

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİLİKONUN KURAKLIK VE TUZ STRESİ ALTINDAKİ YERFISTIĞINDA  
(*Arachis hypogaea* L.) ÇEŞİTLİ ANTİOKSİDATİF SİSTEM BİLEŞENLERİ  
VE GEN AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Hande Nur KURU**

**Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ZİRAAT FAKÜLTESİ TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ISPARTA - 2014**

© 2014 [Hande Nur KURU]

## TEZ ONAYI

**Hande Nur KURU** tarafından hazırlanan " **Silikonun Kuraklık ve Tuz Stresi Altındaki Yerfıstığında (*Arachis hypogaea* L.) Çeşitli Antioksidatif Sistem Bileşenleri ve Gen Aktiviteleri üzerine Etkisi** " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

**Danışman**                      **Yrd. Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY**  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Jüri Üyesi**                      **Doç. Dr. Bekir ŞAN**  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Jüri Üyesi**                      **Doç. Dr. Seyhan ULUSOY**  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Enstitü Müdürü**              **Prof. Dr. Ahmet ŞAHİNER**

## **TAAHHÜTNAME**

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

**Hande Nur KURU**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                     | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| İÇİNDEKİLER.....                                                                                    | i     |
| ÖZET .....                                                                                          | ii    |
| ABSTRACT .....                                                                                      | iv    |
| TEŞEKKÜR .....                                                                                      | vi    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                               | vii   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                             | viii  |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                                                                 | ix    |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                      | 1     |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                                                            | 5     |
| 2.1. Yerfıstığı ( <i>Arachis hypogaea</i> L.) .....                                                 | 5     |
| 2.2. Bitkilerde oksidatif stres.....                                                                | 6     |
| 2.3. Yerfıstığında oksidatif stres .....                                                            | 9     |
| 2.3.1. Kuraklık stresi ve yerfıstığı .....                                                          | 10    |
| 2.3.2. Tuz stresi ve yerfıstığı.....                                                                | 12    |
| 2.4. Yerfıstığı stres toleransında <i>LEA</i> ve <i>Resveratrol sentaz</i> genleri.....             | 16    |
| 2.4.1. Yerfıstığı ve <i>LEA</i> (Geç Embriyogenez Proteini) .....                                   | 16    |
| 2.4.2. Yerfıstığı ve <i>Resveratrol sentaz</i> geni .....                                           | 20    |
| 2.5. Stres altındaki bitkilerde silisyum uygulamaları.....                                          | 23    |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....                                                                          | 27    |
| 3.1. Bitki materyali .....                                                                          | 27    |
| 3.2. Bitki yetiştirilmesi ve stres uygulamaları .....                                               | 27    |
| 3.3. Gövde/kök uzunluğu ve oranı, kuru/yaş ağırlık ve bağıl su içeriğinin belirlenmesi.....         | 28    |
| 3.4. Prolin miktarının belirlenmesi .....                                                           | 28    |
| 3.5. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi.....                                                 | 29    |
| 3.6. Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi.....                                              | 29    |
| 3.7. İyon sızıntısı.....                                                                            | 29    |
| 3.8. Klorofil miktarının belirlenmesi .....                                                         | 30    |
| 3.9. SOD enzim aktivitelerinin belirlenmesi .....                                                   | 30    |
| 3.10. Elemental silisyumun belirlenmesi .....                                                       | 30    |
| 3.11. <i>Resveratrol sentaz</i> ve <i>LEA</i> gen ifadelerinin belirlenmesi.....                    | 30    |
| 3.12. RNA izolasyonu .....                                                                          | 31    |
| 3.13. Ters ifadeli PCR.....                                                                         | 31    |
| 3.14. İstatistiksel analizler .....                                                                 | 31    |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....                                                                         | 32    |
| 4.1. Anatomik ve fizyolojik etkiler .....                                                           | 32    |
| 4.2. Biyokimyasal tepkiler.....                                                                     | 34    |
| 4.3. Silisyumun ve stres uygulamalarının SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi .....                  | 38    |
| 4.4. Silisyumun ve stres uygulamalarının dokularda silisyum birikimi üzerine etkisi .....           | 41    |
| 4.5. Silisyumun ve stres uygulamalarının <i>LEA</i> ve <i>STS</i> gen ifadeleri üzerine etkisi..... | 42    |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....                                                                           | 47    |
| 6. KAYNAKLAR.....                                                                                   | 52    |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                                       | 66    |

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## SİLİKONUN KURAKLIK VE TUZ STRESİ ALTINDAKİ YERFISTIĞINDA (*Arachis hypogaea* L.) ÇEŞİTLİ ANTIOKSİDATİF SİSTEM BİLEŞENLERİ VE GEN AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hande Nur KURU

Süleyman Demirel Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY

Bu çalışmada, kuraklık ve tuz stresleri ile bu stresler altında silisyum uygulamasının, zengin bir protein ve yağ kaynağı olan yerbıstığının anatomik özellikleri, antioksidatif sistem bileşenleri ve iki farklı gen ifadesine etkisi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Elde edilen veriler ışığında, literatürde çok kısıtlı bilgi bulunan tuz ve kuraklık stresinin yerbıstığı dokularındaki etkisinin incelenen parametreler dahilinde aydınlatılması ve stres toleransı için yerbıstığı ıslahında kullanım potansiyeli olabilecek çeşitli moleküler mekanizmaların belirlenmesi bu çalışmanın hedefleri arasındadır. Ayrıca silisyumun kuraklık ve tuz stresine etki mekanizmalarının bir derece daha aydınlatılması ve bu elementin, abiyotik stresle mücadele için tarımdaki potansiyel kullanımının değerlendirilmesi de çalışmanın bir diğer hedefidir.

Bu hedeflerle, kuraklık ve tuz stresleri altında değişen gövde/kök uzunluğu, kuru/yaş ağırlık ve bağıl su içeriği, prolin, malondialdehit, hidrojen peroksit ve klorofil miktarları, iyon sızıntısı ve SOD enzim aktiviteleri gibi antioksidan sistem göstergeleri ile *LEA7-1* ve *rezveratrol sentaz (STS)* gen aktiviteleri, silisyum varlığında kontrol bitkilerle karşılaştırmalı olarak kök ve gövde dokularında incelenmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte uygulanan streslerin yerbıstığı anatomisi üzerinde olumsuz etkileri gözlenmiş, kuraklık stresinin yaş ağırlık üzerindeki etkileri tuz stresine kıyasla daha belirgin bulunmuş, her iki stresin de gövde uzunluğu ve su tutma kapasitesi üzerindeki etkileri benzer şiddette olmuştur. Silisyum uygulaması normal şartlar altında gerçekleştirildiğinde incelenen tüm anatomik parametreler üzerinde olumlu etkiler göstermiş, her iki stres uygulaması altında da genellikle doku kuru ve yaş ağırlıkları ile uzunluklarının artmasına neden olmuştur. Stres altındaki dokularda su tutma kapasitesi de silisyum varlığında belirgin biçimde artmıştır.

Tuz stresi olumsuz etkisini incelenen parametrelerden özellikle malondialdehit (MDA) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) miktarları ile kök dokularında süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesini artırarak göstermiştir. Tuz stresi altında rezveratrol sentezi yolundaki en önemli enzimlerden birini kodlayan *rezveratrol*

*sentaz (STS)* gen ifadesi her iki dokuda da azalmış, *LEA7-1* gen ifadesi ise kökte belirgin bir düşüş gösterirken gövdede artmıştır.

Kuraklığın dokulardaki olumsuz etkileri ise çarpıcı biçimde gövde MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve prolin seviyeleri ile SOD enzim aktivitesi üzerinde gözlenmiş, kök dokularının gövdeye kıyasla daha az stres belirtisi gösterdiği de belirlenmiştir. Kuraklık stresi *STS* gen ifadesini belirgin biçimde arttırmazken, hem gövde hem de kök dokularında *LEA7-1* aktivitesi belirgin artışlar göstermiş, bu genin yerfıstığı kuraklık stres toleransında önemli işlevleri olduğu ve yerfıstığı abiyotik stres toleransı için moleküler ıslah çalışmalarında kullanım potansiyeli olabilecek bir gen olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen veriler silisyumun yerfıstığında, anatomik özellikler, MDA ve prolin seviyeleri ile SOD enzim ve *LEA* gen aktiviteleri gibi çeşitli parametreler dahilinde, ancak belirli stres uygulamalarında ve belirli dokularda hafifletici etkisi olduğunu göstermiş, bununla beraber gerçekleştirilen birçok uygulama altında silisyumun toksik etkilerine de rastlanmıştır. Yapılan çalışmalar, uygulama süresi ve miktarının detaylı biçimde optimize edilmediği sürece tarımsal silisyum uygulamalarının bitki stres direncine olumsuz etkiler de yapabileceğini ortaya koymuştur. Bu nedenle yerfıstığı yetiştiriciliğinde toprak silisyum miktarının artırılması pratikte kullanışlı bulunmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Yerfıstığı, antioksidatif sistem, kuraklık stresi, tuz stresi, *LEA*, *resveratrol sentaz*, silisyum.

**2014, 66 sayfa**

## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

### **EFFECT OF SILICON ON VARIOUS ANTIOXIDATIVE SYSTEM COMPONENTS AND GENE ACTIVITIES OF PEANUT (*Arachis hypogaea* L.) UNDER DROUGHT AND SALT STRESS**

**Hande Nur KURU**

**Süleyman Demirel University  
Graduate School of Applied and Natural Sciences  
Department of Agricultural Biotechnology**

**Supervisor: Assistant. Prof. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY**

In this study, particular antioxidative system components and the expression levels for the two genes under drought and salt stress and potential effects of silicon on the defense system of treated peanut plants, which are rich sources of protein and lipids, were investigated by comparing the interactions of the analyzed components. One of the objectives of the study is the investigation of the effects of salt and drought stresses on peanut tissues, on which very limited information exists in the literature and investigation of molecular mechanisms taking part in abiotic stress tolerance, which also have a potential to be used in peanut breeding. Another objective of the study is to understand the mechanisms taking part in drought and salt stress tolerance of plants with silicon application and help evaluation of the potential use of this element in agricultural production.

With these objectives, some antioxidative system indicators including, shoot/root lengths, dry/wet weights, relative water content, prolin, malonedialdehyde, hydrogen peroxide and chlorophyll contents, ion leakage and SOD enzyme activity were determined and the expression of the genes coding *LEA7-1* and *resveratrol synthase (STS)* enzymes was analysed comparatively in both root and shoot tissues under drought and salt stress in the presence of silicon.

Although statistically insignificant, applied stresses negatively affected peanut anatomical features, effects of drought stress appeared to be more prominent when compared to salt stress and the levels of both stresses on shoot length and water retention capacity occurred at similar intensities. When applied under normal conditions, silicon positively affected all investigated parameters and under both stress applications, presence of silicon usually increased tissue wet/dry weights and lengths. Water retention capacity in stressed tissues also increased prominently under silicon application.

Salt stress showed its negative effects mainly by increasing tissue malonedialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) levels and also by increasing superoxide dismutase enzyme activity (SOD). Under salt stress, one of the most important enzymes in the resveratrol synthesis pathway namely *resveratrol synthase (STS)*

gene expression decreased in both tissues, while *LEA7-1* gene expression decreased in root tissues and increased in shoots.

Negative effects of drought stress were observed significantly in shoot tissues in terms of MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, prolin levels and SOD enzyme activities and it was also determined that root tissues exhibit less stress symptoms. Drought stress did not cause any important enhancement in *STS* gene expression, while *LEA7-1* activities showed prominent increase in both shoot and root tissues. Therefore, the gene was determined to have the potential to be used in molecular breeding of peanut for abiotic stress tolerance.

Obtained data showed that silicon application in peanut has some roles in stress alleviation, only in terms of specific parameters including MDA and prolin levels in addition to SOD enzyme and *LEA* gene activities and only under limited stress applications and in specific tissues. While under various applications toxic effects of silicon were also observed. Conducted studies showed that silicon application may have negative effects on plant stress tolerance unless application durations and amounts were strictly optimized. Therefore, increasing the soil silicon levels for peanut cultivation was not found useful in practice.

**Key Words:** Peanut, antioxidative system, drought stres, salt stress, *LEA*, *resveratrol synthase*, silicon.

**2014, 66 pages**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince karşılaştığım her türlü zorlukta bilgi ve deneyimleriyle bana ışık tutan ve çalışma ortamı sağlayan değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuar çalışmalarımda bana yardımcı olan Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuarında çalışan tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca sonsuz sabır, sevgi ve anlayış ile desteklerini gördüğüm, her zaman yanımda olan aileme ve her türlü zorlukta yanımdan bir dakika bile ayrılmayan Barbaros Salih Kumbul'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hande Nur KURU  
ISPARTA,2014

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                              | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. <i>Arachis hypogaea</i> L.' nin sistematik olarak sınıflandırılması .....                                         | 5     |
| Şekil 2.2. Resveratrol cis ve trans izoenzimleri .....                                                                       | 21    |
| Şekil 3.1. Deneyde kullanılan bitkisel materyal. NC-7 yerfıstığı tohumları (a),<br>çimlenmiş NC-7 yerfıstığı çeşidi (b)..... | 27    |
| Şekil 4.1. Yerfıstığı gövdesinde SOD enzim aktivitesi .....                                                                  | 39    |
| Şekil 4.2. Yerfıstığı gövdesinde total SOD enzim aktivitesi.....                                                             | 39    |
| Şekil 4.3. Yerfıstığı kökünde SOD enzim aktivitesi.....                                                                      | 40    |
| Şekil 4.4. Yerfıstığı kökünde total SOD enzim aktivitesi.....                                                                | 40    |
| Şekil 4.5. Yerfıstığı bitkisinin gövde (a) ve kökündeki (b) <i>aktin</i> geni .....                                          | 42    |
| Şekil 4.6. Agaroz jelde yerfıstığının gövde (a) ve kökündeki (b) <i>LEA</i> gen<br>ifadesi.....                              | 43    |
| Şekil 4.7. Yerfıstığı gövdesindeki <i>LEA</i> gen ifadesi .....                                                              | 43    |
| Şekil 4.8. Yerfıstığı kökündeki <i>LEA</i> gen ifadesi .....                                                                 | 44    |
| Şekil 4.9. Agaroz jelde yerfıstığının gövde (a) ve kökündeki (b) <i>STS</i> gen<br>ifadesi.....                              | 45    |
| Şekil 4.10. Yerfıstığı gövdesinde <i>STS</i> gen ifadesi.....                                                                | 45    |
| Şekil 4.11. Yerfıstığı kökünde <i>STS</i> gen ifadesi .....                                                                  | 46    |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                              | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan uygulamalar .....                                                                          | 28           |
| Çizelge 4.1. Kuraklık ve tuz stresi ile silisyum uygulamalarının yerfıstığı<br>anatomi ve fizyolojisi üzerine etkileri ..... | 32           |
| Çizelge 4.2. Biyokimyasal tepkiler .....                                                                                     | 35           |
| Çizelge 4.3. SOD enzim aktivitesi.....                                                                                       | 38           |
| Çizelge 4.4. Silisyum miktarı için yapılan elemental analiz (ICP) sonuçları ....                                             | 41           |
| Çizelge 4.5. Gen ifadeleri.....                                                                                              | 42           |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                               |                                             |
|-------------------------------|---------------------------------------------|
| APX                           | Askorbat peroksidaz                         |
| BSU                           | Bağıl su içeriği                            |
| C <sub>4</sub> H              | Sinamik asit 4-hidroksilaz                  |
| Ca <sup>+</sup>               | Kalsiyum                                    |
| CAT                           | Katalaz                                     |
| Cd                            | Kadmiyum                                    |
| CHS                           | Şalkan sentaz                               |
| Cl <sup>-</sup>               | Klor                                        |
| CO <sub>2</sub>               | Karbondioksit                               |
| Fe                            | Demir                                       |
| Fv/F0                         | Bazal kuantum verimi                        |
| H <sub>2</sub> O              | Su                                          |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Hidrojen peroksit                           |
| GR                            | Glutasyon redüktaz                          |
| GSH                           | İndirgenmiş glutasyon                       |
| K                             | Kontrol                                     |
| LEA                           | Geç embriyogenez proteini                   |
| Mg                            | Magnezyum                                   |
| MP                            | Membran geçirgenliği                        |
| Na <sup>+</sup>               | Sodyum                                      |
| NaCl                          | Sodyum klorür                               |
| O <sub>2</sub>                | Oksijen                                     |
| O <sub>2</sub> <sup>-</sup>   | Süperoksit anyon radikalleri                |
| P                             | Kuraklık stresi                             |
| PAL                           | Fenilalanin amonya liyaz                    |
| PEG                           | Polietilen glikol                           |
| Pr                            | Fotosentetik oran                           |
| PS2                           | Fotosentez II                               |
| RES                           | Resveratrol                                 |
| ROS                           | Reaktif oksijen türleri                     |
| Si                            | Silisyum                                    |
| Si(OH) <sub>4</sub>           | Silisilik asit                              |
| SOD                           | Süperoksit dismutaz                         |
| SR                            | Stoma direnci                               |
| STS                           | <i>Stilben sentaz</i>                       |
| T                             | Tuz stresi                                  |
| TBA                           | Tiobarbiturik asit                          |
| TBARS                         | Tiobarbiturik asit reaktif maddeler içeriği |
| TCA                           | Trikloroasetik asit                         |
| Tr                            | Terleme oranı                               |
| Zn                            | Çinko                                       |
| 4CL                           | 4-koumorat:CoA ligaz                        |

## 1. GİRİŞ

Yerfıstığı, baklagiller familyasından olup, tek yıllık, yazlık, yağlı tohumlu bir kültür bitkisidir. Gerek insan gıdası ve hayvan yemi olarak gerekse toprağı azot yönünden zenginleştirmesi bakımından çok önemli bir yağ bitkisidir (Carrie vd., 1978). Linne tarafından kabuğunun üzerindeki işlemlerden dolayı *arachis*, toprak altında yetişmesinden dolayı da *hypogaea* adını almıştır (Gencer, 1987; İlisulu, 1973). Yerfıstığı bir baklagil bitkisi olması nedeniyle, diğer baklagillerde olduğu gibi, havanın serbest azotunu toprağı bağlar ve kendisinden sonra ekilecek bitkiye azot ve organik maddece zengin bir toprak bırakır. Yapılan araştırmalar, bir yetiştirme döneminde yerfıstığı bitkisinin, *Rhizobium* bakterileri sayesinde toprağı havanın serbest azotundan, 4.5-15.0 kg/da azot (NH<sub>3</sub>) fikse ettiğini göstermiştir. Yerfıstığı bir çapa bitkisi olması nedeni ile de, yetiştirme süresi boyunca toprak çapalandığı için, yabancı otlar temizlenmekte ve toprak havalanmaktadır. Bu nedenle de, iyi bir ekim nöbeti bitkisi olduğu bildirilmektedir (Arıoğlu, 2003).

Bitkisel üretimde stres; bitkinin yaşadığı ortamda bir veya birden fazla etkenin, büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyerek, verim düşüklüğü ile sonuçlanan bir dizi gerilemedir. (Kuşvuran vd., 2008). Bitkilerin normal gelişme seyrini ve fizyolojik olaylarını etkileyen, yavaşlatan veya durduran tüm çevre etmenleri de stres faktörleri (stresör) olarak adlandırılmaktadırlar. Stres faktörleri, cansız çevre etmenlerinin bitkide yapmış olduğu stres “abiyotik stres faktörleri” ve canlı çevre etmenlerinin bitkide yapmış olduğu stres “biyotik stres faktörleri” olarak sınıflandırılmaktadır (Uzunlu, 2006).

Bitkilerin stres faktörlerinin etkisi altında olduklarını anlamak her zaman mümkün olamamaktadır. Strese dayanıklılık mekanizması bitkilerde iki şekilde etkili olmaktadır. Bitkiler ya sahip oldukları veya geliştirdikleri önleyici mekanizmalarla stres etmenlerinin etkinliğini önlerler ya da tolerans mekanizmasıyla stres etmenlerine karşı koyarak yaşantılarını sürdürürler. Bitkilerin maruz kaldığı stres tipleri; fiziksel, kimyasal ve biyolojik stres olmak üzere 3’e ayrılır. Biyotik ( patojen, diğer organizmalarla rekabet vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, radyasyon, kimyasal maddeler, yüksek sıcaklık veya don vb.) stresler ekonomik önemi olan tüm bitkilerin normal fizyolojik işlevlerinde değişikliklere yol açmaktadır. Kuraklık,

yüksek sıcaklık, tuzluluk, metal, pestisit ve toprak pH'sı gibi stres faktörleri bitkilerdeki tüm metabolizmayı, ürün verimini, büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz etkileyebilmekte ve hatta bitkiye öldürücü zararlar da verebilmektedir. Bitkiler bu durumda hayatta kalmayı sağlamak için çeşitli stratejilerle tepkiler oluşturmaktadır (Özcan vd., 2001; Sankar vd., 2007). Tüm bitki seviyelerinde stresin etkisinin genellikle reaktif oksijen üretimi, büyüme ve fotosentezdeki azalma arasında bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Stres faktörleri nedeniyle hücrede meydana gelen oksidatif stres; Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) (süperoksit radikalleri ( $O_2^-$ ), hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ ), singlet oksijen ve hidroksil radikalleri ( $OH^-$ ) gibi) oluşmasına neden olmaktadır. Biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin sebep olduğu ROS'lar, lipid peroksidasyonu ve membran zararlanmalarında önemli bir role sahiptir. Bitkilerde ROS'ların temizlenmesinde antioksidan maddeler ve enzimler (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon s-transferaz (GST)) görev yapmaktadırlar (Raza vd., 2006; Morsy vd., 2007; Gong vd., 2005).

Başta kuraklık olmak üzere, soğuk ve sıcak stresi, topraktaki tuzluluk gibi abiyotik stresler dünya genelinde tarım bitkilerinde en çok ürün kaybına yol açan stres etmenleridir. Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) kurak ve yarı kurak iklimlerde yaz aylarında yetiştiriciliği yapılan bir baklagil bitkisi olduğundan kuraklık stresine maruz kalabilmekte ve özellikle kurak iklim kuşağındaki topraklarda yaygın olarak gözlenen tuz stresi ile birleştiğinde ürünün büyük ölçüde kaybına neden olabilmektedir. Bitkilerin maruz kaldığı kuraklık, tuzluluk, yüksek sıcaklık veya don, kimyasal kirlilik gibi birçok abiyotik stres faktörü ürün miktarını, büyüme ve gelişmeyi büyük ölçüde azaltmaktadır. Bu stresler hücrede osmotik ve iyonik dengenin bozulmasına, yapısal ve işlevsel proteinlerde ve hücre zarında hasara, dolayısıyla hücre zarı akışkanlığında değişikliğe yol açabilir. Sonuç olarak, hücrede oluşan bu etkiler başlangıç stres sinyalleri olarak da ifade edilir. Başlangıç stres sinyalleri; hücrede bozulan dengenin geri kazanılması, hücre zarında meydana gelen hasarların onarılması ve proteinlerin korunmasında işlevsel olan stres yanıt mekanizmalarını aktive eden sinyal sürecini ve transkripsiyonun kontrolünü uyarır (Mahajan ve Tujeta, 2005).

Bir hastalığa tedavi geliştirmek için öncelikle hastalığa yol açan mekanizmaların anlaşılması gerektiği gibi, önemli tarım bitkilerinde abiyotik streslere dirençli çeşitler geliştirmek de bitkilerin ne tür mekanizmalarla bu streslere tepki verdiklerini anlamaya dayalıdır.

Geç embriyogenez proteinleri (*LEA*) ilk kez pamuk ve buğdayda karakterize edilmiştir (Cuming, 1999). Tohum gelişimi sırasında hücrel proteinlerin % 4'e kadar olan kısmını oluşturabilir (Roberts vd., 1993) ve çimlenmeyi takiben ortadan kalkarlar (Galau vd., 1986). Tohum gelişiminin kurumadan önceki geç evrelerinde, bitki embriyolarında birikirler (Soulages vd., 2002). Birçok *LEA* proteini sitozol ve çekirdek özsuyunda (Houde vd., 1995), kloroplastta (Ndong vd., 2002), protein gövdelerinde ve amiloplastlarda (Rinne vd., 1999) ve vakuollerde (Heyen vd., 2002) yerleşmektedir. Farklı *LEA* protein grupları, su kaybını en aza indirmek üzere suyun bağlanmasından, protein ve membranların kararlılığının devamlılığının sağlanması, kademeli iyon geçişinin korunması ve aktif oksijen türlerinin yok edilmesine (Close, 1997) kadar birçok fonksiyona sahiptirler.

