pH 7) tris-maleat tamponunda homojenize edilip 2400g de 20 dakika santrifüj edilmiştir (Juliano and Varner, 1969). Elde edilen süpernatant enzim ekstraktı olarak kullanılmıştır. 0.5 ml enzim ekstraktı ve 0.5ml 40mM EDTA karışımına, 100 ml distile suda hazırlanan 150 mg çözümlü nişasta, 600 mg KH_2PO_4 ve 200 μmol CaCl_2 karışımından 1ml ilave edilerek reaksiyonun gerçekleşmesi için 5 dakika 30° C' de bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 0.05 N HCl' de 3mg KI ve 0.3 mg I ile hazırlanan iyodin ayırıcından 1ml ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Karışım distile suyla 13 ml' ye kadar seyreltildikten sonra 620 nm' de absorbansı okunmuş ve absorbansın 0,1 değişimine neden olan miktar 1 enzim ünitesi olarak dikkate alınmıştır (de Morais ve Takaki, 1998).

2.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için ANOVA testi yapılmış ve ortalamalar Duncan'ın multiple range testiyle kıyaslanmıştır. P değerleri ≤ 0.05 önem aralığı olarak düşünülmüştür.

3. BULGULAR

3.1. MCH'nin tohum çimlenmesi üzerine etkisi

Farklı konsantrasyonlarda hormon muamelesi yapılan tohumların 1, 3 ve 5. günlerin sonunda kaydedilen çimlenme yüzdeleri Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol grubuna oranla uygulanan tüm hormon konsantrasyonlarında tohum çimlenmesinin önemli oranda arttığı belirlenmiştir. Çimlenme oranı üzerine en olumlu etki progesteron için 10^{-9} M, östradiol için 10^{-6} - 10^{-9} M ve androsteron için de 10^{-9} M konsantrasyonda kaydedilmiştir. En yüksek çimlenme yüzdeleri 1. ve 3. günlerin sonunda sırasıyla progesteron uygulanan tohumlarda % 90 - 98; β -östradiol uygulananlarda % 95 - 100; androsteron uygulananlarda ise % 89 - 100 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda (saf su) ise 1. ve 3. günlerin sonunda çimlenme oranı sırasıyla % 78 - 90 olarak belirlenmiştir. 5. günün sonunda kontrol grubu ve hormon uygulaması yapılan tüm gruplarda % 100 çimlenme gözlenmiştir.

3.2. MCH'nin kök ve gövde uzunluğu üzerine etkisi

1. günün sonunda ilk kök oluşumları gözlenmesine karşın, gövde oluşumu 3. günün sonunda gözlenmiştir. Her üç hormon uygulandıkları tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla kök ve gövde uzunluğunu önemli derecede artırmıştır (Tablo 1). Maksimum kök uzunlukları 1, 3 ve 5. günlerin sonunda sırasıyla 10^{-9} M progesteron için 0.75, 5.73 ve 11.43; 10^{-6} - 10^{-9} M östradiol için 0.74, 5.49 ve 12.60; 10^{-9} M androsteron için 0.66, 5.99 ve 11.20 cm olarak ölçülürken, maksimum gövde uzunlukları da 3 ve 5. günlerin sonunda aynı konsantrasyonlarda progesteron için 1.69 ve 4.12; östradiol için 1.63 ve 3.82; androsteron için 1.72 ve 3.81 cm olarak kaydedilmiştir. Oysa kontrol grubunda maksimum kök uzunlukları 0.56, 5.09 ve 10.38 cm iken, maksimum gövde uzunlukları 1.12 ve 2.77 cm olarak kaydedilmiştir.