Resveratrol (RES), travmatik zedelenmede, UV ışığına maruz kaldığında ya da fungal enfeksiyona (*Botrytis cinerea*) karşı cevap olarak bazı bitkiler tarafından sentezlenen non-flavonoid yapıda polifenolik bir fitoaleksindir. Fitoaleksinler patojenik mikroorganizmalara karşı bitkiler tarafından korunma amaçlı sentezlenen kimyasal maddelerdir ve bitkisel antibiyotikler olarak da isimlendirilmektedir. RES, stilben fitoaleksinlerin en aktif bileşimidir. Cis ve trans stereoizomerleri şeklinde bulunur. Bitkilerde daha çok trans izomerinin bulunması nedeniyle bütün araştırmalar genel olarak trans izomeri üzerinden yapılmıştır (Fremont, 2000; Gerogiannaki-Christopoulou, 2006).

Silisyum, bitkilerde stres toleransında önemli işlevleri olduğu belirlenmiş bir elementtir. Silisyum, yer kabuğunda en bol bulunan elementler arasında ikinci sırada yer almakla birlikte, bitki gelişimi için gerekli elementler arasında sıralanamaz ve bitki doku kültürlerinde kullanılan besin ortamlarına dahil edilmez. Bunun nedeni optimum koşullarda bitkilerin gelişim için bu elemente ihtiyaç duymamasıdır (Epstein, 1999). Ancak biyotik ve abiyotik streslerin varlığında silisyumun yaşamsal görevleri olduğu son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarla belirlenmiş, çeşitli

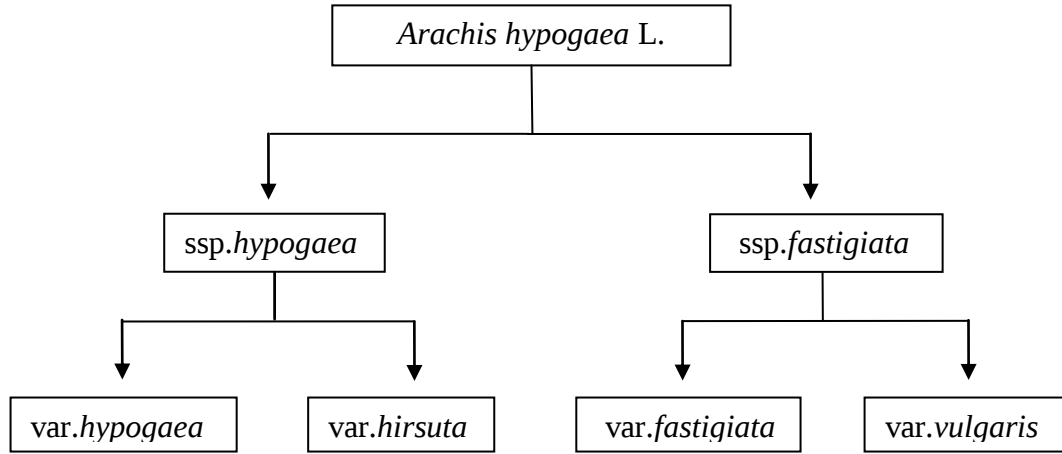
bitkilerde soğuk ve tuz stresi ile patojen mücadelesinde önemli koruyucu roller oynadığı gözlenmiştir. Kontrollü şartlarda, kültür ortamında geliştirilen bitkilerde gerekli bir element olmasa da, doğal iklim koşullarında çok çeşitli streslere maruz kalan bitkilerde silisyum uygulamalarının ürün verimini arttırıcı potansiyel etkilerinin olması olası gözükmemektedir.

Bu çalışma kapsamında yerfıstığının kuraklık ve tuz stresi altında değişen gövde/kök uzunluğu, kuru/yaş ağırlık ve bağıl su içeriği, prolin, malondialdehit, hidrojen peroksit içerikleri ve klorofil miktarları, iyon sızıntısı ve SOD enzim aktiviteleri, dokularda silisyum birikimi gibi antioksidan sistem göstergeleri ile çeşitli bitkilerin stres toleransında önemli rolleri olduğu bilinen *LEA* ve *resveratrol sentaz* gen ifadeleri, kuraklık ve tuz stresleri altında, bitki stres metabolizmasındaki bileşenlerle çeşitli şekillerde etkileştikleri bilinen ve bitkilerde stres toleransını destekleyen silisyum uygulaması kök ve gövde dokularında incelenmiştir. Böylece kuraklık ve tuz stresleri altındaki yerfıstığının verdiği fizyolojik ve genetik tepkiler karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş, potansiyel tolerans mekanizmaları tespit edilmiş, ayrıca silisyumun, prolin ve SOD metabolik yollarıyla etkileşim biçimleri ve gen ifadelerini düzenlemede ne tür bir rol oynadıkları incelenmiş olup, potansiyel tarımsal uygulamalar değerlendirilmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.)

*Arachis hypogaea* L. sistematik olarak ele alındığında; *Rosales* takımı, *Leguminosae* familyası, *Papilionaceae* alt familyası ve *Arachis* cinsine aittir. Yerfıstığının alttür ve varyeteleri Şekil 2.1.'de verilmiştir.



Şekil 2.1. *Arachis hypogaea* L.'nin sistematik olarak sınıflandırılması

Dünyada ekiliş alanı 40 derece kuzey ve 40 derece güney enlemleri arasındaki tropik ve subtropik sıcak iklim bölgelerinde yer almaktadır. Güney Amerika kökenli olan bu bitki, ilk olarak Amerika'nın keşfinden sonra Portekizliler tarafından 16. yüzyılda gemilerle önce Avrupa'ya getirilmiş, buradan Afrika ve Asya kıtalarına yayılmış ve daha sonra da Pasifik adalarına götürülmüştür. Peru'da 3750-3900 yıl öncesine ait yerfıstığı ile ilgili arkeolojik kayıtlara rastlanılmıştır (Kadiroğlu, 2013). Yerfıstığı, iklim ve toprak yönünden oldukça seçicidir. Türkiye'de Akdeniz ikliminin etkisinde kalan bölgelerde hafif bünyeli tarım topraklarında sulanarak yetiştirilmektedir. Yerfıstığı, drenajı ve havalanması iyi, tınlı kum veya kumlu tın bünyede, organik maddesi orta düzeyde kireççe zengin, pH'si 6.0-6.4 arasında olan topraklarda çok iyi yetişmektedir (Carrie vd., 1978).

Yerfıstığı tohumları; içerdiği yağ, protein, karbonhidrat, vitamin ve madensel maddeler ile insanlar ve hayvanlar için değerli bir besin kaynağı olmaktadır.

Yerfıstığı tohumları, çeşitlerine göre değişmekle beraber, % 44-56 oranında yağ içermektedir. Yerfıstığı yağı; tat ve dayanıklılık özellikleri bakımından birçok bitkisel yağdan, daha üstündür. Yerfıstığının yağı çıkarıldıktan sonra geriye kalan küspe, çok değerli bir yem katkı maddesidir. Yerfıstığı küspesinde; yaklaşık % 45 ham protein, % 24 azotsuz öz maddeler ve % 5.5 madensel maddeler bulunmaktadır. Yerfıstığı, tohumlarında yaklaşık % 18 oranında karbonhidrat ile bol miktarda K, Ca, Mg, P ve S gibi madensel maddeler içermektedir. Ayrıca, yerfıstığı; A, B ve E vitaminlerince de oldukça zengin bir baklagil bitkisidir (Arıoğlu, 2003).

## **2.2. Bitkilerde Oksidatif Stres**

Bitkiler gelişimlerini sürdürdükleri süre boyunca çeşitli biyotik ve abiyotik streslere maruz kalırlar. Yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan tarım bitkilerinin, maruz kaldıkları çeşitli stresler nedeniyle genetik kapasitelerinin yalnızca % 20'si kadar ürün verebildikleri bilinmektedir (Boyer, 1982). Ürün verimi düşüklüğünün sebepleri arasında hastalıklar, böcekler ve yabancı otlar gibi biyotik faktörler de olmakla birlikte en önemli ürün kayıpları kuraklık ve soğuk gibi ideal olmayan sıcaklıklardan kaynaklanır (Mahajan ve Tuteja, 2005).

Bitkiler, askorbat, indirgenmiş glutatyon (GSH) ve prolin gibi enzimatik olmayan ve süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), peroksidaz (POX) ile glutatyon redüktaz (GR) gibi çeşitli enzimlerden oluşan ve stres koşulları altında aktif oksijenle mücadelede kullanılan sistemler geliştirmişlerdir. Bitkilerde ozmotik strese karşı en iyi karakterize edilmiş biyokimyasal tepkilerden birisi, organik ozmolitlerden prolin ve betainlerin birikmesidir (McCue ve Hanson, 1990). Prolin, serbest radikallerle uzun süreli bağlar kurarak bu moleküllerin zararlı etkilerini büyük ölçüde azaltır (Floyd ve Zs-Nagy, 1984). Ayrıca zararları stabilize eder ve protein yapısının düşük yaprak su potansiyelinde bile korunmasını sağlar (Reddy vd., 2004).

Sitoplazma ve çok çeşitli organellerde bulunan ve enzimatik savunma sisteminin önemli parçalarından olan Süperoksit dismutaz (SOD), yüksek derecede reaktif olan aktif oksijen türlerinden süperoksit anyon radikallerini ( $O_2^-$ ) katalizleyerek organizmalara oksijen varlığında hayatta kalma imkanı veren bir enzimdir. Bu

reaksiyon oksijen metabolize eden tüm organizmalarda ve bazı anaerobik canlılarda gerçekleşir ve sonucunda moleküler oksijen ( $O_2$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) açığa çıkar (Öztürk, 1999; Ushimaru vd., 1995). Katalaz  $H_2O_2$ 'yi  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye dönüştürerek ortadan kaldırır. İndirgen olarak NADPH varlığına bağımlı olan APX'den farklı olarak katalaz enzimi indirgene ihtiyaç duymaz (Mallick ve Mohn, 2000). Sitoplazmada, kofullarda ve hücrelerarası boşlukta bulunan peroksidazlar, çok çeşitli substratların oksidasyonu ile  $H_2O_2$ 'yi ortadan kaldırır. Bitkilerde, sitoplazma ve çeşitli organellerde bulunan bir kaç farklı APX izozimi, elektron vericisi olarak askorbatı kullanarak  $H_2O_2$ 'yi  $H_2O$ 'ya dönüştürür (Madhusudhan vd., 2003). APX'ce katalize edilen  $H_2O_2$  parçalanma reaksiyonu sonucunda, askorbat oksitlenerek monodehidro askorbata dönüştüğünden askorbatın rejenerasyonu için bir sistem gereklidir. Bitki hücrelerinde, AsA ve GSH ile monodehidroaskorbat redüktaz, dehidroaskorbat redüktaz ve GR gibi belirli enzimleri içeren bir rejenerasyon döngüsü bulunur ve bu döngü askorbat-glutatiyon döngüsü veya Halliwell-Asada döngüsü olarak adlandırılır (Foyer ve Halliwell, 1976). Bu döngünün bir parçası olarak okside glutatiyonun GSH'a indirgenmesi, NADPH bağımlı bir reaksiyonla GR tarafından gerçekleştirilir (Noctor ve Foyer, 1998).

Tewari vd. (1991) tarafından mercimekte yapılan bir çalışmada, topraktaki Na oranının, nitrat redüktaz ve nitrit redüktaz aktivitesi, serbest prolin, DNA, RNA, klorofil a ve b miktarı ile verim komponentlerine etkisini araştırdıkları tekrarlı saksı denemelerinde, çimlenmenin %30 değişebilir Na düzeyine kadar gerçekleştiğini, ancak bitkilerin %25 değişebilir Na düzeyine kadar yaşayabildiğini bildirmektedirler. Ayrıca, değişebilir Na oranına bağlı olarak klorofil a ve b miktarı, nitrat ve nitrit redüktaz aktiviteleri, DNA ve RNA miktarının azaldığı görülmüştür. Değişebilir Na yüzdesi, çimlenmeden altmışıncı güne kadar prolin miktarını artırmış, daha sonra bu değer düşmüş görülmüştür. Verim komponentlerinden bitkideki 100 tane baklanın ağırlığı ve tane verimi artan değişebilir Na yüzdesine bağlı olarak düşüş göstermiştir.

Su stresine maruz bırakılan *Hibiscus cannabinus* bitkisinde yapılan bir çalışmada, su stresinin gövde çap büyümesi, yaprak gelişimi, dallanma, çiçeklenme ve madde birikimini geciktirdiği ve yaprak yuvarlanması ve stoma kapanmasının kuraklık stresinden korunmak için bir sakınma metabolizması olduğu ortaya koyulmuştur (Ogbonnaye vd., 1998).

Sairam vd. (1998), su stresinde buğday çeşitlerinde antioksidan sistemlerinin rolünü araştırmışlardır. Kuraklık stresi bitkilerde,  $H_2O_2$  birikimini ve lipid peroksidasyonunu artırmış ve askorbik asit konsantrasyonunu azaltmıştır. Antioksidan enzimler (SOD, APX ve CAT) su stresinde önemli oranda artış göstermiştir. Kuraklığa dayanıklı olan C306 çeşidinin, kuraklığa hassas olan çeşitlere göre askorbat peroksidaz, katalaz aktivitesi ve askorbik asit içeriği yüksek,  $H_2O_2$  konsantrasyonu ve lipid peroksidasyonunun düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Boutraa ve Sanders (2001), sera koşullarında iki fasulye çeşidinde (Carioca ve Prince) su stresinin verim ve verim komponentleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bitkiler optimum koşullarda, çiçeklenme dönemi ve meyve (bakla) bağlama döneminde su stresinde yetiştirilmiştir. Araştırmacılar Carioca çeşidinin Prince çeşidine göre kuraklığa daha dayanıklı olduğunu, her iki dönemde uygulanan su stresi nedeniyle bitkilerin gelişmelerinin ve verim öğelerinin (tane ağırlığı, bitkideki tane sayısı, bitkideki bakla sayısı, yaprak sayısı, bitki boyu) olumsuz etkilendiğini belirlemişlerdir.

Park vd. (2003), acı biberde kuraklık stresiyle uyarılan genleri *farklılık gösterim* yöntemiyle izole etmek ve karakterize etmek amacıyla bir araştırma yürütmüşlerdir. Kuraklık stresi uyguladıkları acı biberlerden *farklılık gösterim* yöntemiyle 7 adet cDNA izole etmişlerdir. Araştırmacılar özellikle *Ca-LEAL1* geninin yapısal özelliğini ve anlatım modelini detaylı olarak incelemişlerdir. Yaptıkları dizi homolojisi sonucunda, *Ca-LEAL1*'in geç embriyogenez proteinlerine benzer olduğunu fakat değişik ve yeni bir gen ailesinden olduğunu ortaya koymuşlardır. *Ca-LEAL1*'in anlatım analizi sonuçları, bu genin kurak koşullarda yüksek düzeyde aktif olduğunu doğrulamış ayrıca *Ca-LEAL1* geninin tuzluluk ve mekanik zararlanmaya karşı da anlatım yaptığı sonucuna ulaşmışlardır.

Dhanda vd. (2004) tarafından buğday çeşitlerinde gelişmenin erken dönemlerinde kuraklığa dayanıklılık indekslerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, 30 farklı ekmeklik buğday çeşitinde tohum canlılık indeksi, çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, sürgün uzunluğu, kök-sürgün uzunluğu oranı, koleoptil uzunluğu ve membran stabilitesi incelenmiştir. Normal ve ozmotik stres koşullarında ortalama performansın karşılaştırılmasında; tohum canlılık indeksinin en hassas özellik

olduğunu, bunu sürgün uzunluğu, çimlenme yüzdesi ve kök uzunluğu özelliğinin izlediğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte ozmotik stres koşullarında kök sürgün uzunluğu oranının arttığı, sürgün uzunluğu ve koleoptil uzunluğu dışında tüm özelliklerin genetik çeşitliliği tanımladığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada, membran stabilitesi ve kök-sürgün oranının seleksiyonda büyük bir fayda sağlayabileceği, kök uzunluğu ve tohum canlılık indeksinin de orta düzeyde faydalı olabileceği vurgulanmaktadır.

Sera koşullarında kuraklık stresinin, soya yapraklarında ve baklasında karbonhidrat konsantrasyonu üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, kuraklık stresinin fotosentez oranını ve yaprakların, çiçeklerin ve baklaların su potansiyelini azalttığı belirlenmiştir. Buna ek olarak kuraklık stresinin, yapraklarda sükröz ve nişasta konsantrasyonunu azaltırken, hekzoz (glikoz+fruktoz) konsantrasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Liu vd., 2004).

Colmer vd. (2006), tuz toleransı için *H. vulgare* ve *H. marinum*'un iyon dışlama ve seçiciliği gibi fizyolojik adaptasyon mekanizmalarına bağlı duyarlılıkları ile ilgili görüşler belirtmişlerdir. Araştırmacılar, *H. marinum*'un *H. vulgare*'den daha yüksek oranda  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarını dışlama özelliği olduğunu tespit etmişlerdir. *Hordeum marinum*, 450 mM NaCl konsantrasyonuna kadar  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarını dışarıda tutabilme yeteneğine sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

Islam vd. (2007), buğdayla karşılaştırmalı olarak tuzluluk stresi altında arpanın daha iyi gelişim gösterdiği ve ürün kalitesi açısından verimli olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada prolin ve glisin betain gibi uyumlu bileşiklerin birikiminin tuz toleransında önemli rol oynadıkları aydınlatılmıştır.

### 2.3. Yerfıstığında Oksidatif Stres

Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.), dünya genelinde 23 milyon hektar alanda, yılda yaklaşık 35 milyon ton üretilen en önemli baklagil bitkilerinden birisidir (Fletcher, 1992). Dünya genelindeki geniş ölçekli yerfıstığı üretiminin başlıca sebepleri, bitkinin zengin protein içeriği ve elde edilen yüksek kalitedeki bitkisel yağdır. Dünya yerfıstığı üretiminin %70'ini gerçekleştiren yarı kurak iklimlere sahip bölgelerde

üretimi kısıtlayan en önemli stres faktörleri sırasıyla kuraklık ve tuzluluktur (Boote ve Ketring, 1990; Melchiorre vd., 2009).

### **2.3.1. Kuraklık stresi ve yerfıstığı**

Abiyotik stresler içerisinde kuraklık, dünya genelinde tarımsal üretimi sınırlandıran temel faktörlerden en önemlisidir. Genellikle kuraklık olarak bilinen su kıtlığı, bitkinin normal olarak büyüyebilmesi ve yaşam döngüsü tamamlayabilmesi için gerekli olan nemin bulunmaması durumu olarak tanımlanır. Yeterli nemin olmamasından kaynaklanan kuraklık stresi yağışların düzensiz olduğu ve sulamanın zayıf olduğu bölgelerde yaygındır (Sircelj vd., 2007).

Kuraklığın yol açtığı ilk semptom, öncelikli olarak gövdede gelişimin baskılanması ve bunu takiben daha az seviyede de olsa kök gelişiminin yavaşlamasıdır. Bunu stomaların kapanması ve bununla ilişkili olarak da transpirasyon ve fotosentez için CO<sub>2</sub> alımının azalması takip eder. Merkezi vakuol, küçük vakuollere bölünür, kloroplastlardaki tilakoidlerde ve mitokondriyal kristalarda bozulmalar meydana gelir. Çekirdek membranı gerginleşir ve poliribozomlar parçalanır. İleri dönemlerde ise biyomembranların parçalanması ile hücre ölümü meydana gelir (Güzel, 2006). Bu zorlu koşullarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit), O<sub>2</sub><sup>-</sup> (süperoksit), O<sub>2</sub> (tekli oksijen) ve OH<sup>-</sup> (hidroksil) radikalleri gibi aktif oksijen türlerinin üretimi artarak elektronların moleküler oksijene geçişini daha da kolaylaştırır. Bu sitotoksik aktif oksijen türleri, yağlar, proteinler ve nükleik asitlere oksidatif zarar vererek normal metabolizmayı bozarlar (Fridovich, 1986). Hücre zarlarının peroksidasyonu da serbest radikal üretimine katkıda bulunan süreçlerden birisidir (Jain vd., 2001). Uzun süren kuraklık, tohum oluşumunu engeller, zamansız yaprak dökümü, sararma, kuruma ve doku ölümüne yol açar (Schulze, 1986).

Kuraklık stres koşulları altında polihidroksil bileşiklerinin hidroksil grupları ile membran fosfolipidlerinin polar başları arasında hidrojen bağı oluşturabildiğini ve bu hidrofobik etkileşimlerin, membran bütünlüğü için önem taşımakta olduğu gösterilmiştir (Chaves vd., 2004; Crowe vd., 1998; Hinch vd., 2002; Villadsen vd., 2005; Valliyodan and Nguyen, 2006).

Kuraklık stresi toleransında görevli transkripsiyon faktörlerinin fonksiyonu dikotiledon ve monokotiledonlar arasında korunmuştur. Kuraklık toleransı ile ilişkili çeşitli genler belirlenmiş olmasına rağmen, sadece çok az stres dirençli transgenik bitki, tarla denemelerinde değerlendirilebilmektedir (Valliyodan and Nguyen, 2006).

Wan ve Li (2006), yerfıstığı bitkilerindeki *AhNCED1* gen ekspresyonunun, su kaybı ve yüksek tuzlulukta ne kadar önemli olduğunu göstermişlerdir. *AhNCED1* transkripti ve endojen ABA'nın, dehidrasyona yanıt olarak fıstığın hem gövde hem de yapraklarında ağırlıklı olarak biriktiği gözlenmiştir. ABA eksojen uygulanmasıyla *AhNCED1* ifadesinin önemli düzeyde arttığı belirlenmiş, fıstıkta ABA biyosentezinin bir pozitif geri besleme mekanizmasının kontrolü altında olduğu düşünülmüştür. Yüksek konsantrasyondaki NAA uygulamasının da, fıstık bitkilerinde *AhNCED1* gen ekspresyonu ve ABA biyosentezini arttırdığı belirlenmiştir.

Akçay vd. (2010), kuraklık stresi koşullarındaki büyüme geriliğine göre, dirençli (Florispan) ve duyarlı (Gazipaşa) olan iki fıstık çeşidi (*Arachis hypogaea* L.)'nin oksidatif hasar ve antioksidan yanıtlarını karşılaştırmışlardır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerinin, -0.8 MPa ozmotik potansiyeline maruz iki çeşitte de kontrol altında olduğu gözlenmiştir. -0.8 MPa ozmotik potansiyelde, Gazipaşada önemli bir prolin birikimi açığa çıkmazken, Florispanda prolin birikimi önemli ölçüde görülmüştür. Klorofil floresan değerlerinde, çeşitlerin hiçbirinde anlamlı farklılıklar tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, prolin ve CAT ve APX enzim aktivitelerinin yerfıstığı bitkilerinde kuraklık toleransı bakımından önemli mekanizmalar olduğu gösterilmiştir.

Su ilişkileri, gaz değişimi, çözünen birikimi ve CAT, APX ve GPX aktivitelerinin kuraklıktaki etkileri, kontrol veya stopaj su koşullarında yetiştirilen beş *Arachis* genotipinde incelenmiştir (Neto vd., 2010). Kuraklık stresinde, tüm genotiplerin bitki büyümesini yavaşlattığı tespit edilmiş; genotiplerden *A. duranensis* 7988 ve *A. stenosperma* SV2411 kuraklığa duyarlı olarak karakterize edilirken, *A. ipaensis* de kuraklığa toleranslı olarak karakterize edilmiştir. Terleme ve stoma iletkenlik verileri, *A. ipaensis*'in kuraklık koşullarında daha toleranslı olduğu bulgularını teyit etmektedir. Su kaybı, genotiplerde organik çözünen içeriği ve düşük yaprak su potansiyelini arttırmıştır. CAT aktivitesi, strese duyarlı genotiplerin yapraklarında

önemli bir artış göstermiştir. APX ve GPX aktiviteleri, tüm genotiplerin yapraklarında kuraklıktan ya hiç etkilenmemiş ya da artmış olduğu gözlenmiştir.

Manjulatha vd. (2014), strese duyarlı DNA helikazın (PDH45) aşırı ekspresyonu ile kuraklık adaptasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. PCR, Southern blot ve RT-PCR ile fıstık genomuna PDH45 geninin aktarılması ve ifadesi analiz edilmiştir. Stres altında klorofil stabilitesinin arttığı ve yedi transgenik fenotipin yeşil kaldığı gözlenmiştir. Stres altındaki transgenik fıstık köklerinde büyümenin önemli ölçüde yükseldiği görülmüştür. Strese maruz kalmayan ve stres koşulları altında kuraklığa dayanıklı fıstığın gelişimi için, transgeniklerde verimin %17.2 ve 26.75 artışı gösterilmiştir.

### **2.3.2. Tuz stresi ve yarfıstığı**

Toprak tuzluluğu dünyadaki tarımsal üretimi sınırlayan en önemli çevresel streslerden biridir. Toprakta biriken tuzlar, toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerini bozmakta ve bitki gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Topraktaki tuzlar, su potansiyelinde azalmaya neden olarak topraktan mineral alınımını da sınırlamaktadır. Yetiştirilen bitkinin veriminde görülen azalmalar, toprak çözeltisinin konsantrasyonuna bağlı olduğu kadar, bitkinin tuza dayanıklılığıyla da ilgilidir. Tuzluluk bitki gelişmesini üç temel prensip çerçevesinde engeller. Bunlar; su eksikliği (su stresi), Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyonlarının fazla miktarda alınması nedeniyle oluşan iyon toksisitesi ve iyon taşınımında ortaya çıkan dengesizlik nedeniyle hücre içindeki sıvının mineral yapısının ve Ca<sup>+2</sup> dengesinin bozulmasıdır (Kuşvuran vd., 2008).

Tuz stresi ve kuraklık osmotik ve oksidatif stres mekanizmalarını aktif hale getirerek bitkideki savunma sistemini teşvik etmektedir. Ancak tuz etkisi, hücrede osmotik ve oksidatif stresler ile birlikte iyonik strese de yol açtığından, bitkinin savunma yanıtı diğer birincil streslerle indüklenene kıyasla daha karmaşık olarak gerçekleşmektedir. Ortamda aşırı miktarda biriken tuz, bitki hücrelerinde iyon dengesinde bozulmalara yol açar (Yağmur vd., 2006). Aynı zamanda, ana protein yapıları arasındaki hidrofobik-elektrostatik dengeyi bozarak birçok enzimin aktivitesini de inhibe eder. Yüksek tuz konsantrasyonunun hücrede toksik etkili olduğu da belirlenmiştir (Serrano, 1996).

Ozmotik ve iyonik stres tuz stresinin temel bileşenleridir. Tuzluluk, ozmotik ve iyonik strese ve ayrıca hormonal dengesizliğe neden olur ve bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkiler. Ozmotik stres, bitkilerde kökün civarındaki tuz konsantrasyonunun artışıdan sonra oluşmaktadır. Bu artış eşik seviyesine geldiğinde gövde büyümesinde de belirgin bir azalma görülmektedir. Tuzluluğa maruz kalındıktan bir süre sonra büyümedeki azalmanın ilk fazı gerçekleşir. Bu cevap hücre-su ilişkilerinde (ozmotik etki) değişikliklere yol açan kökün çevresinde ozmotik değişimlere neden olmaktadır. Bitkinin suyu emme yeteneği giderek azalmaktadır. Böylece yaprak alanı azalmakta, yeni yaprakların gelişme hızı düşmekte ve yanal tomurcuklar daha yavaş gelişmektedir.

İkinci faz olan iyonik stres, daha yavaş etkili olup, günler haftalar ya da aylarca sürebilmektedir. Yapraklardaki iyon birikimi bitkide tuz toksisitesine neden olur. Öncelikle yaşlı yaprakların yaşlanma hızında artışa neden olup yaprak ölümüyle sonuçlanabilir.

Tuz stresi, süperoksit, singlet oksijen, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin oluşmasıyla oksidatif hasara neden olur. Ozmotik stresten kaynaklanan stoma kapanmasına bağlı CO<sub>2</sub> miktarının sınırlandırılması, kloroplastlarda süperoksit radikalının birikimine neden olmakta ve bu da fotooksidatif hasara neden olmaktadır. Bu radikaller bitkilerde fotorespirasyon, mitokondrial solunum ve fotosentez esnasında oluşmaktadır (Seçkin, 2010).

Bitki gelişimi ve ürün verimini etkileyen bir diğer abiyotik stres faktörü toptaktaki tuzlanmadır. Dünya genelinde 800 milyon hektar alan tuzlanmadan olumsuz etkilenir (FAO, 2008). Bu alan yeryüzünün yaklaşık % 6'sına denk gelir. Topraktaki tuzlanma genellikle doğal kayaçların parçalanmasıyla serbest kalan tuzların, kurak ve yarı kurak bölgelerdeki topraklarda birikmesi gibi doğal sebeplerle oluşur (Rengasamy, 2002; Szabolcs, 1989). Ayrıca okyanus tuzları da, rüzgar ve yağmurla kıyı bölgelerden içlere doğru taşınır. Doğal tuzlanmanın yanı sıra toprakların doğal bitki örtüsünün alınarak tarıma açılması ve yoğun sulamanında etkisiyle su tablalarının yükselmesini sağlayarak tuzlanmayı artırır (Munns ve Tester, 2008).

Yerfistğinde tuz stresi direncini geliştirmeye yönelik deneysel uygulamalardan biri, ACC deaminaze aktivitesine sahip *Pseudomonas syringae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerinin bitkiye aşılınmalarıdır. Bu uygulamanın farklı tuz konsantrasyonlarında tuza karşı bitki depresyonunu azalttığı, gelişme ve verim parametrelerini artırdığı görülmüştür (Nadeem vd., 2007). Bakteriler bu etkilerine ilave olarak tuzlu ortamlarda bitki su kullanım etkinliğini artırmakta ve tuzluluğun fotosentez üzerine baskısının azalmasına yardımcı olmaktadır. ACC deaminaze aktivitesi gösteren *Pseudomonas fluorescens* TDK1 suşunun bu aktiviteyi göstermeyen *Pseudomonas* suşlarına kıyasla yerfistığı bitkisinde (*Arachis hypogaea*) tuz stresine dayanıklılığını artırdığı belirlenmiştir (Saravanakumar ve Samiyappan, 2007).

Tuz stresinin diğer bir boyutu da, dokularda yüksek yoğunlukta  $\text{Na}^+$  birikiminin içsel iyon dengesini bozmasıyla, hücre zarında zedelenme, enzim aktivitelerin azalması ve dolayısıyla metabolik aktivitenin zarar görmesiyle gelişme ve verim kayıplarının gerçekleşmesidir (Zahran, 1992; Hasegawa vd., 2000).

Singh vd. (1989) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmayla, farklı tuz derecelerinde (0, 4, 9, 14 mmhos/cm), üç farklı yerfistığı çeşidinin çimlenme ve fide büyümesine etkisi araştırılmıştır. Artan tuzluluk derecelerinde çimlenmenin farklı fındık çeşitlerinde, % 90'dan % 80'e; % 80'den % 54'e; % 87'den % 49'a düştüğünü ve fide kuru ağırlığının yine aynı çeşitlerde, 7.9 mg'dan 6.1 mg'a; 7.6 mg'dan 5.5 mg'a; 7.5 mg'dan 5.0 mg'a düştüğü bildirilmiştir.

Jain vd. (2006), tuzluluğa dayanıklı ve hassas olan *Arachis hypogaea* L. çeşitlerinin kallus hücre hattı proteomlarını karşılaştırmışlardır. Bu proteinlerin kimlikleri ardışık kütle spektrometrisi kullanılarak 10 PR proteinleri olarak karakterize edilmiştir. Sonuç olarak, bu fosforillenmiş PR 10 proteinlerinin tuzluluk stresine yanıt olarak arabuluculukta önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür.

Hossain vd. (2011), farklı tuzluluk seviyesi altında prolin birikim miktarlarını araştırmak için, tuz stresi altında inceleme yapılmışlardır. Fındık fidanları tuz verilmeden önce 7 gün boyunca normal şekilde kültüre alınmış ve sonra tuz uygulanan durumda bir 7 gün daha büyütülmüştür. Sonuç olarak, sürgün kuru

madde, oransal su içeriği, klorofil ve  $K^+$  iyonlarının artan tuzluluk oranı ile önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Bunun aksine,  $Na^+$  iyonları, hidrojen peroksit ve prolin, artan tuzluluk seviyesinde artmıştır. Serbest prolin içeriğinin orta ve yüksek tuzluluk seviyelerinde aniden arttığını belirtmişlerdir.

Bitki  $Na^+/H^+$  antiporter geninin de tuz toleransında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Xing vd., 2011).  $Na^+/H^+$  antiporter (*AhNHX1*) geni, yerfıstığından (*Arachis hypogaea* L.) izole edilmiştir. *AhNHX1* ekspresyonu, dokuya özel, farklı düzeydeki NaCl uygulamalarında gerçekleştirilmiştir. 50 ve 100 mM NaCl ile muamele edilen fıstıklarda kontrol bitkilerine göre, gövde ve yapraklarda düşük, köklerde ise daha yüksek seviyede ifade edilmiştir. İfadenin, 150 mM tuzda, köklerde stabil kaldığı, yapraklarda 24 saat ve gövdelerde 48 saat sonra arttığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, *AhNHX1* geninin fıstıkta tuz stresi altında önemli bir rol oynadığı görülmüştür.

Banjara vd. (2012), ekinlerdeki tuz toleransının geliştirilmesi için yaptıkları bir çalışmada, yüksek tuz koşulları altında, fıstık verimini ve kalitesini geliştirmek için, *AtNHX1* genini, *Agrobacterium* aracılığıyla, fıstık bitkileri içine aktarmışlardır. *AtNHX1* ifade eden yerfıstığı, 150 mM NaCl seviyesine kadar tuza karşı artan tolerans özellikleri göstermiştir. Yabani türler ile karşılaştırıldığında, *AtNHX1* ifade eden yerfıstığı bitkileri, tuz koşulları altında, biyokütle, klorofil ve yüksek fotosentez oranlarını daha az hasar ile muhafaza etmiştir. Bu veriler, *AtNHX1* geninin, fıstık tuz toleransını geliştirmek için kullanılabileceğini göstermektedir.

Güncel bir çalışmada Parida vd. (2013), yerfıstığının (*Arachis hypogaea* L.) tuz stresi altında fide büyümesi, besin alımı, iyon sızıntısı, lipid peroksidasyonu ve bazı organik metabolitlerin düzeylerindeki değişiklikleri analiz ederek değerlendirmişlerdir. Tuz stresi ile muamele edilen fideler ile kontrol bitkileri karşılaştırıldığında, tuz ile muamele edilmiş bitkilerde bitki boyu, yaprak alanı ve bitki biyokütlesi önemli ölçüde azalmıştır. Yaprak bağıl su içeriği (BSU), NaCl'nin yüksek konsantrasyonlarında % 16 oranında azalmıştır. Yüksek tuz konsantrasyonunda iyon sızıntısında azalma, lipid peroksidasyonunda artma olduğu gözlenmiştir. Yaprığın toplam serbest aminoasit ve prolin içerikleri kontrol ile karşılaştırıldığında, 150 mM NaCl ile muamele edilmiş bitkilerde, sırasıyla 5.5 ve 43

kat artmıştır. Toplam şeker ve nişasta içeriği, NaCl'nin yüksek konsantrasyonlarında önemli ölçüde artmıştır. Kl a, Kl b, toplam klorofil ve karotenoid içeriği yüksek tuzluluk da önemli ölçüde azalmıştır. Yaprığın Na<sup>+</sup> içeriği, gövde ve kökte doza bağımlı bir şekilde artmıştır. K<sup>+</sup> içeriği, yaprakta etkilenmemiştir fakat tuzlulukta, kökteki K<sup>+</sup> içeriği azalmıştır. Çalışmanın sonucunda, fıstık bitkilerinin tuz stresini tolere ettiği, yüksek tuzluluktan kaynaklanan stresi aşmak için, toplam serbest aminoasitler, prolin, toplam şeker ve nişasta gibi bazı organik metabolitlerin seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir.

#### **2.4. Yerfıstığı Stres Toleransında *LEA* ve *Resveratrol sentaz* Genleri**

Bitkiler abiyotik stres faktörlerine cevap olarak sekonder metabolitler, polisakkaritler ve proteinler gibi bazı moleküllerin sentezini gerçekleştirirler.

Fitoaleksinerler, patojen enfeksiyonları, ısı uyarıcıları, mekanik zorlama ve UV ışınlanması gibi biyotik ve abiyotik uyarıcılara, tarım sistemi içinde kendilerini korumak için bitkiler tarafından üretilen düşük molekül ağırlıklı sekonder metabolitlerdir (Ingham, 1976 ; Landcake ve Pryce, 1976 ; Sobolev vd., 1995). Patojenler ve UV radyasyona karşı direnç gösteren ve savunma sisteminin bir parçası olarak en önemli stilben fitoaleksinerlerin biri olan resveratrol bitkilerde ortaya çıkar (Dixon, 2001).

*LEA* proteinleri ise tohum gelişiminin kurumadan önceki geç evrelerinde, bitki embriyolarında yüksek konsantrasyonlarda ve aynı zamanda dışarıdan absisik asit uygulamasında, dehidrasyon, osmotik stres ve düşük sıcaklık gibi abiyotik streslere maruz kalmış vejetatif dokularda birikirler (Nylander vd., 2001). İlk olarak bitki tohumlarında tanımlanan *LEA* proteinleri, daha sonra bakteri, yosun ve nematodda da tespit edilmiştir (Finkelstein vd., 2002). Dizi benzerliğine göre, *LEA* proteinleri dokuz grup halinde sınıflandırılmıştır (Dalal, 2009).

##### **2.4.1. Yerfıstığı ve *LEA* (*Geç Embriyogenez Proteini*)**

*LEA*'lar ilk olarak pamuk bitkisinin kotiledonlarında keşfedilmiştir (Dure and Chlan, 1981). *LEA* ailesi bitkiler aleminde yaygın olarak dağılmaktadır (Battaglia vd.,

2008). *LEA* ailesi proteinleri, yüksek hidrofilik ve ısı stabilitesi ile karakterize edilir ve hatta kaynama koşulları altında sulu çözelti içinde kalabilir. Ayrıca bağlama iyonları ile hücre membran yapılarını stabilize edici ve oksidasyonunu önleyici olarak önemli bir rol oynar (Baker vd., 1988). Tohum gelişiminin kurumadan önceki geç evrelerinde, bitki embriyolarında yüksek konsantrasyonlarda ve aynı zamanda dışarıdan absisik asit uygulamasında, dehidrasyon, osmotik stres ve düşük sıcaklık streslerine maruz kalmış vejetatif dokularda birikirler (Nylander vd., 2001). Ayrıca bezelye tohum mitokondrisinin matriksinde su kaybına karşı koruyucu rol oynayan bir *LEA* proteini belirlenmiştir (Grelet vd., 2005). *LEA* proteinlerinin büyük bir kısmı oldukça hidrofiliktir ve belli aminoasitler bakımından (örneğin Alanin, Glisin, Glutamik asit ve Treonin) zengin ve belli aminoasitler bakımından (örneğin Triptofan ve Sistein) ise yoksuldurlar (Dure, 1997). Bu nedenle *LEA* proteinleri, hidrofilinler olarak adlandırılan ve hiperosmotik koşullara karşı cevapta yer alan geniş bir hidrofilik protein grubunun (Dehidrin) üyeleridirler (Garay-Arroyo vd., 2000). Farklı *LEA* protein grupları, su kaybını en aza indirmek üzere suyun bağlanmasından, protein ve membranların kararlılığının devamlılığının sağlanması, kademeli iyon geçişinin korunması ve aktif oksijen türlerinin yok edilmesine kadar birçok fonksiyona sahip olduğu düşünülmektedir (Close, 1997). Şaperonlar gibi enzimler, lipidler ve mRNA'lar gibi makromoleküllerin korunmasında görev alırlar (Yamaguchi-Shinozaki, 2002). Ayrıca *LEA* proteinleri farklı grupların ya da farklı üyelerin özgül fonksiyonel roller üstlendiklerini düşündürecek şekilde çeşitli hücre (subselüler) ve dokuya has yerleşim özellikleri sergilemektedirler (Nylander vd., 2001). *LEA* protein ifadesi genellikle genç fidelerde kurumaya (Whitsitt vd., 1997), tuza (Moons vd., 1995) ve dona (Danyluk vd., 1998) karşı dayanıklılık ile de yakından ilişkilidir.

Fıstık genlerini izole etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, EST dizileme projesi, fıstık tohum cDNA kütüphanesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Su vd., 2010). 6258 EST'lerden, 19 *LEA* kodlayan gen tespit edilmiş ve sekiz ayrı gruba ayrılmıştır. Sonuçta, tohumlardaki *LEA* genleri ifade seviyelerinin genellikle yüksek olduğu gösterilmiştir. Bazı *LEA* protein genlerinin, kök, sap, yaprak, çiçek ve tohum olmayan dokularda yüksek bir seviyede ifade edildiği görülmüştür. Bu sonuçlar fıstık *LEA* genleri üzerinde fonksiyonel ve düzenleyici çalışmalar için değerli bilgiler sağlamıştır.

Moons vd. (1997) tarafından pirinç bitkisinde yapılan bir çalışmada, 3 grup *LEA* proteinini kodlayan bir cDNA klonu olan *OSLEA3*, pirinç fidelerinin köklerinden izole edilmiştir. Daha önce kodlanan *OSLEA3* proteini, absisik aside karşılık olarak tuza karşı duyarlı pirinç çeşitine göre iki farklı tuz toleranslı bitkinin köklerinde daha yüksek seviyelerde biriktiği görülmüştür. Tuza toleranslı Pokkali ve tuza duyarlı Taichung N1 çeşitlerinde, *OSLEA3* ifadesi karşılaştırılmıştır. Daha yüksek mRNA seviyelerinin, dayanıklı çeşitlerin köklerinde bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca sürgün su içeriğinin hızla azaldığı görülmüştür. Her iki ekotipte, pirinçteki eşit sayıda gen ile küçük *OSLEA3* gen ailesinin varlığı gösterilmiştir.

Park vd. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, *LEA* geni, kolza *ME-leaN4*'ten, *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla transforme edilip marula aktarılmıştır. İkili vektör *pIG121-LEA*'yı ihtiva eden *Agrobacterium* suşu EHA101 ile enfeksiyon uygulanmıştır. Sonuçta, altı bağımsız transgenik marul bitkisi oluşturulmuştur. Tuz stresi ve su stresi altındaki kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında, transgenik marul gelişmiş büyüme yeteneği göstermiştir. 10 günlük bir büyümeden sonra, suda 100 mM NaCl altında transgenik marulun taze ağırlığı ve ortalama bitki boyu 2.8 cm ve 2.5 g iken kontrol bitkilerinde yalnızca 0.2 cm ve 0.3 g olduğu görülmüştür. Su eksikliği ile artan tolerans aynı zamanda, stresin neden olduğu yapraktaki solma ile yansımıştır. Bu sonuçlar, yapısal olarak tuz ve su stresine yanıt olarak kolza *LEA* genini sentezleyen transgenik marul bitkilerinde iyileşme olduğunu göstermektedir.

Pirincin 5 nolu kromozomu üzerinde yer alan *OsLEA3* geni, su ve tuz stresinin neden olduğu ifade analizinde ortaya çıkmıştır (Hu, 2008). Transgenik pirinç bitkilerinde *OsLEA3* geninin aşırı ekspresyonu, stres toleransında *OsLEA3* proteinin rolünü ortaya çıkarmıştır. Transgenik pirinç bitkilerinin bitkisel dokularındaki *OsLEA3* protein birikimi, su ve tuz stresi için tolerans geliştirmesine neden olmuştur. Bu sonuçlar, stres korumasında ve stres toleransında, genetik mühendisliği için *OsLEA3* geninin potansiyelini göstermektedir.

Dalal vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, abiyotik strese toleransı olan 9 farklı *LEA*'dan grup 1,2,3 belirlenmiştir. Bu çalışmada, *Brassica napus*'tan bir grup *LEA4* proteini olan *LEA4-1*'in işlevsel rolü değerlendirilmiştir. Ekspresyon

analizinde absisik asit, tuz, soğuk ve ozmotik strese, *Brassica* türlerinin yaprak dokularında, *LEA4-1* geninin ifadesini azalttığı ortaya çıkmıştır. Bunun tersine, çiçek ve gelişen tohumların üreme dokularında *LEA4* konstitütif ekspresyon sergilemiştir. Stres toleransı ile ilgili *LEA4-1* fonksiyonel değerlendirilmesi için, *B. napus*'tan klonlanan *LEA4-1* cDNAsı, hem *Escherichia coli* hem de transgenik *Arabidopsis* bitkisinde aşırı eksprese edilmiştir. rd29A promotörü ise tuz ve kuraklık streslerine gelişmiş bir tolerans mekanizması göstermiştir. Sonuç olarak, *LEA4-1*'in bitki gelişiminin vejetatif aşamasında, abiyotik stres toleransında önemli bir rol oynadığı gösterilmektedir.

Park vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, tatlı patatesin fibröz köklerinin dehidrasyon ile muamele edilmesi sonucunda *LEA14* geni, hazırlanan EST kütüphanesinden izole edilmiştir. Kantitatif RT-PCR, çeşitli abiyotik stres koşulları altında farklı *IbLEA14* ifadesinin çeşitliliğini göstermiştir. Tatlı patates bitkilerinde, *IbLEA14* ifadesi, NaCl, absisik asit ve dehidrasyon ile uyarılmıştır. Transgenik tatlı patates, embriyojenik olmayan kallus barındıran *IbLEA14*'ün aşırı ifadesiyle veya CaMV 35S promotörünün kontrolü altında RNAi vektörleri tarafından oluşturulmuştur. Transgenik kalluslarda aşırı ifadelenen *IbLEA14*, kuraklık ve tuz stresine karşı geliştirilmiş bir tolerans göstermiştir. RNAi kallusları ise normal koşullar altında, artan strese karşı duyarlılık göstermiştir. Genlerin artan ekspresyonu nedeniyle lignin içeriği, *IbLEA14*'ü aşırı ifade eden kalluslarda artmıştır.

Polietilen glikol ile muamele edilen nohut fide yapraklarının cDNA kütüphanesinden izole edilen *CarLEA4*'ün ikinci yapısındaki bir grup *LEA4* proteinlere yüksek bir benzerlik gösterdiği ve çekirdekte lokalize edildiği belirtilmiştir (Gu vd., 2012). *CarLEA4* ve transkriptleri, yapraklarda dahil olmak üzere sap, kök, çiçek, bakla ve genç tohum gibi birçok nohut organlarında tespit edilmiştir. *CarLEA4* yaprak, tohum gelişimi, bakla geliştirme ve çimlenme sırasındaki ifadesinde değişiklikler göstermiştir. Ayrıca, *CarLEA4* ifadesi kuraklık, tuz, sıcak, soğuk, ABA, IAA, GA3 ve Meja ile uyarılmıştır. Sonuç olarak, *CarLEA4* geninin *LEA* grubunun 4 proteinini kodladığı, çeşitli bitki gelişim süreçlerinde ve abiyotik stres tepkilerinde rolünün olabileceğini belirtilmiştir.

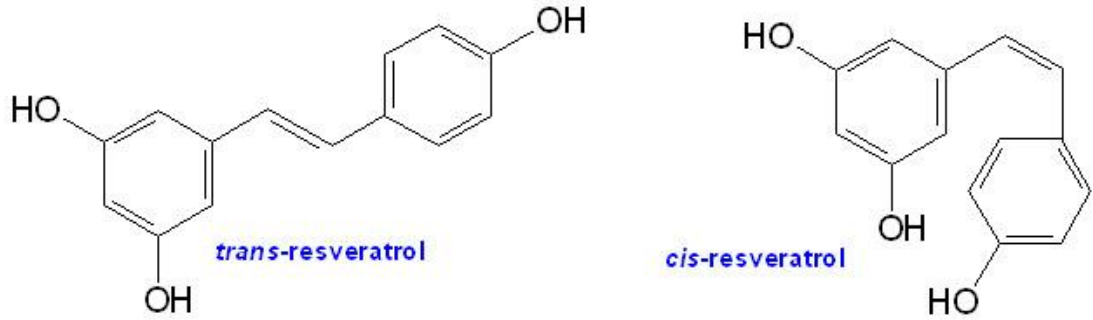
*TaLEA4*, *LEA* ailesinden bir Grup III elemanı olup, stres ile muamele edilmiş buğday fidelerinin cDNA kütüphanesinden klonlanmıştır. Hücre içi lokalizasyonu için yapılan bir çalışmada, buğday bitkisinin sitoplazma ve çekirdeğinde, *TaLEA4* protein birikiminin olduğu gösterilmiştir (Min vd., 2012). Normal büyüme şartları altında, buğdayın çeşitli organlarındaki *TaLEA4* ifadesinin, mRNA’da bol miktarda biriktiği gözlenmiştir. *TaLEA4*’ün ifade profil analizi, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklıklardan kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu çalışma, *LEA* proteinlerin daha ayrıntılı fonksiyonel analizleri için bir temel sağlamakta ve moleküler ıslahta buğday direncini arttırmanın yollarını göstermektedir.