3.3. MCH'nin α -amilaz aktivitesi üzerine etkisi

Tablo 1'den görüldüğü gibi α -amilaz aktivitesi 1, 3 ve 5. günlerin sonunda hem progesteron, hem östradiol hem de androsteron tarafından önemli derecede artırılmıştır. En yüksek aktiviteler 10^{-9} M progesteron için 135, 142, 151 U.g⁻¹; 10^{-6} M östradiol için 132, 139, 141 U.g⁻¹ ve 10^{-9} M androsteron için 115, 122, 128 U.g⁻¹ olarak kaydedilmiştir. Kontrol grubunda ise amilaz aktivitesi sırasıyla 70, 82 ve 90 U.g⁻¹ doku olarak kaydedilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Mevcut çalışma, memeli cinsiyet hormonlarının (progesteron, β -östradiol ve androsteron) çimlenen fasulye tohumlarında çimlenme yüzdesi, kök-gövde uzunlukları ve α -amilaz aktivitesi üzerine etkilerini araştırmaya ve çok düşük konsantrasyonları da deneyerek çimlenmeyi uyaran optimal hormon konsantrasyonlarını belirlemeye odaklanmıştır.

Bu amaçla yapılan ölçümler her üç cinsiyet hormonunun da fasulye tohumlarının çimlenmesini önemli derecede artırdığını göstermiştir. Bu bulgular önceki araştırmacıların elde ettiği bulgularla uyum göstermektedir. Önceki çalışmalarda bezelye embriyosunun östron (1mg/l) tarafından uyarıldığı; östron, östradiol ve testosteronun çeşitli bitkilerde çimlenme derecesi ve büyüme oranını artırdığı bildirilmiştir (Martinez vd., 1976; Helmkamp ve Bonner, 1952).

Çimlenme hızındaki artışa paralel olarak kök ve gövde uzunlukları da her üç hormon tarafından kontrole oranla önemli oranda artırılmıştır. Maksimum kök ve gövde uzunlukları çimlenme hızının en fazla olduğu konsantrasyonlarda (10^{-9} M progesteron, 10^{-6} - 10^{-9} M β -östradiol ve 10^{-9} M androsteron) kaydedilmiştir. Dogra ve Thukral (1991) ve Dogra ve Kaur (1994) androsteneidon, östradiol, testosteron ve östronun çimlenen buğday tohumlarında kök ve gövde uzunluklarını artırdığını ve optimum hormon konsantrasyonunun 10^{-6} - 10^{-8} M aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Oysa Guan ve Roddick (1988) östron sülfat ve östradiol sülfatın kök uzamasını engellediğini, kök sayısında ise iki maddenin farklı sonuç ortaya çıkardığını rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar Guan ve Roddick

(1988)'in bulgularının aksine diğer araştırmacılar (Dogra ve Thukral, 1991; Dogra ve Kaur, 1994) tarafından bildirilen sonuçlar ile uyumludur. Fakat maksimum kök ve gövde uzunluğu sağlayan optimum hormon konsantrasyonları onların bildirdiği optimal konsantrasyon aralığından daha düşüktür.

Benzer şekilde MCH'nın uygulandığı tüm konsantrasyonlarda α -amilaz aktivitesinde önemli artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Önceki çalışmalarda buğdayda amilaz aktivitesinin östron ve 17 α -hidroksi progesteron tarafından artırıldığı ve maksimum enzim aktivitelerinin 10^{-6} - 10^{-8} M konsantrasyon aralığında kaydedildiği bildirilmiştir (Dogra ve Kaur, 1994). Bu sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla uyumlu olmasına karşın belirlediğimiz optimum konsantrasyonlardan (10^{-6} M progesteron, 10^{-6} - 10^{-9} M β -östradiol, 10^{-9} M androsteron) daha yüksektir.

MCH'nın bitkilerde nükleik asit, protein ve klorofil sentezini artırdığı bilinmektedir (Dogra ve Thukral, 1994). Çimlenme ve fide büyümesindeki artışlar artan sentez reaksiyonlarına bağlanabilir. Diğer yandan, MCH'nın giberellinlerle sinerjik etki gösterdiği ve onlar gibi fizyolojik cevaplar oluşturabildikleri bildirilmiştir (Kopcewicz, 1969). Maksimum enzim aktiviteleri, maksimum çimlenme yüzdeleri ve maksimum kök-gövde uzunluklarının aynı konsantrasyonlarda kaydedilmesi, bu hormonların ya doğrudan giberellinler gibi etki gösterip amilaz enzim aktivitesini uyararak, ya da dolaylı olarak giberellinlerin sentezlenmesini sağlayan fizyolojik cevaplar oluşturarak çimlenme hızında ve buna bağlı olarak kök-gövde uzamasında artışa neden olduğu şeklinde izah edilebilir.