Dalal vd. (2013) tarafından *Sorgum*’da yapılan bir çalışmada, 3 grup *LEA* genlerinin, abiyotik stres toleransında çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. *Sorgum* için *LEA3* genlerinin bir genom analizi sunulmuştur. Ayrıca dört sorgum genomuna ait *LEA3* proteinleri kodlayan genler ve tanımlanmış *LEA3*’e özgü motiflerin korunmasına dayalı *LEA3A* ve *LEA3B* genleri alt gruplar halinde sınıflandırılmıştır. Bu genlerin ekspresyon modeli, abiyotik stres altındaki bitkisel dokularda, gelişim sırasında, tohum içinde analiz edilmiştir. *SbLEA3A* grubu genler sadece olgunlaşmış tohumlarda ifade edilirken, tohum gelişiminin erken aşamasındaki ifadesi önemli ölçüde artmıştır. Kuraklık, ozmotik, tuz ve sıcaklık stresleri gibi abiyotik streslere cevap olarak *SbLEA3* genlerin sentezlenmesi, ABA ile muamele edilen 2 haftalık fide yapraklarında incelenmiştir. ABA ve kuraklık, tüm *LEA3* genlerinin ekspresyonunu uyarmıştır. Bu çalışmada, sorgumda stres toleransı ve tohum gelişimi içinde *LEA3* genlerinin gereksiz olmayan bir işlevi olduğu gösterilmektedir.

#### **2.4.2. Yerfıstığı ve Resveratrol sentaz geni**

Resveratrol (RES), travmatik zedelenmede, UV ışığına maruz kaldığında ya da fungal enfeksiyona (*Botrytis cinerea*) karşı cevap olarak bazı bitkiler tarafından sentezlenen non-flavonoid yapıda polifenolik bir fitoaleksindir. Fitoaleksinler, patojenik mikroorganizmalara karşı bitkiler tarafından korunma amaçlı sentezlenen kimyasal maddelerdir ve bitkisel antibiyotikler olarak da isimlendirilmektedir. RES, stilben fitoaleksinlerinin en aktif bileşiğidir. Cis ve trans stereoizomerleri şeklinde bulunur. Bitkilerde daha çok trans izomerinin bulunması nedeniyle bütün araştırmalar genel olarak trans izomeri üzerinden yapılmıştır (Fremont, 2000;

Gerogiannaki-Christopoulou, 2006). Resveratrol cis ve trans izomerleri Şekil 2.2.'de sunulmuştur.



Şekil 2.2. Resveratrol cis ve trans izoenzimleri (Anonim, 2014).

Resveratrol biyosentezi, fenilpropanoid yolundan dallanır ve resveratrol üretim yolu dört enzimden oluşur. Bu enzimler sırasıyla fenilalanin amonya liyaz (PAL), sinamik asit 4-hidroksilaz (C4H), 4-koumarat: CoA ligaz (4CL) ve *stilben sentaz* (STS)'dir (Delainois vd., 2009). İlk iki enzim PAL ve C4H fenilalanin aminoasitini 4-koumarik asite dönüştürür. Üçüncü enzim 4CL, 4-koumarik asiti koenzim-A ile birleştirerek 4-koumaril-CoA oluşumunu sağlar. PAL, C4H ve 4CL enzimlerinin üçü de doğada bulunan bitki fenolik bileşenlerin neredeyse tamamının üretiminden sorumlu olan fenilpropanoid yolunun üyeleridir. Bu metabolizmal yol tarafından üretilen ligninler hücre duvarı bileşenlerinin oluşumunda, antosiyaninler pigment oluşumunda, flavonoller ise UV ışınlarına karşı koruyucu olarak görev alırlar. Metabolizmal yolun son enzimi STS, bir molekül 4-koumaril-CoA ve yağ asidi biyosentezinden gelen üç molekül malonil-CoA'yı birleştirerek resveratrol üretimini gerçekleştirir. STS, tip III poliketid sentaz enzim ailesinin bir üyesidir ve şalkon sentaz (CHS) enzimiyle büyük oranda benzerlik gösterir (Donnez vd., 2009). CHS enzimi, tüm flavonoidlerin başlangıç molekülleri olan şalkonların üretiminden sorumludur ve tüm kompleks bitkilerde yaygın olarak bulunur, bununla beraber STS, yalnızca resveratrol ve benzeri bileşenleri üretebilen bitkilerde bulunur (Delainois vd., 2009). Yapılan çalışmalarla stilben benzeri bileşenler üretebilen 33 farklı bitki türü tespit edilmiştir (Shen vd., 2009). Resveratrol ise yer fıstığı, bazı kırmızı yemişli meyveler, bazı çam türleri ve asma gibi çok çeşitli familyalara ait bitkilerde bulunmuştur (Rimando vd., 2012). Dokularda verimli ve kayda değer düzeyde resveratrol üretimi, başta STS olmak üzere, üretimde rol alan önemli bileşenlerin katabolizmadaki rollerinin, farklı

doku ve organlardaki davranış biçimlerinin ve başlıca stres faktörleri olmak üzere çevresel etkenlerle ilişkisi ve etkileşimlerinin açıklığa kavuşturulmasına bağlıdır. *STS* gen ifadesinin metiljasmonat ve siklodekstrin gibi uyarıcılarla arttırılabildiği bilinmektedir (Lijavetzky, 2008). Resveratrolün antifungal aktiviteyle ilişkisi ve yaralanma/patojen saldırısı gibi çeşitli stres koşullarında da üretildiği bilinmektedir (Jeandet, 2002).

Yapılan ilk araştırmalarda yerfıstığında resveratrol üretiminin biyotik stres uyarılarına bağlı olduğu, patojenler, mantar hücre duvarı uyarıcıları ve UV ile düzenlendiği düşünülmüştür (Fritzsche vd., 1983). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalar resveratrolün, kök, olgunlaşmamış tohum kesesi ve tohumlarda düzenli olarak ve yoğun miktarda üretildiğini ortaya koymuştur (Chung vd., 2001). Ayrıca kök ve yaprakta yaralanma, UV uygulaması, maya ekstraktı, etilen, jasmonik asit ve salisilik asitin, *resveratrol sentaz* gen ifadesininin artışı yoluyla resveratrol üretimini arttırdığı da gözlenmiştir (Chung vd., 2001).

Yerfıstığı *resveratrol sentaz* geninin tütün dokularında geçici ifadesinin real time PCR ile incelendiği diğer bir çalışmada en yüksek ifadenin transformasyonu takip eden 48 saat içinde gerçekleştiği, sonraki 48 saat içinde ise düzenli olarak düştüğü gözlenmiştir. Western blot analizi 72. saati enzim seviyesinin en yüksek olduğu zaman olarak belirlenmiş HPLC analizi ile ise biriken bileşenin resveratrol glikozid olduğu bulunmuştur (Condori vd., 2009). *Agrobacterium rhizogenes* yardımıyla oluşturulan yerfıstığı saçak kök kültürlerinde resveratrol üretimi de gerçekleştirilmiş (Medina-Bolivar vd., 2007) ve ayrıca kullanılan besin ortamının optimizasyonu ve sodyum asetat yardımıyla saçak köklerde resveratrol birikiminde artış da sağlanmıştır (Condori vd., 2010). Morötesi (UV) ışın uygulamasının resveratrol üretimi üzerindeki etkisi 20 günlük yer fıstığı fideleri incelenerek belirlenmiş, UV uygulaması ilk 24 saat içinde resveratrol miktarını önemli ölçüde arttırmış, uygulama öncesi bitki büyütme ortamına resveratrol eklenmesi ise strese karşı koruyucu bir etki sağlayarak bazı süperoksit radikallerinin ve antioksidan enzim aktivitelerinin miktarlarında düşüş sağlamıştır (Tang vd., 2010).

Çok güncel iki çalışmada yerfıstığı *resveratrol sentaz* geninin farklı bitkilerdeki ifadesi incelenmiştir. Resveratrolün dimetileter türevi olan pterostilbenin mantar

enfeksiyonunda resveratrolden daha güçlü koruyucu etki göstermesi nedeniyle, *AhSTS* geni ve *Sorgum* O-metil transferaz enzimi birlikte *Arabidopsis* ve bütün bitkilerine aktarılmıştır. Bu strateji her iki bitkide de yüksek miktarda pterostilben üretilmesini sağlamıştır (Rimando vd., 2012). Diğer bir çalışmada stres toleransı ıslahı amacıyla yerfıstığı *stilben sentaz* geni tatlı patates bitkisine aktarılmıştır (Pan vd., 2012). Dokularda resveratrol yerine yüksek miktarda yine bir resveratrol türevi olan resveratrol glukozid birikmiştir.

## 2.5. Stres Altındaki Bitkilerde Silisyum Uygulamaları

Silisyum, yer kabuğunda en bol bulunan elementler arasında ikinci sırada yer almaktadır. Bitkiler silisyum elementini topraktan kökleri aracılığıyla, pH 9'un altında iken yüksüksüz bir monomerik molekül olan silisik asit  $[Si(OH)_4]$  olarak temin ederler (Epstein, 1999). Silisyum bitki gelişimi için gerekli elementler arasında sıralanmaz ve bitki doku kültürlerinde kullanılan besin ortamlarında bulunmaz. Bunun nedeni optimum koşullarda bitkilerin, gelişim için bu elemente ihtiyaç duymamasıdır (Epstein, 1994). Ancak biyotik ve abiyotik streslerin varlığında silisyumun yaşamsal görevleri olduğu son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarla ortaya çıkartılmaya başlamıştır. Örneğin, silisyumun köklerde birikimi apoplastik bypass akışını azaltmakta ve metaller için bağlayıcı bölgeler sağlamaktadır. Toksik metallerin ve tuzların hücre içine alımını ve köklerden gövdeye doğru iletimini azaltmaktadır. Doğal sistemlerde Si, sitosol içerisinde varlığı hala tartışma konusu iken yaprak hücrelerinin apoplastında biriktiği ve polimerize olduğu bilinmektedir (Yamaji vd., 2008). Yapraklarda ve gövdede silisyum birikimi, hücre duvarının güçlenmesine yardımcı olmakta ve sertliğini arttırıcı bir etki sağlamaktadır. Aynı zamanda kutikulada terlemeyi azaltmakta, böylelikle bitkilerin düşük ve yüksek sıcaklıklara, kuraklık stresine, radyasyon ve UV streslerine karşı direnç kazanmasını sağlamaktadır. Silisyumun yararlı etkileri daha çok gövdede görülmektedir (Ma ve Yamaji, 2005). Silisyumun stresle savunma bileşenlerinin oluşumunu uyarıcı etkisi olduğu da düşünülmüş ve bazı organik bileşenlerle silisyum kompleksleri arasındaki afinite ortaya konulmuştur (Kinrade vd., 1999).

Silisyumun çeşitli stresler altındaki direnç arttırıcı etkisi de ortaya konulmaya başlanmıştır. Örneğin külleme hastalığı ile bulaşık *Arabidopsis* bitkilerinde çok

çeşitli genlerin diferansiyel ifadesini sağlamış, hasta olmayan bitkilerde ise varlığı gen ifadelerini etkilememiştir (Fauteux vd., 2006). Bezelye bitkisinde, yaprak lekesi patojen mantarı enfeksiyonunda dokulardaki kitinaz ve glukanaaz enzimlerinin üretimini arttırmış ve yapraklarda önemli miktarda biriktiği belirlenmiştir (Dann ve Muir, 2002). Soğuk stres altında buğdayda silisyum uygulaması enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistem bileşenlerini harekete geçirerek dokuların su içeriğini arttırmış ve önemli ölçüde soğuk direnci sağlamıştır (Liang vd., 2008). Silisyum, antioksidan sistem üzerindeki benzer olumlu etkilerini tuz stresi altındaki arpa, hıyar ve domates bitkilerinde de göstermiştir (Liang vd., 1999; Zhu vd., 2004; Al-Aghabary vd., 2005).

Sonobe vd. (2011) tarafından *Sorgum* bitkisinde yapılan bir çalışmada, kuraklık stresine maruz kalan bitkiye silisyum uygulandığında; kuru ağırlık, fotosentetik oran, stoma iletkenliği, terleme oranı, yaprak su potansiyeli ve su alım oranında değişiklikler gözlenmiştir. Sonuç olarak, silisyumla tedavi edilen bitkide; strese maruz kalan bitkiden daha yüksek stoma iletkenliği, fotosentetik ve terleme oranı göstermiştir. Yaprak su potansiyeli gün boyunca silisyumlu bitkilerde hemen hemen sabit kalmıştır. Su stresinde bitkilerdeki su alımı azalmış fakat silisyumla birlikte su alımı artmıştır.

Gong vd. (2008) tarafından buğdayda yapılan bir araştırmada, kuraklığın yol açtığı oksidatif stres ve buğdayda antioksidan savunma sistemi üzerine, ekim öncesinde gerçekleştirilen silisyum (Si) uygulamasının etkileri araştırılmıştır. Dolum aşamasında, Si uygulanmasıyla kuraklık stresli bitkilerin su potansiyeli ve SOD aktivitesinde artış, POD aktivitelerinde azalma gözlenmiştir. Glutasyon redüktaz aktivitesi büyük ölçüde etkilenmemiştir.  $H_2O_2$  içeriği ve protein karbonil miktarı azalmış, toplam çözünebilir protein içeriği artmıştır. Ayrıca kuraklık stresli bitkilere Si uygulamasıyla, Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler içeriği (TBARS), fosfolipaz asit aktivitesi ve lipoksigenaz aktiviteleri her 2 aşamada azalmıştır.

Cunha vd. (2009) tarafından mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada, kalsiyum silikat ile tedavi edilen, Cd ve Zn ile zenginleştirilmiş toprakta yetiştirilen mısır bitkilerinde gözlenen yapısal değişiklikler, Si, Cd ve Zn birikimi ve toleransı arasındaki ilişki incelenmiştir. Sonuçta, Si ile tedavi edilen mısır bitkilerinin sadece artan biyokütle

değil, aynı zamanda daha yüksek metal birikimini ortaya koymuştur. Ksilem çapı, mezofil, epidermis kalınlığı, midvein ve kollenkima tarafından işgal edilmiş transversal alanda önemli yapısal değişiklikler Si uygulamasının bir sonucu olarak gözlenmiştir. Köklerin endodermis ve periskl tabakalarında silika birikiminin, Cd ve Zn stresi altında mısır toleransı için önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Chen vd. (2011) tarafından pirinçte yapılan bir çalışmada, kuraklık stresi altındaki pirinç bitkilerinde; kuru ağırlık, kök özellikleri, su potansiyeli, fotosentetik parametreler, bazal kuantum verimi ( $F_v/F_0$ ) ve PS2 fotokimya ( $F_v/F_m$ ) maksimum veriminde azalma meydana geldiği kaydedilmiştir. Kuraklık stresi altında pirinç bitkilerine Si uygulandığında; fotosentetik oran (Pr), terleme oranı (Tr),  $F_v/F_0$ ,  $F_v/F_m$  oranı artmıştır. Buna ek olarak su stresi altındaki pirinç bitkilerinde K, Na, Ca, Mg ve Fe içeriği artmış, fakat Si ile bitkiler tedavi edildiğinde bu besin seviyelerinde azalma görülmüştür. Kuraklık stresi altında kök gelişimi azalmış, Si uygulamasıyla toplam kök uzunluğu, toplam yüzey alanı, toplam kök hacmi önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca pirinç bitkilerine Si uygulanmasıyla su durumu iyileştirilerek kuraklık stresine tolerans sağlanmıştır.

Güneş vd. (2008) tarafından ayçiçeği bitkisinde yapılan bir çalışmada, kuraklık koşullarında yetiştirilen 12 ayçiçeği çeşidinin, yaprak oransal su içeriği (RWC), stoma direnci (SR), lipid peroksidasyonu (MDA), membran geçirgenliği (MP), prolin ve  $H_2O_2$  birikimi, nonenzimatik antioksidan aktivitesi ve SOD, CAT, APX savunma sistemlerinde silisyumun etkileri araştırılmıştır. SR,  $H_2O_2$ , prolin ve MDA içeriği stres altında tüm çeşitlerde artmıştır. Bununla birlikte Si uygulaması, önemli ölçüde artan yaprak RWC ve zar hasarını azaltmıştır. CAT aktivitesi kuraklık stresinde azalmış fakat silisyumla artmıştır. Genel olarak çeşitlerin SOD ve APX aktiviteleri kuraklık stresinde artmış, silisyum uygulamasıyla azalmıştır. Çeşitlerin enzimatik olmayan antioksidan aktiviteleri kuraklık stresi altında silisyum tarafından artırılmıştır. Bu çalışmaya dayanarak ayçiçeği çeşitlerinin Si uygulamasıyla membran hasarı önlenmiş ve kuraklık stresi azaltılmıştır.

Literatürde silisyum toksisitesini bildiren tek çalışmada silisyum taşıyıcı protein (*Lsi1*) buğdayda karakterize edilmiş ve hem buğday hem de pirinç bitkisine ait silisyum taşıyıcı proteinlerinin *Arabidopsis* bitkisinde CaMV35S promotörü

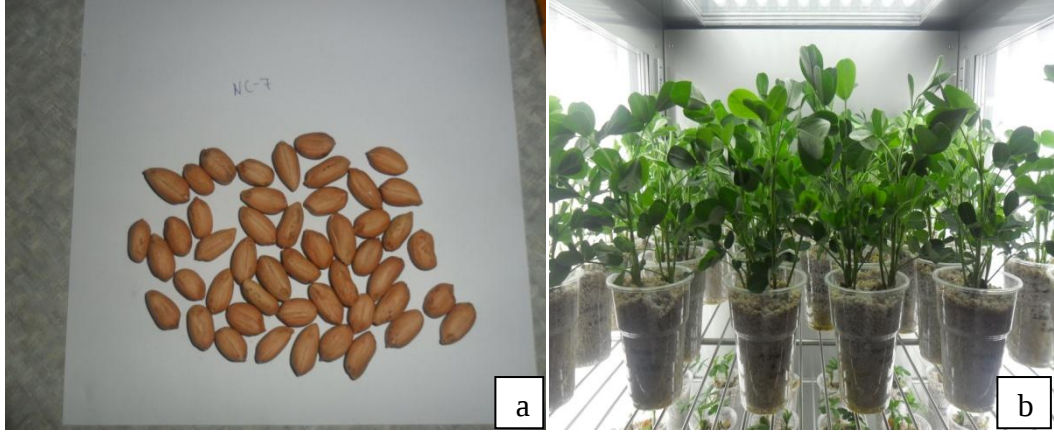
kontrolünde yüksek düzeyde ifadesi sağlanmıştır (Montpetit vd., 2012). Normal bitkilere kıyasla dokularında beş kata kadar daha fazla silisyum taşıyan transgenik bitkilerde silisyumun fitotoksik semptomlara neden olduğu gözlenmiştir. *Lsi1* geni köke özgü bir promotor kontrolünde yalnızca *Arabidopsis* kök dokularında ifade edildiğinde ise benzer toksik etkilere rastlanmamıştır. Sonuçlar, buğdayda karakterize edilen *Lsi1* geninin işlevsel bir silisyum taşıyıcı oluşunu kanıtlamanın yanısıra normal koşullarda dokularında yüksek miktarda silisyum biriktirmeyen ( $\leq 0.1$ ) *Arabidopsis* bitkisinde gövde dokularına siliyum alımının toksik etkilerini de ortaya çıkarmıştır. Çalışma dahilinde gerçekleştirilen gen ifade sisteminin farklı bitkilere uygulanması yoluyla silisyumun işlev mekanizmaları ve Si alımının farklı bitkilerdeki yararlı veya toksik etkileri ile ilgili önemli bilgiler edinilebileceği belirtilmiştir.

Silisyumun yerfıstığı stres metabolizması üzerindeki etkilerinin incelendiği tek çalışma kadmiyum stresi altındaki bitkilerle gerçekleştirilmiştir (Shi vd., 2010). Çalışma dahilinde Cd toleransları farklılık gösteren iki yerfıstığı çeşidi; dirençli Luzi101 ve duyarlı Luhua11 kullanılmıştır. Si uygulaması Cd stresi altındaki yerfıstığı fidelerinde çeşide ve dokuya özgü bir iyileştirici etki göstermiş, duyarlı çeşitte köklerden gövdeye Cd taşınımını azaltarak, yaprak hücre organellerindeki Cd miktarını azaltarak ve köklerde SOD, POD ve CAT enzim aktivitelerini arttırarak toksisite etkilerini azaltmıştır. Dirençli çeşitte ise yararlı etkilerini yalnızca gövde Cd miktarlarını azaltarak ve antioksidan sistemleri aktive ederek gösterdiği belirtilmiştir.

### 3. MATERİYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından ıslah edilmiş olan NC-7 yerfıstığı çeşidi (Şekil 3.1) kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Denemede kullanılan bitkisel materyal. NC-7 yerfıstığı tohumları (a), çimlenmiş NC-7 yerfıstığı çeşidi (b).

#### 3.2. Bitki Yetiştirilmesi ve Stres Uygulamaları

Yerfıstığı tohumları, %2'lik sodyum hipoklorit çözeltisi ile sterilize edilmelerinin ardından, steril perlit içeren 400 ml hacimli polipropilen kaplar içinde üçer adet olacak şekilde, her iki günde bir  $\frac{1}{2}$  Hoagland,  $\frac{1}{2}$  Hoagland ve 0.5 mM silisyum çözeltileriyle (Hoagland ve Arnon, 1950) sulanarak çimlendirilmiş ve 15 gün boyunca bitki gelişimi, 16 saat ışık/8 saat karanlık döngüsünde, 24°C' de, %50 nem içeren bitki büyütme kabininde devam ettirilmiştir. Bitkilere, Sigma ALDRICH Sodium Silicate Solution ( $\text{Na}_2\text{O}_7\text{Si}_3$ ) ile silisyum uygulanmıştır. Kuraklık stresi, 15 gün sonunda %20 oranda PEG'in besin ortamına eklenmesi ve 3 günlük periotlarda sulanması ile uygulanan, kuraklık uygulamasının 8. günü, analizler için gerekli örnek toplanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan uygulamalar. Gri alanlar kontrol uygulamalarını göstermektedir.

| ORTAM                       | UYGULAMA        |                              |                        |
|-----------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------|
|                             | Normal koşullar | Kuraklık stresi<br>(%20 PEG) | Tuz stresi<br>(160 mM) |
| ½ Hoagland                  | X               | X                            | X                      |
| ½ Hoagland + Si<br>(0.5 mM) | X               | X                            | X                      |

Tuz stresi ise 160mM NaCl<sub>2</sub>'nin besin ortamına eklenmesiyle, kuraklık stresiyle aynı periotlarda uygulanmıştır. Silisyum (Si) (0.5 mM yoğunlukta) uygulaması yapılan bitkiler, perlit üzerine yerleştirildikleri andan itibaren silisyum içeren ½ Hoagland çözeltisiyle sulanarak çimlendirilmiş, kuraklık ve tuz stres uygulamaları ve örnek toplama periotları yukarıda belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

### 3.3. Gövde/Kök Uzunluğu ve Oranı, Kuru/Yaş Ağırlık ve Bağlı Su İçeriğinin Belirlenmesi

On beş günlük gelişimlerini tamamlamış ve belirtilen sürelerde silisyum varlığında veya yokluğunda stres uygulanmış bitkiler, kontrol bitkilerle birlikte perlitten sökülmüş, musluk suyu altında yıkanmış ve kök ile gövde uzunlukları belirlenerek oranlanmıştır. Kök ve gövde dokuları birbirinden ayrılarak tartılmış ve 60°C' de 48 saat kurutulduktan sonra tekrar tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Bağlı su içerikleri (BSU), Smart ve Bingham (1974)'e göre  $BSU(\%) = \frac{(Yaş\ ağırlık - Kuru\ ağırlık)}{(Turgid\ ağırlık - Kuru\ ağırlık)} \times 100$  formülüne göre belirlenmiştir. Turgid ağırlık, dokuların 24 saat oda ısısında distile su içinde bekletilmesiyle hesaplanmıştır.

### 3.4. Prolin Miktarının Belirlenmesi

Prolin miktarının belirlenmesi, Bates vd. (1973)'e göre 0.3 g gövde örneğinin sıvı azotla parçalanarak 1 ml, 3% sülfosalisilik asit içinde çözündürülmesiyle başlamıştır. 0.1 ml örnek, santrifüjü takiben 0.2 ml asid ninhidrin, 0.2 ml 96% asetik asit ve 0.1 ml %3 sülfosalisilik asitle karıştırılmıştır. Karışımlar 96°C'de 1 saat tutulmuş ve 1 ml

toluenle karıştırılarak tekrar santrifüjlenmiş ve üst fazın absorbans değeri 520 nm’de okunmuştur.

### **3.5. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi**

Bernt ve Bergmeyer (1974)’e göre belirlenen miktarlar, 0.5 g gövde dokusunun sıvı azotla parçalanması ve 1.5 ml, 100 mM potasyum fosfat tamponuyla, pH 6.8 çözdürülmesiyle başlamıştır. Santrifüjlenen ve 0.25 ml supernatanı toplanan örneklerde enzimatik reaksiyon 1.25 ml peroksidaz çözeltisi (83 mM potasyum fosfat tampon, pH 7.0, 0.005% (w/v) o-dianizidin, 40 µg peroksidaz/ml) ile 30°C’ de karıştırılarak başlatılmıştır. 10 dakika sonunda reaksiyon 0.25 ml, 1 N perklorik asit eklenerek durdurulmuş, santrifüjü takiben üst fazın absorbansı 436 nm’de ölçülmüştür.

### **3.6. Malondialdehit (MDA) Miktarının Belirlenmesi**

Hücre zarı hasarının belirlenmesi amacıyla MDA miktarları Ohkawa vd. (1979) metoduna göre hesaplanmıştır. 0.2 g gövde dokusu sıvı azotla homojenize edilip, 1 ml %5 trikloroasetik asit (TCA) eklenmiştir. Santrifüjü takiben aynı hacimde %20’lik TCA içinde %0.5 tiobarbiturik asit (TBA) eklenerek 96°C’de 25 dakika bekletilmiştir. Örnekler buz içinde soğutulmuş ve absorbans 532 nm değerinde okunmuştur. Spesifik olmayan absorbans ise 600 nm’de belirlenerek ilk absorbans değerinden çıkartılmıştır.

### **3.7. İyon Sızıntısı**

İyon sızıntısı Nanjo vd. (1999) yöntemiyle 6 adet yaprağın 0.4 M manitol içeren test tüplerinde 3 saat çalkalanmasıyla bekletilmişlerdir. Elektriksel iletkenlik 0.01 mSs/cm - 300mSs/cm aralığında ölçüm yapabilen Thermo Scientific Orion 013016MD MD 2 kondaktivimetre probu kullanılarak C1 olarak belirlenmiştir. Kaynayan suda 15 dakika bekletilip oda ısısına soğutulan örneklerle C2 okuması yapılmış ve sızıntıya bağlı iletkenlik  $[(C1/C2) \times 100]$  formülüyle hesaplanmıştır.

### 3.8. Klorofil Miktarının Belirlenmesi

Klorofil miktarları Lichtenthaler (1983) metoduyla, 3 g yaprak dokusunun sıvı azotla parçalanması ve santrifüjlenmesini takiben 1 ml sıvının 8 ml aseton ve 1 ml suyla karıştırılarak santrifüjlenmesi ve süpernatanın farklı absorbans değerlerinde belirlenerek aşağıdaki formüllerle hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil a (mg/L)} = 15.65 \text{ Abs}_{666} - 7.340 \text{ Abs}_{653}$$

$$\text{Klorofil b (mg/L)} = 27.05 \text{ Abs}_{653} - 11.21 \text{ Abs}_{666}$$

### 3.9. SOD Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Enzim aktiviteleri Beauchamp ve Fridovich (1971) metoduna göre belirlenmiştir. 0.2 g yaprak örneği cam-cam homojenizatörde buz üzerinde homojenizasyon tamponuyla karıştırılmış, santrifüjlenmiş ve süpernatana kullanıma kadar -80°C’ de saklanmıştır. Ekstraktların protein miktarı Bradford (1976) yöntemiyle belirlenmiştir. Bio-Rad midi jel aparatında %30’luk (29:1) akrilamid-bis çözeltisiyle ayırma ve istifleme kısımlarından oluşan native poliakrilamid jeli hazırlanmıştır. Örneklerin yüklenmesiyle öncelikle 6 V/cm daha sonra da 8V/cm voltajla takip boyası izlenerek 1.5 mM tris baz ve 38.4 mM glisin içeren yürütme tamponu içinde örneklerin ayrılması sağlanmıştır. Daha sonra jel aparatı sökülerek jelin istifleme kısmı ayrılmış ve SOD enziminin farklı izozimlerinin belirlenmesi amacıyla öncelikle KCN ve hidrojen peroksit uygulanmış daha sonra da NBT içeren negatif aktivite boyaması gerçekleştirilerek enzim izozim bantları belirginleştirilmiştir.

### 3.10. Elemental Silisyumun Belirlenmesi

Yerfıstığı dokularında elemental silisyum analizi EPA 6010 metoduna uygun olarak Elmer OPTIMA 5300 DY ICP OES cihazı kullanılarak SDÜ Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde gerçekleştirilmiştir.

### 3.11. *Rezveratrol Sentaz* ve *LEA* Gen İfadelerinin Belirlenmesi

Gen bankası erişim numaraları AB027606.1 ve HM543584.1 olan *rezveratrol sentaz* ve *LEA* genlerine ait mRNA dizilimlerine NCBI (National Center For Biotechnology

Information) veri tabanından erişilmiş ve bu genlerin transkripsiyon düzeyindeki ifadesi yarı kantitatif ters ifadeli PCR (reverse-transcription PCR) tekniği kullanılarak incelenmiştir.

### **3.12. RNA İzolasyonu**

Yerfıstığı yapraklarından RNA izolasyonu guanidin-izotiyosiyanat lisis ve silika-membran saflaştırması metodlarına dayalı Qiagen RNeasy bitki mini kitleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen toplam RNA'ların miktarı spektrofotometrik olarak Nanodrop 2000 ile, kalitesi ise %2'lik agaroz jel elektroforezi ile ayrılıp görüntülenerek belirlenmiştir.

### **3.13. Ters İfadeli PCR**

Elde edilen RNA moleküllerinden Fermentas First Strand cDNA Sentez Kiti (Fermentas, ABD) kullanılarak oligodT primerleri yardımıyla cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu karışım içinden, NCBI erişim numarası AB027606.1 ve HM543590.1 olan *rezveratrol sentaz* ve *LEA* genleri, belirtilen gen bölgelerine özgü, PrimerPremier 5.0, CA, ABD primer tasarım programıyla tasarlanmış ve çoğaltım için en uygun koşulları sağlayan primerler yardımıyla PCR ile çoğaltılmış, elde edilen bantlar %0.8'lik agaroz jeli üzerinde ayrılarak Biolab UV Tech jel görüntüleme sistemiyle görüntülenmiştir. Görüntülenen bantlar NIH (National Institute of Health) tarafından geliştirilen ImageJ yazılımı ile analiz edilerek gen ifade düzeyleri arasındaki farklılıklar belirlenmiştir.

### **3.14. İstatistiksel Analizler**

Araştırmada elde edilen veriler, SPSS 16.0 programıyla değerlendirilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılıklar One Way Anova, Tukeys Testiyle belirlenmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, silisyumun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığında (*Arachis hypogaea* L.) çeşitli antioksidatif sistem bileşenleri ve gen aktiviteleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bitkinin kontrol (K), tuz stresi (T) ve kuraklık stresi (P) gruplarına 8 gün 0.5mM'lık silisyum verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda anatomik ve fizyolojik etkiler, biyokimyasal tepkimeler, SOD enzim aktivitesi, silisyum birikimi ve gen aktivitelerine ait sonuçlar değerlendirilmiştir.

##### 4.1. Anatomik ve Fizyolojik Etkiler

Silisyumun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığında yaş ve kuru ağırlık, uzunluk ve RWC (bağıl su içeriği) araştırılmış ve sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kuraklık ve tuz stresi ile silisyum uygulamalarının yerfıstığı anatomi ve fizyolojisi üzerine etkileri

|                    | Yaş Ağırlık<br>(gr)        | Kuru Ağırlık<br>(gr) | Uzunluk (cm)              | RWC (%)    |
|--------------------|----------------------------|----------------------|---------------------------|------------|
| <b>K-Si Gövde*</b> | 3,05±0,20 <sup>ab</sup> ** | 0,35±0,00            | 18,92±0,22 <sup>ab</sup>  | 92,12±2,14 |
| <b>K+Si Gövde</b>  | 3,78±0,13 <sup>b</sup>     | 0,38±0,03            | 19,56±0,36 <sup>b</sup>   | 91,35±0,46 |
| <b>T-Si Gövde</b>  | 3,28±0,14 <sup>ab</sup>    | 0,47±0,02            | 17,89±0,51 <sup>ab</sup>  | 87,40±3,40 |
| <b>T+Si Gövde</b>  | 3,29±0,33 <sup>ab</sup>    | 0,49±0,03            | 17,19±0,52 <sup>a</sup>   | 93,39±0,65 |
| <b>P-Si Gövde</b>  | 2,72±0,25 <sup>a</sup>     | 0,39±0,03            | 17,51±0,80 <sup>ab</sup>  | 88,78±4,42 |
| <b>P+Si Gövde</b>  | 2,96±0,03 <sup>ab</sup>    | 0,47±0,06            | 17,75±0,26 <sup>a,b</sup> | 93,05±1,30 |
| <b>K-Si Kök</b>    | 1,92±0,21 <sup>ab</sup>    | 0,14±0,00            | 12,81±0,21 <sup>abc</sup> | -          |
| <b>K+Si Kök</b>    | 1,79±0,07 <sup>ab</sup>    | 0,15±0,01            | 12,63±0,21 <sup>ab</sup>  | -          |
| <b>T-Si Kök</b>    | 2,17±0,10 <sup>b</sup>     | 0,24±0,02            | 12,14±0,16 <sup>a</sup>   | -          |
| <b>T+Si Kök</b>    | 2,05±0,18 <sup>ab</sup>    | 0,20±0,00            | 12,60±0,05 <sup>ab</sup>  | -          |
| <b>P-Si Kök</b>    | 1,49±0,10 <sup>a</sup>     | 0,19±0,04            | 13,46±0,15 <sup>bc</sup>  | -          |
| <b>P+Si Kök</b>    | 1,55±0,09 <sup>ab</sup>    | 0,22±0,02            | 13,69±0,27 <sup>c</sup>   | -          |

\* Uygulamalardan K, Hoagland çözeltisiyle sulanan bitkileri, -Si ve +Si sırasıyla içinde Si içermeyen ve 0.5 mM Si içeren Hoagland çözeltisiyle sulanan bitkileri, T tuz stresi ve P kuraklık stresi uygulamalarını göstermektedir.

\*\* Harfler, aynı sütun içinde yer alan verileri 0,05 olasılık düzeyine göre aynı veya farklı kümeler içinde göstermektedir.

Strese maruz bırakılmayan kontrol grubunun gövdesine kıyasla silisyum uygulaması yapılan bitkinin yaş ağırlık üzerine vermiş olduğu cevapta istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bir miktar arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Tuz stresi uygulanan grupta silisyumun hiçbir etkisinin olmadığı, kuraklık stresi uygulanan grupta ise silisyumun gövdede yaş ağırlık miktarını yine istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bir miktar arttığı saptanmıştır. Silisyum uygulaması yapılan kontrol ve stresli bitkiler karşılaştırıldığında ise aralarında fark olmadığı gözlenmiştir. İstatistiksel olarak aynı grupta yer almasına rağmen ( $p<0.05$ ) kuraklık ve tuz stresine maruz kalan bitkilerde silisyumun yaş ağırlık miktarını arttırdığı saptanmıştır.

Bitkinin kök dokusunda silisyumun, kontrol grubunda hiçbir etkisinin olmadığı, tuz stresi altındaki bitkilerde istatistiksel olarak farklı olmamakla birlikte yaş ağırlık miktarını azalttığı, kuraklık stresi altındaki bitkide ise yine istatistiksel olarak aynı kümede yer almakla birlikte bir miktar yaş ağırlığının arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Silisyuma maruz bırakılan kontrol ve stresli bitkiler karşılaştırıldığında ise köklerde silisyumun yaş ağırlık üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Yapılan uygulamalara göre değişen kuru ağırlık veri sonuçları da Çizelge 4.1’de sunulmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte gövde dokularında hem kontrol hem de stres uygulamalarında silisyum varlığında kuru ağırlık, silisyum uygulanmayan uygulamalara kıyasla artış göstermiştir.

Köklerde ise kontrol, tuz ve kuraklık stresi altında silisyumun kuru ağırlık üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Normal şartlar altında tutulan kontrol bitkilerinin gövdesinde silisyumun uzunluk üzerinde bir etkisinin olmadığı, tuz ve kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin gövdelerinde de yine silisyumun gruplar arasında farklılığa yol açan etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Bununla birlikte, silisyum uygulanan kontrol ve stresli bitkiler karşılaştırıldığında, tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde silisyumun gövde uzunluğunu azaltmış olduğu gözlenmiştir. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkiler ve kontrol bitkileri de istatistiksel olarak aynı grupta yer almasına rağmen yine stresli bitkilerde silisyumun etkili olduğu, uzunluğu az miktarda da olsa azalttığı saptanmıştır.

Köklerde ise kontrol uygulamaları ile tuz ve kuraklık stresi altında silisyumun uzunluk üzerine bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Kontrol ve tuz stresli bitkilerin silisyumlu grupları karşılaştırıldığında, silisyumun tuz stresinde bir etkisinin olmadığı ancak kuraklık ve kontrol bitkileri karşılaştırıldığında, kök uzunluğunun az miktarda arttığı gözlenmiştir.

Bitkinin kontrol, tuz ve kuraklık stresi altındaki gruplarında silisyumun gövde bağlı su içerikleri (RWC) üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa yol açan bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.1).

#### **4.2. Biyokimyasal Tepkiler**

Silisyumun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığında iyon sızıntısı, lipid peroksidasyonu (MDA), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), prolin, klorofil a ve b miktarları üzerine etkileri de araştırılmış ve sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Biyokimyasal tepkiler

|                   | İyon Sızıntısı (%)       | MDA (nmol/g)            | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol/g) |
|-------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------------------|
| <b>K-Si Gövde</b> | 9,92±1,09 <sub>abc</sub> | 2,73±0,04 <sub>a</sub>  | 0,27±0,01 <sub>a</sub>                 |
| <b>K+Si Gövde</b> | 10,96±0,32 <sub>bc</sub> | 9,10±0,42 <sub>d</sub>  | 0,34±0,02 <sub>b</sub>                 |
| <b>T-Si Gövde</b> | 5,16±0,66 <sub>ab</sub>  | 5,65±0,21 <sub>c</sub>  | 0,35±0,02 <sub>bc</sub>                |
| <b>T+Si Gövde</b> | 4,22±0,17 <sub>a</sub>   | 3,76±0,36 <sub>ab</sub> | 0,41±0,02 <sub>c</sub>                 |
| <b>P-Si Gövde</b> | 7,75±0,26 <sub>abc</sub> | 4,23±0,36 <sub>b</sub>  | 0,37±0,01 <sub>bc</sub>                |
| <b>P+Si Gövde</b> | 13,63±2,87 <sub>c</sub>  | 14,97±0,11 <sub>e</sub> | 0,39±0,01 <sub>bc</sub>                |
| <b>K-Si Kök</b>   | 22,15±1,40 <sub>ab</sub> | 1,44±0,47 <sub>a</sub>  | 0,23±0,15 <sub>a</sub>                 |
| <b>K+Si Kök</b>   | 25,52±2,08 <sub>ab</sub> | 4,81±0,33 <sub>c</sub>  | 0,29±0,00 <sub>b</sub>                 |
| <b>T-Si Kök</b>   | 16,71±0,07 <sub>a</sub>  | 3,15±0,16 <sub>b</sub>  | 0,25±0,01 <sub>ab</sub>                |
| <b>T+Si Kök</b>   | 19,18±1,69 <sub>ab</sub> | 1,67±0,29 <sub>a</sub>  | 0,24±0,01 <sub>a</sub>                 |
| <b>P-Si Kök</b>   | 27,17±0,95 <sub>b</sub>  | 2,39±0,00 <sub>ab</sub> | 0,17±0,01 <sub>c</sub>                 |
| <b>P+Si Kök</b>   | 23,25±3,64 <sub>ab</sub> | 7,39±0,30 <sub>d</sub>  | 0,39±0,01 <sub>d</sub>                 |
|                   | Prolin (mmol/g)          | Klorofil Miktarı (μg/g) |                                        |
|                   |                          | Kl a                    | Kl b                                   |
| <b>K-Si Gövde</b> | 26,03±0,44 <sub>a</sub>  | 16,19±1,12              | 7,54±0,35 <sub>a</sub>                 |
| <b>K+Si Gövde</b> | 23,45±1,04 <sub>ab</sub> | 20,22±0,58              | 10,10±0,48 <sub>ab</sub>               |
| <b>T-Si Gövde</b> | 26,03±0,15 <sub>a</sub>  | 20,79±0,90              | 11,08±0,48 <sub>b</sub>                |
| <b>T+Si Gövde</b> | 25,77±1,79 <sub>a</sub>  | 20,49±0,47              | 10,57±0,63 <sub>ab</sub>               |
| <b>P-Si Gövde</b> | 32,55±0,82 <sub>c</sub>  | 17,64±0,28              | 9,01±0,52 <sub>ab</sub>                |
| <b>P+Si Gövde</b> | 21,13±0,00 <sub>b</sub>  | 17,40±1,75              | 8,91±1,07 <sub>ab</sub>                |
| <b>K-Si Kök</b>   | 21,91±0,74 <sub>a</sub>  | -                       | -                                      |
| <b>K+Si Kök</b>   | 24,74±3,43 <sub>a</sub>  | -                       | -                                      |
| <b>T-Si Kök</b>   | 19,85±4,02 <sub>a</sub>  | -                       | -                                      |
| <b>T+Si Kök</b>   | 54,90±9,97 <sub>b</sub>  | -                       | -                                      |
| <b>P-Si Kök</b>   | 31,44±0,89 <sub>ab</sub> | -                       | -                                      |
| <b>P+Si Kök</b>   | 54,64±4,92 <sub>b</sub>  | -                       | -                                      |

\* Uygulamalardan K, Hoagland çözeltisiyle sulanan bitkileri, -Si ve +Si sırasıyla içinde Si içermeyen ve 0.5 mM Si içeren Hoagland çözeltisiyle sulanan bitkileri, T tuz stresi ve P kuraklık stresi uygulamalarını göstermektedir.

\*\* Harfler, aynı sütun içinde yer alan verileri 0,05 olasılık düzeyine göre aynı veya farklı kümeler içinde göstermektedir.

Gövdelerde, kontrol, kuraklık ve tuz stresli bitkiler kendi grupları arasında karşılaştırıldığında, silisyumun iyon sızıntısı üzerine bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.2). Silisyum uygulanan kontrol ve tuz stresli bitkiler karşılaştırıldığında, tuz ve silisyum uygulaması yapılan bitkilerin kontrole göre iyon sızıntısı miktarının daha düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir. PEG içeren ortamda gelişen bitkiler ve kontrol bitkileri karşılaştırıldığında ise, silisyumun iyon sızıntısı miktarını arttırdığı saptanmıştır.

Köklerde ise, silisyumun iyon sızıntısı üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır. Normal şartlar altında silisyum uygulanan kontrol bitkileri ile tuz ve PEG uygulaması yapılan bitkilerde silisyumun iyon sızıntısı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı yapılan analizler sonucunda ortaya çıkmıştır.

Gövde ve köklerde, kontrole kıyasla tuz ve PEG uygulanan bitkilerde MDA miktarı yaklaşık iki kat artmıştır (Çizelge 4.2). Normal şartlar altındaki kontrol bitkileri kendi arasında karşılaştırıldığında, silisyumun MDA miktarını arttırdığı, tuz stresine maruz kalan bitkilerde, silisyum uygulanan bitkinin silisyum uygulanmayan bitkiye kıyasla MDA miktarının azaldığı, kuraklık stresli bitkilerde ise, silisyumun MDA miktarını arttığı yapılan analizlerle ortaya konulmuştur. Gövdelerde, silisyum uygulanan bitkiler kıyaslandığında, MDA miktarı tuz stresli bitkilerde kontrole göre yaklaşık üç kata varan düşüş göstermektedir. PEG uygulanan bitkilerde ise silisyumun MDA miktarını arttırmış olduğu saptanmıştır.

Köklerdeki MDA sonuçlarına bakıldığında silisyumun tuz stresli bitkilerde MDA miktarını yaklaşık üç kat azalttığı, PEG uygulanan bitkilerde ise silisyumun MDA miktarını arttırmış olduğu yapılan analiz sonucunda açığa çıkmıştır.

Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) için yapılan varyans analizi sonucunda da farklı uygulamalar arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, yerfıstığı bitkisinin gövdesinde, tuz ve kuraklık stresi hidrojen peroksit miktarını arttırmıştır (Çizelge 4.2). Kontrol, tuz ve PEG uygulanan bitkiler kendi grupları arasında karşılaştırıldığında, kontrol ve tuz stresi grubunda silisyum uygulanan bitkilerin silisyum uygulanmayan bitkilere göre hidrojen peroksit miktarının arttığı, kuraklık stresli grupta ise hidrojen peroksit miktarının değişmediği gözlenmiştir.

Yapılan analiz sonucuna göre tuz stresi altındaki bitkilerde silisyumun hidrojen peroksit miktarını arttırdığı, PEG uygulanan bitkilerde ise bir etkisinin olmadığı kanıtlanmıştır.

Bitkinin kök dokusunda, tuz stresi altında silisyumun hidrojen peroksit miktarını azalttığı fakat kuraklık stresi altında ise hidrojen peroksit miktarının artmış olduğu gözlenmiştir.

Gövdelerde yapılan prolin miktar analizi ile normal şartlar altındaki kontrol bitkileri strese maruz bırakılan ve silisyum uygulanan diğer bitkilerle karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.2). Sekiz günlük tuz stresine maruz bırakılan bitkiler kontrol bitkileriyle istatistiksel olarak aynı kümede yer almaktadır. Yani 8 günlük stres uygulaması sonunda gerçekleştirilen prolin analizi, tuzun bitkide prolin birikimine neden olmadığını göstermektedir. Kuraklıkta ise bitkinin stresten daha şiddetli etkilendiğini göstermektedir. Gruplar silisyum uygulanan ve silisyum uygulanmayan bitkiler olarak kendi içinde kıyaslandığında, kontrol ve tuz stresli bitkilerde silisyumun prolin miktarı üzerinde bir etkisinin olmadığı, kuraklık stresli bitkilerde ise silisyum uygulanan bitkinin silisyum uygulanmayan bitkiye oranla prolin miktarının azaldığı saptanmıştır. Silisyum uygulaması altında stresin etkisini incelemek için silisyum uygulanan kontrol, tuz ve PEG stresli bitkiler karşılaştırılmıştır. Silisyumun tuz ve kuraklık stresinde bitkide prolin birikimine olumlu ve olumsuz hiçbir etkisinin olmadığı kanıtlanmıştır.

Analiz sonucunda yerfıstığı bitkisinin köklerinde, 8 günlük stresin prolin miktarları üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.2). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, kontrol bitkilerinde silisyumun prolin miktarı üzerinde bir etkisinin olmadığı, tuz stresli bitkilerde silisyumun prolin miktarını oldukça fazla miktarda arttırdığı ve kuraklık stresli bitkilerde ise istatistiksel olarak aynı grupta yer almasına rağmen silisyumun prolin miktarını arttırdığı gözlenmiştir. Silisyum uygulanan kontrol, tuz ve PEG stresli bitkiler karşılaştırıldığında ise, tuz ve kuraklık stresi altında silisyum uygulanan bitkilerde, prolin miktarının yaklaşık 2 kata varan bir oranda artmış olduğu yapılan analiz sonucunda ortaya çıkmıştır.

Klorofil a miktarı için yapılan varyans analizi sonucunda, silisyumun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığında önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Yapılan uygulamalara göre klorofil a miktarı veri sonuçları Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Uygulamalar kendi aralarında karşılaştırıldığında silisyumun klorofil b miktarı üzerinde de bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Ayrıca silisyum uygulanan kontrol, tuz ve kuraklık stresli bitkiler kıyaslandığında yine klorofil b miktarı üzerinde silisyumun etkisinin olmadığı yapılan analiz sonucunda ortaya çıkmıştır.