5. ÖNERİLER

Sonuç olarak uygulanan her üç hormonda fasülye tohumlarının amilaz aktivitesini, çimlenme hızını ve kök-gövde uzunluklarını önemli derecede artırmıştır. 10^{-4} M' dan 10^{-15} M' a kadar olan tüm konsantrasyonlarda çalışılan parametrelerde kontrole oranla önemli uyarıcı etkiler kaydedilmekle birlikte optimum konsantrasyonlar progesteron için 10^{-6} M, β -östaradiol için 10^{-9} M, androsteron için 10^{-9} M olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar

önceki çalışmalarda elde edilen optimum konsantrasyonlardan daha düşük olması çok önemli bir sonuçtur. Çünkü günümüzde nüfus artışının yanı sıra artan küresel ısınma, iklimsel değişiklikler ve gittikçe kötüleşen çevre koşulları bitkileri olumsuz yönde etkilemekte ve verimliliklerini azaltmaktadır. Bununla birlikte dünyadaki ekilir arazi ortamının %10 gibi çok az bir oranda olması ve giderek azalması, birim alandan elde edilen verimi artırmaya yönelik çalışmaların hız kazanmasına neden olmuştur. Bu amaçla yapılan çalışmalarda bitki büyüme ve gelişmesini teşvik eden hormonlar başta olmak üzere birçok kimyasal madde kullanılmakta, ancak bu maddelerin insan ve hayvanlar üzerine etkileri tam olarak bilinmediğinden bu maddelerin kullanımına genellikle şüphe ile bakılmaktadır. 10^{-9} M gibi çok düşük konsantrasyonlarda maksimum tohum çimlenmesine sebep olan bu hormonların kullanımı, hormonların olası negatif yan etkilerini minimum seviyeye indirecek ve bu hormonların pratikte kullanılabilirliğini artıracaktır.

KAYNAKLAR

- Aisien, A.O. and Stark, J.R. (1983). The development of enzymes during germination and seedling growth in *Nigerian sorghum*. *Stärke*. 35:316-320.
- Barrington, E.J.W. (1979). in: *Hormones and Evolution* (E.J.W. Barrington, ed.) (pp. VII-XXI). London, Academic Press.
- Bewley, J.D. and Black M. (1994). *Seeds: Physiology of Development and Germination*. 2nd ed. (pp 1-31). New York and London, Plenum Press.
- de Morais, G.A. and Takaki, M. (1998). Determination of amylase activity in cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L. cv. carioca. *Braz. Arch. Biol. Techn.*, 41:17-25.
- Dogra, R. and Kaur, A. (1994). Effect of steroids on some growth and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. during germination. *Crop Res.*, 8: 611-620.
- Dogra, R. and Thukral, A. (1991). *Effect of steroid and plant hormones on some germination aspects of Triticum aestivum L.* In: *New trends in plant physiology Physiology* (Eds. K. K. Dhir, I. S. Dua and K. S. Chark), (pp. 65-70). New Delhi, Today and Tomorrow's Printers and Publishers.