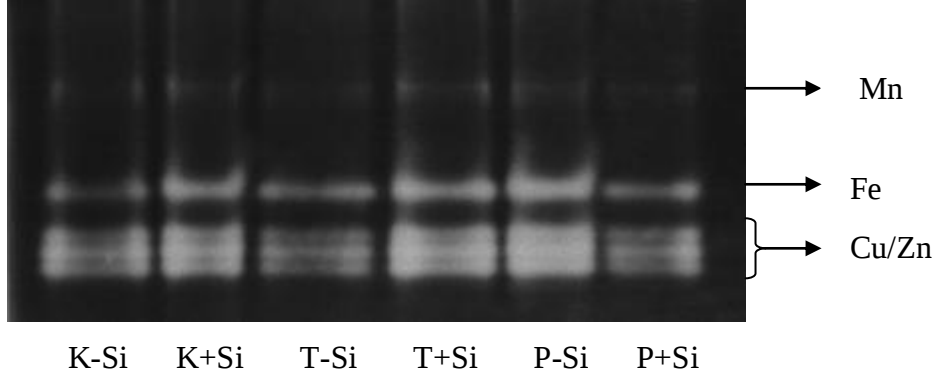
#### 4.3. Silisyumun ve stres uygulamalarının SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi

Silisyumun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığında süperoksit dismutaz enzim aktivitesi üzerindeki etkilerini karşılaştırmak amacıyla sonuçlar aktivite bant şiddetleri Image J analiz programı yardımıyla sayısallaştırılarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

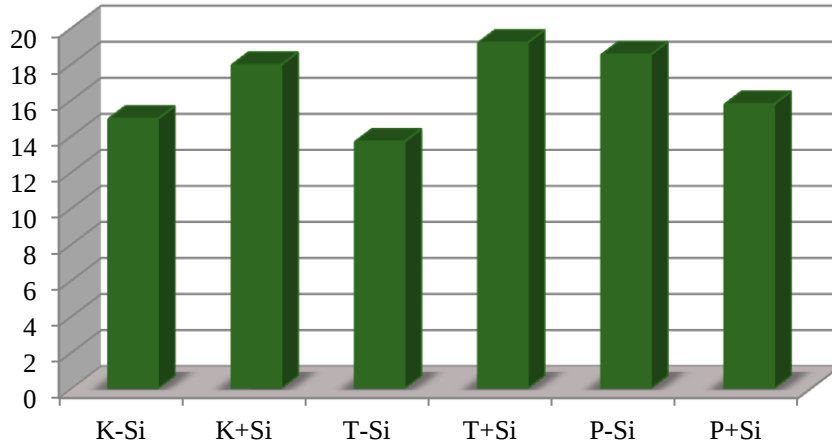
Çizelge 4.3. SOD enzim aktivitesi

|                   | <b>MnSOD</b> | <b>FeSOD</b> | <b>Cu/ZnSOD</b> |
|-------------------|--------------|--------------|-----------------|
| <b>K-Si Gövde</b> | 56           | 104          | 156             |
| <b>K+Si Gövde</b> | 74           | 143          | 162             |
| <b>T-Si Gövde</b> | 45           | 113          | 131             |
| <b>T+Si Gövde</b> | 74           | 157          | 174             |
| <b>P-Si Gövde</b> | 61           | 156          | 174             |
| <b>P+Si Gövde</b> | 47           | 130          | 156             |
| <b>K-Si Kök</b>   | 55           | 182          | 73              |
| <b>K+Si Kök</b>   | 60           | 201          | 87              |
| <b>T-Si Kök</b>   | 61           | 190          | 92              |
| <b>T+Si Kök</b>   | 48           | 187          | 73              |
| <b>P-Si Kök</b>   | 48           | 179          | 66              |
| <b>P+Si Kök</b>   | 50           | 177          | 100             |

Yerfıstığı gövdesindeki farklı SOD izoenzimlerine ait poliakrilamid jel aktivite boyama sonuçları Şekil 4.1’de, SOD enzim aktivitesinin total sonuçları ise Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Yerfıstığı gövdesinde SOD enzim aktivitesi

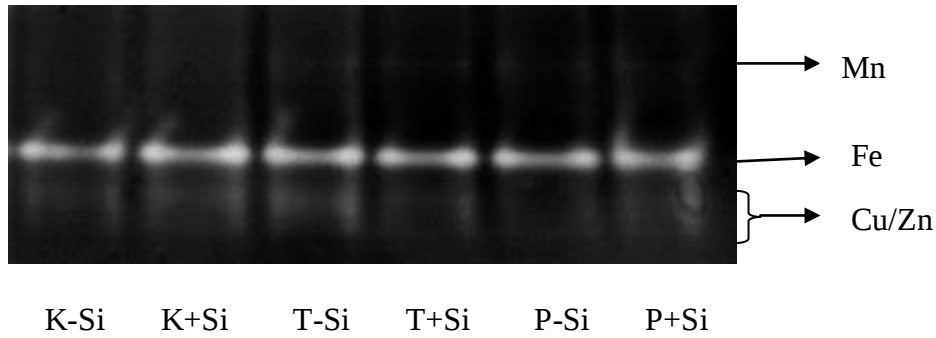


Şekil 4.2. Yerfıstığı gövdesinde total SOD enzim aktivitesi

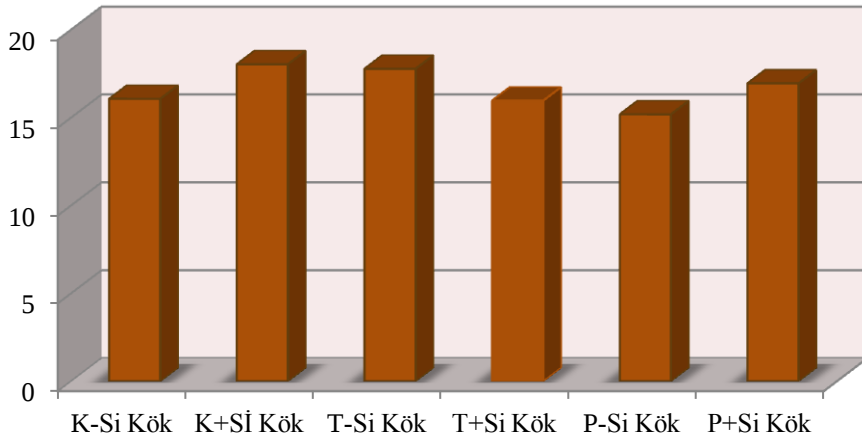
Gövdede stres ele alındığında; enzim aktivitesinin 8 günlük tuz stresine tepki vermediği, % 20 PEG uygulaması ile ise artış gösterdiği görülmektedir. Normal şartlar altındaki kontrol, tuz ve kuraklık stresli bitkiler kendi grupları arasında silisyum uygulanan ve silisyum uygulanmayan olarak ele alındığında kontrol ve tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde silisyumun gövdede SOD enzim aktivitesini arttırdığı, PEG uygulanan bitkilerde ise silisyum uygulanan bitkinin silisyum uygulanmayan bitkiye kıyasla gövdede SOD enzim aktivite miktarının azaldığı gözlenmektedir. Silisyumun strese etkisinin olup olmadığını anlamak için silisyum

uygulanan kontrol, tuz ve PEG stresli bitkilerle karşılaştırılmıştır. Tuz stresinde silisyumun SOD enzim aktivitesini arttırdığı fakat PEG uygulanan bitkilerde ise SOD enzim aktivitesini azalttığı görülmektedir.

Yerfıstığı kökündeki farklı SOD izoenzimlerine ait poliakrilamid jel aktivite boyama sonuçları Şekil 4.3’de, SOD enzim aktivitesinin total sonuçları ise Şekil 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.3. Yerfıstığı kökünde SOD enzim aktivitesi



Şekil 4.4. Yerfıstığı kökünde total SOD Enzim Aktivitesi

Kök SOD aktivitesinin 160 mM NaCl uygulaması ile arttığı, kuraklıkta ise 8 günlük stres sürecinde kontrol uygulaması ile hemen hemen aynı yüzde olduğu saptanmıştır. Aynı gruplara silisyum uygulamaları göz önüne alınarak bakıldığında, normal şartlar altındaki ve kuraklık stresi altındaki bitkilerde silisyumun SOD enzim aktiviteğini arttırdığı fakat tuz stresi altındaki bitkilerde SOD enzim aktivitesinin

azaldığı görülmüştür. Silisyumun kuraklık ve tuz stresine olumlu ya da olumsuz bir etkisinin olup olmadığını anlamak için kontrol, 160 mM tuz ve % 20 PEG uygulanan bitkiler karşılaştırılmıştır. Sonuçlara göre, silisyumun tuz uygulanan yerfıstığı köklerinde SOD enzim aktivitesini azalttığı, PEG uygulanan bitkilerde ise yine az miktarda da olsa SOD enzim aktivitesini azalttığı saptanmıştır.

#### 4.4. Silisyumun ve stres uygulamalarının dokularda silisyum birikimi üzerine etkisi

Çeşitli uygulamalar altındaki yerfıstığı dokularında gerçekleştirilen elemental analiz sonuçları kök dokularında silisyum birikiminin gövdelere kıyasla daha fazla olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.4). Silisyum içermeyen ortamlarda gelişen kontrol bitkilerinde de belirli seviyelerde silisyum bulunduğu ancak silisyum uygulamalarıyla element miktarının arttığı belirlenmiştir. Gövde dokularında tuz stres uygulaması silisyum miktarını azaltırken kuraklık stresi doku içi silisyum birikimini arttırmıştır. Benzer durum kök dokusunda gözlenmemiştir.

Çizelge 4.4. Silisyum miktarı için yapılan elemental analiz (ICP) sonuçları

|                   | Element Derişimi<br>(mg/ kg numune) |
|-------------------|-------------------------------------|
| <b>K-Si Gövde</b> | 74.97 ± 5.69                        |
| <b>K+Si Gövde</b> | 140.7 ± 7.30                        |
| <b>T-Si Gövde</b> | 54.64 ± 1.16                        |
| <b>T+Si Gövde</b> | 65.52 ± 6.81                        |
| <b>P-Si Gövde</b> | 107.0 ± 7.22                        |
| <b>P+Si Gövde</b> | 302.2 ± 29.79                       |
| <b>K-Si Kök</b>   | 321.0 ± 21.49                       |
| <b>K+Si Kök</b>   | 386.5 ± 21.23                       |
| <b>T-Si Kök</b>   | 248.4 ± 35.87                       |
| <b>T+Si Kök</b>   | 379.0 ± 30.00                       |
| <b>P-Si Kök</b>   | 249.3 ± 17.47                       |
| <b>P+Si Kök</b>   | 308.3 ± 3.31                        |

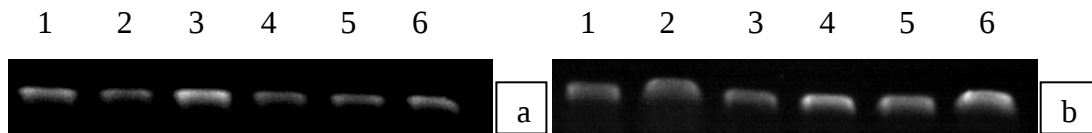
#### 4.5. Silisyumun ve stres uygulamalarının *LEA* ve *STS* gen ifadeleri üzerine etkisi

Bitki kök ve gövdesinde *LEA* gen ekspresyonunun hem stresle hem de silisyumun varlığındaki artış ve azalışları, ters transkripsiyon PCR analizi sonucunda belirlenmiş ve agaroz jeli üzerindeki bant yoğunlukları Image J jel analiz programı yardımıyla hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Gen ifadeleri

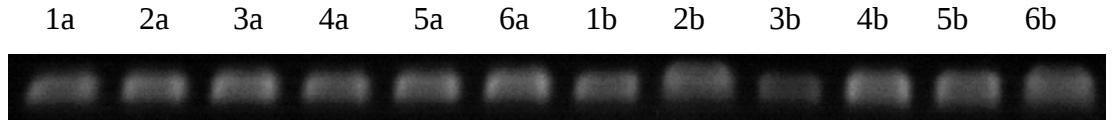
|                 | <i>LEA</i> | <i>STS</i> | <i>Aktin</i> |
|-----------------|------------|------------|--------------|
| <b>K-Si</b>     | 105        | 109        | 163          |
| <b>K+Si</b>     | 121        | 52         | 114          |
| <b>T-Si</b>     | 130        | 97         | 220          |
| <b>T+Si</b>     | 121        | 47         | 108          |
| <b>P-Si</b>     | 126        | 60         | 120          |
| <b>P+Si</b>     | 142        | 76         | 138          |
| <b>K-Si Kök</b> | 105        | 84         | 127          |
| <b>K+Si Kök</b> | 101        | 52         | 139          |
| <b>T-Si Kök</b> | 64         | 39         | 122          |
| <b>T+Si Kök</b> | 130        | 72         | 221          |
| <b>P-Si Kök</b> | 117        | 88         | 172          |
| <b>P+Si Kök</b> | 97         | 31         | 241          |

Yerfıstığı bitkisinin kök ve gövdesindeki *aktin* gen ifadesi Şekil 4.5.'de görülmektedir. Yapılan çalışmada *aktin* geni, içsel kontrol olarak, uygulanan stresin yaşamsal genlerin aktivitesini susturacak şiddette olmadığını göstermek amacıyla kullanılmıştır.

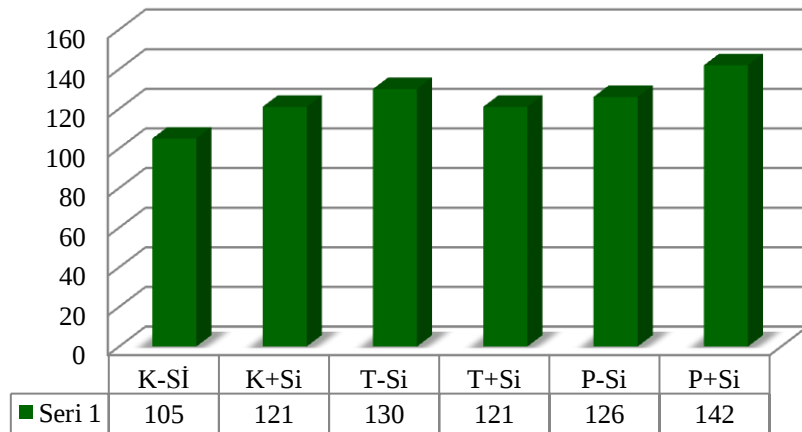


Şekil 4.5. Yerfıstığı bitkisinin gövde (a) ve kökündeki (b) *aktin* geni (1-Kontrol-Si, 2-Kontrol+Si, 3-160 mM NaCl-Si, 4-160 mM NaCl+Si, 5-%20 PEG-Si, 6-%20 PEG+Si)

Normal şartlar altındaki kontrol, tuz ve kuraklık stresli bitkiler kendi grupları arasında silisyum uygulanan ve silisyum uygulanmayan olarak ele alındığında kontrol ve PEG stresine maruz bırakılan bitkilerde silisyumun gövdede *LEA* gen ifadesini arttırdığı, tuz stresine uygulanan bitkilerde ise silisyumun, silisyum uygulanmayan bitkiye göre gövdede *LEA* gen ifadesini azalttığı gözlenmektedir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Silisyumun strese etkisinin olup olmadığını anlamak için silisyum uygulanan kontrol ile tuz ve PEG'e maruz bırakılan bitkiler karşılaştırılmıştır. Tuza maruz bırakılan bitkilerde *LEA* gen ifadesinde bir değişikliğe rastlanmamıştır. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ise *LEA* gen ifadesi önemli ölçüde artmıştır.



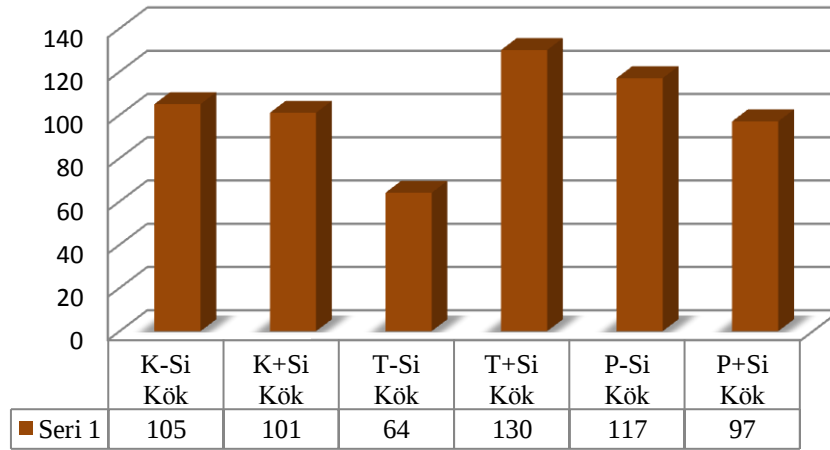
Şekil 4.6. Agaroz jelde yerfıstığının gövde (a) ve kökündeki (b) *LEA* gen ifadesi (1a-Kontrol-Si, 2a-Kontrol+Si, 3a-160mM NaCl-Si, 4a-160mM NaCl+Si, 5a-%20 PEG-Si, 6a-%20 PEG+Si, 1b-Kontrol-Si, 2b-Kontrol+Si, 3b-160mM NaCl-Si, 4b-160mM NaCl+Si, 5b-%20 PEG-Si, 6b-%20 PEG+Si)



Şekil 4.7. Yerfıstığı gövdesindeki *LEA* gen ifadesi

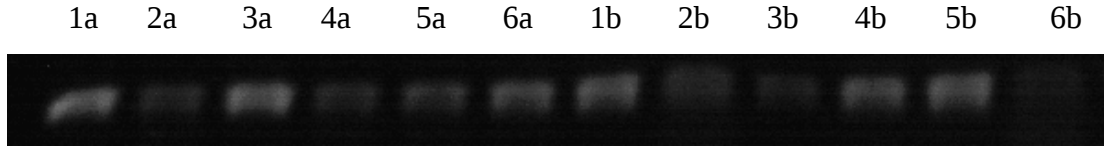
Normal şartlar altındaki kontrol, tuz ve kuraklık stresli bitkiler kendi grupları arasında silisyum uygulanan ve silisyum uygulanmayan olarak ele alındığında kontrol ve kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde silisyumun kökte gen ifadesini

azalttığı, tuz stresi uygulanan bitkilerde ise silisyumunun silisyum uygulanmayan bitkiye göre kökte *LEA* gen ifadesini arttırdığı gözlenmektedir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.8). Silisyumun strese etkisinin olup olmadığını anlamak için silisyum uygulanan kontrol, tuz ve PEG uygulanan bitkiler karşılaştırılmıştır. Tuza maruz bırakılan bitkilerde *LEA* gen ifadesi artmıştır. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ise *LEA* gen ifadesi azalmıştır.



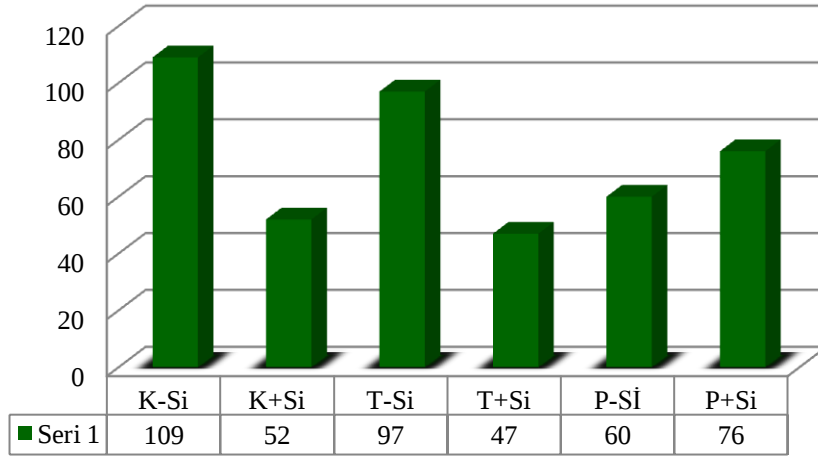
Şekil 4.8. Yerfıstığı kökündeki *LEA* gen ifadesi

Gövdede stres ele alındığında; bitkinin 8 günlük tuz ve kuraklık stresinde *STS* gen ifadelerinin tepki vermediği, hatta *STS* gen ifadelerini azalttığı görülmektedir (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10). Normal şartlar altındaki kontrol, tuz ve kuraklık stresli bitkiler kendi grupları arasında silisyum uygulanan ve silisyum uygulanmayan olarak ele alındığında kontrol ve tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde silisyumun gövdede *STS* gen ifadesini azalttığı, kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ise silisyum uygulanan bitkinin silisyum uygulanmayan bitkiye göre gövdede *STS* gen ifadesini arttırdığı gözlenmektedir. Silisyumun strese etkisinin olup olmadığını anlamak için silisyum uygulanan kontrol, tuz ve PEG stresli bitkiler karşılaştırılmıştır. Tuza maruz bırakılan bitkilerde *STS* gen ifadesinde artma ya da azalma olmamıştır. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ise *STS* gen ifadesi önemli ölçüde artmıştır.



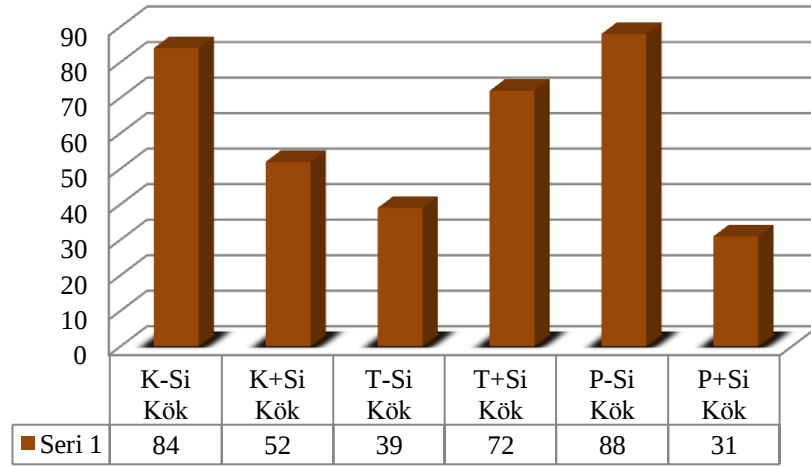
Şekil 4.9. Agaroz jelde yerfıstığıнын gövde (a) ve kökündeki (b) STS gen ifadesi (1a-Kontrol-Si, 2a-Kontrol+Si, 3a-160mM NaCl-Si, 4a-160mM NaCl+Si, 5a-%20 PEG-Si, 6a-%20 PEG+Si, 1b-Kontrol-Si, 2b-Kontrol+Si, 3b-160mM NaCl-Si, 4b-160mM NaCl+Si, 5b-%20 PEG-Si, 6b-%20 PEG+Si)

Bitki gövdesinde *STS* gen ekspresyonunun hem stresle hem de silisyumun varlığındaki artış ve azalışları Şekil 4.10.'da görülmektedir.



Şekil 4.10. Yerfıstığı gövdesinde *STS* gen ifadesi

Bitki kökünde *STS* gen ekspresyonunun hem stresle hem de silisyumun varlığındaki artış ve azalışları Şekil 4.11.'de görülmektedir.



Şekil 4.11. Yerfıstığı kökünde *STS* gen ifadesi

Kökte stres ele alındığında; bitki 8 günlük stres sürecinde 160 mM NaCl’ de *STS* genlerinin bir etkisinin olmadığı hatta tuz stresinde gen ifadesinin azaldığı, % 20 PEG’ de ise *STS* geninin kuraklık stresindeki ifadesinin arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.9 ve Şekil 4.11). Normal şartlar altındaki kontrol, tuz ve kuraklık stresli bitkiler kendi grupları arasında silisyum uygulanan ve silisyum uygulanmayan olarak ele alındığında kontrol ve kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde silisyumun kökte gen ifadesini azalttığı, tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde ise silisyum uygulanan bitkinin silisyum uygulanmayan bitkiye kıyasla kökte *STS* gen ifadesini arttırdığı görülmüştür. Silisyumun streste etkisinin olup olmadığını anlamak için silisyum uygulanan kontrol, tuz ve kuraklık stresli bitkiler karşılaştırılmıştır. Tuza maruz bırakılan bitkilerde *STS* gen ifadesi artmıştır. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ise *STS* gen ifadesi azalmıştır.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hızlı nüfus artışına bağlı olarak gıda tüketiminin giderek artması, tarım alanlarındaki azalma ve çeşitli stres faktörlerinin etkisiyle, tarım alanlarında meydana gelen ürün kaybı, üretim tüketim dengesinin bozulmasına yol açmıştır. Bu nedenle ya tarım alanlarının genişletilmesine, ya da ürün veriminin arttırılmasına yönelik uygulamalar önem kazanmıştır. Hızla artan dünya nüfusunun 2050 yılının sonunda 6 milyar kişiye ulaşacağı beklenmektedir. İklim değişikliği etkisi ile de 2050 yılı itibariyle tüm ekilebilir tarım alanlarının yarısından fazlasında tuz konsantrasyonunda ciddi bir artış beklenmektedir. (Mahajan ve Tuteja, 2005). Dolayısıyla tuzluluk ve kuraklık tarım alanlarının verimini tehdit eden iki temel stres faktörü olacaktır. Araştırmacılar mevcut tarımsal alanlarda strese toleranslı bitkileri geliştirerek bu durumun üstesinden gelmeyi hedeflemiştir (Bartels ve Sungar, 2005; Liu vd., 2008).

Bu çalışmada zengin bir protein ve yağ kaynağı olan yerfıstığının, kuraklık ve tuz stresleri altında değişen gövde/kök uzunluğu, kuru/yaş ağırlık ve bağıl su içeriği, prolin, malondialdehit, hidrojen peroksit ve klorofil miktarları, iyon sızıntısı, silisyum birikimi ve SOD enzim aktiviteleri gibi antioksidan sistem göstergeleri ile *LEA* ve *rezveratrol sentaz* gen aktiviteleri, silisyum varlığında kontrol bitkilerle karşılaştırmalı olarak kök ve gövde dokularında incelenmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı değişimler olmamakla birlikte uygulanan streslerin yerfıstığı anatomisi üzerinde olumsuz etkileri gözlenmiştir. Kuraklık stresinin yaş ağırlık üzerindeki etkileri tuz stresine kıyasla daha belirgin bulunmuş, her iki stresin gövde uzunluğu ve su tutma kapasitesi üzerindeki etkileri benzer şiddette olmuştur. Silisyum uygulaması yalnız başına gerçekleştirildiğinde dahi incelenen tüm anatomik parametreler üzerinde olumlu etkiler göstermiş, her iki stres uygulaması altında da genellikle doku kuru ve yaş ağırlıkları ile uzunluklarının artmasına neden olmuştur. Stres altındaki dokularda su tutma kapasitesi de silisyum varlığında belirgin biçimde artmıştır. Literatürde birçok çalışma silisyumun stres altındaki dokularda iyileştirici etkilerini bildirmektedir. Örneğin Chen vd., (2011) tarafından pirinçte yapılan bir çalışmada, kuraklık stresi altındaki pirinç bitkilerinde, kök gelişimi azalmış, Si uygulamasıyla toplam kök uzunluğu önemli ölçüde artmıştır.