- Dohrn, M., Faure, W., Poll, H. and Blotevogel, W. (1926). Tokokinine, Stoff mit sexualhormonartiger Wirkung aus Pflanzenzellen. *Med Klin.*, 22:1417-1419.
- Dow, M.A. and Schwintzer, C.R. (1999). Seed germination, seedling emergence, and seed bank ecology of sweet fern (*Comptonia peregrina* (L.) Coult.). *Can. J. Bot.*, 77: 1378-1386.
- Geuns, J. M. C. (1978) Steroid hormones and plant growth and development. *Phytochem.* 17, 1-14.
- Guan, M. and Roddick, J.G. (1988). Comparison of the effects of epibrassinolide and steroidal estrogens on adventitious root-growth and early shoot development in mung bean cuttings. *Physiol. Plantarum*, 73: 426-431.
- Guglielminetti, L., Busilacchi, H.A. and Alpi A. (2000). Effect of anoxia on α -amylase induction in maize caryopsis. *J. Plant Res.*, 113:185-92.
- Heftmann, E. (1975). Steroid hormones in plants. *Lloydia*, 38:195-209.
- Helmkamp, G. and Bonner, J. (1952). Some relationships of sterols to plant growth. *Plant Physiol.*, 28:428-436.
- Janczko, A. and Skoczowski, A. (2005). Mammalian sex hormones in plants. *Folia Histochem. Cyto.*, 43:71-79.
- Juliano, B. and Varner, J.E. (1969). Enzymic Degradation of Starch Granules in the Cotyledons of Germinating Peas. *Plant Physiol.*, 44:886-892.
- Kato-Noguchi, H. and Macias, F.M. (2005). Effects of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the germination and α -amylase activity in lettuce seeds. *J. Plant Physiol.*, 162:1304-1307.
- Kopcewicz, J. (1969). Influence of estrone on growth and endogenous gibberellin content in dwarf pea. *Bull. Acad. Pol. Sci. Cl. II. Ser. Sci. Biol.*, 17:727-31.
- Kopcewicz, J. (1970). Influence of estrogens on the flower formation in *Cichorium intybus* L. *Naturwissenschaften*, 57:136-137.
- Marero L.M., Payumo, E.M., Librando, E.C., Lainez, W.N., Gopez, M.D. and Homma, S. (1988). Technology of weaning food formulations prepared from germinated cereals and legumes. *J. Food Sci.*, 53:1391-1395.
- Martinez-Honduvilla, C.J., Gimenez-Solves, A. and Santos-Ruiz, A. (1976). Biochemical changes in *Pinus pinea* seeds. III. The effect of growth substances and steroidal hormones on nucleic acids. *Rev. Esp. Fisiol.*, 32: 169-174.

- Perata P., Guglielminetti, L. and Alpi, A. (1997). Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. *Ann. Bot-London*, 79: 9-56.
- Ricard, B., Van Toai, T., Chourey, P. and Saglio, P. (1998). Evidence for the critical role of sucrose synthase for anoxic tolerance of maize roots using a double mutant. *Plant Physiol.*, 116:1323-1331.
- Sandor, T. and Mehdi, A.Z. (1979) in: *Hormones and Evolution* (E.J.W. Barrington, ed.) pp. 1-72, Academic Press, London.
- Simerský, R., Novák, O., Morris, D.A., Pouzar, V. and Strnad, M. (2009). Identification and Quantification of Several Mammalian Steroid Hormones in Plants by UPLC-MS/MS. *J Plant Growth Regul.*, 28:125-136.
- Simons, R.G. and Grinwich, D.L. (1989). Immunoreactive detection of four mammalian steroids in plants. *Can. J. Bot.*, 67: 288-296.
- Subbarao, K.V., Datta, R. and Sharma, R. (1988). Amylases synthesis in scutellum and aleurone layer of maize seeds. *Phytochemistry*, 49:657-666.
- Uriyo, M.G., (2001). Changes in enzyme activities during germination of cowpeas (*Vigna unguiculata*, cv. California blackeye). *Food Chem.*, 73:7-10.
- Vartapetian, B.B. and Jackson, M.B. (1997). Plant adaptations to anaerobic stress. *Ann. Bot-London*, 79:3-20.
- Young, I.J., Knights, B.A. and Hillman, J.R. (1977). Oestradiol and its biosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *Nature*, 267: 429.

Tablo 1. Memeli cinsiyet hormonlarının çimlenen fasulye tohumlarının çimlenme yüzdesi, kök-gövde uzunlukları ve α -amilaz enzim aktivitesi üzerine etkileri