İyon sızıntısı analizi bulguları incelendiğinde, stres uygulamalarının da silisyum uygulamasının da kontrol dokularla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir.

Oluşan malondialdehit (MDA) miktarının tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilen yağ peroksidasyonu analizi sonucunda, yerfıstığı dokularının kuraklık ve tuz stresine farklı cevaplar verdiği belirlenmiştir. Yerfıstığı kök ve gövde dokularına tuz stresi ve silisyum uygulanan bitkilerde, MDA miktarı 3 kata varan bir azalma göstermiştir. Bu sonuç, silisyumun, yerfıstığı kök ve gövdesinde stresin toksik etkisini azalttığını göstermiştir. Ancak silisyum uygulaması kuraklık stresi altında her iki dokuda da hücre zarı yağ peroksidasyonunu yaklaşık 3 kat artırmıştır. Ayrıca, yalnızca silisyum uygulaması yapılan bitkilerde de kontrol bitkilere kıyasla MDA seviyelerinde belirgin artışlar gözlenmiştir.

Doku hidrojen peroksit miktarlarının analizi de, hem uygulanan streslerin hem de yalnızca silisyum uygulamasının, incelenen reaktif oksijen türünün seviyesini arttırdığını göstermiştir. Uygulanan stresler altında gövde dokularındaki hidrojen peroksit seviyeleri silisyum varlığından etkilenmezken, kuraklık stresi altında kök hidrojen peroksit seviyesi anlamlı bir artış göstermiştir. İncelenen bu parametre de silisyum uygulamasının kuraklık stresi altındaki dokularda daha belirgin bir toksisite oluşturduğunu desteklemiştir.

Doku prolin seviyelerinin analizi, yerfıstığı kök dokusunda silisyum uygulamasının, hem tuz hem de kuraklık stresi altında, incelenen ozmoprotektan miktarının yaklaşık 2 kat artışına neden olduğunu göstermiştir. Gövde dokularında ise silisyum varlığının stres koşullarında prolin birikimine bir etkisi olmamış, kuraklık stresinde ise silisyum uygulaması prolin birikimini önemli ölçüde azaltmıştır. Silisyum uygulaması yalnız başına doku prolin miktarında değişime neden olmamıştır.

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi analizi sonucuna göre, tuz stresine maruz bırakılan ve silisyum uygulanan kök ve gövde dokuları farklı yanıt vermişlerdir. Yerfıstığı gövde dokusunda, hem normal şartlarda hem de tuz stresi altında gerçekleştirilen silisyum uygulaması SOD enzim aktivitesini arttırmıştır. Ancak silisyum varlığı kuraklık stresi altında enzim aktivitesini düşürmüştür.

Kuraklık stresi altında silisyum uygulamasının birçok stres parametresini olumsuz etkilediği göz önünde bulundurulduğunda, silisyumun, gövde dokusunun içinde bulunduğu yüksek oksidatif stres nedeniyle enzimin yapısında bozulmalara dolayısıyla aktivite düşüşüne neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. Kök dokusunda kuraklık stresinin etkisi gövdedeki kadar şiddetli olmamış ve bu dokuda SOD enzim aktivitesi koruyucu işlevine artarak devam etmiştir. 160 mM NaCl ve silisyum uygulanan kök dokusunda ise, tuz stres uygulamasıyla artan SOD enzim aktivitesi, silisyum uygulamasıyla kontrol seviyesine gerilemiştir.

Elemental analiz sonuçları köklerde silisyum birikiminin gövde dokusuna kıyasla daha yüksek olduğunu göstermiştir. Silisyum varlığında hem gövde hem de kök dokularında silisyum birikimi kontrol uygulamasına kıyasla artmıştır, ancak gövdede bu artış 2 kata varan oranlarda, dolayısıyla köke kıyasla daha belirgin olarak gerçekleşmiştir. Tuz stresinin gövde dokularına silisyum taşınımını olumsuz etkilediği, köklerde ise benzer bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Kuraklık stresinin ise doku içinde silisyum birikimini engelleyici bir etkisi olmamıştır. Bu veriler kuraklık stresi altında silisyum uygulaması yapılan bitkilerde daha yoğun olarak gözlenen silisyum toksisitesi bulgusunu destekler niteliktedir.

Bu proje dahilinde ifadesi incelenen *LEA7-1* geni ile ilgili literatürde tohum gelişiminin hangi aşamalarında ve diğer hangi bitki dokularında ifade edildiği üzerine tek bir çalışma bulunmaktadır ve ifadesi tohum dokusuyla kısıtlı birçok *LEA* gen ailesi üyesi genden farklı olarak kök ve yaprak dokularında önemli miktarda ifade gösterdiği belirlenmiştir (Su vd., 2011). Belirtilen genin ifadesinin tuz ve kuraklık stresi altındaki dokulardaki ifadesi ilk olarak bu proje dahilinde incelenmiş ve tuz stresi altındaki gövde dokularında belirgin bir düşüş gözlenirken kök dokularında arttığı tespit edilmiştir. *LEA7-1* gen ifadesi incelenen her iki dokuda da kuraklık stresi altında artış göstermiştir.

Çeşitli stres koşullarında miktarı artan bir sekonder metabolit olan resveratrol üretiminden birinci derecede sorumlu olan *stilben sentaz (STS)* gen ifadesi yerfıstığı dokularında tuz ve kuraklık stres uygulamalarıyla artış göstermemiştir. Silisyum uygulaması da yalnız başına *STS* gen ifadesini azaltmış, gövdede tuz, kökte ise kuraklık uygulaması altında ifadenin belirgin biçimde azalmasını sağlamıştır.

Literatürdeki çalışmalarla abiyotik streslere kıyasla patojen istilası benzeri biyotik streslerden daha fazla etkilendiği ortaya konulmuş olan resveratrol seviyelerinin, bu çalışma dahilinde de *STS* gen ifadesi düzeyinde çeşitli abiyotik streslerden etkilendiği desteklenmiştir.

Sonuç olarak, silisyumun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığı bitkilerinde incelenen bazı parametreler dahilinde olumlu etkiler gösterdiği ve streslerin toksik etkisini azalttığı görülmektedir. Kuraklık stresi altında silisyum uygulanan bitkilerde; gövde dokusundaki prolin miktarları ve SOD enzim aktivitesi ile kök dokularındaki *LEA* ve *STS* gen ifadesinin azaldığı görülmektedir. Tuz stresi altında silisyum uygulanan bitkilerde ise; kök ve gövde dokularındaki MDA miktarı, kök dokusunda SOD enzim aktivitesi ve gövde dokusunda *STS* gen ifadesinin azaldığı görülmektedir. Shi vd. (2010)'nin yerfıstığı bitkisinde yaptığı bir çalışmada, silisyumun gövde dokularında Cd birikimini azalttığı ve Cd kaynaklı oksidatif hasarı kontrol altına aldığı görülmektedir. Ayrıca farklı bitki türlerinde yapılan birçok çalışmada, farklı stresler altında (kuraklık, ağır metal, soğuk vb.) uygulanan silisyumun, streslerin toksik etkisini azalttığı ve streslere karşı tolerans sağladığı gözlenmiştir (Gong vd., 2008; Cunha vd., 2009; Sonobe vd., 2011; Chen vd., 2011; Güneş vd., 2008).

Bununla beraber silisyumun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığı bitkilerinde olumsuz etkilere de neden olduğu ve bitki dokularında toksik etkilerinin bulunduğu gözlenmiştir. Kuraklık stresi altındaki silisyum uygulanan bitkilerde; kök ve gövde dokusundaki MDA miktarları ile kök dokusundaki  $H_2O_2$  ve prolin miktarının arttığı gözlenmiştir. Tuz stresi altında silisyum uygulanan bitkilerde ise; gövde dokusundaki SOD enzim aktivitesi, kök dokusundaki prolin miktarı ve *LEA* gen ifadesinin belirgin biçimde arttığı görülmektedir. Literatürde silisyum toksisitesini bildiren tek çalışmada hem buğday hem de pirinç bitkisine ait silisyum taşıyıcı proteinlerinin *Arabidopsis* bitkisinde CaMV35S promotörü kontrolünde yüksek düzeyde ifadesi sağlanmıştır (Montpetit vd., 2012). Normal bitkilere kıyasla dokularında beş kata kadar daha fazla silisyum taşıyan transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde silisyumun fitotoksik semptomlara neden olduğu gözlenmiştir. Çalışmada normal koşullarda dokularında yüksek miktarda silisyum biriktirmeyen ( $\leq 0.1\%$ ) bitkilerde silisyumun toksik etkilere neden olabileceği ifade edilmiştir. Yerfıstığı bitkisinde gerçekleştirilen

elemental silisyum analizi sonuçları, silisyum uygulamalarına olumlu yanıt veren çeşitli tahıllara kıyasla yerfıstığı dokularında daha az miktarda silisyum bulunduğunu göstermiştir. Bu bulgular Montpetit vd.,'ye ait hipotezi destekler niteliktedir.

Bu çalışma kapsamında yerfıstığında, kuraklık ve tuz stresleri ile bu stresler altında silisyum uygulamasının, yerfıstığının anatomik özellikleri, antioksidatif sistem bileşenleri ve iki farklı gen ifadesine etkisi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Elde edilen veriler silisyumun çeşitli parametreler dahilinde kuraklık ve tuz streslerini belirli dokularda hafifletici etkisi olduğunu ortaya koymuş ancak belirli koşullarda silisyumun toksik etkilerine de rastlanmıştır. Yapılan çalışmalar, uygulama süresi ve miktarının detaylı biçimde optimize edilmediği sürece tarımsal silisyum uygulamalarının bitki stres direncine olumsuz etkiler de yapabileceğini ortaya koymuştur. Bu nedenle çalışma başında hipotez edildiği biçimde yerfıstığı yetiştiriciliğinde toprak silisyum miktarının artırılması pratikte kullanışlı bulunmamıştır.

İncelenen iki genden birisi olan stilben sentaz proteini kodlayan gene özgü ifadeler tuz ve kuraklık stresleri altında belirgin değişimler göstermeyerek yerfıstığı dokularının incelenen streslere karşı toleransında önemli rolleri olmadığı tespit edilmiştir. *LEA* gen ifadesi ise incelenen iki stres altında da özellikle gövde dokularında belirgin biçimde artmış ve yerfıstığı abiyotik stres toleransı için moleküler ıslah çalışmalarında kullanım potansiyeli olan önemli bir gen olduğu belirlenmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- Aggarwal, B.B., Shishodia, S., 2005. Resveratrol in Health and Disease. 475–497.
- Akçay, U.Ç., Ercan, O., Kavas, M., Yıldız, L., Yılmaz, C., Öktem, H.A., Yücel, M., 2010. Drought-Induced Oxidative Damage and Antioxidant Responses in Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Seedlings. *Plant Growth Regul.* 10725-010-9445-1.
- Al-Aghabary, K., Zhu Z., Shi, Q., 2005. Influence of Silicon Supply on Chlorophyll Content, Chlorophyll Fluorescence, and Antioxidative Enzyme Activities in Tomato Plants Under Salt Stress. *Journal of Plant Nutrition*, 27, 2101-2115.
- Anonim, 2014. Erişim tarih:28.03.2014 <http://supplementscience.org/resveratrol.html>
- Arıoğlu, H., 2003. Çukurova Bölgesinde Yerfıstığı Yetiştiriciliği. Adana Çiftçiler Birliği, Adana.
- Babu, R.C., Zhang, J., Blum, A., Ho, T.H.D., Wu, R., Nguyen, H.T., 2004. *HVA1*, a *LEA* Gene from Barley Confers Dehydration Tolerance in Transgenic Rice (*Oryza sativa* L.) Via Cell Membrane Protection. *Plant Science*, 166, 855-862.
- Bahieldin, A., Mahfouz, H.T., Eissa, H.F., Saleh, O.M., Ramadan, A.M., Ahmed, I.A., Dyer, W.E., El-Itriby, H.A., Madkour, M.A., 2005. Field Evaluation of Transgenic Wheat Plants Stably Expressing the *HVA1* Gene for Drought Tolerance. *Physiologia Plantarum*, 123, 421-427.
- Baker J., Steele C., Dure L III., 1988. Sequence and Characterization of 6 *LEA* Proteins and Their Genes from Cotton. *Plant Molecular Biology*, 11, 277–291.
- Banjara, M., Zhu, L.F., Shen, G.X., Payton, P., Zhang, H., 2012. Expression of an *Arabidopsis* Sodium/Proton Antiporter Gene (*AtNHX1*) in Peanut to Improve Salt Stress. *Plant Biotechnology Reports*, 6 (1), 59-67.
- Bartels, D., Sunkar, R., 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 23–58.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. *Plant Soil*, 39, 205–207.
- Battaglia M., Olvera-Carrillo Y., Garcarrubio A., Campos F., Covarrubias A.A., 2008. The Enigmatic *LEA* Proteins and Other Hydrophilins. *Plant Physiology*, 148, 6–24.
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 151-155.

- Bernt, E., Bergmeyer, H.U., 1974. Inorganic Peroxidases, In Methods of Enzymatic Analysis. 4, 2246–2248.
- Boote, K.J., Ketring, D.L., 1990. Peanut. Irrigation of Agricultural Crops, 167, 354-359.
- Boutraa, T., Sanders, F.E., 2001. Influence of Water Stress on Grain Yield and Vegetative Growth of Two Cultivars of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agronomy and Crop Science, 187, 251-257.
- Boyer, J.S., 1982. Plant Productivity and Environment. Science, 218, 443–448.
- Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry, 72, 248–254.
- Carrie, C., Wyne, J.C., Patterson, R.P., 1978. Calcium Content, Adenylate Energy Level and Seed Vigour in Peanuts. Crop Science, 18, 736-739.
- Chaves, M.M., Oliveira, M.M., 2004. Mechanisms Underlying Plant Resilience to Water Deficits: Prospects for Water-Saving Agriculture. Journal of Experimental Botany, 55, 2365-2384.
- Chen, W., Yao, X., Cai, K., Chen, J., 2011. Silicon Alleviates Drought Stress of Rice Plants by Improving Plant Water Status, Photosynthesis and Mineral Nutrient Absorption. Biological Trace Element Research, 142, 67–76.
- Cheng, W.H., Endo, A., Zhou, L., Penny, J., Chen, H.C., Arroyo, A., Leon, P., Nambara, E., Asami, T., Seo, M., 2002. A Unique Short-Chain Dehydrogenase/Reductase in *Arabidopsis* Glucose Signaling and Abscissic Acid Biosynthesis and Functions. Plant Cell, 14, 2723-2743.
- Cho, E.K., Hong, C.B., 2006. Over-expression of Tobacco *NtHSP70-1* Contributes to Drought-Stress Tolerance in Plants. Plant Cell Reports, 25, 349-358.
- Chung, M., Park, M.R., Rehman, S., Yun, S.J. Tissue Specific and Inducible Expression of *Resveratrol Synthase* Gene in Peanut Plants. Molecules and Cells, 12 (3), 353-359.
- Close, T.J., 1996. Dehydrins: Emergence of a Biochemical Role of a Family of Plant Dehydration Proteins. Physiologia Plantarum, 97, 795-803.
- Close T.J., 1997. Dehydrins: a Commonalty in the Response of Plants to Dehydration and Low Temperature. Physiologia Plantarum, 100 (2), 291-296.
- Colmer, T., Flowers, T. and Munns, R., 2006. Use of Wild to Improve Salt Tolerance in Wheat. Journal of Experimental Botany, 57, 1059-1078.

- Condori, J., Medrano, G., Sivakumar, G., Nair, V., Cramer, C., Medina-Bolivar, F., 2009. Functional Characterization of a Stilbene Synthase Gene Using a Transient Expression System in Planta. *Plant Cell Reports*, 28, 589–599.
- Condori, J., Sivakumar, G., Hubstenberger, J., Dolan, M.C., Sobolev, V.S., Medina-Bolivar, F., 2010. Induced Biosynthesis of Resveratrol and the Prenylated Stilbenoids Arachidin-1 and Arachidin-3 in Hairy Root Cultures of Peanut: Effects of Culture Medium and Growth Stage. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (5), 310-318.
- Crowe, J.H., Carpenter, J.F., Crowe, L.M., 1998. The Role of Vitrification in Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology*, 60, 73-103.
- Cuming, A.C., 1999. *LEA* proteins, In *Seed Proteins*. Kluwer Academic, 753-780.
- Cunha, K.P V., Nascimento, C.W.A., 2009. Silicon Effects on Metal Tolerance and Structural Changes in Maize (*Zea mays* L.) Grown on a Cadmium and Zinc Enriched Soil. *Water Air Soil Pollution*, 197, 323–330.
- Dalal, M., Tayal, D., Chinnusamy, V., Bansal, C.K., 2009. Abiotic Stress and ABA-Inducible Group 4 *LEA* from *Brassica napus* Plays a Key Role in Salt and Drought Tolerance. *Journal of Biotechnology*, 139, 137–145.
- Dalal, M., Kumar, G.S., Karthikeyan Mayandi, K., 2013. Identification and Expression Analysis of Group 3 *LEA* Family Genes in Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 979–984.
- Dann, E.K., Muir, S., 2002. Peas Grown in Media with Elevated Plant-Available Silicon Levels Have Higher Activities of Chitinase and Beta-1,3-Glucanase, are Less Susceptible to a Fungal Leaf Spot Pathogen and Accumulate More Foliar Silicon. *Australasian Plant Pathology*, 31, 9–13.
- Danyluk, J., Peron, A., Houde, M., Limin, A., Fowler, B., Benhamou, N., Sahran F., 1998. Accumulation of an Acidic Dehydrin in the Vicinity of the Plasma Membrane During Cold Acclimation of Wheat. *Plant Cell*, 10, 623-638.
- Delaunois, B., Cordelier, S., Conreux, A., Clement, C., Jeandet, P., 2009. Molecular Engineering of Resveratrol in Plants. *Plant Biotechnology Journal*, 7, 2–12.
- Dhanda, S.S., Sethi, G.S. and Behl, R.K. 2004. Indices of Drought Tolerance in Wheat Genotypes at Early Stages of Plant Growth. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190 (1), 6-12.
- Dixon, R., 2001. Natural Products and Plant Disease Resistance. *Nature*, 411, 843-847.
- Donnez, D., Jeandet, P., Clement, C., Courot, E., 2009. Bioproduction of Resveratrol and Stilbene Derivatives by Plant Cells and Microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 27 (12), 706-713.

- Drame', K.N., Clavel, D., Repellin, A., Passaquet, C., Zuily-Fodil, Y., 2007. Water Deficit Induces Variation in Expression of Stress-Responsive Genes in Two Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Cultivars with Different Tolerance to Drought. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 236-243.
- Dure L, Chlan C., 1981. Developmental Biochemistry of Cotton Seed Embryogenesis and Germination: XII Purification and Properties of Principal Storage Proteins. *Plant Physiology*, 68, 180–186.
- Dure L. III, 1997. *LEA* Proteins and the Desiccation Tolerance of Seeds. *Cellular Molecular Biology Plant Seed Development*, 4, 525-543.
- Epstein, E., 1994. The Anomaly of Silicon in Plant Biology. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the United States of America*, 91, 11-17.
- Epstein, E., 1999. Silicon Annual Review, *Plant Physiology. Plant Molecular Biology*, 50, 641–664.
- FAO., 2008. *FAO Land and Plant Nutrition Management Service*. Erişim tarihi: 01.05.2008. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>.
- Fauteux, F., Chain, F., Belzille, F., Menzies, J.G., Belanger, R.R., 2006. The Protective Role of Silicon in the *Arabidopsis*-Powdery Mildew Pathosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 17554–17559.
- Figueras, M., Pujal, J., Saleh, A., Save, R., Pages, M., Goday, A., 2004. Maize *Rab17* Overexpression in *Arabidopsis* Plants Promotes Osmotic Stress Tolerance. *Annals of Applied Biology*, 144, 251-257.
- Finkelstein, R.R., Gampala, S.S., Rock, C.D., 2002. Absciscic Acid Signaling in Seeds and Seedlings. *Plant Cell*, 14, 15-45.
- Fletcher, S.M., Zang, P., Carley, D.H., 1992. Groundnuts: Production, Utilization, and Trade in the 1980s. Groundnut A Global Perspective *Proceedings of an International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics*, 57–76.
- Floyd, R.A., Zs-Nagy, P., 1984. Formation of Long Lived Hydroxyl Free Radical Adducts of Proline and Hydroxyproline in a Fenton Reaction. *Biochimica et Biophysica Acta*, 790, 94–97.
- Foyer, C.H., Halliwell, B., 1976. The Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: A Proposed Role in Ascorbic Acid Metabolism. *Planta*, 133, 21–25.
- Fremont L., 2000. Minireview - Biological Effects of Resveratrol. *Life Science*, 66 (8), 663-673.
- Fridovich I., 1986. Biological Effects of Superoxide Radical. *Archives Biochemistry and Biophysics*, 247, 1–11.

- Fritzemeier, K.H., Rolfs, C.H., Pfau, J., Kindl, H., 1983. Action of Ultraviolet-C on Stilbene Formation in Callus of *Arachis hypogaea*. *Planta*, 159, 25-29.
- Fu, D., Huang, B., Xiao, Y., Muthukrishnan, S., Liang, G.H., 2007. Overexpression of Barley *hva1* Gene in Creeping Bentgrass for Improving Drought Tolerance. *Plant Cell Reports*, 26, 467- 477.
- Galau, G.W., Hugues, D.W., Dure, L. III, 1986. Absciscic Acid Induction of Cloned Cotton Late Embryogenesis Abundant (*LEA*) Messenger RNAs. *Plant Molecular Biology*, 7, 155–170.
- Garay-Arroyo, A., Colmenero-Flores, J.M., Garciarrubio, A., Covarrubias, A.A., 2000. Highly Hydrophilic Proteins in Prokaryotes and Eukaryotes are Common During Conditions of Water Deficit. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 5668- 5674.
- Garthwaite, A., Bothmer, R. and Colmer, T., 2005. Salt Tolerance in Wild *Hordeum* Species is Associated with Restricted Entry of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> into the Shoots. *Journal of Experimental Botany*, 56, 2365-2378.
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., Zhang, C., 2005. Silicon Alleviates Oxidative Damage of Wheat Plants in Pots Under Drought. *Plant Science*, 169, 313-321.
- Gong, H.J., Chen, K.M., Zhao, Z.G., Chen, G.C., Zhou, W.J., 2008. Effects of Silicon on Defense of Wheat Against Oxidative Stress Under Drought at Different Developmental Stages. *Biologia Plantarum*, 52 (3), 592-596.
- Goyal, K., Walton, L.J., Tunnacliffe, A., 2005. *LEA* Proteins Prevent Protein Aggregation Due to Water Stress. *Journal of Biological Chemistry*, 388, 151-157.
- Gencer, O., 1987. Genel Tarla Bitkileri. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı. 42, 67-68.
- Gerogiannaki-Christopoulou M., Athanasopoulos P., Kyriakidis N., Gerogiannaki A.I., Spanos M., 2006. Trans-Resveratrol in Wines from the Major Greek Red and White Grape Varieties. *Food Control*, 17 (9), 700-706.
- Grelet, J., Benamar, A., Teyssier, E., Avelange-Macherel M.H., Grunwald, D. Macherel, D., 2005, Identification in Pea Seed Mitochondria of a Late Embryogenesis Abundant Protein able to Protect Enzymes from Drying. *Plant Physiology*, 137 (1), 157–167.
- Gu, H., Jia, Y., Xiansheng Wang, X., Chen, Q., Shi, S., Ma, L., Zhang, J., Zhang, H., Ma, H., 2012. Identification and Characterization of a *LEA* Family Gene *CarLEA4* from Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Molecular Biology Reports*, 39 (4), 3565–3572.