Uygulanan hormon ve Konsantrasyonu (M)		Çimlenme yüzdesi (%)			Kök uzunluğu (cm)			Gövde uzunluğu (cm)			Amilaz Enzim Aktivitesi (EU/g)		
		1. gün	3. gün	5. gün	1. gün	3. gün	5. gün	1. gün	3. gün	5. gün	1. gün	3. gün	5. gün
Progesteron	0	78 ^a	90 ^a	100 ^a	0.56 ^a	5.09 ^a	10.38 ^a	-	1.12 ^a	2.77 ^a	70 ^a	82 ^a	90 ^a
	10 ⁻⁴	81 ^b	93 ^b	100 ^a	0.61 ^b	5.30 ^b	10.80 ^{bc}	-	1.23 ^b	3.26 ^b	96 ^c	99 ^b	103 ^b
	10 ⁻⁶	87 ^c	95 ^c	100 ^a	0.66 ^c	5.56 ^{bc}	11.30 ^{de}	-	1.44 ^c	3.59 ^c	118 ^d	124 ^c	129 ^c
	10 ⁻⁹	90 ^d	98 ^d	100 ^a	0.75 ^e	5.73 ^c	11.43 ^e	-	1.69 ^d	4.12 ^d	135 ^e	142 ^d	151 ^d
	10 ⁻¹²	86 ^c	97 ^d	100 ^a	0.70 ^d	5.51 ^b	11.06 ^{cd}	-	1.57 ^{cd}	3.87 ^d	130 ^e	133 ^d	138 ^c
	10 ⁻¹⁵	80 ^b	91 ^a	100 ^a	0.63 ^{bc}	5.13 ^a	10.62 ^{ab}	-	1.16 ^{ab}	3.16 ^b	84 ^b	95 ^b	105 ^b
β -östradiol	0	78 ^a	90 ^a	100 ^a	0.565 ^a	5.09 ^a	10.38 ^a	-	1.12 ^a	2.77 ^a	70 ^a	82 ^a	90 ^a
	10 ⁻⁴	83 ^b	95 ^c	100 ^a	0.67 ^c	5.26 ^c	11.10 ^b	-	1.25 ^b	3.07 ^a	120 ^c	130 ^{cd}	132 ^c
	10 ⁻⁶	95 ^d	100 ^d	100 ^a	0.74 ^d	5.44 ^d	12.18 ^c	-	1.63 ^c	3.75 ^{bc}	132 ^{de}	139 ^d	141 ^d
	10 ⁻⁹	95 ^d	100 ^d	100 ^a	0.74 ^d	5.49 ^d	12.60 ^d	-	1.55 ^c	3.82 ^c	130 ^e	137 ^d	140 ^d
	10 ⁻¹²	92 ^c	100 ^d	100 ^a	0.68 ^c	5.27 ^c	12.00 ^c	-	1.29 ^b	3.44 ^{bc}	122 ^{cd}	126 ^c	129 ^c
	10 ⁻¹⁵	83 ^b	92 ^b	100 ^a	0.61 ^b	5.16 ^{ab}	10.90 ^b	-	1.22 ^{ab}	3.11 ^a	95 ^b	100 ^b	109 ^b
Androsteron	0	78 ^a	90 ^a	100 ^a	0.565 ^a	5.09 ^a	10.38 ^a	-	1.12 ^a	2.77 ^a	70 ^a	82 ^a	90 ^a
	10 ⁻⁴	82 ^b	95 ^b	100 ^a	0.58 ^{ab}	5.21 ^{ab}	10.60 ^a	-	1.31 ^b	3.13 ^b	85 ^b	88 ^a	95 ^{ab}
	10 ⁻⁶	86 ^{cd}	95 ^b	100 ^a	0.60 ^{bc}	5.79 ^c	10.95 ^c	-	1.59 ^c	3.75 ^d	93 ^c	97 ^b	99 ^b
	10 ⁻⁹	89 ^d	100 ^c	100 ^a	0.66 ^d	5.99 ^d	11.20 ^d	-	1.72 ^d	3.81 ^e	115 ^d	122 ^d	128 ^d
	10 ⁻¹²	84 ^{bc}	100 ^c	100 ^a	0.62 ^c	5.63 ^c	10.75 ^{bc}	-	1.51 ^c	3.57 ^c	99 ^c	104 ^c	108 ^c
	10 ⁻¹⁵	81 ^{ab}	92 ^{ab}	100 ^a	0.60 ^{bc}	5.32 ^b	10.55 ^{ab}	-	1.29 ^b	3.20 ^b	78 ^a	84 ^a	96 ^{ab}

Aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p < 0,05$).