- Guo, B., Chen X., Dang, P., Scully, B.T., Liang, X., Holbrook, C.C., Yu, J., Culbreath, A.K., 2008. Peanut Gene Expression Profiling in Developing Seeds at Different Reproduction Stages During *Aspergillus parasiticus* Infection. BMC Developmental Biology, 8, 12.
- Güneş, A., Pilbeam, D.J., Inal, A., Çoban, S., 2008. Influence of Silicon on Sunflower Cultivars under Drought Stress, I: Growth, Antioxidant Mechanisms, and Lipid Peroxidation. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 39, 1885-1903.
- Güzel A., 2006. Kuraklık Stresine Maruz Bırakılan Domates Bitkilerinde Bazı Fizyolojik ve Büyüme Parametreleri Üzerine Absisik Asit (ABA) ve Kalsiyum'un ( $Ca^{+2}$ ) Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin.
- Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.K., Bohnert H.J., 2000. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity. Annual Review of Plant Biology, 51, 463-499.
- Heyen, B.J., Alsheikh, M.K., Smith, E.A., Torvik, C.F., Seals, D.F., Randall, S.K., 2002. The Calcium-Binding Activity of a Vacuole-Associated, Dehydrin-Like Protein is Regulated by Phosphorylation. Plant Physiology, 130, 675–687.
- Hincha, D.K., Zuther, E., Hellwege, E.M., Heyer, A.G., 2002. Specific Effects of Fructo and Gluco-Oligosaccharides in the Preservation of Liposomes During Drying. Glycobiology, 12, 103-110.
- Hossain, M.A., Ashrafuzzaman, M., Ismail, M.R., 2011. Salinity Triggers Proline Synthesis in Peanut Leaves. Journal of Science and Technology, 5 (01), 159-168.
- Houde, M., Daniel, C., Lachapelle, M., Allard, F., Laliberté, S., Sarhan, F., 1995. Immunolocalization of Freezing-Tolerance-Associated Proteins in the Cytoplasm and Nucleoplasm of Wheat Crown Tissues. Plant Journal, 8 (4), 583–593.
- Hu, T.Z., 2008. *OsLEA3*, a Late Embryogenesis Abundant Protein Gene from Rice, Confers Tolerance to Water Deficit and Salt Stress to Transgenic Rice. Russian Journal of Plant Physiology, 55 (4), 530–537.
- Ingham, J.L., 1976. 4'-Trihydroxystilbene as a phytoalexin from ground nuts (*A. hypogaea*). Phytochemical, 15, 1791–1793.
- Islam, S., Malik, A.L., Islam, A.K.M.R., Colmer, T.D., 2007. Salt tolerance in a *Hordeum marinum*- *Triticum aestivum* Amphiploid, and Its Parents, Journal of Experimental Botany, 58, 1219-1229.
- İlisulu, K., 1973. Yağ Bitkileri ve Islahı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Endüstri Bitkileri Kürsüsü, 43-83.

- Jain, M., Mathur, G., Koul, S., Sarin, N.B., 2001. Ameliorative Effects of Proline on Salt Stress-Induced Lipid Peroxidation in Cell Lines of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Cell Reports*, 20, 463–468.
- Jain, S., Srivastava, S., Sarin, N.B., Kav, N.N.V., 2006. Proteomics Reveals Elevated Levels of PR 10 Proteins in Saline-Tolerant Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Calli. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44 (4), 253-259.
- Jeandet, P., Douillet, A.C., Debord, S., Sbaghi, M., Bessis, R. and Adrian, M., 2002. Phytoalexins from the Vitaceae: Biosynthesis, Phytoalexin Gene Expression in Transgenic Plants, Antifungal Activity, and Metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (10), 2731–2741.
- Jyothsnakumari, G., Thippeswamy, M., Veeranagamallaiah, G., Sudhakar, C., 2009. Differential Expression of *LEA* Proteins in Two Genotypes of Mulberry under Salinity. *Biologia Plantarum*, 53 (1), 145-150.
- Kadiroğlu A., 2013. Yerfıstığı yetiştiriciliği. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya.
- Kinrade, S.D., Del Nin, J.W., Schach, A.S., Sloan, T.A., Wilson, K.L., Knight, C.T.G., 1999. Stable Five and Six Coordinated Silicate Anions in Aqueous Solution. *Science*, 285, 1542–1545.
- Kuşvuran Ş., Yaşar F., Abak K., Ellialtıoğlu Ş., 2008. Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Tuza Tolerant ve Duyarlı *Cucumis* sp.'nin Bazı Genotiplerinde Lipid Peroksidasyonu, Klorofil ve İyon Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, Van.
- Landcake, P., Pryce, R.J., 1976. The Production of Resveratrol by *Vitis vinifera* and Other Members of the Vitaceae As a Response to Infection or Injury. *Physiology Plant Pathology*, 9, 77–86.
- Liang, Y., 1999. Effects of Silicon on Enzyme Activity and Sodium, Potassium and Calcium Concentration in Barley under Salt Stress. *Plant and Soil*, 209, 217–224.
- Liang, Y., Zhu, J., Li, Z., Chu, G., Ding, Y., Zhangc, J., Sun, W., 2008. Role of Silicon in Enhancing Resistance to Freezing Stress in Two Contrasting Winter Wheat Cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 64, 286–294.
- Lichtenthaler, H., Wellburn, A.R., 1983. Determination of Total Carotenoids and Chlorophyll a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. *Biochemical Society Transactions*, 603, 591–593.
- Lijavetzky, D., 2008. Synergistic Effect of Methyljasmonate and Cyclodextrin on Stilbene Biosynthesis Pathway Gene Expression and Resveratrol Production in Monastrell Grapevine Cell Cultures. *BMC Research Notes*, 1, 132.

- Liu, F., Jensen, C.R., Andersen, M.N., 2004. Drought Stress Effect on Carbohydrate Concentration in Soybean Leaves and Pods During Early Reproductive Development: Its Implication in Altering Pod Set. *Field Crops Research*, 86, 1-13.
- Liu, X., Hua, X., Guo, J., Qi, D., Wang, L., Liu, Z., Jin, Z., Chen, S., Liu, G., 2008. Enhanced Tolerance to Drought Stress in Transgenic Tobacco Plants Overexpressing VTE1 for Increased Tocopherol Production from *Arabidopsis thaliana*. *Biotechnology Letters*, 30 (7), 1275-1280.
- Liu, R., Liu, M., Liu, J., Chen, Y., Chen, Y., Lu, C., 2010. Heterologous Expression of a *Ammopiptanthus mongolicus* Late Embryogenesis Abundant Protein Gene (*AmLEA*) Enhances *Escherichia coli* Viability under Cold and Heat stress. *Plant Growth Regulation*, 60 (2), 163-168.
- Lockhart, D.J., Winzeler, E.A., 2000. Genomics, Gene Expression and DNA Arrays. *Nature*, 405, 827-836.
- Ma, J.F., Yamaji, N., 2005. Silicon Uptake and Accumulation in Higher Plants. *Plant Science*, 11, 5.
- Madhusudhan, R., Ishikawa, T., Sawa, Y., Shigeoka, S., Shibata, H., 2003. Characterization of an Ascorbate Peroxidase in Plastids of Tobacco BY-2 Cells. *Physiologia Plantarum*, 117, 550-557.
- Mahajan S., Tuteja N., 2005. Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444 (2), 139-158.
- Mallick, N., Mohn, F.H., 2000. Reactive Oxygen Species: Response of Algal Cells. *Journal of Plant Physiology*, 157, 183-193.
- Manjulatha, M., Sreevathsa, R., Kumar, A.M., Sudhakar, C., Prasad, T.G., Tuteja, N., Udayakumar, M., 2014. Overexpression of a Pea DNA Helicase (PDH45) in Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Confers Improvement of Cellular Level Tolerance and Productivity Under Drought Stress. *Molecular Biotechnology*, 56 (2), 111-125.
- Maqbool, B., Zhong, H., El-Maghraby, Y., Ahmad, A., Chai, B., Wang, W., Sabzikar, R., Sticklen, B., 2002. Competence of Oat (*Avena sativa* L.) Shoots Apical Meristems for Integrative Transformation, Inherited Expression, and Osmotic Tolerance of Transgenic Lines Containing *hva1*. *Theoretical Applied Genetics*, 105, 201-208.
- McCue, K.F., Hanson, A.D., 1990. Drought and Salt Tolerance: Towards Understanding and Application. *Trends Biotechnology*, 8, 358-362.
- Medeot, D.B., Bueno, M.A., Dardanelli, M.S., de Lema, M.G., 2007. Adaptational Changes in Lipids of Bradyrhizobium SEMIA 6144 Nodulating Peanut as a Response to Growth Temperature and Salinity. *Current Microbiology*, 54 (1), 31-35.

- Medina-Bolivar, F., Condori, J., Rimando, A.M., Hubstenberger, J., Shelton, K., O'Keefe, S.F., Bennett, S., Dolan, M.C., 2007. Production and Secretion of Resveratrol in Hairy Root Cultures of Peanut. *Phytochemistry*, 68, 1992-2003.
- Melchiorre, M., Quero, G.E., Parola, R., Racca, R., Trippi, V.S., Lascano, R., 2009. Physiological Characterization of Four Model *Lotus* Diploid Genotypes: *L. japonicus* (MG20 and Gifu), *L. filicaulis*, and *L. burttii* under Salt Stress. *Plant Science*, 177, 618-628.
- Min, D.H., Zhang, X.H., Xu, Z.S., Zhao, Y., Chen, Y., Li, L.C., Chen, M., Ma, Y.Z., 2012. Induction Kinetics of a Novel Stress-Related *LEA* Gene in Wheat. *Plant Molecular Biology Reports*, 30, 1313-1321.
- Montpetit, J., Vivancos, J., Mitani-Ueno, N., Yamaji, N., Re'mus-Borel, W., Belzile, F., Feng Ma, J., Be' langer, R.R., 2012. Cloning, Functional Characterization and Heterologous Expression of TaLsi1, a Wheat Silicon Transporter Gene. *Plant Molecular Biology*, 79, 35-46.
- Moons, A., Bauw, G., Prinsen, E., Van Montagu, M., Straeten, D.V.D., 1995. Molecular and Physiological Responses to Absciscic Acid and Salts in Roots of Salt-Sensitive and Salt-Tolerant Indica Rice Varieties. *Plant Physiology*, 107, 177-186.
- Moons, A., Keyser, D.A., Montagu, M.V., 1997. A Group 3 *LEA* cDNA of Rice, Responsive to Absciscic Acid, but not to Jasmonic Acid, Shows Variety-Specific Differences in Salt Stress Response. *Gene*, 191, 197-204.
- Morsy, M.R., Jouve, L., Hausman, J.F., Hoffmann, L., Steward, J.M., 2007. Alternation of Oxidative and Carbonhydrate Metabolism under Abiyotik Stress in Two Rice (*Oyza sativa* L.) Genotypes Contrasting in Chilling Tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 164, 157-167.
- Munns, R., Tester M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-81.
- Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M., Arshad, M., 2007. Preliminary Investigations on Inducing Salt Tolerance in Maize Through Inoculation with Rhizobacteria Containing ACC Deaminase Activity. *Canadian Journal of Microbiology*, 53, 1141-1149.
- Nanjo, T., Kobayashi, M.Y., Yoshiba, Y., Kakubar, K., Yamaguchi, S.Y., Shinozaki, K., 1999. Antisense Suppression of the Proline Degradation Improves Tolerance to Freezing and Salinity in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters*, 461, 205-210.
- Neto, A.D.A., Nogueira, R.J.M.C., Melo, P.A., Santos, R.C., 2010. Physiological and Biochemical Responses of Peanut Genotypes to Water Deficit. *Journal of Plant Interactions*, 5 (1), 1-10.

- Ndong, C., Danyluk, J., Wilson, K.E., Pocock, T., Huner, N.P.A., Sarhan, F., 2002. Cold-Regulated Cereal Chloroplast Late Embryogenesis Abundant-Like Proteins. Molecular Characterization and Functional Analyses. *Plant Physiology*, 129, 1368-1381.
- Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 49, 249-279.
- Nylander M., Svensson J., Palva E. T., Welin B.V., 2001. Stress-Induced Accumulation and Tissue-Specific Localization of Dehydrins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 45, 263-279.
- Ogbannaye, C.L., Nwalozie, M.C., Roy-Macavley, H., Annerosa, D.J.M., 1998. Growth and Water Relations of Kenaf (*Hiscus cannabinus* L.) under Water Deficit on a Sandy Soil. *Industrial Crops and Products*, 8, 65-76.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, Y., 1979. Assay of Lipid Peroxides in Animal Tissue by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 51-358.
- Oraby, H.F., Ransom, C.B., Kravchenko, A.N., Sticklen, M.B., 2005. Barley *HVA1* Gene Confers Salt Tolerance in R3 Transgenic Oat. *Crop Science*, 45, 2218-2227.
- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., 2001. Bitki Biyoteknolojisi -II- Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 308-313.
- Öztürk, R., Bozkaya, L.A., Atav, E., Sağlam, N., Tarhan, L., 1999. Purification and Characterization of Superoxide Dismutase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Enzyme Microbial Technology*, 25, 392-399.
- Pan, L.P., Yu, S.L., Chen, C.J., Li, H., Wu, Y.L., Li, H.H., 2012. Cloning a Peanut Resveratrol Synthase Gene and Its Expression in Purple Sweet Potato. *Plant Cell Reports*, 31, 121-131.
- Parida, A.K., Das A.B., 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
- Parida, A.K., Jha, B., 2013. Inductive Responses of Some Organic Metabolites for Osmotic Homeostasis in Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Seedlings During Salt Stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35 (9), 2821-2832.
- Park, J. A., Cho, S.K, Kim, J.E., Chung, H.S., Hong, J.P., Hwang, B., Hong, C.B., Kim, W.T., 2003. Isolation of cDNAs Differentially Expressed in Response to Drought Stress and Characterization of the *Ca- LEAL1* Gene Encoding a New Family of Atypical LEA-like Protein Homologue in Hot Pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Pukang). *Plant Science*, 165, 471-481.

- Park, B.J., Liu, Z., Kanno, A., Kameya, T., 2005. Increased Tolerance to Salt and Water Deficit Stress in Transgenic Lettuce (*Lactuca sativa* L.) by Constitutive Expression of LEA. *Plant Growth Regulation*, 45, 165–171.
- Park, S.C., Kim Y.H., Jeong, J.C., Kim, C.Y., Lee, H.S., Bang, J.W., Kwak, S.S., 2011. Sweetpotato Late Embryogenesis Abundant 14 (*IbLEA14*) Gene Influences Lignification and Increases Osmotic and Salt Stress-Tolerance of Transgenic Calli. *Planta*, 233, 621–634.
- Rao, R.C.N., Williams, J.H., Wadia, K.D.R., Hubick, K.T., Farquhar, G.D., 1993. Crop Growth, Water-Use Efficiency and Carbon-Isotope Discrimination in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Genotypes under End of Season Drought Conditions. *Annals of Applied Biology*, 122 (2), 357–367.
- Raza, S.H., Athar, H.R., Ashraf, M., Hameed, A., 2006. Glycinebetaine-Induced Modulation of Antioxidant Enzymes Activities and Ion Accumulation in Two Wheat Cultivars Differing in Salt Tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 368–376.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M., 2004. Drought-Induced Responses of Photosynthesis and Antioxidant Metabolism in Higher Plants. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1189–1202.
- Rengasamy, P., 2002. Transient Salinity And Subsoil Constraints To Dryland Farming in Australian Sodic Soils: An Overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 42 (3), 351–61.
- Rimando, A.M., Pan, Z., Polashock, J.J., Dayan, F.E., Mizuno, C.S., Snook, M.E., Liu, C.J., Baerson, S.R., 2012. In Planta Production of the Highly Potent Resveratrol Analogue Pterostilbene Via Stilbene Synthase and O-methyltransferase Co-expression. *Plant Biotechnology Journal*, 10, 269–283.
- Rinne, P.L.H., Kaikuranta, P.L.M., Van Der Plas, L.H.W., Van Der Schoot, C., 1999. Dehydrins in Cold-Acclimated Apices of Birch (*Betula pubescens* Ehrh.): Production, Localization and Potential Role in Rescuing Enzyme Function During Dehydration. *Planta*, 209, 377–388.
- Roberts, J.K., DeSimone, N.A., Lingle, W.L., Dure, L. III, 1993. Cellular Concentrations and Uniformity of Cell-Type Accumulation of Two *LEA* Proteins in Cotton Embryos. *Plant Cell*, 5, 769–780.
- Rohilla, J.S., Jain, R.K., Wy, R., 2002. Genetic Improvement of Basmati Rice for Salt and Drought Tolerance by Regulated Expression of a Barley *Hva1* cDNA. *Plant Science*, 163, 525–532.
- Roychoudhury, A., Roy, C., Sengupta, D.N., 2007. Transgenic Tobacco Plants Overexpressing the Heterologous *LEA* Gene *Rab16A* from Rice During High Salt and Water Deficit Display Enhanced Tolerance to Salinity Stress. *Plant Cell Reports*, 26, 1839–1859.

- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S., Saxena, D.C., 1998. Role of Antioxidant Systems in Wheat Cultivars Tolerance to Water Stress. *Biologia Plantarum*, 41, 387-394.
- Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2007. Drought-induce biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. Moench. *Acta Botanic Croat*, 66 (1), 43-56.
- Saravanakumar, D., Samiyappan, R., 2007. ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* Mediated Saline Resistance in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Plants. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1283–1292.
- Schulze, E.D., 1986. Carbondioxide and Water Vapour Exchange in Response to Drought in the Atmosphere and in the Soil. *Annual Review Plant Physiology*, 37, 247–274.
- Seçkin B., 2010. Tuzluluk Stresinin Bazı Arpa (*Hordeum spp.*) Türleri Üzerindeki Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Serrano, R., 1996. Salt Tolerance in Plants and Microorganisms: Toxicity Targets and Defense Responses. *International Review of Cytology*, 165, 1–52.
- Shen, T., Wang, X.N., Lou, H.X., 2009. Natural Stilbenes: An Overview. *Natural Product Reports*, 26, 916–935.
- Shi, G., Cai, O., Liu C., Wu, L., 2010. Silicon Alleviates Cadmium Toxicity in Peanut Plants in Relation to Cadmium Distribution and Stimulation of Antioxidative Enzymes. *Plant Growth Regulation*, 61, 45–52.
- Singh, B.G., Rao, P.V., Hiremoth, S.M., 1989. Effect of Salinity on Germination and Seedling Growth in Three Varieties of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of Research APAU*, 17 (4), 432-433.
- Sircelj H., Tausz M., Grill D., Batic F., 2007. Detecting Different Levels of Drought Stress in Apple Trees (*Malus domestica* Borkh.) with Selected Biochemical and Physiological Parameters. *Scientia Horticulturae*, 113, 362– 369.
- Sivamani, E., Bahieldin, A., Wraith, J.M., Al-Niemi, T., Dyer, D.E., Ho, T.H.D., Qu, R., 2000. Improved Biomass Productivity and Water Use Efficiency under Water Deficit Conditions in Transgenic Wheat Constitutively Expressing the Barley *HVA1* Gene. *Plant Science*, 155, 1-9.
- Smart, R.E., Bingham, G.E., 1974. Rapid Estimates of Relative Water Content. *Plant Physiology*, 53, 258–260.
- Sobolev, V.S., Cole, R.J., Dorner, J.W., Yagen, B., 1995. Isolation, Purification, and Liquid Chromatographic Determination of Stilbene Phytoalexins in Peanuts. *J AOAC Inter*, 78, 1177–1182.

- Sonobe, K., Hattori T., An, P., Tsuji, W., Eneji, E., Tanaka, K., Inanaga, S., 2011. Diurnal Variations in Photosynthesis, Stomatal Conductance and Leaf Water Relation in Sorghum Grown with or without Silicon under Water Stress. *Journal of Plant Nutrition*, 32 (3), 433-442.
- Soulages, J.L., Kim, K., Walters, C., Cushman, J.C., 2002. Temperature-Induced Extended Helix/Random Coil Transitions in a Group 1 Late Embryogenesis Abundant Protein from Soybean. *Plant Physiology*, 128, 822-832.
- Su, L., Zhao, C.Z., Bi, Y.P., Wan, S.B., Xia, H., Wang X.J., 2011. Isolation and Expression Analysis of *LEA* Genes in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of Biosciences*, 36 (2), 223–228.
- Szabolcs, I., 1989. Salt-Affected Soils. Boca Raton, 274.
- Tang, K., Zhan, J.Z., Yang, H.R., Huang, W.D., 2010. Changes of Resveratrol and Antioxidant Enzymes During UV-Induced Plant Defense Response in Peanut Seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 167, 95–102.
- Tewari, T.N., Singh, B.B., 1991. Stress Studies in Lentil (*Lens esculenta* Moench) II. Sodicity Induced Changes in Chlorophyll, Nitrate and Nitrite Reductase, Nucleic Acids, Proline, Yield and Yield Component in Lentil. *Plant Soil*, 136, 225-230.
- Thomashow, M.F., 1998. Role of Cold-Responsive Genes in Plant Freezing Tolerance. *Plant Physiology*, 118, 1-7.
- Thomashow, M.F., 1999. Plant Cold Acclimation: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. *Annual Review Plant Biology*, 50, 571-599.
- Tunnacliffe, A., Wise, M.J., 2007. The Continuing Conundrum of the *LEA* Proteins. *Naturwissenschaften*, 94, 791-812.
- Ushimaru, T., Ogawa, K., Ishida, N., Shibasaka, N., Kanematsu, S., Asada, K., Tsuji, H., 1995. Changes in Organelle Superoxide Dismutase Isozymes During Air Adaptation of Submerged Rice Seedlings: Differential Behavior of Isozymes in Plastids and Mitochondria. *Planta*, 112, 606–613.
- Uzunlu M., 2006. Aspirinin Kavun Fidelerinin Değişik Abiyotik Stres Koşullarına Karşı Toleranslarının Arttırılması Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.
- Valliyodan, B., Nguyen, H.T., 2006. Understanding Regulatory Networks and Engineering for Enhanced Drought Tolerance in Plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 1–7.
- Vij, S., Tyagi, A.K., 2007. Emerging Trends in the Functional Genomics of the Abiotic Stress Response in Crop Plants. *Plant Biotechnology of Journal*, 5 (3), 361-380.

- Villadsen, D., Rung, J.H., Nielsen, T.H., 2005. Osmotic Stress Changes Carbohydrate Partitioning and Fructose-2,6-bisphosphate Metabolism in Barley leaves. *Funct Plant Biology*, 32, 1033-1043.
- Vinocur, B., Altman, A., 2005. Recent Advances in Engineering Plant Tolerance to Abiotic Stress: Achievements and Limitations. *Current Opinion in Biotechnology*, 16 (2), 123-132.
- Wan, X.R., Li, L., 2006. Regulation of ABA Level and Water-Stress Tolerance of *Arabidopsis* by Ectopic Expression of a Peanut 9-cis-epoxycarotenoid Dioxygenase Gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 347 (4), 1030-1038.
- Whitsitt, M.S., Collins, R.G., Mullet, J.E., 1997, Modulation of Dehydration Tolerance in Soybean Seedlings. *Plant Physiology*, 114, 917-925.
- Wise, M.J., 2003. *LEA* Ping to Conclusions: A Computational Reanalysis of Late Embryogenesis Abundant Proteins and Their Possible Roles. *BMC Bioinform*, 4, 52.
- Wise, M.J., Tunnacliffe, A., 2004. POPP the Question: What do *LEA* Proteins do? *Trends Plant Science*, 9, 13-17.
- Xing, J.Y., Wang, B.Z., Jia, K.H., Wan, S.B., Meng, J.J., Guo, F., Li, X.G., 2011. Isolation of *Arachis hypogaea* Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Antiporter and Its Expression Analysis under Salt Stress. *African Journal of Biotechnology*, 10 (65), 14302-14310.
- Xu, D., Duan X., Wang, B., Hong B., Ho, T.H.D., Ho, D., Wu, R., 1996. Expression of a Late Embryogenesis Abundant Protein Gene, *HVA1*, from Barley Confers Tolerance to Water Deficit and Salt Stress in Transgenic Rice. *Plant Physiology*, 110, 249 - 257.
- Yağmur, M., Kaydan, D., Okut, N., 2006. Potasyum Uygulamasının Tuz Stresindeki Arpanın Fotosentetik Pigment İçeriği, Ozmotik Potansiyel, K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> Oranı ile Bitki Büyümesindeki Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12 (2), 188-194.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., Kasuga, M., Liu, Q., Nakashima, K., Sakuma, Y., Abe, H., Shinwari, Z.K., Seki, M., Shinozaki, K., 2002. Biological Mechanisms of Drought Stress Response. *JIRCAS Working Report*, 1-8.
- Yamaji, N., Mitani, N., Ma, J.F., 2008. A Transporter Regulating Silicon Distribution in Rice Shoots. *Plant Cell*, 20, 1381–1389.
- Zahran, H.H., 1992. Conditions for Successful Rhizobium-Legume Symbiosis in Saline Environments. *Biology Fertil Soils*, 12, 73-80.
- Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q., Yu, J., 2004. Silicon Alleviates Salt Stress and Increases Antioxidant Enzymes Activity in Leaves of Salt-Stressed Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*, 167, 5.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : Hande Nur KURU

Doğum Yeri ve Yılı : Antalya, 1989

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : hande\_nur\_kuru@hotmail.com

### **Eğitim Durumu**

Lise : Hacı Dudu Mehmet Gebizli Lisesi, 2006

Lisans : SDÜ, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü