



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Arabidopsis thaliana*’ DA SİLİKONUN UV-B STRESİ ÜZERİNE
HAFİFLETİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe CELAYİR

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoteknoloji ve Genetik Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Neslihan TURGUT KARA**

Ekim, 2022

İSTANBUL

Bu alışma, 25.10.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Neslihan TURGUT KARA(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Doç. Dr. Özgür ÇAKIR
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi şenay VURAL KORKUT
Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 37326 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

Tezden üretilmiş herhangi bir yayın yoktur.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca; çalışmalarımı baştan sona destekleyen, her daim yanımda olan, yenilikçi fikirleri ile girişimci yönümüzü ortaya çıkartan, çok sevdiğim ve saygı duyduğum, örnek aldığım danışmanım Prof. Dr. Neslihan TURGUT KARA'ya tüm içtenliklerimle teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans çalışmalarım için her türlü imkânı ve desteği sağlayan başta Bölüm Başkanı Prof. Dr. Ercan ARICAN olmak üzere tüm İstanbul Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğretim üyelerine ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmalarım için değerli fikirleriyle katkı sağlayan, sunduğu zengin ders içerikleriyle teorik ve pratik açıdan tecrübe kazanmamı sağlayan Doç. Dr. Özgür ÇAKIR'a teşekkür ediyorum.

Lisans eğitimim boyunca beni hem teorik hem pratik anlamda geliştiren, büyük katkılarıyla başarılarımın arkasında emeği olan Dr. Öğr. Üyesi Şenay VURAL KORKUT'a teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans hayatım boyunca, tez çalışmalarımı ve deneylerimi yapmamda bana büyük yardımları olan, değerli fikirleriyle çalışmalarına katkı sağlayan Arş. Gör. Burcu ARIKAN'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek lisansın başından itibaren yanımda olan, bana her türlü desteği sağlayan, verdiği değerli bilgilerle çeşitli laboratuvar tekniklerini bana öğreten ve deneylerim sırasında bana arkadaşlık eden Yağmur Vecide YEŞİLDİREK'e en içten dileklerle teşekkür ediyorum.

Her daim yanımda olan, maddi ve manevi olarak beni destekleyen arkadaşım Beytullah ECEVİT ve aile üyelerim Arzu CELAYİR ile Cahit CELAYİR'e en büyük teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak TÜBİTAK 2211 Yurt içi Lisansüstü Burs Programı Desteği olarak, yüksek lisans eğitim sürecimi tamamladığımı belirtip, TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Ekim 2022

Tuğçe CELAYİR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xvi
SUMMARY	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. MODEL ORGANİZMALAR	4
2.1.1. Model Organizma Olarak Bitkiler	7
2.1.1.1. <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	7
2.2. RADYASYON	9
2.2.1. Ultraviyole (UV) Radyasyon	11
2.3. BİTKİLERDE STRES.....	12
2.3.1. Bitkilerde Stres Yanıtları	14
2.3.1.1. <i>Bitkilerde UV-B Radyasyon Stresi ve Stres Yanıtları</i>	17
2.4. SİLİKON VE BİTKİLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİ.....	21
2.4.1. Silikonun Bitkilerde Radyasyon Stresi ile İlişkisi	23
2.5. FİZYOLOJİK ANALİZLER.....	24
2.5.1. Klorofil Miktarı Analizi.....	24
2.5.2. Osmolit Birikimi Analizi.....	24
2.5.3. Hücre Zarı İyon Sızıntısı Analizi	25
2.6. BİTKİLERDE GEN ANLATIM ANALİZLERİ	25
2.6.1. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	26
2.6.2. Bitkilerde Stresle İlişkili Hedef Genler	27
2.6.2.1. <i>Diaçilgliserol kinaz 2</i> (DGK2, “ <i>Diacylglycerol kinase 2</i> ”).....	27
2.6.2.2. <i>Kalkon Sentaz</i> (CHS, “ <i>Chalcone synthase</i> ”).....	28
2.6.2.3. <i>Çiçeklenme Bölgesi C</i> (FLC, “ <i>Flowering Locus C</i> ”).....	28

2.6.2.4. <i>RAS</i> ilişkili diyabet protein 51 (<i>Rad51</i> , “ <i>RAS</i> associated with diabetes protein 51”)	29
2.6.2.5. <i>UV</i> Direnci Bölgesi 8 (<i>UVR8</i> , “ <i>UV</i> Resistance Locus 8”)	29
2.7. BİTKİLERDE EPİGENETİK ANALİZLER.....	30
2.7.1. DNA Metilasyonu.....	31
2.7.1.1. DNA Metilasyonu Tespit Yöntemleri.....	32
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	34
3.1. BİTKİ MATERYALİ.....	34
3.2. ULTRAVİYOLE-B UYGULAMA OPTİMİZASYONLARI	34
3.2.1. Uzaklık ve UV-B Doz Optimizasyonu	35
3.2.2. Uygulama Sıklığı ve Süresinin Optimizasyonu.....	35
3.3. BESİYERİ, KÜLTÜRLEME KOŞULLARI VE UV-B UYGULAMASI	36
3.3.1. Tohumlarda Yüzey Sterilizasyonu, Çimlendirme ve UV-B Uygulaması.....	36
3.4. FİZYOLOJİK ANALİZLER.....	37
3.4.1. Klorofil Miktarının Analizi.....	37
3.4.2. Ozmolit Birikiminin Analizi.....	38
3.4.3. Hücre Zarı İyon Sızıntısının Analizi.....	38
3.5. GEN ANLATIM ANALİZLERİ.....	38
3.5.1. RNA İzolasyonu	40
3.5.2. RNA'nın Analizi.....	41
3.5.3. cDNA Sentezi	41
3.5.4. GZ-PZR Uygulaması.....	42
3.6. GENOM DÜZEYİNDE DNA METİLASYONUNUN BELİRLENMESİ	43
3.6.1. Genomik DNA İzolasyonu	43
3.6.2. DNA'nın Analizi.....	44
3.6.3. Genomik DNA Metilasyon Düzeyinin Ölçülmesi.....	44
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. UV-B UYGULAMA OPTİMİZASYONU	46
4.2. STRES UYGULAMASININ FİZYOLOJİK ETKİLERİ	48
4.2.1. Ozmolit Birikim Analizi Bulguları	48
4.2.2. Hücre Zarı İyon Sızıntısı Testi Bulguları	50
4.3. GEN ANLATIM ANALİZLERİ.....	51
4.3.1. RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezlenmesi	51
4.3.2. GZ-PZR Bulguları	52

4.4. GENOMİK DNA METİLASYON ANALİZLERİ.....	54
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	56
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	85



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 2.1:** *Arabidopsis thaliana* bitkisinin yaşam döngüsünde farklı aşamalar görülmektedir (Jasinski ve diğ., 2018). 9
- Şekil 2.2:** Elektromanyetik spektrum ve radyasyon çeşitleri (Sullivan ve diğ., 2017). 10
- Şekil 2.3:** Stresin etkilerinin Hooke Yasasına göre açıklanması (HSC: Hücresel Stres Cevabı, HHC: Hücresel Homeostazi Cevabı) (Kültz, 2020). 13
- Şekil 2.4:** Farklı bitki türleri üzerinde abiyotik ve biyotik stres kaynaklı kayıpların miktarı (Bayer CropScience Editorial, 2008). 13
- Şekil 2.5:** Abiyotik stres cevabının oluşmasındaki genel mekanizma (Wang ve diğ., 2016). 17
- Şekil 2.6:** Sol tarafta (A) beyaz ışık varlığında UVR8 temelli fotomorfojenik yanıtın oluşmasında görev alan mekanizmalar görülmektedir. Beyaz ışık varlığında UVR8 homodimer halinde bulunmaktadır. SPA, COP1, DDB1 ve CUL4 kompleks halinde (E3 ubikütin ligaz kompleksi) bulunur ve HY5 ve HYH deaktivasyonunu kontrol eder. Nükleus içerisinde BIM1, BES1, WRKY36 ve HY5 varlığını sürdürmektedir. WRKY36, HY5 transkripsiyonunu inhibe etmektedir. BIM1 ve BES1 BR sinyal yolağından sorumlu genleri aktive etmektedirler. Sağ tarafta (B) ise beyaz ışık ve UV-B radyasyonu varlığında UVR8 temelli fotomorfojenik yanıtın oluşmasında görev alan mekanizmalar görülmektedir. UV-B ile aktifleşen UVR8 homodimeri aktif monomer haline geçerek COP1 ve SPA moleküllerini E3 ubikütin ligaz kompleksinden ayırarak kendisine bağlar ve ardından nükleusa giriş yapar. Monomer UVR8, WRKY36'ya bağlanarak, HY5'in aktifleşmesini sağlar. Ayrıca monomer UVR8, BIM1 ve BES1 moleküllerine bağlanarak onların BR sinyal yolağında, BR sorumlu genleri aktive etmelerinin önüne geçer (Tossi ve diğ., 2019). 20
- Şekil 2.7:** Farklı bitki türlerinde ölçülen silikon birikim oranları (Snyder ve diğ., 2016). 21
- Şekil 2.8:** Tarımsal öneme sahip bazı bitkilerde silikon ile gübrelemenin verimlilik artışındaki etkisi (Liang ve diğ., 2015b). 22
- Şekil 2.9:** GZ-PZR grafiği. CT değeri floresan ışımanın arka plan ışımasını geçmesiyle elde edilir. Floresan miktarı sabit bir değere ulaştınca plato fazına girilir (Kubista ve diğ., 2006). 27
- Şekil 2.10:** Farklı ELISA yöntemi uygulamaları sembolik olarak gösterilmiştir (Crowther, 2001; Yeşildirek, 2021). (Görsel “biorender.com” üzerinde tasarlanmıştır.) 33

Şekil 3.1: UV-B uygulama kabini (A) ve uygulama sırasında örnekler (B) görülmektedir.	34
Şekil 4.1: Deney gruplarının temsili görseli.	48
Şekil 4.2: Deney gruplarında ozmolit birikimi değerlerinin karşılaştırılması.	49
Şekil 4.3: Deney gruplarında hücre zarı iyon sızıntısı değerlerinin karşılaştırılması.	50
Şekil 4.4: <i>A. thaliana</i> bitkisinden izole edilmiş total RNA'nın agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi.	51
Şekil 4.5: GZ-PZR analizleri sonucunda <i>A. thaliana</i> Col-0 bitkisinde hedef genlerin <i>Aktin</i> 'e göre rölatif gen anlatımı seviyeleri. Grafik üzerinde yalnızca istatistiksel olarak anlamlı kabul edilen değişimler yıldız işareti ile gösterilmiştir.	52
Şekil 4.6: <i>A. thaliana</i> bitkisinden izole edilmiş genomik DNA'nın agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi.	54
Şekil 4.7: Deney gruplarında genomik DNA metilasyonu miktarlarının karşılaştırılması.	55

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Örnek model organizmalar ve yaygın kullanım alanları.	5
Tablo 3.1: Uzaklık ve uygulama süresi optimizasyonunda ölçüm alınan değerler.	35
Tablo 3.2: Hedef genler ve özellikleri.	39
Tablo 3.3: Primer dizileri.	40
Tablo 3.4: cDNA sentez bileşenleri.	42
Tablo 3.5: Sentez koşulları.	42
Tablo 3.6: GZ-PZR sentez bileşenleri.	42
Tablo 3.7: GZ-PZR sentez koşulları.	42
Tablo 4.1: Ozmolit birikimi değerleri.	49
Tablo 4.2: Hücre zarı iyon sızıntısı değerleri.	50
Tablo 4.3: GZ-PZR analizleri sonucunda <i>A. thaliana</i> Col-0 bitkisinde hedef genlerin Aktin'e göre rölatif gen anlatımı kat sayıları.	53
Tablo 4.4: Genomik DNA metilasyonu analizi sonucunda <i>A. thaliana</i> Col-0 bitkisinde yüzde olarak metilasyon oranları.	55

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
Å	: Angstrom
°C	: Santigrat Derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
H ₄ SiO ₄	: Ortosilisik Asit
L	: Litre
kDa	: Kilodalton
M	: Molar
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
ml	: Mililitre
mOsmol/kg	: Kilogram Başına Düşen Osmol Sayısı
N	: Normal
NaOH	: Sodyum Hidroksit
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
µmol	: Mikromol
µWatt/cm ²	: Santimetrekare Başına Düşen Mikrowatt
nm	: Nanometre
rpm	: Dakika Başına Düşen Rotasyon Sayısı, “Rotation per minute”
Si	: Silikon
SiO ₂	: Silikon Dioksit
v/v	: Hacimce Yüzde
w/v	: Ağırlıkça Yüzde

Kısaltmalar	Açıklama
ABA	: Absisik Asit, “Absciscic Acid”
ABI1	: “ABA Insensitive 1 Protein”
ABI2	: “ABA Insensitive 2 Protein”
Ala	: Alanin
AMV	: “Avian Myeloblastosis Virus”
ANOVA	: İstatistiksel Varyans Analizi Testi, “Statistical Analysis of Variance”
AP2/ERF	: APETALA2/Etilen yanıtlayıcı element bağlama faktörü, “APETALA2/Ethylene responsive element binding factor”
Asn	: Asparajin
ATAF	: <i>Arabidopsis</i> Transkripsiyon Aktivatör Faktör, “ <i>Arabidopsis</i> Transcription Activator Factor”
AtMYC2	: Basit Helix-loop-helix (bHLH) Domaini İçeren Transkripsiyon Faktörü, “Helix-loop-helix (bHLH) Domain-containing Transcription Factor”
BES1	: “Bri1-Emssuppressor 1”
BIM1	: “Bes1-Interacting Myc-Like 1”
BR	: “Brassinosteroid”
Cas	: CRISPR ilişkili protein, “CRISPR Associated Protein”
CBF/DREB1	: C-tekrarları-bağlanma faktörü/dehidrasyona yanıt veren elemen bağlayıcı protein 1, “C-repeat-binding factor/dehydration responsive element-binding protein 1”
CBL	: Kalsinörin B-tipi proteinler, “Calcineurin B-like proteins”
cDNA	: Komplementer DNA, “Complementary DNA”
CDPK	: Kalsiyum bağımlı protein kinazlar, “Ca ²⁺ -dependent protein kinases”
CHS	: <i>Kalkon sentaz</i> , “ <i>Chalcone synthase</i> ”
CIPK	: CBL ile Etkileşen Protein Kinaz, “CBL-interacting protein kinase”
COBRA	: “Combined bisulfite restriction analysis”
Col-0	: Columbia Ekotipi
COLD1	: <i>Soğutma-Tolerans Uyuşmazlığı 1</i>
COP1	: “ <i>Constitutive Photomorphogenic 1</i> ”
CRISPR	: Düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri, “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats”
Ct	: Döngü Eşik Değeri, “Cycle threshold value”
DAG	: Diaçilgliserol, “Diacylglycerol”
DGK2	: <i>Diaçilgliserol kinaz 2</i> , “ <i>Diacylglycerol kinase 2</i> ”
DHU1	: “ <i>Dwd Hypersensitive To UV-B 1</i> ”

DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNMT	: DNA Metil Transferaz, “DNA Methyltransferases”
ELISA	: Enzim-İlişkili İmmünosorbent Deneyi “Enzyme-linked immunosorbent assay”
EM	: Elektromanyetik Spektrum
FLC	: <i>Çiçeklenme Bölgesi C</i> , “ <i>Flowering Locus C</i> ”
FT	: <i>Florigen-kodlayan gen</i> , “ <i>Florigen-encoding gene</i> ”
GCR	: Galaktik kozmik radyasyon, “Galactic Cosmic Rays”
GLR	: Glutamat Reseptörü Benzeri, “Glutamate Receptor-like”
GPCR	: G-protein bağlı reseptörler, “G-protein-coupled receptor”
GZ-PZR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
HPCE	: Yüksek Performanslı Kapılar Elektroforez, “High Performance Capillary Electrophoresis”
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi, “High Pressured Liquid Chromatography”
HY5	: “ <i>Elongated Hypocotyl 5</i> ”
HYH	: “ <i>HY5 Homolog</i> ”
JAXA	: Japon Uzay Araştırma Ajansı
Ler	: Lendsberg erecta Ekotipi
Lsi	: <i>Silikon Taşıyıcı Gen</i> , “ <i>Silicon Transporter Gene</i> ”
MAPK	: Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz, “Mitogen-activated Protein Kinase”
MDA	: Malondialdehit, “Malondialdehyde”
miRNA	: Mikro RNA
MMLV	: Moloney Murine Leukemia Virüsü, “Moloney Murine Leukemia Viruses”
MS	: Murashige ve Skoog Bitki Besiyeri
MS-MLPA	: Metilasyon Hassasiyetli Yüksek Çözünürlüklü Erime Yöntemi, “Methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification”
MS-PZR	: Metilasyon Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MSL	: MscS benzeri proteinler, “MscS-like protein”
NASA	: Amerikan Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi, “National Aeronautics and Space Administration”
ncRNA	: Kodlamayan RNA, “Non-coding RNA”
NGS	: Yeni Nesil Dizileme, “New Generation Sequencing”
NIPIII	: “Nodulin 26-like intrinsic proteins 3”
OSCA1	: <i>Azaltılmış Hiperosmolaliteye Bağlı Kalsiyum Artışı 1</i> , “ <i>Reduced hyperosmality-induced calcium increase 1</i> ”

OsMPK5	: Pirinç Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz, “Mitogen-Activated Protein Kinase 5”
OsNAC6	: Pirinç NAC Domaini İçeren Protein 6, “Rice NAC domain containing protein 6”
PA	: Fosfaditik Asit, “Phosphatidic Acid”
PAMPs	: Patojen-ilişkili Moleküler Örüntüler, “Pathogen-associated Molecular Patterns”
PAR	: Fotosentetik Olarak Aktif Radyasyon, “Photosynthetically Active Radiation”
PLD	: Fosfolipaz D, “Phospholipase D”
Pro	: Prolin
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu, “Polymerase Chain Reaction”
Rad51	: <i>RAS ile İlişkili Diyabet Proteini 51</i> , “RAS Associated with Diabetes Protein 51”
RCD1	: “Radical-Induced Cell Death 1”
RD26	: Dehidrasyon 26 Transkripsiyon Faktörü, “Dehydration 26 Transcription Factor”
RNA	: Ribonükleik asit
RUP	: “Repressor of UV-B Photomorphogenesis”
SAGE	: Gen Anlatımının Seri Analizi Yöntemi, “Serial Analysis of Gene Expression”
Ser	: Serin
SMRT	: Gerçek Zamanlı Tek Molekül Sekanslama, “Single Molecule Real Time Sequencing”
SOC1	: “Suppressor of Overexpression Constant 1”
SPA1	: PHYA Baskılayıcı, “Suppressor of PHYA”
SPE	: Güneş Partikülü Saçılımı Olayı, “Solar Particle Event”
SPL15	: “Squamoda Promoter Binding-like Protein 15”
STO/BBX24	: Tuz toleransı/BBX24, “Salt Tolerance/BBX24”
STS	: “Space Transportation System”
TAE	: Tris Asetat EDTA
TAIR	: <i>Arabidopsis</i> Bilgi Merkezi, “The <i>Arabidopsis</i> Information System”
TaNIP2	: “ <i>Triticum aestivum</i> nodulin 26-like intrinsic protein”
TaPIP1	: “ <i>Triticum aestivum</i> plasma membrane intrinsic protein”
TF	: Transkripsiyon Faktörü
Thr	: Treonin
UV	: Ultraviyole

UV-A	: Ultraviyole-A Radyasyonu
UV-B	: Ultraviyole-B Radyasyonu
UV-C	: Ultraviyole-C Radyasyonu
UVR8	: <i>UV Direnci Bölgesi 8</i> , “ <i>UV RESISTANCE LOCUS 8</i> ”
Ws	: Wassilewskija Ekotipi
ZFN	: Çinko-parmak nükleazları, “Zinc-finger nucleases”



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Arabidopsis thaliana’ DA SİLİKONUN UV-B STRESİ ÜZERİNE HAFİFLETİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Tuğçe CELAYİR

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Neslihan TURGUT KARA

Günümüzde küresel ısınma ve beraberinde getirdiği problemlerin bir sonucu olarak tarım arazileri ve dünya üzerindeki doğal bitki örtüsü çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Tarım arazileri, artan dünya nüfusuyla birlikte açığa çıkan gıda ihtiyacının karşılanması için temel oluşturmakla birlikte, yalnızca gıda alanında değil; sağlık, kozmetik ve çeşitli endüstriyel alanlarda da kritik bir rol oynamaktadır. Bitkilerin stres koşullarına adaptasyonunun sağlanması ve bu adaptasyonun altında yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. Küresel ısınmanın ve ozon tabakasındaki incelmenin getirdiği en büyük etkenlerden bir tanesi yer yüzüne ulaşmakta olan ultraviyole-B (UV-B) tipi radyasyondur. 280-320 nm aralığında dalga boyuna sahip UV-B tipi radyasyonun bitkiler üzerinde olumsuz etkileri olduğu önceden yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmada model organizma olarak *Arabidopsis thaliana* Columbia (Col-0) yabancı tip bitki kullanılmıştır. UV-B radyasyon uygulaması 17 günlük *A. thaliana* üzerinde 60 dakika boyunca 800 $\mu\text{Watt/cm}^2$ olacak şekilde optimize edilmiştir. Bu tez çalışmasında, silikon molekülünün UV-B radyasyonuna maruz bırakılan *A. thaliana* üzerindeki etkileri fizyolojik, gen anlatımı ve epigenetik seviyesinde analizler yapılarak araştırılmıştır. Silikon molekülünün bitkiler üzerinde, çoklu stres direnci ve özellikle UV-B radyasyon direnci konusundaki etkileri önceden yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak bu etkinin altında yatan moleküler mekanizmalar henüz aydınlatılmamıştır.

Bu nedenle tez kapsamında ozmolit birikimi ve hücre zarı iyon sızıntısı analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bitkilerde abiyotik stres yanıtı ile ilişkili olduğu bilinen *DGK2*, *CHS*, *FLC*, *Rad51* ve *UVR8* genlerinin anlatım seviyeleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak belirlenmiştir. Bu sayede, silikonun UV-B uygulaması karşısında verdiği stres yanıtının belirtilen genlerin anlatımı ile olan ilişkisi ortaya konmuştur. Ayrıca, bitkilerde epigenetik düzenlemelerle ilişkisi olduğu bilinen UV-B stres cevabının daha iyi anlaşılabilmesi adına genom düzeyinde DNA metilasyon yüzdeleri karşılaştırılmıştır.

Gerçekleştirilen tez çalışmasının sonucu olarak, *in vitro* 1 mM silikon uygulamasının, 800 $\mu\text{Watt/cm}^2$ UV-B radyasyon stresi altında *A. thaliana* Col-0 üzerinde fizyolojik, gen anlatımı ve epigenetik seviyesinde etkisi olduğu gösterilmiştir. Sadece silikon uygulanan deney gruplarında kontrole göre ozmolit birikimi yüksek bulunurken; hücre zarı iyon sızıntısı düşük olarak ölçülmüştür. Gen anlatım analizlerinde ise hedef genlerin anlatımlarında silikonun stres cevabında destekleyici rol oynadığını gösteren anlamlı değişiklikler kaydedilmiştir. Son olarak, genom düzeyinde DNA metilasyonu yüzdeleri ölçümünde, silikon ve UV-B uygulanan deney gruplarında genomik DNA metilasyon yüzdesi kontrol grubuna göre artış göstermektedir.

Yapılan çalışma kapsamında silikon molekülünün bitkilerde moleküler seviyede değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Bu çalışma, silikonun bitki stres cevabında bir ajan olarak kullanımı ile ilgili literatüre katkı sağlamakla birlikte benzer moleküllerin biyotik ve abiyotik stresler karşısında kullanımı ve test edilmesi için bir örnek olarak sunulmaktadır.

Ekim 2022, 104 sayfa.

Anahtar kelimeler: *Arabidopsis thaliana*, UV-B, silikon, ozmolit, iyon sızıntısı, gen anlatımı, DNA metilasyonu.

SUMMARY

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF THE ALLEVIATING EFFECT OF SILICON AGAINST UV-B STRESS in *Arabidopsis thaliana*

Tuğçe CELAYİR

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor : Prof. Dr. Neslihan TURGUT KARA

Today, due to global warming and the problems it brings, agricultural lands and natural vegetation in the world are exposed to various biotic and abiotic stress factors. Agricultural lands are the basis for meeting the food needs that arise with the increasing world population, but not only in the field of food; it also plays a critical role in healthcare, cosmetics, and various industrial fields. Ensuring the adaptation of plants to stress conditions and elucidating the molecular mechanisms underlying this adaptation are of great importance. One of the biggest factors brought by global warming and the depletion of the ozone layer is ultraviolet-B (UV-B) type radiation reaching the Earth's surface. It has been shown in previous studies that UV-B-type radiation with a wavelength in the range of 280-320 nm has adverse effects on plants.

In the study, the wild-type plant *Arabidopsis thaliana* Columbia (Col-0) was used as a model organism. UV-B radiation application was optimized to 800 $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ for 60 minutes on 17-day-old *A. thaliana*. In this thesis study, the effects of the silicon molecule on *A. thaliana* exposed to UV-B radiation were investigated by performing physiological, gene expression, and epigenetic level analyses. The effects of silicon molecule on plants on multi-stress resistance and especially UV-B radiation resistance have been shown in previous studies. However, the molecular mechanisms underlying this effect have not yet been elucidated.

For this reason, osmolyte accumulation and cell membrane ion leakage analysis were performed within the scope of the thesis. In addition, expressions of *DGK2*, *CHS*, *FLC*, *Rad51*, and *UVR8* genes, which are known to be associated with abiotic stress response in plants, were determined using real-time polymerase chain reaction. In this way, the relationship between the stress response of silicon to UV-B application and the expression of the specified genes has been demonstrated. In addition, DNA methylation percentages at the genome level were measured and compared in order to better understand the UV-B stress response, which is known to be associated with epigenetic regulation in plants.

As a result of the thesis study, *in vitro* 1 mM silicon application has been shown to have physiological, gene expression, and epigenetic level effects on *A. thaliana* Col-0 under 800 $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ UV-B radiation stress. While osmolyte accumulation was found to be higher in the experimental groups to which only silicone was applied, compared to the control, cell membrane ion leakage was measured as low. In gene expression analyzes, significant changes were recorded in the expression of target genes, indicating that silicon plays a supportive role in the stress response. Finally, in measuring DNA methylation percentages at the genome level, the percentage of genomic DNA methylation increased in silicon-treated experimental groups compared to the control group.

Within the scope of the study, it has been shown that the silicon molecule causes changes at the molecular level in plants. While this study contributes to the literature on the use of silicon as an agent in plant stress response, it is presented as an example of the use and testing of similar molecules against biotic and abiotic stresses.

October 2022, 104 pages.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, UV-B, silicon, osmolyte, ion leakage, gene expression, DNA methylation.

1. GİRİŞ

Dünya genelinde insan popülasyonunun her geçen gün artması sağlıklı gıdaya erişim problemini beraberinde getirmektedir (Crist ve diğ., 2017; Bloom, 2020). Temel gıda kaynaklarından biri olan tarımsal bitkilerin üretim verimliliği bu nedenle büyük önem taşımaktadır. Bitkilerin maruz kaldığı biyotik ve abiyotik kaynaklı stres faktörleri doğrudan üretim verimliliğini etkilemektedir. Bu noktada bitkilerde biyotik ve abiyotik stres yanıtlarının moleküler seviyede anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Bu konuda yapılmış araştırmalar bitkilerin stres direncinin artırılmasına katkı sağlayabilir.

Bitkilerde abiyotik stres faktörlerinden bir tanesi olan ultraviyole-B (UV-B) radyasyonu özellikle ozon tabakasında meydana gelen incelme ve hasar nedeniyle ciddi bir problem teşkil etmektedir (Sharma ve diğ., 2017). 2020 yılından sonra gerçekleştirilen analizlerde, çeşitli önlemler ve uygulamalar ile ozon tabakasındaki incelme hızının azaltılabileceği ortaya konmuş olsa da önerilen uygulamaların gerçekleştirilebilirliği tartışmaya açıktır (Madronich ve diğ., 2021). UV-B, 280 ve 315 nm dalga boyu aralığında ışıma yapan iyonize radyasyon türüdür ve en büyük kaynağı Güneş'tir (NASA, 2022). Yalnızca yer yüzündeki tarımsal alanlarda değil, biyorejeneratif yaşam destek sistemlerinin kullanıldığı uzun süreli uzay görevlerinde de bitkiler üzerinde UV-B radyasyon stresinin etkileri çalışılmaktadır. Çünkü, uzay görevlerinde bitkilerin maruz kaldığı stres faktörlerinin başında UV-B radyasyonu gelmektedir (Takahashi ve Ohnishi, 2004). Bu nedenle, UV-B stresinin etkilerinin moleküler seviyede anlaşılması ve olumsuz etkilerinin önüne geçilmesi yer yüzündeki tarımsal bitki üretim verimliliğinden uzay çalışmalarının geleceğine kadar geniş bir spektrumda etki yaratacaktır.

Bu çalışmada, bitkilerde UV-B stresinin etkisini anlamak için model organizma olan *Arabidopsis thaliana* (fare kulağı teresi) bitkisi seçilmiştir. Model organizmalar; hakkında geniş spektrumda bilgi bulunan, sıklıkla çalışılmış ve bilimsel çalışmalar yapmaya elverişli canlılardır (Fields ve Johnston, 2005). *A. thaliana*, tüm genomunun dizilenmiş olması, kısa çimlenme ve üreme süresine sahip olması ve 5-6 haftalık yaşam döngüsüyle çalışma kolaylığı sağlayan bir bitkidir (Graham ve diğ., 2008b).

Bitkilerde stres cevabında etkili olduğu öne sürülen bir molekül olan silikon, özellikle ortosilisik asit (H_4SiO_4) formunda bitkiye uygulandığında bitki büyümesinde verimlilik ve stres

direncinde artış gözlemlenmektedir (Liang ve diğ., 2015f; Tripathi ve diğ., 2017a). Silikonun özellikle UV-B direnci üzerindeki etkileri ile ilgili de çeşitli çalışmalar mevcuttur (Liang ve diğ., 2015e). Bunlardan farklı olarak, gerçekleştirilen çalışma kapsamında *in vitro* ortosilisik asit uygulaması ile *A. thaliana* bitkisinin UV-B stresi altında verdiği tepki fizyolojik, transkriptomik ve epigenetik açılardan kapsamlı olarak analiz edilmiştir.

Fizyolojik açıdan meydana gelen değişimlerin anlamlandırılabilmesi için seçilen yöntemler hücre içi ozmolit birikimi ve hücre zarı iyon sızıntısı analizidir. Bu yöntemler fizyolojik parametreler sağlayarak bitkinin durumunu yorumlamak amacıyla sıklıkla kullanılırlar. Hücre içerisinde biriken ozmolitler çeşitli stres faktörlerine karşı ozmotik koruma sağlayarak hücre bütünlüğünü desteklemektedir (Ahmad ve diğ., 2013). Bu nedenle, gerçekleştirilen çalışmada *A. thaliana* bitkisinin UV-B stresi ve silikon uygulaması altında ozmolit birikim miktarı ölçülmüştür. Hücre zarı iyon sızıntısının ölçülmesi ise dolaylı olarak hücre zarı hasarının tespit edilmesine olanak sağlamaktadır (Uçarlı, 2016). Sızıntı miktarının yüksekliği hücre zarında meydana gelmiş olan hasarla doğru orantılıdır.

Biyotik ve abiyotik stresler bitkilerde gen anlatımını doğrudan ve dolaylı olarak etkilemektedir. Bu nedenle UV-B stresinin etkilerini anlamak adına gen anlatım seviyesinde stres cevabıyla ilişkili olarak belirlenen hedef genlerin analizi yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında belirlenen *DGK2*, *CHS*, *FLC*, *Rad51* ve *UVR8* genlerinin anlatımlarındaki değişiklikler gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) ile tespit edilmiştir.

Epigenetik olarak meydana gelen değişimlerin tespit edilmesi de stres cevabının bütünüyle anlaşılması adına oldukça önemlidir. Bitkilerde stres yanıtı ve direncinin epigenetik düzenlemelerle ilişkisi olduğu bilinmektedir (Boyko ve Kovalchuk, 2008). Gerçekleştirilen tez çalışmasında, bitkilerde silikon uygulamasının UV-B stres yanıtı üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi adına genom düzeyinde DNA metilasyon seviyeleri ölçülmüştür.

Proje kapsamında, UV-B uygulama koşulları optimizasyon çalışmaları ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, 17 günlük *A. thaliana* bitkisine Philips marka, PL-L 36W/01/4P 1CT/25 model 167 mm toplam uzunluğa sahip UV-B Dar-bant lamba ile 800 $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ UV-B radyasyon uygulanmış ve uygulama sonrasında stres cevabının oluşması için 28 gün gelişimine devam eden bitki analiz için hasat edilmiştir. Ardından, ozmolit birikimi ve hücre zarı iyon sızıntısı değerleri ölçülmüştür. Hedef genler üzerinde GZ-PZR yöntemi ile gen anlatım değişiklikleri analiz

edilmiştir. Son olarak, genomik DNA metilasyon seviyesi belirlenerek, UV-B ve silikon uygulamasının bitki üzerinde epigenetik açıdan etkileri incelenmiştir.

Yapılan tüm analizler, istatistiksel olarak iki yönlü (“Two-Way-ANOVA”) ve/veya tek yönlü varyans analizi (“One-Way-ANOVA”) ile değerlendirilmiştir. Varyans analizleri Geisser-Greenhouse ve Tukey HSD testi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Grafiklerin düzenlenmesi ve istatistiksel analizler için GraphPad Prism® 9.3.1 bilgisayar programı kullanılmıştır. Her bir deney grubu, diğer gruplarla kendi içerisinde karşılaştırılmış olup, $P < 0.05$ düzeyindeki sonuçlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

Sonuç olarak, *in vitro* 1 mM silikon uygulamasının, UV-B radyasyon stresi altında *A. thaliana* Col-0 üzerinde fizyolojik, gen anlatımı ve epigenetik seviyesinde etkisi olduğu gösterilmiştir. Gerçekleştirilen araştırma bitkilerde silikonun UV-B stres yanıtı üzerindeki etkilerinin moleküler seviyede çalışılması konusunda literatürde mevcut olan açığın kapatılmasına katkı sağlamaktadır. Bu çalışma, silikonun bitki stres cevabında bir ajan olarak kullanımı ile ilgili literatürü desteklemekte ve aynı zamanda diğer aday moleküllerin biyotik ve abiyotik stresler karşısında kullanımı ve test edilmesi için bir örnek olarak sunulmaktadır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. MODEL ORGANİZMALAR

Canlılar hakkında bugüne kadar bildiğimiz bilgilerin büyük çoğunluğu model organizmalar üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Her canlı sınıfını temsilen araştırılan model organizmalara örnek olarak; bir maya olan *Saccharomyces cerevisiae*, bir nematod (mikroskopik solucan) olan *Caenorhabditis elegans* ve meyve sineği *Drosophila melanogaster* verilebilir. Model organizmalar, biyolojik olay ve olguların anlaşılması için sıklıkla üzerinde çalışılan, hakkında çok sayıda ve detaylı bilgi bulunan türlerdir. Bu organizmaların hücre döngüleri, hücrel bileşenlerinin işleyişi, DNA (deoksiribonükleik asit) tamir mekanizmaları, hücre sinyal yolları gibi biyolojik aktiviteleri model olmayan organizmalara göre daha iyi bilinmektedir. Model organizmalar genomik, transkriptomik, proteomik ve epigenetik seviyede detaylıca çalışılmıştır. Bu nedenle bu organizmalar bilimsel çalışmalarda yaygın şekilde kullanılmaktadır (Fields ve Johnston, 2005). Bazı model organizmalar ve kullanım alanları Tablo 2.1 içerisinde listelenmiştir.

Model organizmaların kullanım alanlarına örnek vermek gerekirse, bunlardan bir tanesi gen düzenleme çalışmalarıdır. Gen düzenleme araçlarıyla gerçekleştirilen çalışmalarda model organizmalar sıklıkla kullanılmaktadır (Ma ve Liu, 2015). Örneğin, gen düzenlemede kullanılan çinko parmak nükleazları (ZFN, “Zinc-finger nucleases”) 1996 yılında *Drosophila melanogaster* üzerinde yapılan çalışmalar sırasında keşfedilmiştir (Kim ve diğ., 1996). Günümüzde, düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri (CRISPR, “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats”) ve Cas proteinleri (“CRISPR associated”) ile gerçekleştirilen gen düzenleme çalışmalarında özellikle *Arabidopsis thaliana* ve *Solanum tuberosum* L. gibi model organizmalar tercih edilmektedir (Jinek ve diğ., 2012). Model organizmalar sahip oldukları geniş veri havuzu sayesinde bu gibi yenilikçi tekniklerin doğrudan anlaşılması ve detaylıca incelenmesine olanak tanımaktadır. Kısacası, model organizmalar bilimsel ve teknolojik çalışmalar için oldukça uygundur.

Tablo 2.1: Örnek model organizmalar ve yaygın kullanım alanları.

Örnek Model Organizma	Kullanım Alanı
Virüsler	
<i>Escherichia virus Lambda</i> (Casjens ve Hendrix, 2015)	Virüsler üzerinde gerçekleştirilen temel moleküler çalışmalarda ve özellikle mikrobiyal genetik alanında kullanılır.
<i>Escherichia virus T4</i> (Yap ve Rossmann, 2014)	Virüsler üzerinde gerçekleştirilen temel moleküler çalışmalarda ve özellikle genetik mühendisliği alanında kullanılır.
<i>Escherichia virus ΦX174</i> (Wright ve diğ., 2020)	Sentetik biyoloji, evrim ve biyoteknoloji alanlarında yaygın olarak kullanılır.
Prokaryotlar	
<i>Aliivibrio fischeri</i> (Visick ve diğ., 2018)	Hücreler arası iletişim ve hayvan-bakteri simbiyotik ilişkisinin incelenmesi için sıklıkla kullanılan bir model organizmadır.
<i>Bacillus subtilis</i> (Borriss ve diğ., 2017)	Bakteri kromozom replikasyonu ve hücre farklılaşması çalışmalarında kullanılır.
<i>Escherichia coli</i> (Idalia ve Bernardo, 2017)	Temel moleküler genetik çalışmalarında en çok kullanılan model organizmalardan bir tanesidir.
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i> (Yu ve diğ., 2013)	Fotosentez üzerine yapılan çalışmalarda ve özellikle biyo-yakıt araştırmalarında kullanılır.
Ökaryotlar	
<i>Arabidopsis thaliana</i> (Meinke ve diğ., 1998)	En sık kullanılan bitki model organizmadır. Tüm genomu dizilenmiştir. Bitki stres biyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda da sıklıkla kullanılır.
<i>Caenorhabditis elegans</i> (Marsh ve May, 2012)	Gelişim ve fizyolojinin genetik kontrolü çalışılırken sıklıkla kullanılan nematod model organizmadır.
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (Harris, 2001)	Fotosentez, kamçı yapısı ve hareketliliğin incelenmesi, metabolizmanın düzenlenmesi ve adezyon ve besin yetersizliğine verilen yanıtın araştırılması konularında kullanılır.
<i>Danio rerio</i> (Gulias ve diğ., 2019)	Anatomi çalışmaları, toksikoloji, evrim, embriyoloji gibi çok çeşitli alanlarda kullanılan bir hayvan model organizmadır.
<i>Mus musculus</i> (Perlman, 2016)	Klasik model omurgalı hayvan olarak hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda sıklıkla kullanılır.
<i>Neurospora crassa</i> (Nargang ve Rapaport, 2007)	Sirkadiyen ritim, mayoz ve metabolik regülasyonların incelenmesi gibi alanlarda kullanılır.
<i>Nicotiana benthamiana</i> (Goodin ve diğ., 2008)	Sıklıkla bitki-patojen ilişkisi çalışmalarında kullanılır.
<i>Populus trichocarpa</i> (Jansson ve Douglas, 2007)	Odunsu bitkiler için bir model organizma olarak genetik mühendisliği ve orman biyolojisi çalışmalarında kullanılır.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Karathia ve diğ., 2011)	Maya moleküler biyolojisi çalışmaları ve canlılar üzerinde stresin etkilerinin anlaşılması gibi çeşitli alanlarda kullanılır.
<i>Zea mays</i> (Strable ve Scanlon, 2009)	Genetik mühendisliği ve tarım biyolojisi alanlarında kullanılan bir model organizmadır.

Model organizmalar, canlılarda stresin etkilerinin çalışılmasında özellikle tercih edilir. Canlılarda stres, biyolojik (biyotik) ve biyolojik olmayan (abiyotik) stres olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Biyotik ve abiyotik stresin canlılar üzerindeki etkisinin anlaşılması amacıyla yapılan çalışmalarda, hakkında çok sayıda veri bulunan model organizmalar kullanılmaktadır. Örneğin, bitkilerde çoklu stresin etkilerinin anlaşılması için yapılan çalışmalarda model organizma olan *A. thaliana* bitkisi sıklıkla kullanılır. Bu tür çalışmalar sırasında *A. thaliana* tercih edilmesinin sebebi, bitkinin kısa yaşam döngüsünden dolayı kolaylıkla üretilip yetiştirilebilen bir yapıda olması ve aynı zamanda çok sayıda döl vermesidir (TAIR, 2022). Yine güncel çalışmalara bakıldığında, oksidatif strese sebep olan inorganik arsenik gibi toksisitesi yüksek bileşenlerin canlılar üzerindeki etkisi çalışılırken *Danio rerio* (zebra balığı) gibi model organizmalar tercih edilmektedir (Delaney ve diğ., 2020).

Model organizmaların kullanıldığı bir diğer bilimsel çalışma alanı ise uzay biyolojisidir. Uzay biyolojisi, uzun süreli uzay görevleri sırasında canlıların maruz kaldıkları biyotik ve abiyotik streslerin araştırılması açısından stres biyolojisi ile yakından ilgilidir. Uzay biyolojisinde her türden organizma üzerinde, uzay aracı içerisinde maruz kaldıkları değişimleri inceleyen araştırmalar yürütülmektedir. Bu araştırmalar, uzay görevlerinin sayısı itibarıyla kısıtlı olup, görevler için uzaya gönderilen canlı türleri detaylı ön çalışmalar sonucunda seçilmektedir. Uzay görevlerinin koşulları oldukça karmaşık ve bilinmezliklerle dolu olduğu için, bu görevlerde incelenen organizmaların her anlamda çokça çalışılmış ve hakkında bolca bilgi bulunan canlılar olması çok önemlidir. Bu nedenle özellikle uzay çalışmalarında ve uzay biyolojisinde model organizmalar sıkça tercih edilmektedir (Fert ve diğ., 2002).

Sonuç olarak, günümüzde bilimsel araştırmaların vazgeçilmez bir parçası haline gelmiş olan model organizmalar, biyolojinin ve biyoteknolojinin her alanında öncü olarak kullanılmakta, temel bilimlerin ve teknolojinin gelişmesine katkı sağlamaktadır. Model organizmalar hücre içi mekanizmaların araştırılmasından popülasyon genetiği çalışmalarına kadar geniş bir yelpazede kullanılmaktadır.

Gerçekleştirilen çalışma kapsamında bitkilerde UV-B stresine karşı silikon uygulamasının etkilerini araştırmak amacıyla model organizma olan *A. thaliana* seçilmiştir. Kısım 2.1.1.1 içerisinde *A. thaliana* hakkında detaylı bilgi verilmiştir.

2.1.1. Model Organizma Olarak Bitkiler

Çok hücreli ökaryot canlılar olan bitkiler selülozca zengin hücre duvarına sahiptirler ve içerdikleri klorofil ile fotosentez yaparlar. Bu tanım ile bitkiler beş ayrı grupta sınıflandırılırlar (Graham ve diğ., 2008a):

1. Briyofitler
2. Likofitler
3. Pteridofitler
4. Gimnospermler
5. Angiospermler

Model organizma olarak bitkiler, genetik (Mittelsten Scheid, 2022), hücre biyolojisi (Chen ve Heidari, 2021) ve epigenetik (Cavalieri, 2020) gibi moleküler biyolojinin farklı alanlarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Özellikle bitki stres biyolojisinde kullanılan model organizmalara örnek olarak *Zea mays* L. (mısır), *Hordeum vulgare* L. (arpa) ve *Arabidopsis thaliana* verilebilir (Arıkan ve diğ., 2018; Tiwari ve Yadav, 2019; De Castro ve diğ., 2022).

Bilimsel çalışmalarda kullanılan bir diğer model organizma *Physcomitrella patens* (yosun) bitkisidir. Uluslararası Uzay İstasyonu’nda gerçekleştirilen çalışmalarda öncelikli olarak kullanılmaktadır. Japonya Hokkaido Üniversitesi’nden Prof. Fujita Tomomichi tarafından Uluslararası Uzay İstasyonu’nda yürütülen “Yosunların çevresel tepkileri ve uzayda kullanımları” adlı çalışma örnek verilebilir (JAXA, 2021). Uzay görevlerinde birden fazla bilinmeyen çevresel faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerin bitkiler üzerindeki etkisini anlamlandırabilmek için önceden çalışılmış ve özellikleri iyi bilinen organizmaların kullanılması gerekmektedir. *P. patens* gibi model bitkiler bu nedenle özellikle uzay çalışmaları için seçilmektedir.

2.1.1.1. *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Yaygın adı ile “fare kulağı teresi” olarak bilinen *Arabidopsis thaliana*, bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılan küçük çiçekli bir bitkidir (Şekil 2.1). 16.yy’da Johannes Thal tarafından Almanya’da Harz dağlarında keşfedilmiştir (Wixon, 2001). Kuzey Amerika, Asya ve Avrupa’da geniş bir dağılıma sahip *Brassicaceae* ailesi üyesidir. Çeşitli özelliklerinden dolayı *A. thaliana* bilimsel çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir. Bunlardan biri, tüm genomu

dizilenmiş ilk bitki olmasıdır (*Arabidopsis* Genome Initiative, 2000). DNA dizisinin biliniyor olması yapılan tüm çalışmalara hız kazandırmakta ve daha karmaşık seviyelerde bilimsel incelemeler yapılmasına olanak vermektedir. Diğer özellikleri arasında görece az DNA'ya sahip olması, fiziksel ve genetik haritaları belirlenmiş olan 5 kromozomunun olması, kısa boylu olması, üreme süresinin kısa olması, 5-6 haftalık bir yaşam döngüsüne sahip olması, çaprazlama deneylerinde kullanım kolaylığı, çok sayıda mutantının ve genetik kaynağının olması ve yüksek tohum üretim verimi sayılabilir. Bu nedenle, *A. thaliana* bilimsel çalışmalarda en sık tercih edilen bitki model organizma haline gelmiştir (Graham ve diğ., 2008b). *A. thaliana* için çeşitli veri bankaları kurulmuştur. *Arabidopsis* Bilgi Merkezi (TAIR, 2022) *A. thaliana* için genetik ve moleküler seviyede bilgi sunan bir veri merkezidir.

Bir model organizma olarak *A. thaliana*'nın kullanıldığı birçok kapsamlı çalışma mevcuttur. Örneğin, 2011'de *Arabidopsis thaliana* bitkisinin *P. ramosa* ve tuz stresine karşı verdiği fizyolojik ve transkriptomik yanıtı araştıran bir çalışmada ozmotik koruma yollarının su kaybını önlediği ve aynı zamanda bitkide oksidatif stres cevabı oluşturduğu gösterilmiştir (Demirbaş, S., 2011). Bir model olarak *A. thaliana* böyle bir çalışma için oldukça uygundur. Benzer genleri ve sinyal yollarını içeren farklı bitkilerde bu deney tasarımı kullanılarak benzer çalışmalar geliştirilebilir. Bu gibi çalışmalarda spesifik genlerin anlatımları ve enzimlerin bu genlerin anlatımları üzerindeki etkileri incelenerek hangi sinyal yollarının aktif edildiği ve bitkinin savunma sisteminin altında yatan moleküler mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Yine *A. thaliana* ile silika stresi (Gökmen, S., 2013) ve ABA (absisik asit) stresi (Arıkan, B., 2016) gibi farklı abiyotik stres türlerinin incelendiği çalışmalar mevcuttur.

A. thaliana, bir model organizma olarak, bitki uzay biyolojisi alanında da sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin, STS-84 uzay mekiği ile uzaya gönderilen öncü araştırmalardan bir tanesi farklı ekotiplerdeki *A. thaliana* bitkilerinin mikro-yerçekimi altında gelişiminin araştırılması üzerinedir (Kiss ve diğ., 2000). Wassilewskija (Ws), Landsberg erecta (Ler), Columbia (Col) ve C24 ekotiplerinin uzay görevi koşullarına uygunluğu açısından değerlendirildiği bu çalışmada Ler ve C24 ekotipleri uzay görevi koşullarına daha uygun olarak belirlenmiştir.

Bu gibi çalışmalardan yola çıkılarak, gerçekleştirilen yüksek lisans tezi kapsamında model organizma olarak *A. thaliana* bitkisinin kullanımı uygun görülmüştür.



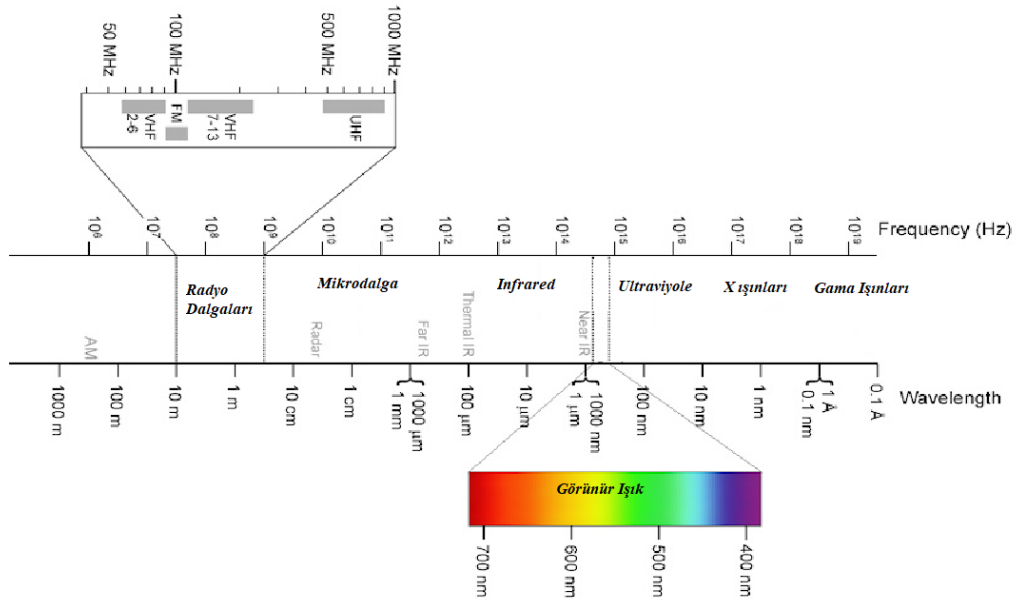
Şekil 2.1: *Arabidopsis thaliana* bitkisinin yaşam döngüsünde farklı aşamalar görülmektedir (Jasinski ve diğ., 2018).

2.2. RADYASYON

Radyasyon, dalgalar veya parçacık akışları şeklindeki enerjidir. Radyasyonun ultraviyole, mikrodalga ve radyo dalgaları gibi birçok farklı türü bulunmaktadır (Şekil 2.2). Radyasyon elektromanyetik spektrumda frekans büyüklüğüne göre sınıflandırılır. Görünür ışıktan daha yüksek frekansa sahip olan radyasyon iyonize radyasyon olarak adlandırılırken, görünür ışıktan daha düşük frekansa sahip olan radyasyon ise iyonize olmayan radyasyon olarak isimlendirilir. İyonize olmayan radyasyon oldukça düşük enerjiye sahip olduğu için canlılar üzerinde ciddi olumsuz etkileri bulunmamaktadır. İyonize radyasyon ise atomların yörüngelerinde dönen elektronları kopartabilme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, iyonize radyasyonun oldukça zararlı türleri mevcuttur.

İyonize radyasyon kendi içerisinde çeşitlere ayrılır (Canadian Nuclear Safety Commission, 2012):

1. Ultraviyole (UV) Radyasyon
2. Alfa Radyasyonu (çok yüksek hızlarda hareket eden bir helyum atom çekirdeği)
3. Beta Radyasyonu (yüksek hızlı bir elektron veya pozitron)
4. Foton Radyasyonu (Gama ve X-ray)
5. Nötron Radyasyonu



Şekil 2.2: Elektromanyetik spektrum ve radyasyon çeşitleri (Sullivan ve diğ., 2017).

Radyasyon, belirli dalga boylarında, bir stres faktörü olarak canlılar üzerinde ciddi problemlere yol açmaktadır. En büyük radyasyon kaynaklarından biri olan Güneş, elektromanyetik spektrumda (EM) tüm dalga boylarını yaymaktadır. Bu radyasyon çeşitleri çoğunlukla görünür ışık, kızılötesi ve ultraviyole radyasyon (UV) şeklindedir. Bazen, Güneş patlamaları adı verilen dev patlamalar Güneş yüzeyinde meydana gelir ve x-ışınları, gama ışınları ve proton-elektron akışları şeklinde uzaya büyük miktarda enerji salınır. Buna Güneş partikülü saçılımı olayı (SPE, “Solar Particle Event”) denir. Güneş kaynaklı radyasyonun dışında, uzaydan gelen galaktik kozmik radyasyon (GCR, “Galactic Cosmic Radiation”) bulunur (NASA, 2022).

2.2.1. Ultraviyole (UV) Radyasyon

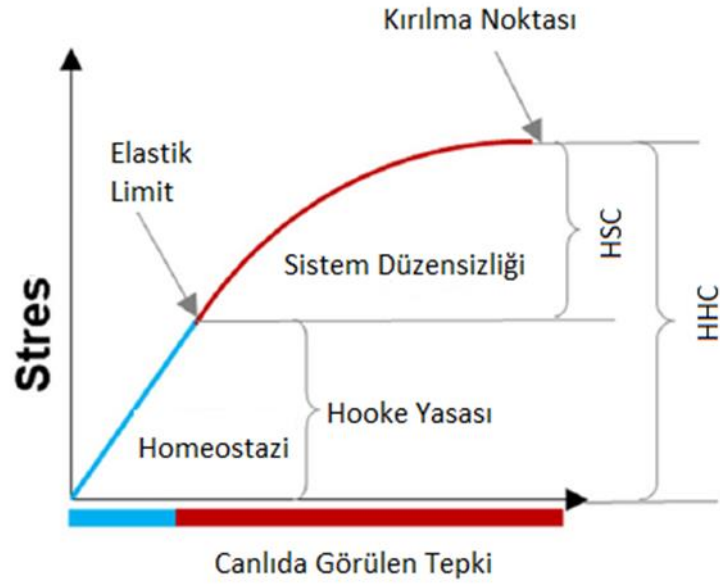
Dünya üzerinde canlılar, stratosfer tabakası sayesinde Güneş'ten ve uzaydan gelen radyasyona karşı önemli ölçüde korunmaktadır (Mars, 2021). Stratosfer, Güneş rüzgarının dünyanın manyetik alanıyla etkileşimi sonucu oluşur (SWPC, 2021). Stratosfere rağmen Dünya'ya ulaşan radyasyon türlerinden bir tanesi ultraviyole (UV) radyasyondur. UV radyasyon, UV-C (100–280 nm), UV-B (280–315 nm) ve UV-A (315–400 nm) olmak üzere dalga boylarına göre üç farklı şekilde sınıflandırılır. UV-A radyasyonu stratosfer tabakasını geçerek yeryüzüne ulaşırken, UV-C stratosferik oksijen/ozon tarafından tamamen filtrelenmektedir. UV-B ise ozon tabakasının yoğunluğuna bağlı olarak kısmen yeryüzüne ulaşmaktadır. 2000'li yıllara doğru sera gazlarının atmosferik konsantrasyonlarında meydana gelen artış, küresel yüzey sıcaklıklarının yükselmesinde rol oynamıştır (Karl ve Trenberth, 2003). Günümüzde küresel ısınmanın bir sonucu olarak, ozon tabakasında meydana gelen incelme ile dünya yüzeyine ulaşan UV-B radyasyon miktarında artış görülmektedir ve bu durum canlılar üzerinde zararlı etkiler göstermektedir (Sharma ve diğ., 2017). İnsanlar üzerinde cilt kanseri, Güneş yanıkları ve göz hasarları bu zararlı etkiler arasında sayılabilir (UK AIR, 2022). UV-B radyasyon insanlarla birlikte, yeryüzündeki diğer tüm canlıları etkilemektedir. Montreal protokolüne göre ozon tabakasının yenilenmesi 2070 yılına kadar beklenmemektedir (Caldwell ve diğ., 2007). 1980'den itibaren yerküreye ulaşan UV-B radyasyon miktarında %4 ile %16 aralığında bir artış görülmektedir (Forster ve diğ., 2011). 2020 yılından sonra yayınlanan çalışmalarda, önerilen şekilde Montreal protokolünün uygulanması ile ozon tabakasındaki incelme hızının azaltılabileceği ortaya konmuş olsa da (Madronich ve diğ., 2021), UV radyasyonundaki öngörülen değişikliklerin stratosferik ozonda incelme dışında, bulut hareketlilikleri gibi, iklimsel faktörlerden kaynaklanması da muhtemeldir (Bais ve diğ., 2015). Bu nedenle abiyotik stres faktörü olarak UV-B radyasyonun bitkiler üzerindeki etkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

2.3. BİTKİLERDE STRES

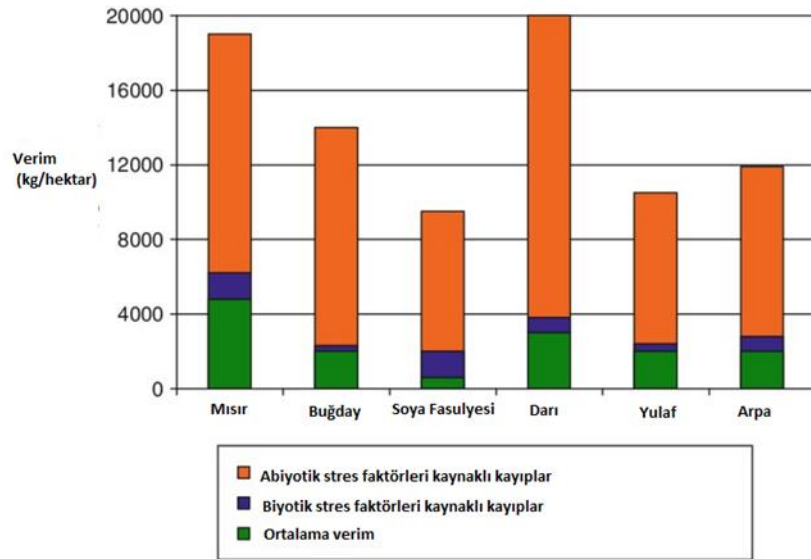
Tüm canlılar, yaşamını devam ettirmek ve üremek için sürdürülebilir bir şekilde, farklı organizasyon seviyelerinde (tek bir hücreden organizmalar arası etkileşim seviyesine kadar) kontrol sağlamak ve optimum yaşamsal değerlerini korumak zorundadır. Homeostazi, yani iç denge, adı verilen sistemin doğru işlemesi ile bu mümkündür. Canlılarda çevresel sıcaklığa karşı verilen tepki ve sıcaklık kontrolü, omurgalılarda kan basıncının dengelenmesi için geliştirilen mekanizmalar ve aynı zamanda kanda glikoz değerinin ayarlanması bu sistemlere örnek olarak verilebilir. Biyolojik sistemler üzerinde homeostaziye bozacak içsel ve/veya çevresel kaynaklı etkenlere stres faktörleri adı verilmektedir (Del Giudice ve diğ., 2018).

Canlılar stres koşullarına uyum sağlamak için çeşitli adaptasyonlar geçirecek yönde doğal seçim yolu ile evrimleşmektedirler. Yapılan araştırmalar, Hooke yasasının stres ve canlılar arasındaki ilişkiyi anlamlandırmakta kullanılabileceğini göstermektedir. Hooke yasasına göre, strese neden olan etkenin şiddeti ile stres sonucu meydana gelecek tepki doğru orantılı olacaktır. Canlılarda ise bu durum stresin elastik limitine ve kırılma noktasına göre değişkenlik göstermektedir. Stresin etkileri ile canlının tepkisinin doğru orantılı olduğu evre Hooke yasasına uyarken, stresin etkilerinin daha hızlı görülmeye başladığı noktaya elastik limit adı verilir. Elastik limiti aştıktan sonra kırılma noktası, yani canlının ölümüne kadar olan süreçte stresin etkileri hızla artış gösterecektir (Kültz, 2020). Bu ilişkiyi temsili olarak gösteren görsel Şekil 2.3 ile verilmiştir.

Genel olarak bitkilerin maruz kaldıkları stresler biyotik ve abiyotik olarak ikiye ayrılır (Qin ve diğ., 2011). Biyotik stresler biyolojik kökenliken, abiyotik stresler biyolojik olmayan kaynaklardan köken alır. Virüsler, bakteriler, mantarlar, nematodlar, böcekler ve zararlı diğer bitki türleri biyotik stres kaynakları arasında sayılabilir. Abiyotik stres ise tuzluluk, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, ağır metal kirliliği, radyasyon, kuraklık, kimyasal ajanlar ve yetersiz oksijen gibi etkenlerden kaynaklanır. Özellikle küresel ısınma ve beraberinde getirdiği iklim değişikliğinin tarım arazileri üzerindeki etkisi abiyotik strese sebep olmaktadır. Aynı zamanda sanayi devrimi ve sonrasında artan kirlilik, ağır metal birikimi, zararlı kimyasal ajanlar gibi etkenler abiyotik strese yol açmaktadır. Tarım arazilerinde stres kökenli olarak ciddi mahsul kayıpları olmakta (Şekil 2.4) ve hem bitkilerin kendi içerisinde geliştirdiği mekanizmaların anlaşılması hem de dışarıdan müdahale ile bu stresler karşısında etkili cevabın oluşturulması yönünde dünya genelinde çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Pereira, 2016).



Şekil 2.3: Stresin etkilerinin Hooke Yasasına göre açıklanması (HSC: Hüresel Stres Cevabı, HHC: Hüresel Homeostazi Cevabı) (Kültz, 2020).



Şekil 2.4: Farklı bitki türleri üzerinde abiyotik ve biyotik stres kaynaklı kayıpların miktarı (Bayer CropScience Editorial, 2008).

2.3.1. Bitkilerde Stres Yanıtları

Bitkiler biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı çeşitli stres yanıtları oluşturarak bu faktörlerin sebep olduğu zararlı etkileri en aza indirmeye ve adaptasyon sağlamaya çalışırlar. Bitkilerde meydana gelen stres cevabının anlaşılması absisik asit reseptörlerinin keşfedilmesi, stres cevabıyla ilişkili genlerin transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası düzenlenmelerinin ve hormon ilişkili stres cevabının incelenmesi ile mümkün olmuştur. Bitkilerde stres cevabı; belirli genler, kodlama yapmayan RNA'lar ve bunlarla ilişkili sinyal yolları tarafından kontrol edilmektedir. Çeşitli sinyal mekanizmaları ile stres altında uyarılan bitkiler, nükleus proteinlerinin translasyon sonrası modifikasyonundan, kodlamayan RNA moleküllerinin etki etmesine kadar farklı yollar ile strese karşı çeşitli yanıtlar oluştururlar. Bu yanıtlar genellikle farklı yollar üzerinden oluşsalar bile dolaylı olarak ilişkilidirler. Örneğin sinyal yolları stresle ilişkili transkripsiyon faktörlerini uyarırken, bu transkripsiyon faktörleri de stres direncinde rol alan genleri aktive eder veya anlatımını artırır (Shanker ve Venkateswarlu, 2011).

Stres cevabının oluşmasında ilk basamak, stres sinyallerinin hücre zarında yer alan reseptör moleküller yardımıyla tanınmasıdır. Bu reseptör moleküllere; OSCA1 (Azaltılmış Hiperosmolaliteye Bağlı Kalsiyum Artışı 1), COLD1 (Soğutma-Tolerans Uyuşmazlığı 1), MSL'ler (MscS Benzeri Proteinler), GLR (Glutamat Benzeri Reseptör) kanalları, histidin kinazlar, GPCR'ler (G-Protein Bağlı Reseptörler) ve kalsiyum kanalları örnek olarak verilebilir (Yeşildirek, 2021). Stres sinyal yolları çeşitli iyon kanallarını aktive eder; reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açar; salisilik asit, etilen, jasmonik asit ve absisik asit gibi hormonların birikimini sağlar. Kalsiyum iyonu ve reaktif oksijen türlerinin stres faktörlerine karşı verilen yanıta ikincil mesajcı olarak görev yaptıkları ortaya konmuştur. Stres altında artan kalsiyum miktarı, kalsiyum ile ilişkili proteinler aracılığıyla çeşitli stres cevabı mekanizmalarını aktive eder. Bu proteinlere örnek olarak; kalsiyum bağımlı protein kinazlar (CDPK'lar), kalsinörin B-tipi proteinler (CBL'ler) ve kalmodulin proteinleri verilebilir (Fraire-Velázquez ve diğ., 2011). Reaktif oksijen türlerinin üretimi ise kalsiyum bağımlı fosforilleme mekanizmaları ile ilişkili olarak çalışmaktadır (Ogasawara ve diğ., 2008). Ayrıca, bitkiler biyotik streslere karşı patojen-ilişkili moleküler örüntüler (PAMPs, "Pathogen-associated Molecular Patterns") gibi çeşitli yollar üzerinden savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu gibi sinyal yolları bitkilerde savunmada faydalı proteinlerin sentezini uyarmaktadır.

Ökaryotlarda CDPK'lar, CIPK (CBL ile etkileşen protein kinaz) ve mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK) biyotik ve abiyotik stres cevabında aktive olan sinyal yolağı proteinleridir. MAPK'lar Ser/Thr protein kinaz ailesi üyesidir. Hem CDPK'lar hem MAPK'lar hücre dışı sinyallere ve gen anlatımı, mitoz, farklılaşma, hücre ölümü gibi hücreysel aktivitelere yanıt oluşturmakta görevlidirler. Çeşitli tipleri bulunan ve farklı metabolik yollarda görev yapan MAPK genleri, ökaryotik canlılarda evrimsel olarak korunmuş durumdadır (Güney, 2021). Farklı protein kinazlar ve protein fosfatazlar biyotik ve abiyotik stres yanıtının oluşması için fosforilleme ve defosforilleme mekanizmalarını tetikleyerek çalışmaktadır.

Bitkilerde stres cevabında etkili olan diğer bir faktör de fitohormonlardır (Qin ve diğ., 2011). Fitohormonlar reseptörler tarafından algılanan stres sinyallerini, kalsiyum iyonu ve reaktif oksijen türlerinin yaptığı gibi protein kinazlara ve protein fosfatazlara aktararak sinyal iletimini sağlar. Fitohormonlar gen anlatım motiflerini doğrudan etkileyebileceği gibi genomik kökenli olmayan stres cevaplarına da yol açabilir. Genel olarak etilen, jasmonik asit ve salisilik asit biyotik stres cevabında rol alırken, absisik asit (ABA) abiyotik stres cevabında oldukça etkin bir fitohormondur (Fraire-Velázquez ve diğ., 2011). ABA, bekçi hücrelere olan iyon akışını kontrol ederek stomanın açılıp kapanmasına müdahale eder. Ayrıca ABA çeşitli gen anlatım modifikasyonları ile abiyotik strese karşı verilen cevapta etkili olmaktadır (Leung ve Giraudat, 1998). ABA ve abiyotik stres cevabı ilişkisini moleküler düzeyde inceleyen çalışmalar mevcuttur (Park ve diğ., 2009; Ma ve diğ., 2009).

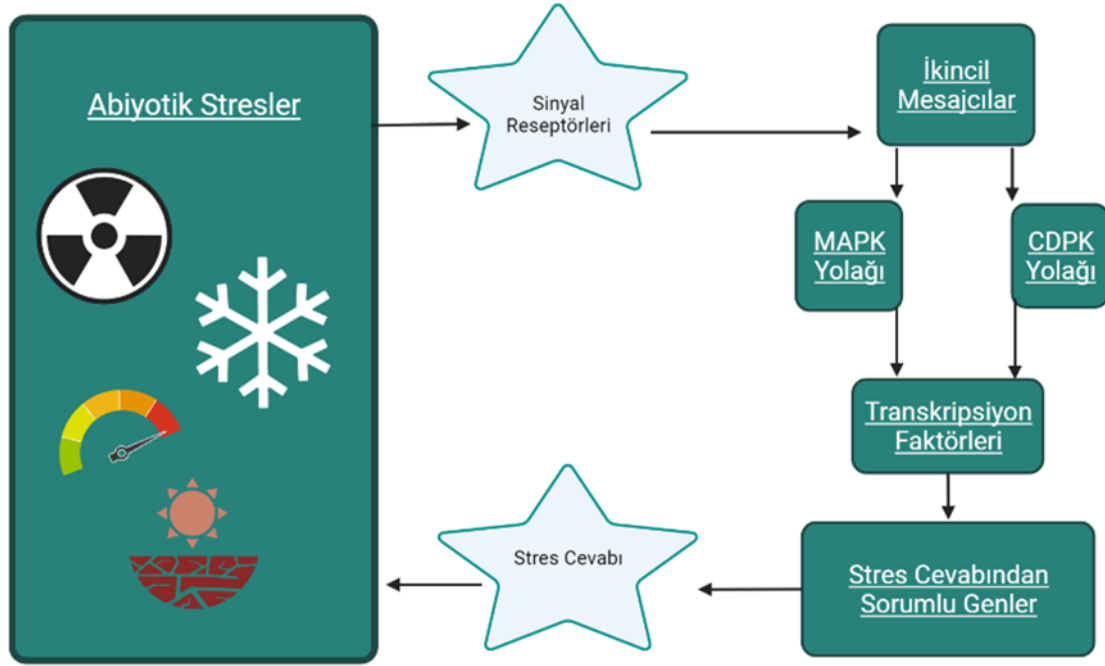
Ayrıca, yapılan çalışmalara göre bitkilerde mitokondrinin biyotik stres cevabında aktif rol oynadığı ortaya konmuştur. Bu cevabın oluşmasında özellikle mitokondri kökenli reaktif oksijen türleri nedeniyle mitokondri organelinin işlev dışı kalması ve bu sayede programlanmış hücre ölümünün gerçekleşmesi gibi hücreysel savunma sinyal yollarının uyarılması görev almaktadır (Amirsadeghi ve diğ., 2007).

Bitkilerde çeşitli biyotik ve abiyotik stres türlerine karşı verilen cevapta etkinlik gösteren bir diğer etken de 14-3-3 gen ailesi üyeleri *GF14b* ve *GF14c*'dir. Bu genler çeşitli transkripsiyon faktörleri ile kontrol edilir (Chen ve diğ., 2006). 14-3-3 proteinleri fosforile olmuş proteinlere bağlanıp aktivitelerini kontrol ederek stres cevabının oluşmasında görev alır (Zhao ve diğ., 2021). 14-3-3 protein ailesi üyeleriyle cis aktivasyonunda rol oynamaları sebebiyle benzer özellik gösteren cytochrome *P450* genleri de bitkilerde biyotik ve abiyotik stres cevabının oluşmasında etkilidir. Ayrıca bu genlerin, ultraviyole radyasyon stres cevabının oluşmasında

da görev aldığı bilinmektedir (Narusaka ve diğ., 2004). Çoklu stres cevabında etkili bir diğer gen olan *chalcone synthase* (*CHS*) flavonoid biyosentez yolağının ilk adımını katalizlemektedir. *CHS* geni hakkında detaylı açıklama kısım 2.6.2.2. içerisinde verilmiştir.

Bitkilerde abiyotik stres direncinde transkripsiyon faktörleri de büyük rol oynamaktadır. Örneğin, *A. thaliana*'da, CBF/DREB1 ("C-repeat-binding factor/dehydration responsive element-binding protein 1") transkripsiyonel aktivatörleri, cis elementlerine bağlanarak stresle ilişkili gen ifadesini kontrol etmektedir ve özellikle bitkilerde düşük sıcaklık stresine karşı etkinlik gösterdikleri tespit edilmiştir (Qin ve diğ., 2011). Transkripsiyon faktörleri (TF) genlerin yukarı okuma bölgesinde bulunan promotor üzerinde mevcut cis-elementleri ile etkileşime girerek bu genlerin anlatımlarını düzenleyen proteinlerdir (Marand ve Schmitz, 2022). Stres cevabında özel olarak görev alan transkripsiyon faktörlerine, AtMYC2 [basit helix-loop-helix (bHLH) domaini içeren transkripsiyon faktörü], ATAF1 ve 2 (*Arabidopsis* transkripsiyon aktivatör faktör 1 ve 2), RD26 (dehidrasyon 26), OsNAC6 (pirinç NAC6), OsMPK5 (pirinç MPK5) ve WRKY örnek olarak verilebilir (Fraire-Velázquez ve diğ., 2011). WRKY bitkilerde stres cevabı oluşturan savunma genlerinin promotor bölgesinde bulunan TTGAC(C/T) W-kutusu elementlerini tanıyarak DNA yapısına bağlanan bir grup proteindir (Dong ve diğ., 2003). WRKY grubu proteinlerin hem biyotik hem abiyotik stres cevabında rol oynadığı bilinmektedir. Örneğin pirinç WRKY45 (OsWRKY45) hem su kıtlığı hem de patojen istilasına karşı etkinlik göstermektedir (Qui ve Yu, 2009). Ayrıca WRKY36 transkripsiyon faktörünün özellikle UV-B stres cevabında görülen fotomorfojenik sinyal yollarında görev aldığı bilinmektedir (Tossi ve diğ., 2019).

Transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası düzenlemelerde büyük rolü olan kodlanmayan RNA (ncRNA, "non-coding RNA") moleküllerinin bitkilerde stres cevabının oluşmasında da etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, çeşitli miRNA türlerinin besin kıtlığı ve sıcaklık stres yanıtı yollarında görev aldığı ortaya konmuştur (Wang ve diğ., 2017). Yine son yıllarda üzerinde sıklıkla çalışılan miRNA ve bitki stres ilişkisi konusunun araştırıldığı bir tez çalışmasında, çeşitli miRNA'ların *Arabidopsis thaliana* yabancıl tip Col-0 bitki kallusunda azot açlığı ve kuraklık stresleri altında anlatımlarının değişimi incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda stres uygulama süresinin stres yanıtı oluşumunu etkilediği ve miRNA anlatımı miktarının çoklu stres koşullarında da farklı olduğu görülmüştür (Yaşar, 2021). Abiyotik stres cevabının oluşmasında görev alan temel mekanizmaların özeti Şekil 2.5 içerisinde verilmiştir.



Şekil 2.5: Abiyotik stres cevabının oluşmasındaki genel mekanizma (Wang ve diğ., 2016).

Bitkilerin kendi savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda ise dışarıdan müdahale ile strese karşı korumanın artırılması hedeflenmektedir. Ekolojik açıdan faydalı bir çözüm olan melatonin kullanımı bu duruma örnek olarak verilebilir. Melatoninin bitki zararlısı virüsler, bakteriler ve mantarlar üzerinde etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Moustafa-Farag ve diğ., 2019). Ayrıca ilerleyen bölümlerde detaylıca değinilecek olan silikon molekülünün de stres cevabı üzerindeki etkisi ortaya konmuştur. Örneğin, silikon bitki hastalıklarına ve pestisitlere karşı kütikula tabakasının altında fiziksel bir bariyer oluşturur (Bakhat ve diğ., 2018).

2.3.1.1. Bitkilerde UV-B Radyasyon Stresi ve Stres Yanıtları

UV-B radyasyonun bitkiler üzerindeki etkileri sonucu bitkilerde çeşitli stres cevapları meydana gelir. Bitkiler fotosentetik olarak aktif radyasyonu (PAR, “Photosynthetically active radiation”) absorbe ederken aynı zamanda UV-B radyasyonuna karşı da kendilerini savunmak zorundadırlar (Jordan, 2002). UV-B stresi karşısında verilen yanıtlar UV-B kökenli DNA hasarının tamiri ve UV-B kökenli oksidatif stres yanıtı oluşması gibi farklı mekanizmalar içermektedir.

Bitkilerde UV-B hasarına karşı koruyucu mekanizmalardan bir tanesi UV-absorbe edici fenolik bileşiklerin epidermal doku altında birikmesidir (Bornman ve diğ., 1998). Ayrıca kütikula tabakasını kaplayan mumsu yapı ve tüylenme gibi ekstra koruyucu mekanizmalar ve hücrel antioksidan sistemlerinden de söz edilebilir (Steinmüller ve Tevini, 1985; Liakopoulos ve diğ., 2006).

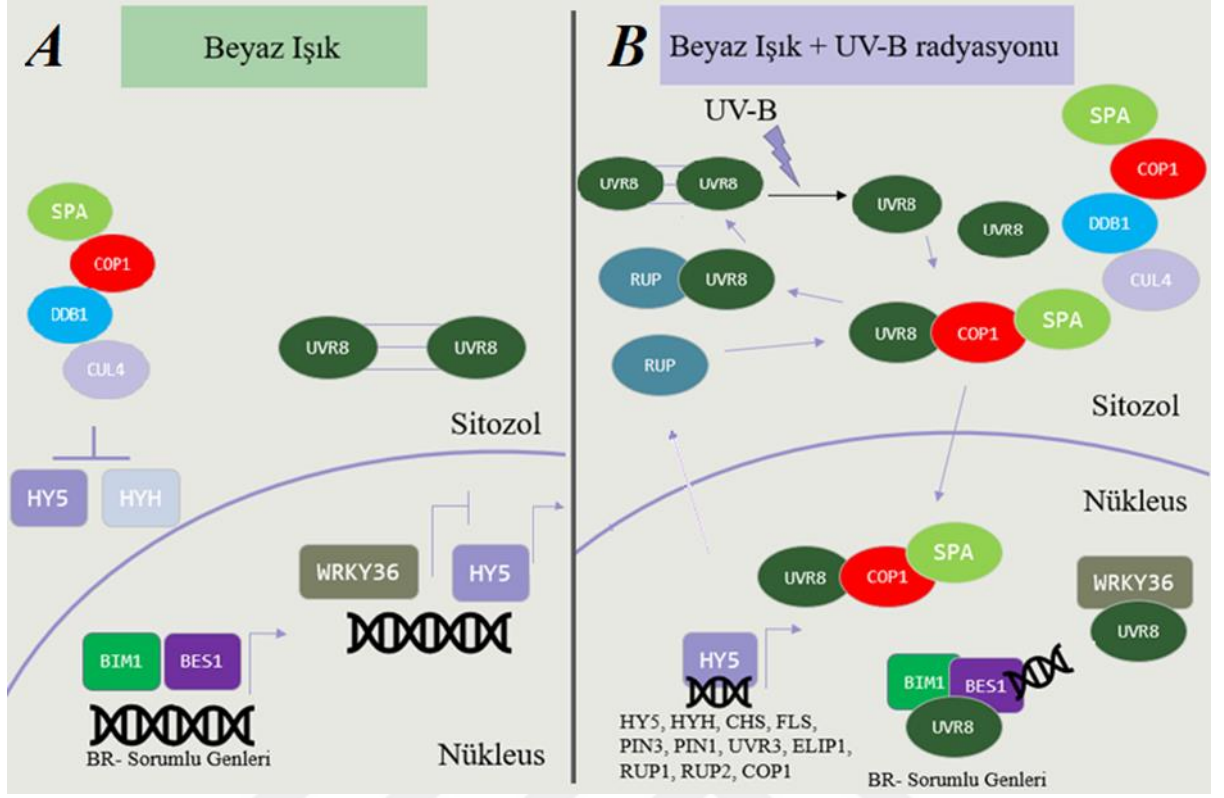
UV-B radyasyonuna karşı stres yanıtının meydana gelmesi için öncelikle radyasyonun bitkilerde bulunan UV-B reseptörleri ile algılanması gerekmektedir. Burada *UV Resistance Locus 8 (UVR8)* gen ürünü olan UVR8'in UV-B hassasiyeti yüksek mutant bitkilerde yapılan çalışmalar ile tanımlanmasından (Kliebenstein ve diğ., 2002) bu yana, bu genin tek başına UV-B ile ilişkili yüzlerce geni kontrol ettiği ortaya konmuştur (Brown ve diğ., 2005). *UVR8* geni ve UV-B fotoreseptörü UVR8 proteini hakkında detaylı bilgi kısım 2.6.2.5 içerisinde verilmiştir.

UV-B stres sinyallerinin UVR8 fotoreseptörü tarafından algılanmasının ardından devreye sinyal yolları girmektedir. DNA hasar tamiri, reaktif oksijen türlerinin oluşması, yaralanma/savunma sinyal moleküllerinin oluşması gibi UV-B spesifik olmayan sinyal yollarının yanı sıra; UV-B'ye spesifik olarak fotomorfojenik yanıt oluşturan sinyal yolları da mevcuttur. Fotomorfojenik yanıtta görev alan *UVR8* ve "Constitutive Photomorphogenic 1" (COP1), UV-B ile indüklenen basit lösin-fermuar transkripsiyon faktörü Constitutive Elongated Hypocotyl 5 (HY5) ekspresyonunu sağlayarak UV-B stres cevabında rolü olan diğer genlerin regülasyonunu kontrol etmektedir (Jenkins, 2009). Bitkilerde DNA hasarının tamiri ise diğer organizmalara benzer şekilde DNA fotolizazlar aracılığıyla olur (Sancar, 2004). Yüksek dozda ve kısa dalga boyundaki UV-B uygulaması genel stres yanıtını uyarırken, düşük dozda ve uzun dalga boylarındaki UV-B, UV hasar tamir mekanizmalarında görev yapan spesifik genleri uyarmaktadır (Jenkins, 2014).

Fotomorfojenik yanıtın oluşmasında, UV-B reseptörü UVR8, UV-B varlığında kuarterner protein yapısını homodimerden aktif monomer haline geçerek değiştirir. UV-B etkeni yokluğunda halka şeklindeki protein yapı homodimer halindedir. UVR8, UV-B radyasyonla indüklenip monomer haline geldiğinde sitoplazmadan nükleus içerisine geçtikten sonra COP1 proteini ile etkileşime girerek fotomorfojenik sinyal yolağını çalıştırır (Gardner ve Correa, 2012). Ortamda UV-B radyasyonu olmadığı durumda, E3 ubiquitin ligaz kompleksinin bir parçası olan COP1, Suppressor of PHYA (SPA1) ile etkileşime geçerek HY5 ve HY5 Homolog

(HYH) transkripsiyon faktörlerini poli-ubikütine eder (Huang ve diğ., 2014; Lau ve Deng, 2012). UV-B radyasyon varlığında UVR8 monomeri COP1-SPA yapısını E3 ubikütin ligaz kompleksinden ayırır ve poli-ubikütine olmayan HY5 ve HYH transkripsiyon faktörlerinin miktarında artış meydana gelir (Tossi ve diğ., 2019). HY5 pozitif geri bildirim mekanizması ile kendisinin ve diğer UV-B cevabı genlerinin anlatımını artırır (Binkert ve diğ., 2014). HY5 tarafından indüklenen bir gen, UVR8'in yeniden dimerleşmesini sağlayan "Repressor of UV-B Photomorphogenesis" (RUP) proteinlerini kodlamaktadır. Bu şekilde negatif geri bildirim mekanizması ile UV-B cevabında rol alan bazı proteinlere Salt Tolerance/BBX24 (STO/BBX24), Radical-Induced Cell Death 1 (RCD1) DWD Hypersensitive To UV-B 1 (DHU1) örnek verilebilir. Ayrıca UVR8 monomerlerinin WRKY DNA-Binding Protein 36 (WRKY36), BRI1-Emsuppressor 1 (BES1) ve BES1-InteractingMyc-Like 1 (BIM1) transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girdiği bilinmektedir. Serbest WRKY36, HY5 promotoruna bağlanarak onun transkripsiyonunu baskılar. BES1 ve BIM1, Brassinosteroid (BR) sinyal yolağının bir parçasıdır. BES1, BIM1 ile etkileşir ve DNA'ya bağlanarak BR'den sorumlu genleri indükler (Tossi ve diğ., 2019). Fotomorfojenik sinyal yolağının temsili görseli Şekil 2.6'da verilmiştir.

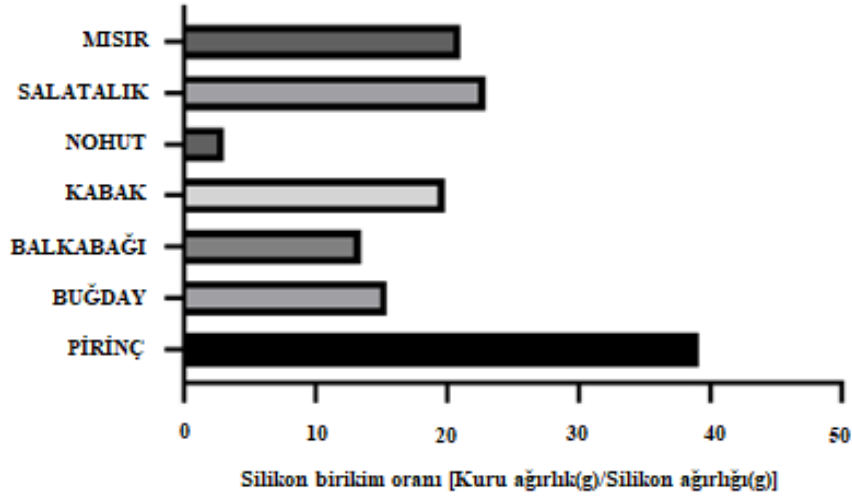
Son olarak, bitkilerde UV-B cevabı ile oluşan morfolojik değişiklikler; kalınlaşan yapraklar, kısalan petiol, kısalan kökler, artan yanıl dallanma ve kök/gövde oranındaki değişiklikler şeklinde özetlenebilir. Elbette bitki morfolojisine yansıyan bu değişikliklerin kökeninde moleküler ve hücreyel olaylar yatmaktadır ve yukarıda anlatılan UV-B stres cevabı sinyal yolları bu tepkilerin oluşmasında büyük rol oynar (Robson, 2015).



Şekil 2.6: Sol tarafta (A) beyaz ışık varlığında UVR8 temelli fotomorfojenik yanıtın oluşmasında görev alan mekanizmalar görülmektedir. Beyaz ışık varlığında UVR8 homodimer halinde bulunmaktadır. SPA, COP1, DDB1 ve CUL4 kompleks halinde (E3 ubiquitin ligaz kompleksi) bulunur ve HY5 ve HYH deaktivasyonunu kontrol eder. Nükleus içerisinde BIM1, BES1, WRKY36 ve HY5 varlığını sürdürmektedir. WRKY36, HY5 transkripsiyonunu inhibe etmektedir. BIM1 ve BES1 BR sinyal yolağından sorumlu genleri aktive etmektedirler. Sağ tarafta (B) ise beyaz ışık ve UV-B radyasyonu varlığında UVR8 temelli fotomorfojenik yanıtın oluşmasında görev alan mekanizmalar görülmektedir. UV-B ile aktifleşen UVR8 homodimeri aktif monomer haline geçerek COP1 ve SPA moleküllerini E3 ubiquitin ligaz kompleksinden ayırarak kendisine bağlar ve ardından nükleusa giriş yapar. Monomer UVR8, WRKY36'ya bağlanarak, HY5'in aktifleşmesini sağlar. Ayrıca monomer UVR8, BIM1 ve BES1 moleküllerine bağlanarak onların BR sinyal yolağında, BR sorumlu genleri aktive etmelerinin önüne geçer (Tossi ve diğ., 2019).

2.4. SİLİKON VE BİTKİLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Silikon yer kabuğunda en bol bulunan ikinci elementtir. Silikon bol bulunmasına karşın, oksijenle olan güçlü afinitesi nedeniyle çözünübilirliği oldukça düşüktür. Dolayısıyla silikon, silika veya silikat formunda ve çeşitli metallerle birlikte bulunur. Toprakta ortalama olarak 0.1 ile 0.6 mM/L arası silikon bulunur (Sommer ve diğ., 2006). pH 8.0 ve altında silikon silisik asit (H_4SiO_4) formundadır. Daha yüksek pH'larda negatif yüklü silikatlar şeklinde bulunur (Snyder ve diğ., 2016).

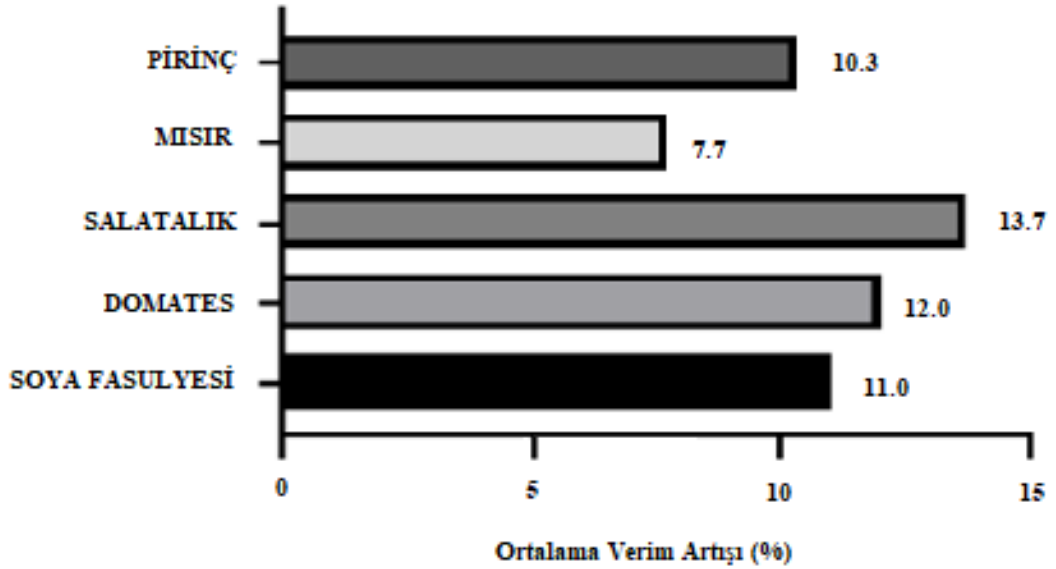


Şekil 2.7: Farklı bitki türlerinde ölçülen silikon birikim oranları (Snyder ve diğ., 2016).

Farklı bitki türlerinde değişen miktarlarda silikon birikimi görülmektedir (Şekil 2.7). Bu durumun sebebi, bitki köklerinin silikon alım mekanizmalarındaki birtakım farklılıklar olarak gösterilmektedir (Ma ve Yamaji, 2006). Bitkiler silikonu ortosilisik asit formunda biriktirmektedirler (Raven ve diğ., 2001). Silikonun köklerden alımından *Lsi1* geni sorumluyken, simplasttan apoplasta silikon salınımından *Lsi2* sorumludur. Ayrıca silikonun ksilem üzerinde taşınmasının *Lsi6* ile kontrol edildiği bilinmektedir (Liang ve diğ., 2015a). *A. thaliana* düşük silikon biriktiricisi olarak bilinmektedir ve *Lsi1* ya da *Lsi2* homologları henüz *A. thaliana* genomunda keşfedilmemiştir (Deshmukh ve diğ., 2013). *Lsi1* geni ilk olarak pirinç bitkisinde tanımlanmıştır (Ma ve diğ., 2002). *Lsi1* geninin “aquaporin” benzeri bir membran proteinini kodladığı düşünülmektedir. Çünkü bu protein, aquaporinlerde korunmuş olan transmembran domainleri ve 2 adet Asn-Pro-Ala motifi içermektedir (Ma ve Yamaji, 2006). Yüksüz silisik asit moleküllerinin taşınmasında görev alan *Lsi1*, NIP III (nodulin 26-benzeri intrinsik proteinler) grubuna aittir (Mitani-Ueno ve diğ., 2011).

Lsi1'in keşfedilmesinden bir yıl kadar sonra yine mutagenез yöntemi kullanılarak keşfedilen *Lsi2*'nin de tanımlanmasıyla birlikte bitkilerde köklerden silikon alım moleküler mekanizmaları büyük ölçüde aydınlatılmıştır (Ma ve diğ., 2007). Örneğin pirinç bitkisinde monosilisik asit formunda bulunan silikon, ekzodermin merkezden uzak kısmında yer alan *Lsi1* üzerinden alınır ve hücrelerin proksimal kısmında yer alan *Lsi2* aracılığıyla aerenkimaya pompalanır. Burada silisik asit aerenkimayı apoplast üzerinden geçer. Endodermiste apoplastik yolak Kaspari şeridi tarafından engellenir ve simplastik yolak kullanılır. Köklerden ksileme aktarılan silikon, *Lsi6* aracılığıyla bitkinin farklı dokularına dağıtılır (Mandlik ve diğ., 2020). Ayrıca pirinçte sonraları keşfedilen *Lsi2* homologu *Lsi3* de silikon taşınmasında görev almaktadır (Yamaji ve diğ., 2015).

Silikonun bitki büyümesini ve verimliliğini arttırdığına dair birçok çalışma mevcuttur (Guntzer ve diğ., 2012; Liang ve diğ., 2015e). Özellikle yüksek silikon biriktiricisi olarak bilinen pirinç, buğday, mısır, arpa, şeker kamışı ve soya fasulyesi gibi türlerde silikonun verim artışına dair detaylı morfolojik ve fizyolojik çalışmalar mevcut olmasına karşın bu durumun altında yatan moleküler mekanizma bilinmemektedir. Bu grup bitkilerde silikon ile gübrelemenin verim artışına olan etkisi Şekil 2.8 içerisinde verilmiştir.



Şekil 2.8: Tarımsal öneme sahip bazı bitkilerde silikon ile gübrelemenin verimlilik artışındaki etkisi (Liang ve diğ., 2015b).

Silikon bitkilerde sıklıkla stres yanıtı mekanizmalarıyla ilişkilendirilir (Ma, 2004). Bitkilerde görülen farklı türde patojen kaynaklı hastalıklarla, yani biyotik stresler ile baş etme konusunda etkili olduğu da ortaya konmuştur (Liang ve diğ., 2015c). Aynı zamanda silikonun farklı abiyotik stres türleri karşısında bitkilerin geliştirdiği savunma mekanizmalarında etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, bir abiyotik stres türü olan tuzluluk stresi karşısında silikonun etkileri incelendiğinde, silikonun stres cevabını iyileştirici etkisi olduğu görülmüştür. Burada SiO₂ fitoliti olarak apoplastta depolanan silikon su kaybını önlemede görev alırken, simplastta çözünür halde bulunan silikon stres cevabıyla ilişkili genlerin anlatımlarını kontrol ederek tuzluluk stresine karşı etkili olmaktadır (Liang ve diğ., 2015d). Yine silikon; manganez, demir, alüminyum, kadmiyum, bakır, çinko ve arsenik gibi farklı metaller karşısında gelişen metal toksisitesi stres cevabında rol oynamaktadır. Ayrıca, kuraklık ve düşük sıcaklık, boron toksisitesi, mineral eksikliği ve UV radyasyon gibi abiyotik stres türlerine karşı da etkinliği gösterilmiştir (Liang ve diğ., 2015e).

2.4.1. Silikonun Bitkilerde Radyasyon Stresi ile İlişkisi

Pek çok çalışmada, bitkiler üzerinde zararlı etkileri bulunan UV-B stresi ile silikon uygulaması kullanılarak mücadele edilebileceği vurgulanmaktadır (Fang ve diğ., 2006; Tripathi ve diğ., 2017a; Pei ve diğ., 2010). Goto ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı çalışmaya göre silikon ile gübreleme, pirinç bitkisinde antioksidan biyosentezini azaltmaktadır (Goto ve diğ., 2003). Ayrıca, silikonun soya fasulyesinde klorofil miktarını ve fotosentezi arttırarak UV-B radyasyon yanıtında rol oynadığı gösterilmiştir (Shen ve diğ., 2014). Buğday (*Triticum aestivum* L. cv Hengmai5229) bitkisinde de silikon uygulamasının toplam biyokütle ve total klorofil miktarlarında artış sağlayarak, malondialdehit (MDA) üretimini azalttığı ve böylece UV-B cevabında pozitif rol oynadığı ortaya konmuştur (Yao ve diğ., 2011). Silikonun bitkilerde UV-B stres cevabında etkili olduğunu gösteren benzer çalışmalar mevcuttur (Fang ve diğ., 2006; Pei ve diğ., 2010; Balakhnina ve Borkowska, 2013; Malcovska ve diğ., 2014; Chen ve diğ., 2016). Buna rağmen, silikonun bu etkilerinin genetik ve epigenetik mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir.

2.5. FİZYOLOJİK ANALİZLER

Bitki fizyolojisi, bitkilerde organların işlevlerini ve metabolik faaliyetleri fizyolojik açıdan inceleyen bir bilim dalıdır. Bitkilerin stres faktörlerine karşı verdikleri fizyolojik yanıtlar, stresin etkilerinin anlamlandırılması için sıklıkla araştırılmaktadır. Gerçekleştirilen tez kapsamında; klorofil miktarı, ozmolit birikimi ve hücre zarı iyon sızıntısı analizleri gerçekleştirilmiştir.

2.5.1. Klorofil Miktarı Analizi

Klorofil, stres faktörlerinin varlığında feofitin molekülüne parçalanmaktadır (Boonpragob, 2002). Ayrıca farklı bitki türlerinin büyüme oranı ile total klorofil miktarları arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (Brougham ve diğ., 1960; Hawkins, 1982; Eagles ve Wilson, 2018). Klorofil miktar analizi bu nedenle bitkilerin stres faktörleri karşısında fizyolojik olarak ne ölçüde etkilendiğini ve büyüme verimliliğini kantitatif olarak ortaya koyan bir yöntemdir. Klorofil, siyanobakterilerin mezozomlarında ve bitkilerle alglerin kloroplastlarında bulunan ve bu canlıların fotosentez yapmasına olanak tanıyan yeşil pigmenttir (May, 2021). Yeşil bitkilerin fotosisteminde klorofil a ve b mevcuttur (Speer, 1997). Kırmızı ve uzak kırmızı ışık spektrumu bölgelerinde ışığın absorbansı spektrofotometre ile ölçülerek bitki dokusunda klorofil miktarı tayin edilebilir (Cate ve Perkins, 2003). Ayrıca yüksek basınçlı sıvı kromatografi yöntemi (HPLC, “High Pressured Liquid Chromatography”) kullanılarak da total klorofil analiz edilir (Federation ve Aph Association, 2005). Klorofil miktar analizi coğrafi bilimlerde bölgesel bitki ekolojisi hakkındaki değişimlerinin incelenmesi, su bilimlerinde su kaynaklarındaki canlılık oranının tayini ve moleküler biyolojide canlıların stres faktörleri karşısında verdiği stres cevabının sayısal olarak anlamlandırılması gibi çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Gerçekleştirilen tez çalışmasında da klorofil miktar analizi UV-B uygulamasında optimizasyon aşamasında, stres hasarının derecesinin belirlenmesi için kullanılmıştır.

2.5.2. Ozmolit Birikimi Analizi

Ozmolitler, canlılarda hücre içi ozmotik basıncı dengelemek için aktif olarak görev yapan organik moleküllerdir (Yancey, 2005). Yüksüz ve polar yapıda organik bileşikler olan ozmolitler, farklı bitki türlerinde farklı miktarlarda üretilirler ve depolanırlar. Ozmolitler biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı hücre içi ozmotik koruma sağlayarak hücre bütünlüğünü desteklerler (Ahmad ve diğ., 2013). Bu nedenle bitkilerde ozmolit birikimi stres

faktörlerinden etkilenmektedir (Kosar ve diğ., 2019). Ozmolit birikiminin yüksek olarak ölçülmesi, bitkide strese karşı koruma mekanizmalarının aktif olarak işleyişte olduğunu gösterirken, düşük ozmolit birikimi stres altında bitkilerde yeterli yanıtın oluşmadığı anlamına gelebilir. Ayrıca strese maruz kalmamış bir bitkide, strese maruz kalan gruplara göre daha düşük miktarda ozmolit birikimi görülmesi de beklenmektedir (Uçarlı, 2016). Gerçekleştirilen tez çalışmasında bu nedenle ozmolit birikimi ölçülerek, *A. thaliana* bitkisinin UV-B stresi ve silikon uygulaması karşısında verdiği ozmotik yanıt araştırılmıştır.

2.5.3. Hücre Zarı İyon Sızıntısı Analizi

Biyotik ve abiyotik stresler karşısında meydana gelen hücre zar hasarı ve programlı hücre ölümleri hakkında sayısal veri, sıklıkla hücre zarı iyon sızıntısı analizi yapılarak elde edilir (Jambunathan, 2010). Bitki hücreleri stres faktörleri karşısında aldıkları hasara bağlı olarak hücre zarından iyon sızdırmaktadır. Bu nedenle hücre dışındaki iyon miktarı ve total iyon miktarı karşılaştırılarak hücre zar hasarı sayısal olarak anlamlandırılabilir (Uçarlı, 2016). Çalışma kapsamında, UV-B ve silikon uygulaması altında hücresel seviyede hasarın tespit edilmesi amacıyla hücre zarı iyon sızıntısı analizi gerçekleştirilmiştir ve böylece hücre bütünlüğü araştırılmıştır.

2.6. BİTKİLERDE GEN ANLATIM ANALİZLERİ

Gen anlatımı, DNA molekülünde mevcut olan kalıtsal bilginin transkripsiyon ile mRNA seviyesinde ifade edilmesidir (Matters ve Scandalios, 1986). Gen anlatımı belirli bir koşul ve zaman içerisinde değişkenlik gösterecek şekilde meydana gelir. Gen anlatımının analiz edilmesi organizma seviyesinde biyolojik fenomenlerin anlaşılması için gerekli altyapısal veriyi sağlamaktadır (Arıkan, 2016). Gen anlatımını etkileyen koşullar, canlının içsel koşulları ve çevresel koşullardır. Gen anlatımını belirlemek için çeşitli yöntemler mevcuttur. Örnek olarak aşağıdaki yöntemler sayılabilir:

1. Northern Melezleme ("Northern blotting")
2. Gerçek Zamanlı PZR ("Real-time PCR")
3. Gen Anlatımının Seri Analizi Yöntemi ("SAGE")
4. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ("NGS")

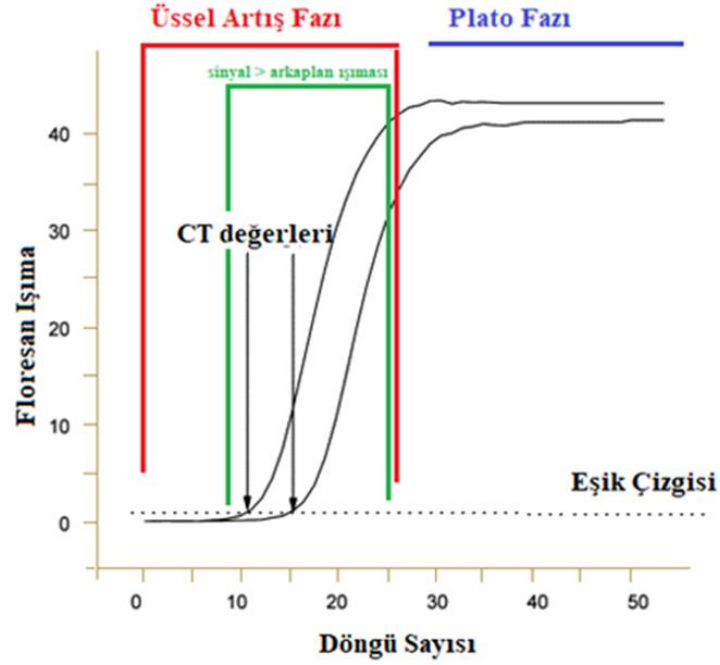
Gerçekleştirilen tez çalışmasında kullanılan yöntem, hibridizasyon problemleri veya çift zincirli DNA'ya bağlanabilen ve floresan ışımaya yapan boyalar yardımıyla başlangıçtaki DNA miktarını ölçerek gen anlatım seviyesini anlamlandıran gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemidir ve detayları kısım 2.6.1. içerisinde anlatılmıştır.

2.6.1. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR), polimeraz zincir reaksiyonu döngülerinden elde edilen floresan sinyallerinin kaydedilmesi ve bu sinyallerin gerçek zamanlı olarak sayısal değerlere çevrilmesi ile çalışmaktadır (Dorak, 2007). Kinetik tabanlı bir analiz yöntemi olan GZ-PZR ilk olarak 1992'de geliştirilmiştir (Higuchi ve diğ., 1992). GZ-PZR; gen anlatım analizleri, hastalık tanılama, mikrobiyal çalışmalar ve genotipleme gibi farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır.

GZ-PZR'nin ilk basamağı daha önceden izole edilmiş olan kalıp mRNA üzerinden komplementer DNA (cDNA) sentezlemektir. Bu işlemde Avian myeloblastosis virüsü (AMV) veya *Moloney murine leukemia* virüsünden (MMLV) elde edilen ters-transkriptaz ("reverse transcriptase") enzimleri kullanılmaktadır (Gerard ve diğ., 1997; Peters ve diğ., 2004). Elde edilen komplementer DNA kullanılarak GZ-PZR işlemi gerçekleştirilir. Klasik polimeraz zincir reaksiyonundan farklı olarak eş zamanlı şekilde döngü başına çoğalan DNA miktarını nicel olarak gözlemlene imkanı tanır. Bu işlem çift zincirli DNA üzerine bağlanarak floresan ışımaya yapan SYBR Green boyası ile veya hibridizasyon probu olan TaqMan problemleri kullanılarak gerçekleştirilir. Burada kullanılan SYBR Green daha yüksek oranda bağlanma yaparken, TaqMan ise ürüne spesifik tasarlandığı için daha hassas sonuç vermektedir. SYBR Green ile GZ-PZR çalışılırken erime eğrilerinin ("melting curve") sayısına dikkat edilmelidir. Çünkü SYBR Green spesifik bağlanma yapmamaktadır. Bu nedenle ürün dışı bir okuma yaptığında birden fazla erime eğrisi oluşmaktadır (Arıkan, 2016). SYBR Green ile okuma yaparken yaklaşık ilk 15 döngüde floresan ışımaya arka plan ışımalarının önüne geçemez. Bu eşiğin aşıldığı noktaya eşik döngüsü ("cycle threshold, Ct") denmektedir. Bu döngüden sonra hedef DNA dizisi çoğaltılmaya başlar. Eşik döngüsü değeri düşükse bu durum başlangıç DNA miktarının fazla olduğu ve hızlıca arka plan ışımalarını geçtiği anlamına gelmektedir. PZR döngüleri sırasında artan DNA miktarı ile floresan ışımaya da artacaktır. Burada PZR bileşenlerinin tükenmeye başladığı ve artan floresan ışımaya da nicel olarak değerlendirilemez hale geldiği noktaya plato fazı denmektedir (Dorak, 2007). GZ-PZR'nin işleyiş grafiği Şekil 2.9 içerisinde verilmiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında kullanım kolaylığı ve uygun maliyeti nedeniyle SYBR Green kullanılmıştır.



Şekil 2.9: GZ-PZR grafiği. CT değeri floresan ışımanın arka plan ışımasını geçmesiyle elde edilir. Floresan miktarı sabit bir değere ulaştınca plato fazına girilir (Kubista ve diğ., 2006).

2.6.2. Bitkilerde Stresle İlişkili Hedef Genler

Tez çalışması kapsamında, UV-B radyasyon ve silikon uygulaması altında gen anlatım seviyeleri incelenecek olan stres yanıtı ile ilişkili hedef genler şunlardır:

2.6.2.1. Diaçilgliserol kinaz 2 (DGK2, “Diacylglycerol kinase 2”)

Diaçilgliserol kinaz gen ailesinin bir üyesi olan DGK2 geni bitkide gelişim ve kök uzamasının kontrolünde görev alır. Bitkilerde çevresel sinyallere cevap oluşturmakla görevli fosfatidik asit (PA) sentez yollarında fosfolipaz D (PLD) aktivitesinin yanında Diaçilgliserolkinaz da (DGK) aktif rol oynamaktadır. *A. thaliana* 7 DGK izozimine sahiptir ve DGK2 bunlardan bir tanesidir (Arisz ve diğ., 2009). DGK, diaçilgliserol (DAG) molekülünü fosforile ederek PA meydana getirir. Sinyal iletim yollarında görevli DGK izozimlerinden biri olan DGK2 yaklaşık 79.4 kDa moleküler ağırlığa sahiptir. Rekombinant DGK2 *Escherichia coli*'de

klonlanmış ve biyokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. *DGK2* *A. thaliana* bitkisinde; yaprak, kök ve üreme organları gibi çeşitli dokularda ifade edilmektedir. Ayrıca *DGK2*'nin düşük sıcaklık altında anlatımının indüklendiği bulunmuştur ve soğuk stresi cevabının oluşmasında etkili olduğu düşünülmektedir (Gómez-Merino ve diğ., 2004). Bu nedenle, abiyotik stres yanıtıyla olan ilişkisi bilinen *DGK2*, gerçekleştirilen çalışma için seçilmiştir. Çalışmada, *DGK2* gen anlatımının, UV-B radyasyon stresinden ve silikon uygulamasından ne derecede etkilendiği araştırılmıştır. Bu noktada, özellikle hücre zarında stresin algılanmasında görev alan PA sentez yollarının UV-B ve silikonla olan ilişkisi moleküler seviyede gösterilmiştir.

2.6.2.2. *Kalkon Sentaz (CHS, "Chalcone synthase")*

Bitkiler biyotik ve abiyotik stresler karşısında çeşitli ikincil metabolitler sentezleyerek stres cevabı oluştururlar. Bu tip stres cevabı, önceden yapılan çalışmalarda da gösterilmiş ve özellikle UV-B stresi altında flavon ve flavanol glikozitlerin biriktiği gösterilmiştir (Dao ve diğ., 2011). Flavon, flavanol ve izoflavonoid bileşenlerinin birikimi bitkilerde *CHS* geninin transkripsiyonu ile ilişkilendirilir. *CHS*'nin özellikle UV-B radyasyon stres cevabında etkili olduğu çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (Jenkins ve diğ., 2001). Yapılan son çalışmalardan birinde de *CHS*'nin anlatımındaki artışın *A. thaliana* bitkisinde antosiyanin birikimine yol açarak bitkinin yüksek ışığa (YI: $\approx 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) karşı daha dirençli olmasını sağladığı gösterilmiştir (Kreslavski ve diğ., 2013). Gerçekleştirilen tez çalışmasında, silikonun *CHS* gen anlatımı üzerindeki etkisi araştırılarak, silikon uygulamasının UV-B stres yanıtındaki destekleyici etkisinin moleküler düzeyde aydınlatılması amaçlanmıştır.

2.6.2.3. *Çiçeklenme Bölgesi C (FLC, "Flowering Locus C")*

FLC genleri, MADS-kutusu transkripsiyon faktörleri sınıfındandır. Bitkilerde vernalizasyon ile indüklenen çiçeklenmenin yanı sıra tohum dormansisinde, çimlenmede ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Kennedy ve Geuten, 2020). *FLC* *A. thaliana*'da çiçeklenmeyi düzenleyen ana etkenlerden biridir. *FLC* gen anlatımı soğukla indüklenen vernalizasyon yolağı tarafından baskılanır. *FLC*'nin varlığı ise florigen-encoding gen (FT) ve Squamada Promoter Binding-Like Protein 15 (SPL15)'i baskılar. SPL15, giberellin yolağında görevli DELLA proteinleri ve post-transkripsiyonel seviyede miR156 tarafından düzenlenmektedir. MADS-domain proteini Suppressor Of Overexpression Of Constant 1

(SOC1) yine *FLC*'nin doğrudan bir hedef geni tarafından kodlanır. SOC1, SPL15 ile birlikte *FRUITFULL* ve *MIR172B* hedef genlerini aktive eder (Madrid ve diğ., 2021). *FLC*, çiçeklenme sürecini kontrol ederken biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin etkinleştirdiği sinyal yollarını takip eder ve bitkinin optimum koşullarda çiçeklenmesini sağlamak için çalışır. Kısa dönemli soğuk stresinin *FLC*'nin aktivasyonuna yol açarak bitkide çiçeklenmeyi geciktirdiği yapılan bir çalışmada da gösterilmiştir (Jung ve diğ., 2013). Yapılan tez çalışmasında ise, özellikle UV-B stresinin çiçeklenme periyodu ile olan ilişkisinin anlaşılması ve silikonun bu ilişkiyi nasıl etkilediğinin ortaya konması amacıyla *FLC* gen aktivitesi ölçülmüştür.

2.6.2.4. *RAS* ilişkili diyabet protein 51 (*Rad51*, “*RAS* associated with diabetes protein 51”)

Araştırmalar, *Rad51*'in DNA üzerindeki çift zincir kırıklarını homolog rekombinasyon yoluyla onardığını göstermiştir (Hinch ve diğ., 2020). *Rad51*'de işlev kaybı görülmesi durumunda mayoz bölünme hasarları meydana gelmekte ve *A. thaliana* dahil birçok bitkide kısırlık görülmektedir (Chen ve diğ., 2021). Bu nedenle *Rad51* geni UV-B stres cevabında incelenmeye aday görülmüştür. *Escherichia coli* (Cox, 1991) ve *Deinococcus radiodurans* (Wang ve diğ., 2019) bakterilerinde görülen ve ultraviyole radyasyon stres cevabının oluşmasında rol oynayan *RecA* genlerinin ökaryotik homoloğu olan (Ogawa ve diğ., 1993) *Rad51* geni *A. thaliana* Col-0'da ilk kez 1988 yılında izole edilmiş ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir (Doutriaux ve diğ., 1998).

2.6.2.5. *UV* Direnci Bölgesi 8 (*UVR8*, “*UV* Resistance Locus 8”)

Bitkilerde UV-B radyasyonuna karşı stres cevabı oluşturduğu bilinen *UVR8* gen ürünü olan UV-B fotoreseptörü *UVR8* proteini, ilk olarak UV-B stresi karşısında yüksek hassasiyet gösteren bitkilerin incelenmesi sonucu bulunmuştur (Kliebenstein ve diğ., 2002). *UVR8*'in 1.8 Å çözünürlükteki kristal yapısı, β -pilili simetrik homodimer yapıyı gösterecek şekilde rapor edilmiştir (Wu ve diğ., 2012). *UVR8* moleküler yollarının ve fizyolojisinin anlaşılması adına yapılan çalışmalar oldukça günceldir. Bu çalışmalardan birinde UV-B radyasyonun, *A.thaliana* *uvr8-1* mutantlarında UV-absorbe edici pigment birikimini etkilediği gösterilmiştir. Tüm yıl boyunca değişen UV-B miktarına bağlı olarak *UVR8*'in pigment düzenlenmesinde aktif rolü olduğu ortaya konmuştur (Coffey ve diğ., 2017). *UVR8* yollarının anlaşılması adına gerçekleştirilen çalışmalardan birinde, “Repressor of Photomorphogenesis1” (RUP1) ve RUP2 proteinlerinin *UVR8*'i negatif regüle edecek şekilde etkilediği ortaya konmuştur (Cloix ve diğ.,

2021). *UVR8* tarafından düzenlenen genler arasında flavonoid biyosentezinde görevli genler, *Fotoliyaz 1* geni (*UVR2* olarak da bilinir) geni ve oksidatif stres cevabında görevli bazı genler sayılabilir (Sharma ve diğ., 2017). Gerçekleştirilen tez çalışmasında, DNA hasar tamirinde görev alan ve stres cevabı ile ilişkili olan *UVR8* gen anlatımının, silikon ve UV-B uygulamasından etkilenme düzeyi araştırılmıştır.

2.7. BİTKİLERDE EPIGENETİK ANALİZLER

DNA üzerindeki kalıtsal bilginin dışında, hücreler DNA dizisinde kodlanmayan bazı bilgileri de yeni nesillere aktarmaktadır. Bu mekanizma epigenetik olarak adlandırılan bir düzenleme sayesinde gerçekleşir. Epigenetik bilgi, DNA'nın nükleotid dizisinde bir değişikliğe neden olmaksızın gen anlatım düzeylerini etkilemektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalara göre, bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı geliştirdiği adaptasyonlarda epigenetik değişikliklerin büyük rol oynadığı ortaya konmuştur (Rapp ve Wendel, 2005). Epigenetik değişikliklerin en çok araştırılmış olanları temelde üç çeşittir (Gibney ve Nolan, 2010):

1. Translasyon sonrası modifikasyonlar (Histon modifikasyonları)
2. RNA-tabanlı mekanizmalar (Kodlama yapmayan RNA'lar ile düzenleme)
3. DNA üzerinde sitozin metilasyonu

Translasyon sonrası modifikasyonlarla ilişkili epigenetik düzenlemeler, histon proteinleri üzerinde meydana gelmekte veya kromatin yeniden modellenmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır. Ökaryot hücrelerde, nucleus içerisinde bulunan kromatin yapısı histon proteinleri ile DNA'nın paketlenmesi sonucu oluşur. Her bir histon proteini H2A, H2B, H3 ve H4 olmak üzere 4 ayrı alt birimden oluşarak 147 baz çifti kadar DNA'yı sarmakta ve nükleozom yapısını oluşturmaktadır. Ayrıca H1 tipi histon alt birimi de nükleozomlar arasında DNA'yı bağlamak için görev yapmaktadır (Alberts ve diğ., 2015a). Burada DNA'nın sarıldığı histon kuyrukları; metilasyon, asetilasyon, fosforilasyon, ubikütinasyon ve sumolasyon gibi translasyon sonrası modifikasyonlar geçirerek epigenetik olarak düzenlenmektedir (Alberts ve diğ., 2015b). Histon proteinlerinde meydana gelen kovalent modifikasyonlar dışında, ATP hidrolizine bağımlı olarak çalışan enzim aileleri tarafından kontrol edilen nükleozom düzenlenmesinden söz edilebilir. Bu enzimlere kromatin yeniden modelleme kompleksleri denir. Bu kompleksler histon modifikasyonları ile uyumlu olarak çalışmaktadır (Felsenfeld, 2007).

RNA-tabanlı epigenetik mekanizmalar ise özellikle X-kromozomu inaktivasyonu örneğinde olduğu gibi, kodlama yapmayan RNA moleküllerinin düzenlemeleri ile çalışmaktadır. Kısa ve uzun kodlama yapmayan RNA'lar farklı mekanizmalarla kapsamlı olarak epigenetik düzenlemelerde görev alırlar ve kromatin yeniden modelleme kompleksleri ile uyumlu çalışırlar (Gibney ve Nolan, 2010).

Bir diğer epigenetik düzenleme aracı ise DNA üzerinde gerçekleşen sitozin metilasyonu olayıdır. DNA metilasyonu konusu, gerçekleştirilen tez çalışmasının bir parçası olduğu için Kısım 2.7.1'de detaylı olarak verilmiştir.

2.7.1.DNA Metilasyonu

Epigenetik bir düzenleme olan DNA metilasyonu canlılarda sık görülen bir olaydır. Bazı türlerde DNA metilasyonu hücre farklılaşmasını kontrol ederek uzun süreli gen inaktivasyonunu düzenler. Buna bir örnek, *A. thaliana*'daki yetersiz DNA metilasyonunun embriyonun anormal gelişimine neden olmasıdır (Reece ve diğ., 2013). Metilasyon, sitozin rezidülerinin 5'-pozisyonunda metillenmesi sonucu 5-metil-sitozin oluşması ile meydana gelir. Metilasyon, DNA metiltransferaz (DNMTs, "DNA Methyl Transferases") enzimleri tarafından gerçekleştirilir.

Ökaryotlarda histon kuyruklarında arginin ve lizin amino asitlerinin metilasyonu gen aktivitesi ile doğru orantılıyken, sitozin bazının 5-metil sitozin oluşturmak üzere metilasyonu gen aktivitesi ile ters orantılı olabilmektedir (Klug ve diğ., 2011). Bitki stres çalışmalarında metilasyonun incelenmesi büyük önem taşımaktadır. Bitkilerde DNA metilasyonu CG, CHG ve CHH (H burada A, T veya C olabilir) sitozin dizilerinde görülür. *A. thaliana*'da genom üzerinde DNA metilasyonu heterokromatinde ileri düzeyde görülür. DNA metilasyonunun gen regülasyonu, transpozon susturma ve kromatin interaksiyonları işlevleri bulunmaktadır. Ayrıca DNA metilasyonu bitkilerin biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında da rol oynar (Zhang ve diğ., 2018a).

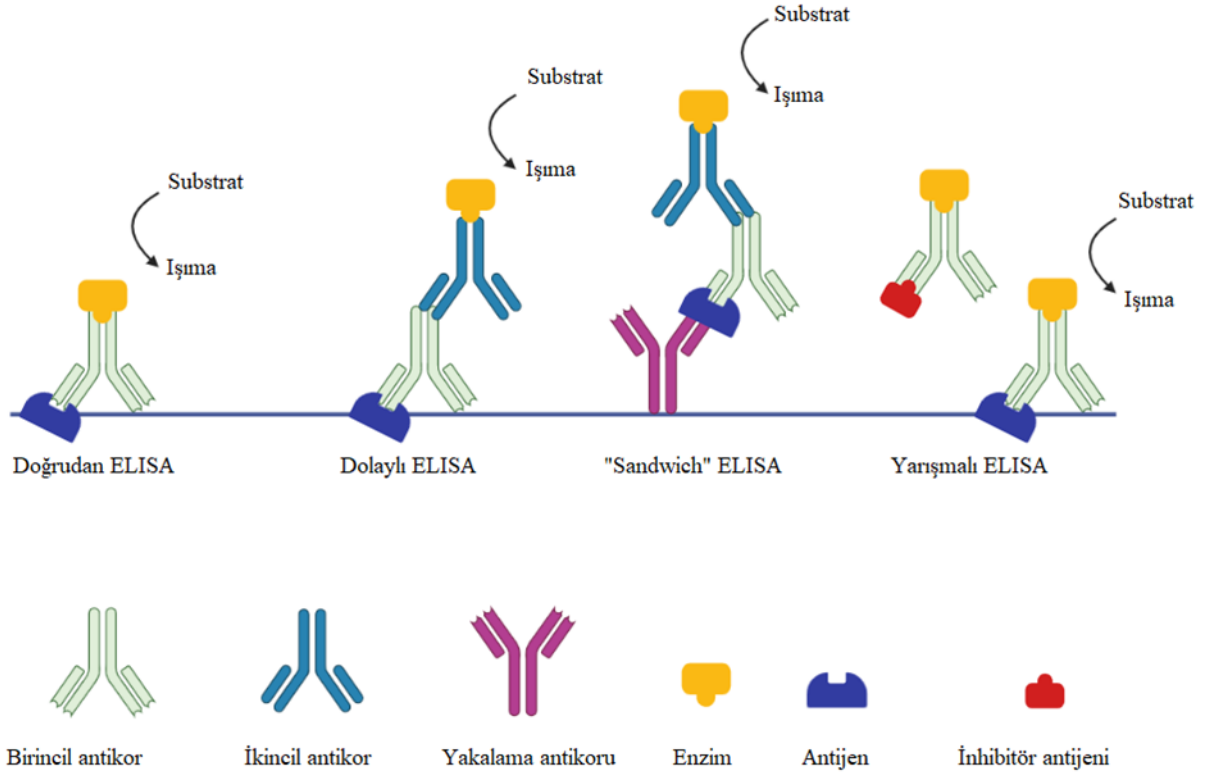
2.7.1.1. DNA Metilasyonu Tespit Yöntemleri

DNA metilasyonunun tespit edilmesi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları şu şekildedir (Syedmoradi ve diğ., 2016):

1. Enzim-İlişkili İmmünosorbent Deneyi (ELISA, “Enzyme-linked immunosorbent assay”)
2. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, “High-performance liquid chromatography”)
3. Yüksek performanslı kapılar elektroforez (HPCE, “High Performance Capillary Electrophoresis”)
4. Metilasyon Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (MS-PZR)
5. Piro-dizileme
6. Kombine bisülfite restriksiyon analizi (COBRA, “Combined bisulfite restriction analysis”)
7. Metilasyon Hassasiyetli Yüksek Çözünürlüklü Erime Yöntemi (MS-MLPA, “Methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification”)
8. Tüm genom bisülfite sekanslama
9. MethylCap Sekanslama
10. Gerçek zamanlı tek molekül sekanslama (SMRT, “Single molecule real time sequencing”)

Ayrıca, metilasyon tespitinde yenilikçi bir yöntem olarak biyosensörlerin ve nano teknolojinin kullanılması zamanla yaygınlaşmaktadır (Maki ve diğ., 2008; Liu ve diğ., 2021).

DNA metilasyonu tespit yöntemleri arasında özellikle ELISA, uygulama kolaylığı ve düşük maliyetiyle öne çıkmaktadır (Tighe ve diğ., 2015). ELISA yöntemi, antijen-antikor reaksiyonlarının enzim-substrat ilişkisi sonucu renk değişimi ile saptanmasını ve dolayısıyla istenen moleküllerin tespitini sağlar (Clark ve diğ., 1986). ELISA yönteminin 4 ayrı uygulama yöntemi mevcuttur. Bunlar doğrudan, dolaylı, “sandwich” ve yarışmalı ELISA olarak bilinirler (Aydin, 2015).



Şekil 2.10: Farklı ELISA yöntemi uygulamaları sembolik olarak gösterilmiştir (Crowther, 2001; Yeşildirek, 2021). (Görsel “biorender.com” üzerinde tasarlanmıştır.)

Gerçekleştirilen tez çalışmasında dolaylı ELISA yöntemine dayalı olarak çalışan “MethylFlash™ Global DNA Methylation (5-mC) ELISA Easy” kiti kullanılmıştır. Bu yöntem kapsamında antijen belirleyici ikincil bir antikoru kullanıldığı için dolaylı ELISA olarak adlandırılır (Şekil 2.10). İzole edilen genomik DNA, antijen ile kaplı kuyucuklar içerisine eklendikten sonra gerçekleştirilen inkübasyonda plak üzerindeki antijenlere karşı oluşturulan antikoru, bir antijen-antikoru kompleksi meydana getirir. Bu kompleks, birincil antikoru tanıyan ikincil antikoru spektrofotometrik yöntem ile görüntülenmesi sayesinde analiz edilir. Test içerisinde kullanılan standart pozitif kontroller ile bu yöntem diğer birçok yöntemle göre daha kesin sonuçlar vermektedir. Sonuçlar, farklı örneklerdeki metilasyon oranlarını yüzdelik dilim olarak ortaya koymaktadır (Epigentek, 2019).

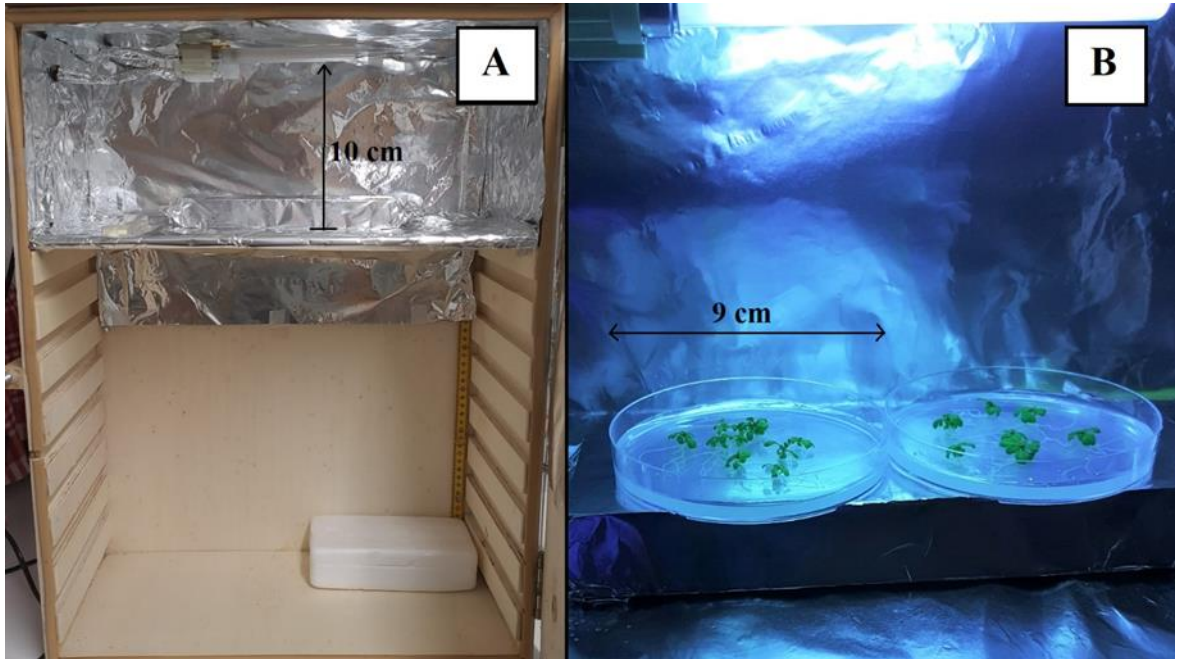
3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. BİTKİ MATERYALİ

Tez çalışmasında kullanılan *Arabidopsis thaliana*, yabani tip Columbia-0 (Col-0) *Brassicaceae* familyası, *Arabidopsis* cinsi altında sınıflandırılmaktadır. Tohumlar Dr. Ralf Stracke tarafından Bielefeld Üniversitesi, Almanya'dan temin edilmiştir.

3.2. ULTRAVİYOLE-B UYGULAMA OPTİMİZASYONLARI

Bu tez çalışmasında UV-B radyasyon kaynağı olarak Philips marka, PL-L 36W/01/4P 1CT/25 model 167 mm toplam uzunluğa sahip UV-B Dar-bant lamba kullanılmıştır. Bu lamba 311 nm dalga boyunda dar bantta pik vermektedir. Uygulanan radyasyon miktarı Amtast marka, UV340B Radyometre cihazıyla ölçülmüştür. Radyometre cihazı $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ birimi ile ölçüm sonuçlarını göstermektedir. Lamba özel olarak tasarlanan UV-B uygulama kabini içerisine yerleştirilmiştir (Şekil 3.1). Kabinin içerisi alüminyum folyo ile tamamen kaplanarak örneklerin maruz kalacağı UV-B radyasyon miktarı arttırılmıştır. Kabinin içerisinde örnekler ile lamba arasındaki mesafeyi ayarlamak için bir plaka yerleştirilmiştir.



Şekil 3.1: UV-B uygulama kabini (A) ve uygulama sırasında örnekler (B) görülmektedir.

3.2.1. Uzaklık ve UV-B Doz Optimizasyonu

İlk olarak farklı uzaklıklardan ölçüm alınarak UV-B dozları belirlenmiş ve uygulamanın yapılacağı uzaklık ve doz için optimizasyon çalışmaları başlatılmıştır. Bu amaçla 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 cm uzaklıklardan ölçüm yapılmıştır. Ölçümler boş bir Petri kabı içerisine, kapağın altına radyometre alıcısı yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Ölçümlere başlamadan önce lamba en az 5 dakika açık bırakılmıştır. Ardından farklı uzaklıklardaki ölçümler için radyometre alıcısı en az 5 dakika sabit şekilde bekletilmiş ve ölçüm ekranındaki değer sabitlendiğinde kaydedilmiştir.

3.2.2. Uygulama Sıklığı ve Süresinin Optimizasyonu

Uygulama sıklığı ve süresinin optimize edilmesi için, *A. thaliana* üzerinde UV-B hasarının morfolojik ve fizyolojik olarak gözlemlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla, total klorofil miktarındaki değişim (Kısım 3.4.1) ve hücre zarı iyon sızıntısı (Kısım 3.4.3) analiz edilmiştir. 3 biyolojik tekrar grubu ile çalışılmıştır. Optimizasyonlar sırasında bitki doku kültüründe MS besiyeri kullanılmış ve hazırlanması ile ilgili tüm detaylar 3.3 Besiyeri ve Kültürleme Koşulları Bölümü'nde verilmiştir. Bitkiler ekildikten 12, 17 ve 22 gün sonra, ayrı deney gruplarında olacak şekilde, belirlenen üç farklı dozda ($574 \mu\text{Watt/cm}^2$, $800 \mu\text{Watt/cm}^2$, $1030 \mu\text{Watt/cm}^2$) UV-B uygulaması gerçekleştirilmiştir. Ayrıca uygulama süresi, 0, 30, 60 ve 120 dakika olarak değişkenlik göstermektedir (Tablo 3.1). Bu çalışmalar aynı zamanda uzaklık ve UV-B doz optimizasyonu ile birlikte yürütülmüştür.

Tablo 3.1: Uzaklık ve uygulama süresi optimizasyonunda ölçüm alınan değerler.

Optimizasyonda Lamba ile Örnek Arasında Ölçüm Alınan Mesafe (cm)	10,15,20,25,30,35,40,45,50
UV-B Uygulama Süresi (dk)	0, 30, 60, 120
UV-B Uygulama Yaşı (Gün)	12, 17, 22
UV-B Uygulama Dozu ($\mu\text{Watt/cm}^2$)	574, 800, 1030
Bitkilerin Hasat ve Analiz Yaşı (Gün)	28

3.3. BESİYERİ, KÜLTÜRLEME KOŞULLARI VE UV-B UYGULAMASI

A. thaliana bitkisi, Murashige ve Skoog tarafından geliştirilmiş olan bitki besi ortamında (MS) kültüre alınmıştır (Murashige ve Skoog, 1962). Besiyeri dökerken kullanılacak mezürler WiseTherm marka HB-48P model Pastör fırını içerisinde 200 °C’de 3 saat boyunca tutularak steril edilmiştir. Besiyeri dökerken kullanılan 9 cm çaplı Petri kapları önceden steril şekilde temin edilmiştir. 250 ml besiyeri hazırlığı sırasında 7,5 gram sukroz (LOT: 800081019, MULTICELL) 500 ml’lik şişelere eklenmiştir. Ardından 1,1 gram toz halinde bulunan MS mikro ve makro element karışımı (LOT: P14705.01, Duchefa Biochemie Marka) eklenmiştir. Ek olarak bu aşamada, eğer besiyeri silikonlu olarak hazırlanıyorsa 1 mM silikon karışıma eklenmiştir. Ardından 240 ml distile su mezür yardımıyla şişeye eklenip homojen hale gelince pH metre (Hanna Instruments, HI 221) yardımıyla çözeltinin pH değeri 5,6-5,8 aralığında ayarlanmıştır. Bu işlemde 1 ve 5 N NaOH (Merck, 1.06462.1000) kullanılmıştır. Ardından, besiyeri distile su ile 250 ml’ye tamamlanmıştır. Sonrasında besiyerinin içerisine 2,25 gram agar (LOT: BCBW0385, Sigma-Aldrich Marka) eklenmiştir. Besiyeri 121 °C’de 15 dakika boyunca 1,2 atmosfer basınçta otoklavda (Nüve, OT 012) steril edilmiştir. Besiyerleri, laminar hava akımlı biyogüvenlik kabini (Telstar Bio II Advance, EN-12469) içerisinde ve ateş kaynağının yakınında soğumaya bırakılmıştır. 55 °C’ye ulaşan besiyeri içerisine 250 µL (1 mg/ml) MS vitamin solüsyonu (LOT # RNBH9430, Sigma-Aldrich) eklenmiştir. Ardından Petri kapları içerisine 20’şer ml besiyeri dökülmüş ve ağzı açık şekilde donması için 15 dakika kabin içerisinde ateş yakınında bekletilmiştir. Petri kapları çift kat parafilm ile sarılarak +4 °C’ye buzdolabına kaldırılmıştır.

3.3.1. Tohumlarda Yüzey Sterilizasyonu, Çimlendirme ve UV-B Uygulaması

A. thaliana tohumlarının yüzey sterilizasyonu için öncelikle 5 mg (1 mg/50 tohum) tohum hassas terazi ile tartılarak belirlenmiştir. Ardından tohumlar, tüp başına 1 mg tohum düşecek şekilde filtreli tüplere aktarılmıştır. Filtreli tüplerin içerisine 3 kez 1 ml %70’lik etil alkol eklenerek her seferinde 7500 rpm kuvvetinde 2 dakika santrifüj (ScanSpeed Mini) edilip kolonda biriken alkol uzaklaştırılmıştır. Sonrasında bir kez 1 ml %100’lük etil alkol eklenmiş ve santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. En son, alkolün tamamen uzaklaşması için 2 dakika boyunca yine 7500 rpm (ScanSpeed Mini) kuvvetinde santrifüj yapılmıştır. Tüpler içerisindeki tohumlar laminar hava akımlı biyogüvenlik kabininde ağızları açık şekilde ateş yakınında 15 dakika bekletilmiştir. Kuruyan tohumlar, MS besiyerlerine çimlenmek üzere ekilip ve Petri kapları

tekrar iki kat parafilm ile sarıldıktan sonra bitki büyütme kabinine [$25\pm1^{\circ}\text{C}$, %75 nem, 16/8 saat (aydınlık/karanlık), $105\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Panasonic FL40SS.ENW/37)] yerleştirilmiştir. Tohumlar çimlenme sonrası, önceden hazırlanmış uygulama besiyerlerine aktarılmıştır. 20 Petri MS ve 20 Petri Silikonlu MS besiyeri içeren toplamda 40 petriye, Petri kabı başına 5 bitki düşecek şekilde steril pensler yardımıyla hava akımlı laminar kabin içerisinde aktarım gerçekleştirilmiştir. Bitkiler ekildikten tam 17 gün sonra, 60 dakika boyunca $800\ \mu\text{Watt/cm}^2$ UV-B uygulaması gerçekleştirilmiştir. Hasat öncesinde deney gruplarında çiçeklenme oranını belirlemek adına çiçek sayımı yapılmıştır. Ardından 28 günlük bitkiler analizler için hasat edilmiştir.

3.4. FİZYOLOJİK ANALİZLER

Optimizasyon aşamasında ve deney gruplarına UV-B stresinin uygulanmasının ardından, stresin etkilerinin anlaşılması ve silikonun stres cevabındaki rolünün belirlenebilmesi için fizyolojik analizler yapılmıştır.

3.4.1. Klorofil Miktarının Analizi

Tartılan 100 mg taze yaprak dokusu steril havan ve havan eli yardımıyla sıvı nitrojen kullanarak homojenize olana dek ezilmiştir. Toz haline gelen örneklerin üzerine 2 ml %80 (v/v) aseton (Sigma, 24201) eklenmiş ve elde edilen çözelti 2 ml'lik Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Ardından hücre kalıntılarını uzaklaştırmak için 5 dakika 13000 rpm'de (ScanSpeed Mini) santrifüj edilmiştir. Elde edilen üst sıvılardan 200'er μL , 96 kuyucuklu plakalara (Sarstedt, 83.3924) konularak 645 ve 663 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinde spektrofotometre cihazı (Eon, BioTek) ile 3 tekrarlı olacak şekilde ölçülmüştür. Santrifüj sırasında elde edilen pellet 105°C 'de Pastör fırını (WiseTherm marka HB-48P) içerisinde 2 saat kurumaya bırakılmıştır. Ardından pelletlerin kuru ağırlığı tartılmıştır. Elde edilen değerler ile aşağıda verilen denklem 3.1 üzerinden total klorofil miktarı hesaplanmıştır (Wiedemann ve diğ., 2007).

$$T = [(A_{663}) \times (0.00802) + (A_{645}) \times (0.0202)] \times 2 / \text{g kuru ağırlık} \quad (3.1)$$

T: Total klorofil miktarı

3.4.2. Ozmolit Birikiminin Analizi

Ekim sonrası 28 günlük bitkilerden elde edilen 30 mg tüm bitki dokusu altı delik 500 µl'lik tüplere aktarılmış ve bu tüpler 1,5 ml'lik Eppendorf tüpleri içerisine yerleştirilmiştir. Bu tüpler -20 °C'de gece boyunca doku içeriğinin kolayca elde edilmesi için bekletilmiştir. Ertesi gün örnekler +4 °C'de 30 dakika boyunca 15000 x g'de santrifüj edilerek bitki özsuğu elde edilmiştir. Elde edilen özsudun 15 µl alınarak üzerine 135 µl steril distile su eklenerek karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım semi-ozmometre (Knauer K-7400) ile mOsmol/kg cinsinden ölçülmüştür. Deneyler 3 biyolojik tekrar üzerinde gerçekleştirilmiştir (Uçarlı, 2016).

3.4.3. Hücre Zarı İyon Sızıntısının Analizi

Hücre zarı iyon sızıntısı analizi için öncelikle, 28 günlük bitkiden elde edilen 40 mg bitki dokusu 15 ml'lik Falcon tüplere aktarılmıştır. Falcon tüpler içerisine 5 ml steril distile su eklemiş ve 16 saat boyunca etrafı ışık almayacak şekilde sarılı olarak karanlıkta 25±2 °C'de bitki büyütme kabini içerisinde bekletilmiştir. 16 saatin sonunda tüplerdeki sıvıdan 1 ml alınıp 1,5 ml'lik Eppendorf tüplere aktarılmıştır. Ardından Falcon tüpler 121 °C'de 15 dakika boyunca 1,2 atmosfer basınçta otoklava alınmıştır (Nüve, OT 012). Otoklav öncesi ayrılan örnekler (E1) iyon sızıntısı iletkenlik ölçer (HORIBA B-137) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yaparken cihaza 100 µl örnek yüklenmiştir. Otoklav sonrasında da aynı şekilde ölçüm yapılmıştır (E2 değeri). Deneyler 3 biyolojik tekrar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Zar hasarı analizi Shi ve diğ., (2006) çalışmasına göre yapılmış ve denklem 3.2'ye göre hesaplanmıştır.

$$\text{Zar Hasarı} = E1/E2 \times 100 \quad (3.2)$$

3.5. GEN ANLATIM ANALİZLERİ

UV-B stresi altında silikonun etkisinin transkriptomik seviyede anlaşılabilmesi amacıyla Tablo 3.2'de belirtilen, bitki stres cevabında etkinliği olan, hedef genlerin anlatım analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler için öncelikle 28 günlük taze bitki örneklerinden total RNA izolasyonu yapılmıştır. Ardından izole edilen RNA moleküllerinden komplementer DNA (cDNA) sentezi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada *DGK2* (*Diaçilgliserol kinaz 2*), *CHS* (*Chalcone synthase*), *FLC* (*Flowering Locus C*), *UVR8* (*UV-B Resistance 8*) ve *Rad51* (*RAS associated with diabetes protein 51*) genlerinin anlatımları incelenmiş (Tablo 3.2) ve referans gen olarak

A. thaliana Aktin-2 kullanılmıştır. Bu genlere özel olarak Primer3 (<https://primer3.org/>) programı ile tasarlanan primer dizileri ise Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.2: Hedef genler ve özellikleri.

GENLER	ÖZELLİKLERİ	REFERANS
AKTİN-2	Evrimsel süreç boyunca en çok korunan genlerden biri olması nedeniyle GZ-PZR'de genellikle referans gen olarak kullanılır. Bütün ökaryotik hücrelerde bulunmaktadır.	Gunning ve diğ., 2015
DGK2	DGK2, <i>A. thaliana</i> 'da 7 DGK üyesinden bir tanesidir. Bitkilerde abiyotik stres toleransında görevli olduğu ortaya konmuştur. Özellikle düşük sıcaklık stresine karşı sinyal indüklenmesinde görev aldığı bilinmektedir. Ayrıca, hücre zarında stres sinyallerinin iletilmesinde ve oluşumunda görev alır.	Gómez-Merino ve diğ., 2004
CHS	Bitkilerde ikincil metabolitlerin, flavonol, flavon, izoflavonoid moleküllerinin biyotik ve abiyotik stres cevabındaki artışında rol oynadığı ortaya konmuştur. Özellikle UV radyasyon stresi altında artış gösterdiği belirtilmektedir.	Feinbaum ve Ausubel, 1988
FLC	Çeşitli bitkilerde çiçeklenme zamanını stres faktörlerine bağlı olarak kontrol ettiği bilinen bir gendir.	Mentzer ve diğ., 2010; Kennedy ve Geuten, 2020
RAD51	Bitkilerde radyasyon stres yanıtında görev aldığı bilinmektedir. Ayrıca, DNA çift zincir kırıklarının onarımında ve bağışıklık yanıtının oluşmasında etkilidir.	Serra ve diğ., 2013
UVR8	Bitkilerde maruz kalınan UV-B radyasyonu dozuna göre stres cevabı oluşmasında görev alan spesifik yolları yöneten bir gendir.	Christie ve diğ., 2012; Tossi ve diğ., 2019

Tablo 3.3: Primer dizileri.

GENLER	PRİMERLER	DİZİ	ÜRÜN BOYU	REFERANS
<i>AKTİN-2</i>	İleri primer	5' TGCTGACCGTATGAGCAAA3'	101 Baz Çifti	(Arıkan ve diğ., 2021)
	Geri primer	5' CTCCGATCCAGACACTGTA3'		(Arıkan ve diğ., 2021)
<i>DGK2</i>	İleri primer	5'GGTGTGTGGAGGAGATGGAA3'	132 Baz Çifti	Primer3 ile tasarlandı.
	Geri primer	5'CCTCTTCCCCACTGCAAAAC3'		
<i>CHS</i>	İleri primer	5'TTCTTGGTCTCCGTCCTTCC3'	96 Baz Çifti	Primer3 ile tasarlandı.
	Geri primer	5'CGGCGAGATCCTTAGCGATA3'		
<i>FLC</i>	İleri primer	5'TGGATAGCAAGCTTGTGGGA3'	104 Baz Çifti	Primer3 ile tasarlandı.
	Geri primer	5'CTTGGCTCTAGTCACGGAGA3'		
<i>RAD51</i>	İleri primer	5'GGATCACGGGAGCTCGATAA3'	99 Baz Çifti	Primer3 ile tasarlandı.
	Geri primer	5'GCACAGCTGAGTCTTTCCAG3'		
<i>UVR8</i>	İleri primer	5'CGATGGAGCAAGTGGACAAC3'	115 Baz Çifti	Primer3 ile tasarlandı.
	Geri primer	5'CGTTAGGCCCGTTTCATCAG3'		

3.5.1. RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu için, 28 günlük bitki örneklerinden yaklaşık 100 mg alınarak izolasyon yapılmıştır. Bitki örneği, steril edilmiş havan ve havan eli yardımıyla sıvı azot ile tamamen homojenize bir toz haline gelinceye kadar ezilmiştir. Ardından üzerine 1 ml Hibrizol (Hibrogen, Türkiye) eklenmiştir ve ezilmiş ve 2 ml'lik Eppendorf tüplere aktarılmıştır. Tüpler içerisinde sıvı 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından 0,2 ml kloroform eklenmiş ve 15 saniye boyunca yavaşça tüpler ters düz edilerek karıştırılmıştır. Ardından yine oda sıcaklığında 3 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında örnekler 4°C'de ve 12000 x g'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve üst faz yeni bir 2 ml'lik Eppendorf tüpe aktarılmıştır.

Başlangıçta eklenen her 1 ml Hibrizol için 0,5 ml izopropanol eklenmiş ve örnekler 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Örnekler 4°C'de ve 12000 x g'de 10 dakika santrifüj

edilmiştir. Santrifüjün ardından süpernatant atılmış ve pellet ile çalışmaya devam edilmiştir. Pellet 1 ml %75'lik soğuk ultra saf etil alkol ile yıkanmıştır. Örnekler 4°C'de ve 12000 x g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından üst fazdaki alkol uzaklaştırılmış ve 15 dakika boyunca tamamen uçması için ısıtıcı blokta (Biosan, TS-100C) 55 °C'de bekletilmiştir. Son olarak RNA pelletlerinin üzerine 25 µl nükleaz içermeyen steril distile su eklenmiş ve pelletler ısıtıcı blokta 37 °C'de 30 dakika boyunca çözündürülmüştür.

3.5.2. RNA'nın Analizi

İzole edilen RNA'ların bütünlüğü Agaroz Jel Elektroforezi yöntemiyle kontrol edilmiştir. 1x TAE tamponu ile hazırlanan %1'lik (w/v) agaroz jelde örnekler 90V ile 30 dakika boyunca yürütülmüş ve görüntüleme cihazında analiz edilmiştir (Avegene-Xlite 30R). Aynı zamanda izole edilen RNA moleküllerinin saflığı ve konsantrasyonu nanodrop cihazı (Thermo scientific, nanodrop 2000) ile ölçülmüştür. A260/A280 oranı ≈ 2.0 olan RNA örnekleri saf olarak kabul edilmiştir (Manchester, 1996).

$$\text{RNA } (\mu\text{g/ml}) = \text{A260} \times \text{sulandırma katsayısı} \times 40 \quad (3.3)$$

3.5.3. cDNA Sentezi

İzolasyonu gerçekleştirilen RNA moleküllerinden komplementer DNA sentezi işlemi, cDNA sentez kiti (Applied Biosystems High Capacity cDNA Synthesis Kit, 4368814) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole göre gerçekleştirilmiştir. Uygulama PZR cihazında (BIO-RAD, T100 Thermal Cycler) gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.4. üzerinde sentez bileşenleri ve Tablo 3.5. üzerinde sentez koşulları verilmiştir.

Tablo 3.4: cDNA sentez bileşenleri.

Bileşen	Hacim
10X RT Tamponu	4 µl
25X dNTP (10mM)	1,6 µl
10X Random Primer	4 µl
Reverse Transkriptaz Enzimi	2 µl
Kalıp RNA	2000 ng
ddH ₂ O	40 µl 'ye tamamlanır

Tablo 3.5: Sentez koşulları.

Aşama	Sıcaklık	Zaman
Primerlerin Bağlanması	25 °C	10 Dakika
cDNA sentezi	37 °C	120 Dakika
Enzimin İnaktivasyonu	85 °C	5 Dakika
Saklama	4 °C	∞

3.5.4. GZ-PZR Uygulaması

GZ-PZR “2X SYBR Green master mix” (Hibriden, 0220-UB-775) kullanılarak “LightCycler Nano” (Roche) cihazında gerçekleştirilmiştir. Ortaya çıkan Ct değerleri, rölatif olarak, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemiyle değerlendirilerek gen anlatım katsayıları belirlenmiştir (Schmittgen ve Livak, 2008). GZ-PZR bileşenleri Tablo 3.6. üzerinde verilmiştir. Sentez koşulları ise Tablo 3.7’de belirtildiği gibidir.

Tablo 3.6: GZ-PZR sentez bileşenleri.

Bileşen	Hacim
2X SYBR Green master mix	12,5 µl
Primerler (10 mM)	0,5 µl
cDNA	1 µl (sadece DGK2 için 3 µl)
Nükleaz içermeyen ddH ₂ O	25 µl 'ye tamamlanır.

Tablo 3.7: GZ-PZR sentez koşulları.

Aşama	Sıcaklık		Zaman
Bekleme Aşaması	50 °C		60 saniye
Denatürasyon	94 °C		30 saniye
Primer Bağlanma	65 °C (<i>Aktin-2</i> , <i>DGK2</i>) 63,5 °C (<i>CHS</i> , <i>FLC</i> , <i>UVR8</i> , <i>Rad51</i>)	40 Döngü	30 saniye
Uzama	72 °C		30 saniye
Bekleme	40 °C		30 saniye

3.6. GENOM DÜZEYİNDE DNA METİLYASYONUNUN BELİRLENMESİ

Genom düzeyinde DNA molekülü üzerinde meydana gelen metilasyonun belirlenmesi amacıyla çimlenme sonrası 28 günlük taze bitki dokusundan her deney grubu ve biyolojik tekrar için DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu ölçülmüştür. DNA izolasyonunun ardından DNA metilasyon düzeyleri ölçülmüştür.

3.6.1. Genomik DNA İzolasyonu

“GeneJET Plant Genomic DNA Purification” kit (Thermo Scientific, K0792) ile, üretici firmanın önerdiği deney protokolü kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Başlangıç olarak, 28 günlük taze bitkiden 100 mg örnek alınmıştır. Örnekler, steril havan ve havan eli yardımıyla, sıvı azot ile homojen bir toz haline gelinceye kadar ezilmiş ve üzerine 350 µl “Liziz Tamponu A” eklenerek 1,5 ml'lik Eppendorf tüplere kaldırılmıştır. Ardından 50 µl “Liziz Tamponu B” ve 20 µl “RNase A” enzimi eklenmiştir. Hemen ardından 20 saniye vorteks ile karıştırılmıştır. 10 dakika 65°C’de inkübasyonun ardından 130 µl “Çöktürme Solüsyonu” eklenmiş ve tüpler alt üst edilerek karıştırılmıştır. Ardından, örnekler 5 dakika buzda bekletilmiştir. İnkübasyonun ardından 14000 rpm’de 5 dakika santrifüj (ScanSpeed Mini) işlemi uygulanmış ve süpernatant yeni 1,5 ml'lik Eppendorfa aktarılmıştır. Solüsyona 400 µl “Bitki gDNA Bağlama Solüsyonu” ve 400 µl %96’lık etil alkol eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Çözeltinin 700 µl kadarı kit içerisinde temin edilen filtrelere yüklenmiş ve 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilerek (ScanSpeed Mini) filtreden geçirilmiştir. Bu işlem çözelti tamamen bitine kadar tekrarlanmıştır. Filtrenin üzerine 500 µl “Yıkama Tamponu I” eklenmiş ve 10000 rpm’de 1 dakika santrifüj (ScanSpeed Mini) edilmiştir. Kolonda biriken sıvı uzaklaştırılmıştır. Ardından, filtrenin üzerine 500 µl “Yıkama Tamponu II” eklenmiş ve 14000 rpm’de 3 dakika santrifüj (ScanSpeed Mini) edilmiştir. Aynı şekilde, kolonda biriken sıvı atılmıştır. Filtre kolondan ayrılıp yeni bir 1.5 ml'lik Eppendorfa yerleştirilmiştir. Filtre üzerine 50 µl “Elüsyon Tamponu (10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 0.1 mM EDTA)” eklenmiş ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Son olarak, 10000 rpm’de 1 dakika santrifüj (ScanSpeed Mini) edilerek DNA'nın filtreden geri kazanımı sağlanmıştır. Elde edilen DNA uzun süreli kullanım için -80°C 'de saklanmıştır.

3.6.2. DNA'nın Analizi

İzolasyonun ardından elde edilen DNA molekülleri kısım 3.5.2'de RNA'nin analizinde belirtildiği şekilde Agaroze Jel Elektrophorezi ile kontrol edilmiş ve saflıkları ve konsantrasyonları nanodrop cihazı (Thermo scientific, nanodrop 2000) ile ölçülmüştür. DNA konsantrasyonları denklem 3.4'e göre, DNA saflıkları ise A260/A280 oranına göre belirlenmiştir. A260/A280 oranı ≈ 1.8 olan DNA örnekleri saf olarak kabul edilmiştir (Manchester, 1996).

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = \text{A260} \times \text{sulandırma katsayısı} \times 50 \quad (3.4)$$

3.6.3. Genomik DNA Metilasyon Düzeyinin Ölçülmesi

DNA metilasyon miktarının ölçülmesi işlemi “MethylFlash™ Methylated DNA Quantification” kit (P-1034-96, Epigentek) ile gerçekleştirilmiştir. İşlem, üretici firmanın önerdiği protokole göre yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak kitin içerisinde bulunan ME4 (20 $\mu\text{g/ml}$) solüsyonu 0,5 ng/ μL , 1,0 ng/ μL ve 5,0 ng/ μL konsantrasyonlarında olacak şekilde TE tamponu ile seyreltilmiştir. İlk olarak kit içerisinde bulunan ve deney için kullanılacak her bir kuyu içerisine 80 μL ME2 bağlama solüsyonu eklenmiştir. Ardından ikiye tekrar olması amacıyla iki kuyuya 1 μL ME3 negatif kontrol (20 $\mu\text{g/ml}$), 6 kuyuya 1'er μL ME4 pozitif kontroller ve deney grupları için 24 kuyuya 100 ng kadar DNA eklenmiştir. Ardından kuyuların üzeri parafilm ile sarılarak 37°C 'de 90 dakika inkübe edilmiştir. Sonrasında her kuyu 3 defa 150 μL ME1 (10x Yıkama tamponu) ile yıkanmıştır. Bu aşamadan sonra sırayla kuyulara kit üzerinde belirtilen miktarlarda ME5 [Yakalama antikoru (1000 $\mu\text{g/ml}$)], ME6 [Saptama antikoru (400 $\mu\text{g/ml}$)] ve ME7 (Güçlendirici çözelti) solüsyonları eklenerek her defasında da ME1 ile yıkama işlemi tekrarlanmıştır. Son olarak sinyal belirleme aşamasında her kuyuya 100 μL ME8 (“Developer” çözelti) eklenmiş ve karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Solüsyonların renginin maviye dönmesi yeterli miktarda DNA bağlandığı anlamına gelmektedir. Mavi rengin tespit edilmesinin ardından her kuyuya 100 μL ME9 (Durdurucu çözelti) eklenerek tepkimenin durması sağlanır. Protokole uygun olarak tamamlanan işlemin ardından sarı renk alan örnekler 450 nm'de mikropilaka okuyuculu spektrofotometrede (“BioTek™ Eon Microplate Spectrophotometer”) ölçülmüştür. Elde edilen verinin analizi için kit üzerinde belirtilen şekilde pozitif kontrol standart çözeltileri ile hazırlanan eğri ile DNA örneklerindeki metilasyon oranı % olarak belirlenmiştir.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Tüm istatistiksel analizler ve grafik çizimleri GraphPad Prism® 9.3.1 bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ham veri analiz edilirken Microsoft Excel 2016 sürümü kullanılmıştır. Fizyolojik analiz ve genomik DNA metilasyon analizi, tek yönlü varyans analizi (“One-Way-AVOVA”) ile değerlendirilmiş ve analiz sırasında Tukey HSD ve Geisser-Greenhouse testi çalıştırılmıştır. Bu analizler yapılırken 3 biyolojik tekrar kullanılmıştır. GZ-PZR ile gen anlatım analizleri yapılırken iki yönlü varyans analizi (“Two-Way-AVOVA”) kullanılmış ve yine analizler sırasında Tukey HSD ve Geisser-Greenhouse testi çalıştırılmıştır. Gen anlatım analizleri 3 biyolojik tekrar ve 2 teknik tekrar ile gerçekleştirilmiştir. Tüm analizlerde, sonuçların anlamlı kabul edilmesi için $P < 0.05$ şartı sağlanmıştır. Testler gerçekleştirilirken her bir deney grubuna ait değerlerin ortalaması diğer grup ortalamaları ile karşılaştırılmıştır. P değeri GP türünde girilmiş olup, %90 kesinlikte ölçüm alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. UV-B UYGULAMA OPTİMİZASYONU

UV-B uygulamasında önemli olan değişken uzaklık değil, belirli uzaklıklarda uygulanan radyasyonun şiddetidir. Ancak farklı türde lambalarda bu şiddet değişkenlik göstereceği için deney koşullarına göre optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmelidir. Güncel yayınlar incelendiğinde, UV-B radyasyon uygulama dozunun uzaklığa bağlı olarak değiştiği görülmüş ve farklı uzaklıklardan ölçüm alınarak doz miktarları belirlenmiştir.

Özel tasarlanmış kabin içerisinde, deney sırasında kullanılan UV-B lambanın sağladığı radyasyon dışında bir radyasyon kaynağı olmadığı, kabinde karanlık ortamda alınan kontrol ölçümleri ile gösterilmiştir. Beklendiği gibi değerler her ölçüm için $0 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ olarak kaydedilmiştir. 10 cm uzaklık değerinin altında lamba ile örnekler arasındaki mesafenin sıcaklık stresine yol açacak kadar yakın olduğu tespit edilerek bu mesafenin altındaki değerler optimizasyon sürecinden çıkarılmıştır. Ölçümler sırasında Petri kabı kapağının UV-B radyasyonu yaklaşık %30 miktarında filtrelediği belirlenmiştir. Bu nedenle ilerleyen deneylerde Petri kabı kapağı olmadan alınacak ölçümler için, kabin içerisinde her aşamada sterilizasyonun sağlanması adına bir protokol oluşturulmuştur. Kabin kapağı, kabine örnekleri yerleştirme aşaması haricinde sürekli olarak kapalı tutularak ve her kapak açılışında kabin içerisi %70'lik etil alkol ile temizlenip dezenfekte edilerek örneklerin kontaminasyona maruz kalması önlenmiştir. Ayrıca kabinin bulunduğu laboratuvar ortamının sterilizasyonu ve temizliği sağlanmıştır.

Uygulama dozu ve süresi için gerçekleştirilen optimizasyonlarda literatürdeki farklı örnekler üzerinden gidilmiş (Malčovská ve diğ., 2014; Tripathi ve diğ., 2017b) ve $100 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$, $585 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ ve $800 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ dozlarında farklı sürelerde uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon kapsamında uygulama süreleri, 60 dk, 120 dk, 150 dk, 300 dk ve 450 dk olacak şekilde belirlenmiş, uygulamanın hemen ardından ve 28 gün sonra bitki hasat edilmiştir. Optimizasyonlar 3 biyolojik tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Bitkilerin, UV-B radyasyon uygulaması karşısındaki tepkisini anlamlandırmak için total klorofil miktarlarındaki değişim ve hücre zarı iyon sızıntısı değerleri kaydedilmiştir.

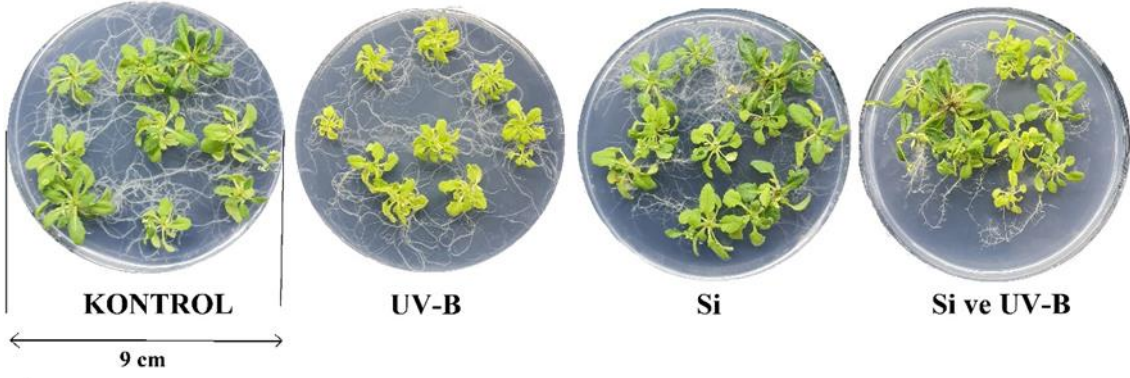
Ayrıca UV-B uygulaması sırasında bitki yaşını optimize etmek için 12, 17 ve 22 günlük bitkiler kullanılmıştır. 12. gün radyasyon uygulaması bitkilerin ölümü ile sonuçlanmıştır. 22 günlük bitkilerde gerçekleştirilen uygulama ise yeterli stres cevabına yol açmamıştır. 17. gün uygulama yapılan bitkilerde stres yanıtı morfolojik ve fizyolojik olarak gözlenip, bu grupta UV-B uygulaması yapılmasına ve analizlerin ise 28. gün gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

Bitkilerin yapraklarında kıvrılma, tüylenme, bitkinin uzunluğu ve yaprak sayısı, ayrıca yapraklarda görülen renk değişikliği gibi morfolojik parametreler göz önüne alındığında 17. gün 1 saat UV-B uygulamasının ($800 \mu\text{Watt/cm}^2$) bu çalışma için en uygun koşullara sahip olduğuna karar verilmiş ve çalışmanın devamında bu koşullar kullanılmıştır. Uygulama sonrasında bitkiler 28. günde hasat edilmiştir.

Optimizasyon sonucunda deney grupları şu şekilde belirlenmiştir:

- Kontrol: MS besiyerinde çimlendirilen ve 28 günlük olana kadar büyütülen *A. thaliana* Col-0 kontrol grubu. Bu grupta silikon veya UV-B uygulaması yapılmamıştır.
- UV-B: MS besiyerinde çimlendirilen ve 28 günlük olana kadar büyütülen *A. thaliana* Col-0 deney grubu. Bu gruba silikon uygulaması yapılmamış ancak 17 günlükken 1 saat boyunca $800 \mu\text{Watt/cm}^2$ UV-B uygulaması yapılmıştır.
- Si: 1 mM silikon uygulanmış MS besiyerinde çimlendirilen ve 28 günlük olana kadar büyütülen *A. thaliana* Col-0 deney grubu. Bu gruba UV-B uygulanmamıştır.
- Si ve UV-B: 1 mM silikon uygulanmış MS besiyerinde çimlendirilen ve 28 günlük olana kadar büyütülen *A. thaliana* Col-0 deney grubu. Bu gruba ayrıca 17 günlükken 1 saat boyunca $800 \mu\text{Watt/cm}^2$ UV-B uygulaması yapılmıştır.

Bulgular sunulurken, deney grupları burada belirtildiği şekilde; “Kontrol”, “UV-B”, “Si”, “Si ve UVB” kısaltmalarıyla ifade edilecektir. Uygulama yapılan deney gruplarını temsil eden görsel Şekil 4.1 ile verilmiştir.



Şekil 4.1: Deney gruplarının temsili görseli.

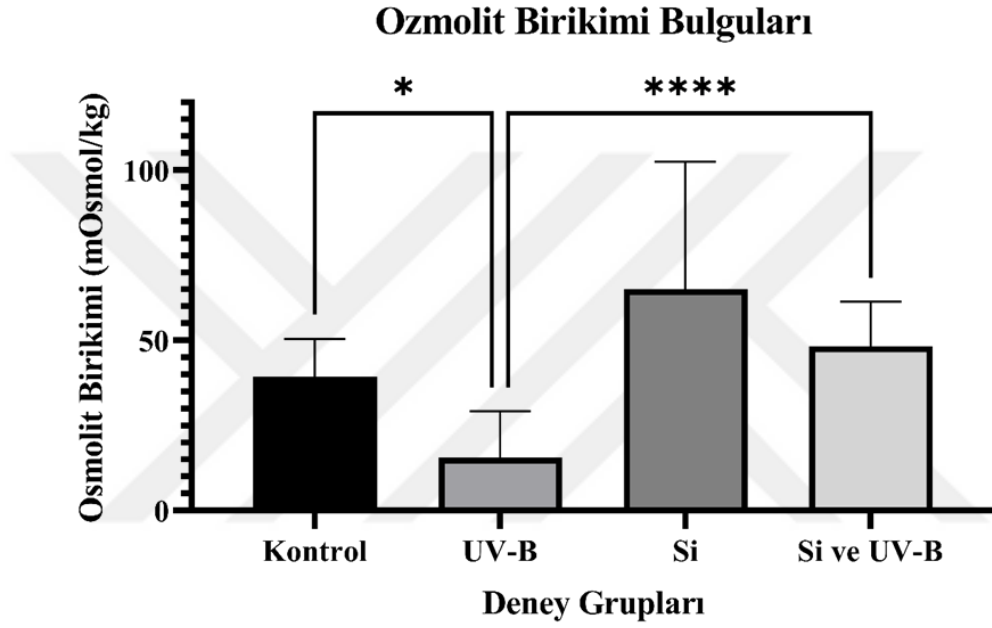
4.2. STRES UYGULAMASININ FİZYOLOJİK ETKİLERİ

A. thaliana Col-0 bitkisinde silikonun UV-B radyasyon stres yanıtındaki etkilerinin fizyolojik açıdan anlaşılabilmesi adına ozmolit birikimi ve hücre zarı iyon sızıntısı analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizlerden elde edilen bulgular kısım 4.2.1 ve 4.2.2 içerisinde verilmiştir. Analiz sonuçlarının istatistiksel yorumlaması için tek yönlü varyans analizi (“One-Way-ANOVA”) testi, GraphPad Prism® 9.3.1 bilgisayar programı ile çalıştırılmıştır. Test gerçekleştirilirken her bir satırın tekrarlı ölçümleri temsil ettiği belirtilmiş, Geisser-Greenhouse analizi ile çalıştırılmış ve Tukey HSD testi uygulanmıştır. Her bir gruptaki değerlerin ortalaması diğer gruplar ile karşılaştırılmıştır. *p* değeri GP türünde girilmiş olup, %90 kesinlikte ölçüm alınmıştır.

4.2.1. Ozmolit Birikim Analizi Bulguları

A. thaliana’da silikon uygulamasının UV-B stres cevabına olan etkisinin araştırılması adına 28 günlük bitki örnekleri üzerinde ozmolit birikim analizi gerçekleştirilmiştir. Her bir deney grubundan ve biyolojik tekrardan elde edilen ozmolit birikimi miktarları Şekil 4.1 içerisinde karşılaştırılmıştır ve veriler standart hata değerleriyle birlikte Tablo 4.1’de verilmiştir. Ozmolit birikim değerlerinin UV-B uygulaması altındaki değişikliğinin anlamlandırılması için gerçekleştirilen 3 biyolojik tekrardan elde edilen veriler incelendiğinde, %65 ortalama ile en yüksek ozmolit birikiminin “Si” grubunda olduğu görülmüştür. “UV-B” grubunda ise ozmolit birikimi %15,66 ile en düşük olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile “UV-B” grubu arasındaki farklılık istatistiksel açıdan Tukey HSD testine göre $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edilmiştir. Yalnızca silikon uygulanan grupların ortalama ozmolit birikim değeri %65 olarak görülse de standart hata değerinin yüksek olması nedeniyle, diğer gruplar ile istatistiksel açıdan anlamlı

bir sonuç verecek şekilde karşılaştırılamamıştır. Ancak “Si ve UV-B” grubu ile “UV-B” grubu arasındaki farklılık oldukça yüksek seviyede, $p < 0.0001$ düzeyinde, anlamlı bulunmuştur. Her bir grup birbiri ile karşılaştırılmış olup, yalnızca anlamlı bir değişim gösteren gruplar grafikte yıldız işareti ile gösterilmiştir. Sonuç olarak, gerçekleştirilen çalışmada UV-B radyasyon stresinin *A. thaliana* Col-0’da ozmolit birikimini azalttığı ve 1 mM *in vitro* silikon varlığında UV-B’nin ise ozmolit birikimini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı görülmüştür.



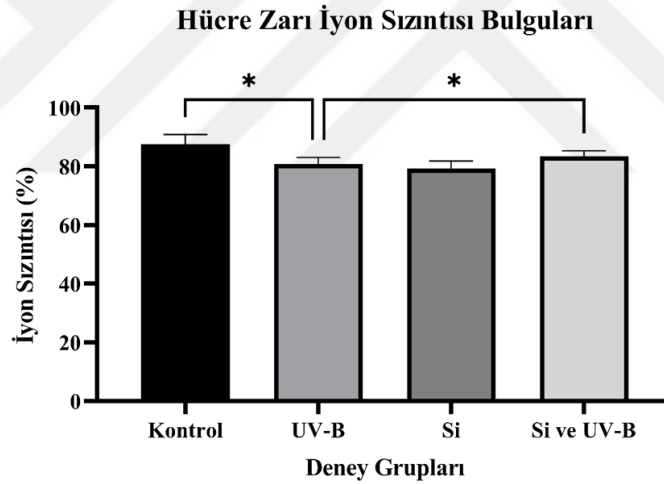
Şekil 4.2: Deney gruplarında ozmolit birikimi değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.1: Ozmolit birikimi değerleri.

Deney Grupları	Ozmolit Birikim Değerleri (mOsmol/kg)
Kontrol	39,33±6,43
UV-B	15,66±7,79
Si	65±21,65
Si ve UV-B	48,33±7,51

4.2.2. Hücre Zarı İyon Sızıntısı Testi Bulguları

A. thaliana'da silikon uygulamasının UV-B stres cevabına olan etkisinin fizyolojik seviyede araştırılması adına hücre zarı iyon sızıntısı testi gerçekleştirilmiştir. Her bir deney grubundan ve 3 ayrı biyolojik tekrardan alınan veriler Şekil 4.2 içerisinde karşılaştırılmıştır ve elde edilen veri Tablo 4.2'de verilmiştir. Kontrol grubunda %87,559 olarak ölçülen iyon sızıntısı değerinin, “Si” deney grubunda %79,234 değerine gerilediği görülmüştür. Tek yönlü varyans analizi sonucunda kontrol grubu ile “UV-B” grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı görülmüştür. Aynı şekilde “UV-B” ile “Si ve UV-B” grupları arasındaki farklılık da $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olarak kaydedilmiştir. Her grup kendi içerisinde karşılaştırılmış olup, sadece anlamlı bir değişim gösteren gruplar grafikte yıldız işareti ile gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlarda, UV-B stresinin hücre zarı iyon sızıntısı miktarını azalttığı ve 1 mM *in vitro* silikon varlığında UV-B uygulamasının ise arttırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3: Deney gruplarında hücre zarı iyon sızıntısı değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.2: Hücre zarı iyon sızıntısı değerleri.

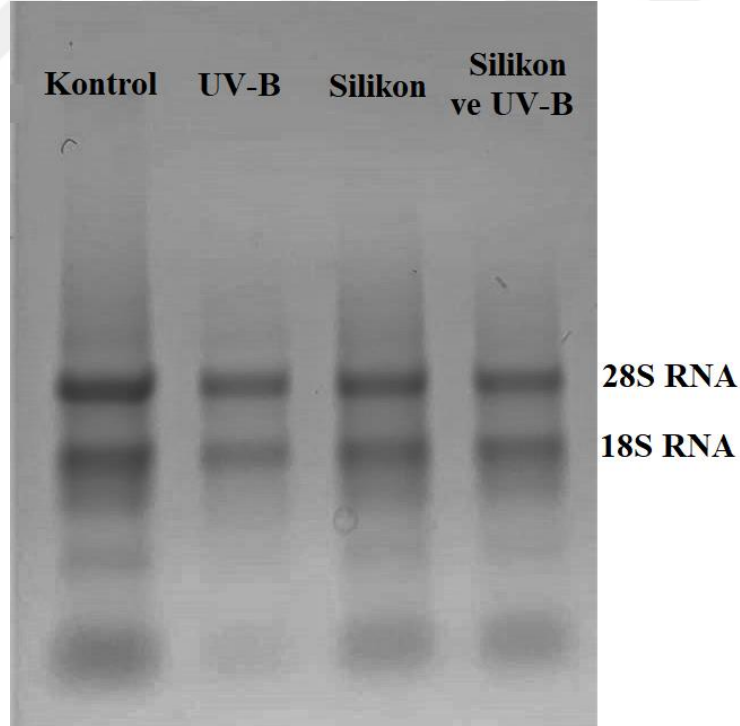
Deney Grupları	Hücre Zarı İyon Sızıntısı (%)
Kontrol	87,559±1,92
UV-B	80,809±1,29
Si	79,234±1,45
Si ve UV-B	83,416±1,08

4.3. GEN ANLATIM ANALİZLERİ

UV-B stresi altında silikon uygulaması gerçekleştirilen *A. thaliana* bitkisinde, abiyotik stres cevabında ve özellikle UV-B stres yanıtında rol oynadığı bilinen *DGK2*, *CHS*, *FLC*, *Rad51* ve *UVR8* genlerinin anlatım düzeyleri GZ-PZR ile analiz edilmiştir.

4.3.1. RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezlenmesi

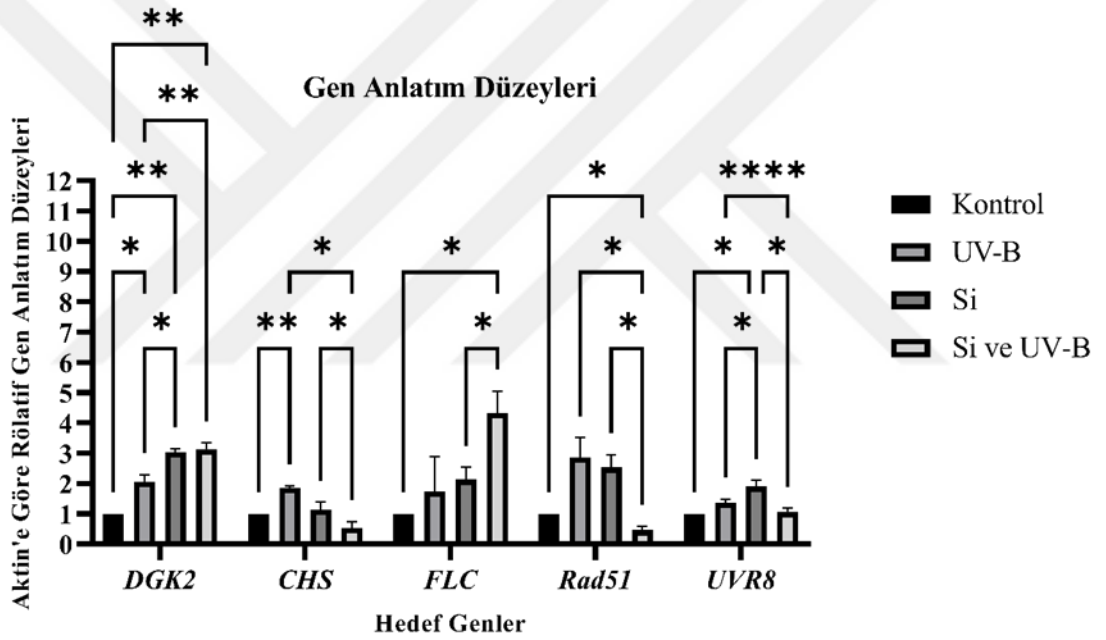
RNA izolasyonu kısım 3.5.1. içerisinde anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen RNA'nın bütünlüğü agaroz jel elektroforez ile kontrol edilmiştir (Şekil 4.4). Ayrıca RNA saflığı Thermo scientific, Nanodrop-2000 ile ölçülerek A260/A280 değeri yaklaşık 2.0 olan RNA'lar saf olarak değerlendirilmiştir. Bütünlüğü ve saflığı uygun olan RNA'lardan GZ-PZR'de kalıp olarak kullanılmak üzere cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. GZ-PZR'de kullanılacak primerlerin bağlanma sıcaklıkları Dereceli polimeraz zincir reaksiyonu ile optimize edilmiştir. *Aktin-2* ve *DGK2* için optimum uzama sıcaklığı 65 °C; *CHS*, *FLC*, *UVR8* ve *Rad51* için ise 63,5 °C olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4: *A. thaliana* bitkisinden izole edilmiş total RNA'nın agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi.

4.3.2. GZ-PZR Bulguları

GZ-PZR analizleri ile *A. thaliana* Col-0 bitkisinde *DGK2*, *CHS*, *FLC*, *Rad51* ve *UVR8* genlerinin *Aktin*'e göre rölatif gen anlatımı seviyeleri ölçülmüştür. Bulgular Şekil 4.5'de verilen grafik üzerinde gösterilmiştir. Ayrıca hedef genlerin *Aktin*'e göre rölatif gen anlatımı kat sayıları, 3 biyolojik tekrarın ortalaması ve standart hata değerleriyle birlikte Tablo 4.3'te verilmiştir. Gen anlatım düzeylerinin istatistiksel yorumlaması için iki yönlü varyans analizi ("Two-Way-ANOVA") ve Tukey HSD testi, GraphPad Prism® 9.3.1 bilgisayar programı ile çalıştırılmıştır. *p* değeri GP türünde girilmiş olup, %90 kesinlikte ölçüm alınmıştır. $p < 0.05$ düzeyinde değerler anlamlı olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.5: GZ-PZR analizleri sonucunda *A. thaliana* Col-0 bitkisinde hedef genlerin *Aktin*'e göre rölatif gen anlatımı seviyeleri. Grafik üzerinde yalnızca istatistiksel olarak anlamlı kabul edilen değişimler yıldız işareti ile gösterilmiştir.

DGK2 gen anlatımındaki değişiklikler göz önüne alındığında, "UV-B" deney grubunda gen anlatımının kontrole göre yaklaşık 2 kat arttığı görülmüştür. "Si" grubunda ise kontrole göre gen anlatımında 3 kat artış görülmektedir. "Si" ile "Si ve UV-B" deney grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Sonuç olarak hem silikon hem UV-B uygulamasının *DGK2* gen anlatımını arttırdığı ortaya konmuş ancak bu etkinin sinerjistik olmadığı gösterilmiştir. *CHS* geninde de "UV-B" grubunda gen anlatımı kontrol grubuna göre

yaklaşık 2 kat artmıştır. Ancak silikon uygulamasının *CHS* gen anlatımını kendi başına etkilememesine rağmen UV-B ve silikonun birlikte uygulaması sonucu gen anlatımının kontrole göre %80 azaldığı gösterilmiştir. Silikonun *CHS* gen anlatımını direkt olarak etkilediği söylenemese de UV-B uygulamasıyla birlikte silikon, gen anlatımının azalmasına yol açmıştır. *FLC* geni için durum *CHS*'de olduğunun tam tersidir. “Si ve UV-B” grubundaki gen anlatım artışı hem kontrole hem “Si” grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır. Yani burada, silikon ile UV-B'nin birlikte uygulanması gen anlatımının artmasına yol açmıştır. Ancak benzer şekilde yalnızca silikonun doğrudan etkisi görülmemiştir.

Rad51 gen anlatımları değerlendirildiğinde, “Si ve UV-B” grubunda gen anlatımında hem kontrole hem “Si” grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülür. Diğer gruplar kendi içerisinde karşılaştırıldığında değişimler iki yönlü varyans analizinde anlamsız olarak sonuç vermiştir. *Rad51* gen anlatım düzeyleri de *CHS* ve *FLC* gibi silikon ve UV-B'nin birlikte uygulanması durumunda etkilenmektedir.

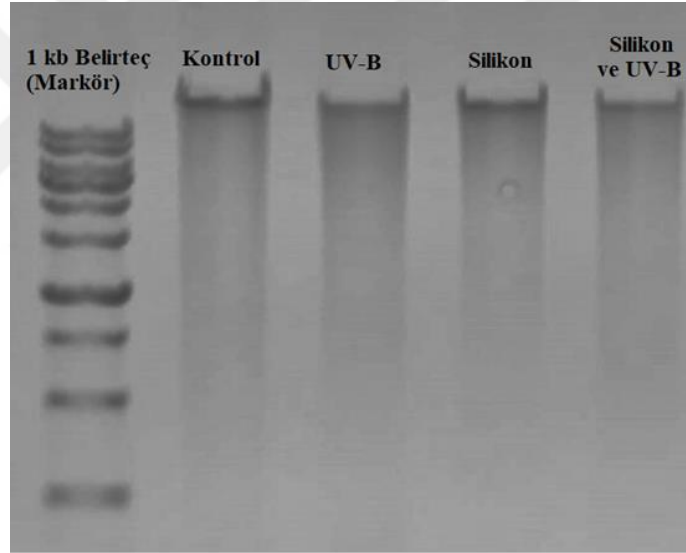
Son olarak *UVR8* gen anlatım düzeyleri değerlendirildiğinde en büyük farklılığın “UV-B” ile “Si ve UV-B” deney grupları arasında olduğu görülmüştür. UV-B uygulaması tek başına gen anlatımını arttırırken, silikon ve UV-B'nin birlikte uygulanması gen anlatım seviyelerini kontrol grubunun gen anlatım seviyesine kadar geriletmiştir. Ancak yalnızca silikon uygulanan grupta da kontrole göre gen anlatımında anlamlı bir artış görülmüştür.

Tablo 4.3: GZ-PZR analizleri sonucunda *A. thaliana* Col-0 bitkisinde hedef genlerin *Aktin*'e göre rölatif gen anlatımı kat sayıları.

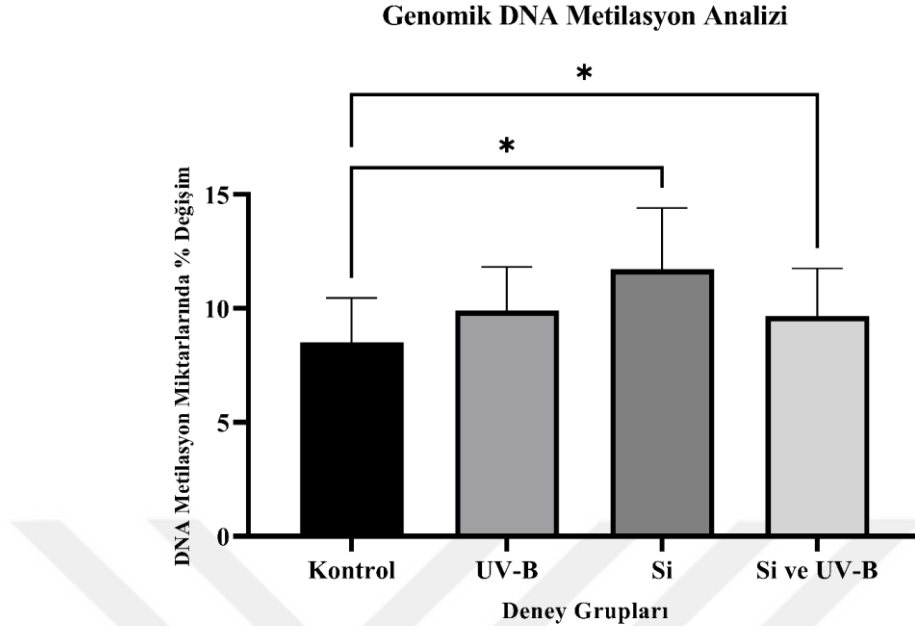
	Hedef Genler				
Deney Grupları	<i>DGK2</i>	<i>CHS</i>	<i>FLC</i>	<i>Rad51</i>	<i>UVR8</i>
UV-B	2,07±0,13	1,87±0,03	1,73±0,66	2,87±0,37	1,37±0,06
Si	3,03±0,06	1,13±1,14	2,13±0,23	2,53±0,24	1,90±0,11
Si-UV-B	3,13±0,20	0,20±0,12	4,33±0,40	0,47±0,06	1,07±0,06

4.4. GENOMİK DNA METİLYASYON ANALİZLERİ

DNA izolasyon sonrasında agaroz jel elektroforez üzerinde kontrol edilmiştir (Şekil 4.6). Ardından *A. thaliana*'da UV-B silikon uygulamasının UV-B stres cevabına olan epigenetik olarak etkisinin araştırılması adına genomik DNA metilasyon miktarları ölçülmüştür. Her bir deney grubundan elde edilen değerler Şekil 4.7 içerisinde karşılaştırılmış ve ham veri Tablo 4.4'te sunulmuştur. Deneyler 3 biyolojik tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel yorumlama için GraphPad Prism® 9.3.1 bilgisayar programı ile tek yönlü varyans analizi ("One-Way-ANOVA") testi uygulanmıştır. Her bir satırın tekrarlı ölçümleri temsil ettiği belirtilerek, Geisser-Greenhouse analizi ve Tukey HSD testi çalıştırılmıştır. Her bir sütundaki değerlerin ortalaması diğer sütunlar ile karşılaştırılmış ve *p* değeri GP türünde girilerek %90 kesinlikte ölçüm alınmıştır.



Şekil 4.6: *A. thaliana* bitkisinden izole edilmiş genomik DNA'nın agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi.



Şekil 4.7: Deney gruplarında genomik DNA metilasyonu miktarlarının karşılaştırılması.

Tablo 4.4: Genomik DNA metilasyonu analizi sonucunda *A. thaliana* Col-0 bitkisinde yüzde olarak metilasyon oranları.

Genomik DNA Metilasyon Oranı (%)	Ortalama Değerler (Standart Hata Değerleri ile Birlikte Verilmiştir)
Kontrol	8,51±1,12
UV-B	9,91±1,10
Si	11,72±1,54
Si ve UV-B	9,65±1,21

Genomik DNA metilasyonu yüzdeleri incelendiğinde, “Si” ile “Si ve UV-B” deney gruplarında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Yalnızca UV-B radyasyon stresine maruz kalan gruptaki değişim ise anlamlı olarak kabul edilmemiştir. Sonuç olarak silikonun, UV-B varlığında veya tek başına uygulandığında genomik DNA metilasyonu yüzdesinde artışa neden olduğu ortaya konmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Güncel bilimsel çalışmalar, silikonun bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi indükleyici ve aynı zamanda biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında destekleyici etkisi olduğunu göstermiştir (Balakhnina ve Borkowska, 2013; Liang ve diğ., 2015e). Silikonun bitki fizyolojisi ve stres yanıtları üzerindeki etkisi aktif olarak çalışılmaya devam edilen ve dikkat çeken bir konudur (Souri ve diğ., 2021). Günümüzün en büyük tarımsal problemlerine doğrudan ve dolaylı olarak sebebiyet veren küresel ısınma ve beraberinde getirdiği ozon tabakasındaki incelme de pek çok araştırmaya konu olmaktadır (Forster ve diğ., 2011). Bu problem dolayısıyla atmosferin stratosfer tabakasından geçerek yeryüzüne ulaşan UV-B radyasyon miktarındaki artış, yeryüzündeki tüm canlılarla birlikte bitki örtüsünü de tehdit etmekte ve yakın gelecekte ciddi mahsul kayıplarına neden olabileceği öngörülmektedir (Kakani ve diğ., 2003; Caldwell ve diğ., 2007; Sharma ve diğ., 2017). 2020'den sonra yayınlanan bazı istatistik verilerine göre, Montreal protokolünün önerildiği şekilde uygulanması ile ozon tabakasındaki incelme hızının azaltılabileceği ve öngörülen felaket senaryolarının önüne geçilebileceği belirtilmiş olsa da (Madronich ve diğ., 2021), yeryüzüne ulaşan UV-B radyasyon miktarındaki artışın stratosferik ozon tabakasındaki incelme dışında diğer birtakım iklimsel faktörlerden de kaynaklanmakta olduğu, ayrıca önlem olarak sunulan önerilerin uygulanma yüzdelerinin belirsiz kaldığı ortaya konmuştur (Bais ve diğ., 2015). Bu nedenle, bir abiyotik stres faktörü olarak UV-B radyasyonun bitkiler üzerindeki etkisi güncel bir araştırma konusudur. Silikonun, UV-B stresinin zararlı etkilerini azaltıcı şekilde kullanılabileceği daha önceden yapılan çalışmalarda da gösterilmesine karşın (Liang ve diğ., 2015e; Tripathi ve diğ., 2017b; Mavrič Čermelj ve diğ., 2021), bitkiler üzerindeki etki mekanizmaları bütünüyle aydınlatılmamış olup, özellikle bu mekanizmaların altında yatan moleküler yolların aydınlatılması ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu noktada gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında, literatürdeki bu açığın kapatılmasına katkı sağlamak ve silikon araştırmalarını desteklemek amacıyla silikonun bitkilerde UV-B radyasyonu stres yanıtında oynadığı rol fizyolojik, transkriptomik ve epigenetik seviyelerde çalışılmıştır.

Silikonun bitkilerde stres yanıtını destekleyici bir etkisi olduğu ve bu etkinin reaktif oksijen türlerinin elimine edilmesi, antioksidan mekanizmalarının desteklenmesi ve fitohormon sinyal yollarının indüklenmesi ile ilişkili olarak meydana geldiği bilinmektedir (Souri ve diğ., 2021). Silikon ve stres ilişkisi güncel olarak araştırılmakta ve çeşitli biyotik (bitki patojeni

bakteri, mantar, nematodlar vb.) ve abiyotik stresler (sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, ağır metal, UV-B vb.) karşısındaki etkisi incelenmektedir (Liang ve diğ., 2015e). Örneğin, domates bitkisinde (*Solanum lycopersicum* L.) silikon uygulamasının biyotik stres faktörü *Ralstonia solanacearum* enfeksiyonu karşısında etkilerini moleküler seviyede inceleyen bir çalışmada, silikonun özellikle fitohormon sinyal yolağı ilişkili genlerin anlatımında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Ghareeb ve diğ., 2011). Diğer bir çalışmada ise, yine domates bitkisinde sıcaklık stresinin zararlı etkilerinin 1mM Na₂SiO₃ formunda silikon uygulaması altında azaldığı ve bununla bağlantılı olarak, bitkinin toplam kütlesinde ve fotosentetik pigmentlerinde artış olduğu gösterilmiştir (Khan ve diğ., 2020). Bu çalışmada da silikonun antioksidan metabolizmasını, ABA sinyal yollarını ve ısı şoku proteinlerini etkileyerek stres cevabını desteklediği belirtilmiştir. Ayrıca, silikonun tuz stresi yanıtıyla ilişkisi buğday bitkisinde farklı ekotipler üzerinde çalışılmış ve sonuç olarak silikonun etkisinin farklı ekotiplerde anlamlı olarak değişkenlik gösterdiği bulunmuştur (Tuna ve diğ., 2008). Bitki türlerinin ve ekotiplerinin silikon biriktirme kapasitelerinin değişkenlik göstermesi bu duruma en çok sebebiyet veren etken olarak gösterilmektedir (Snyder ve diğ., 2016; Sourı ve diğ., 2021). Yapılan benzer çalışmalarda yüksek seviyede silikon biriktirme kapasitesine sahip pirinç (Goto ve diğ., 2003; Li ve diğ., 2004), mısır (Malčovská ve diğ., 2014), buğday (Yao ve diğ., 2011; Tripathi ve diğ., 2017b) ve soya fasulyesi (Shen ve diğ., 2010a; Shen ve diğ., 2010b) bitkileri üzerinde UV-B ve silikonun etkileri incelenmiş olup, görece düşük silikon biriktirme kapasitesine sahip bir model organizma olan *A. thaliana* güncel olarak UV-B ve silikon konulu bir araştırmada yer almamıştır. Silikon alımı ve iletimi ile ilgili olarak *A. thaliana*'da yapılan bir çalışmada silikonun silisilik asit (SA)-bağımsız yollar üzerinden bitkide koruma sağlayabileceği gösterilmiş ve özellikle silikonun stres yanıtıyla olan ilişkisi konusunda ileri araştırmalar gerektiği belirtilmiştir (Vivancos ve diğ., 2016). Bu noktada, düşük silikon alımına sahip bir model bitkide silikonun UV-B stres direncine olan etkisini incelemek amacıyla bu çalışma kapsamında *A. thaliana* Columbia-0 (Col-0) seçilmiştir.

Silikon birçok farklı formda bitkilere uygulanabilir. Yapılan çalışmalarda silikonun, potasyum silikat (Yao ve diğ., 2011), silikon nanopartikülleri (Tripathi ve diğ., 2017b), sodyum silikat (Malčovská ve diğ., 2014) ve silisik asit (Li ve diğ., 2004) formlarında uygulandığı görülmüştür. Silikon bitkiler tarafından topraktan ortosilisik asit formunda alındığı ve *in vitro* çalışmalarda yaygın olarak bu formda kullanıldığı için, tez çalışmasında da ortosilisik asit formunda tercih edilmiştir (Sivanesan ve Park, 2014). Ayrıca, silikonun topraksız yetiştirme

koşullarında da bitki büyümesini ve gelişimini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (López-Pérez ve diğ., 2018). Önceden yapılan çalışmalarda, silikonun *in vitro* bitki doku kültüründe uygulanması sonucunda da bitkilerin stres dirençlerinde iyileşme olduğu görülmüş ve bu sonuçlar bir derleme yayın içerisinde sunulmuştur (Sahebi ve diğ., 2016). Tez çalışmasında hem çevresel değişkenlerin kontrolünün sağlanması hem de topraksız uygulamada silikonun etkisinin araştırılması adına deneyler *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmiştir.

UV-B radyasyonun etkilerinin araştırıldığı birçok çalışmada, UV-B'nin uygulama dozu ve süresi farklı olarak bildirilmiştir. Farklı dozlarda ve sürelerde gerçekleştirilen uygulamalarda sonuçlar değişkenlik göstereceği için literatür taramasının ardından tez kapsamında optimizasyon deneyleri yürütülmüştür. Çalışma kapsamında, UV-B uygulaması Philips marka, PL-L 36W/01/4P 1CT/25 model 167 mm toplam uzunluğa sahip UV-B Dar-bant lamba kullanılmıştır. Lamba ile örnekler arasındaki uzaklık ayarlanarak UV-B dozu $800 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ değerine sabitlenmiştir. Bu değer üzerinde bir doz elde etmek için örnekler ile lamba arasındaki uzaklık 10 cm'nin altında olmalıdır ve bu durum ayrıca yüksek sıcaklık stresine neden olacağı için $800 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ değeri limit olarak belirlenmiştir. Diğer birçok çalışmada UV-B uygulama dozu ozon hasarı cinsinden verilmiş olup, bu değerler deneylerin yapıldığı coğrafi bölgenin günlük UV-B alımı ve öngörülen ozon hasarına göre verildiği için direkt bir karşılaştırma yapılamamıştır (Shen ve diğ., 2009; Shen ve diğ., 2010a; Shen ve diğ., 2010b; Yao ve diğ., 2011). Mısır (*Zea Mays L.*) ile yapılan bir çalışmada $10.27 \text{ Watt}/\text{m}^2$ ($1027 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$) radyasyon 15 ve 30 dakika olacak şekilde uygulanmış ve iki farklı uygulama süresi de kendi arasında karşılaştırılmıştır. Lamba ile örnek arasındaki mesafeye bağlı olarak değişen UV-B dozu lambanın türüne göre farklılık göstereceği için, bu çalışmada $10.27 \text{ Watt}/\text{m}^2$ dozda ayrıca yüksek sıcaklık stresi oluştuğundan bahsedilmemiştir (Malčovská ve diğ., 2014). Buğday (*Triticum aestivum*) ile gerçekleştirilen bir diğer çalışmada daha düşük dozlarda ve uzun süreli olarak UV-B radyasyon uygulaması gerçekleştirilmiş ve bu amaçla 8 saat boyunca $0.4 \text{ W}/\text{m}^2$ ($40 \mu\text{Watt}/\text{cm}^2$) uygulama yapılmıştır (Tripathi ve diğ., 2017b). Bu gibi uygulama farklılıkları nedeniyle, gerçekleştirilen tez çalışmasının kapsamlı bir optimizasyon süreci uygulanmış ve uygulanan değerler bu optimizasyon sürecinde belirlenmiştir. Ayrıca UV-B uygulaması sonrasındaki değişkenlerinde hasat zamanı elde edilecek değerleri etkileyebileceği bilinmektedir. Örneğin, bir çalışmada, kısa süreli yüksek doz UV-B uygulamasının ardından 4 gün boyunca sürekli olarak karanlığa maruz bırakılan *A. thaliana* yapraklarında, yine 4 gün boyunca fotosentetik olarak aktif ışığa maruz bırakılan gruba göre, klorofil yıkımının UV-B'nin

dozuna bağılı olarak azaldığı ortaya konmuştur (Sztatelman ve diğ., 2015). Yine aynı çalışmada, fotosentezle ilişkili genlerin anlatımlarında ve total klorofil miktarında artış görülmüştür. Bu gibi değişkenlerin sonucu etkileyeceği düşünülerek, gerçekleştirilen tez çalışmasında UV-B uygulamasının ardından bitkiler +25 °C’de derece bitki büyüme kabininde [25±1°C, %75 nem, 16/8 saat (aydınlık/karanlık), 105 µmol m² s⁻¹ (Panasonic FL40SS.ENW/37)] 28 günlük olana dek büyütülmüştür.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, silikonun bitkilerde UV-B stresine karşı etkilerini fizyolojik olarak anlamlandırmak için ozmolit birikimi ölçülmüş ve sonuç olarak “Si” deney grubunda ozmolit birikimi %65 ortalama ile diğer gruplara göre en yüksek değerde sonuç vermiştir. “UV-B” deney grubunda ise ozmolit birikimi %15,66 olarak kaydedilmiştir. Ozmolitler, hücre içi ozmotik strese karşı, ozmotik basıncı dengeleyerek stres yanıtı oluşturan organik moleküllerdir (Yancey, 2005) ve stres cevabı oluşturan bitkilerde ozmolit miktarında anlamlı seviyelerde artış görülmesi beklenmektedir (Ahmad ve diğ., 2013; Kosar ve diğ., 2019). Ozmolit miktarındaki artış, stres yanıtı mekanizmalarının aktif olarak işleyişte olduğunu göstermektedir. Örneğin, ozmotik strese yol açan tuzluluk karşısında silikon uygulamasının hücre zarında bütünlüğü destekleyerek ve H⁺-ATPaz pompalarını yönlendirerek sodyum iyonlarının seviyelerini düşürdüğü tespit edilmiştir (Luyckx ve diğ., 2017). Diğer bir çalışmada UV-B stresi uygulamasının *A. thaliana*’da stres yanıtını uyarak ozmolit birikimini arttırdığı gösterilmiştir (Schmidt ve diğ., 2000). Elde edilen sonuçlar UV-B uygulaması sonucu bitkide ozmotik strese karşı cevap oluşturacak mekanizmaların yeterli çalışmadığı yönündedir. Silikon uygulaması yapılmış gruplar incelendiğinde, “Si ve UV-B” grubunda ozmolit miktarının “UV-B” grubuna göre 3 kat arttığı gösterilmiştir. Bu durum, silikonun ozmolit miktarını arttırarak hücre içi ozmotik basıncın dengelenmesi ve stres cevabının oluşması konusunda destekleyici olduğunu göstermektedir. Burada, farklı ekotiplerin ozmolit birikim oranlarının da değişeceği göz önüne alınmalıdır. Örneğin farklı arpa türlerinde tuz stresinin ozmolit miktarına olan etkisini inceleyen bir çalışmada, ozmolit miktarındaki değişimler ekotipler arasında farklılık göstermiştir (Uçarlı, 2016).

Silikonun, bitkilerde özellikle *in vitro* kültürde iyileştirici özellik gösterdiği ortaya konmuştur (Sahebi ve diğ., 2016). Diğer çalışmalarda, tuz stresinde silikon uygulamasının iyon sızıntısını azalttığı gösterilmiştir (Wang ve diğ., 2010). Ancak, elde edilen sonuçlara göre, “Si ve UV-B” grubunda hücre zarı iyon sızıntısı değeri ölçülerek belirlenen zar hasarı “UV-B” grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Ozmolit birikim analizi sonuçlarıyla karşılaştırıldığında bu beklenmeyen bir sonuçtur. Başka bir çalışmada, MS besiyerinde yetiştirilen yabancı tip *A. thaliana*'da iyon sızıntısı %20 olarak ölçülmüştür (Wagner ve diğ., 2004). Bu çalışma ile karşılaştırıldığında, tez çalışmasında MS kontrol grubunun iyon sızıntısı değeri %87 ile beklenenden oldukça yüksek olarak ölçülmüştür. Bu durum hücre zarı iyon sızıntısı analizinin yorumlanmasını güçleştirmektedir. Bu durum, bitki örneklerinin çimlendirme sonrasında aktarımları sırasında mekanik strese maruz kalmasından kaynaklanabilir. Özellikle iyon sızıntısı analizi için bitki örneği seçilirken de homojen bir seçim gerçekleştirilmesi güçtür. Bu nedenle oldukça hassas bir analiz olan iyon sızıntısı, diğer analizler ile tutarlılık göstermemiştir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda silikonun bitkilerde abiyotik stres cevabına olan etkisi gen anlatım düzeyinde de incelenmiştir. Örneğin, *A. thaliana*'da bakır toksisitesi altında silikonun etkilerini araştıran bir çalışma kapsamında, 3 farklı *metallothionein* (MT) geninin anlatımları GZ-PZR ile incelenmiş olup, silikon varlığında anlatım seviyelerinin yükseldiği kaydedilmiştir (Khandekar ve Leisner, 2011). Ayrıca silikon ve silikon nanopartiküllerinin yüksek sıcaklık stresi üzerindeki etkilerini araştırmak adına buğdayda yapılan bir çalışmada, ısı şoku proteinleriyle ilişkili “*Plasma membrane intrinsic protein*” (*TaPIP1*) ve “*Nodulin 26-like intrinsic protein*” (*TaNIP2*) gen anlatım seviyeleri silikon uygulamasının, silikon nanopartikül uygulamasına göre bu genlerin anlatımlarını ve dolaylı olarak rölatif su miktarını arttırdığı gözlemlenmiştir (Younis ve diğ., 2020). Sonuç olarak, Younis ve arkadaşları silikonun, yüksek sıcaklık stresi karşısında silikon nanopartiküllerine göre daha etkili olacağını göstermiştir. Bu gibi çalışmalar doğrultusunda, gerçekleştirilen tez çalışmasında da GZ-PZR kullanılarak stres cevabı ve UV-B ilişkili hedef genlerin gen anlatım seviyeleri incelenmiştir. Stres yanıtlarıyla ilişkili olarak belirlenen hedef genler; *DGK2* (*Diaçilgliserol kinaz 2*), *CHS* (*Kalkon sentaz*), *FLC* (*Çiçeklenme Bölgesi C*), *Rad51* (*RAS ile ilişkili diyabet proteini 51*) ve *UVR8* (*UV Direnci Bölgesi 8*)'dir.

Diaçilgliserol kinaz enzimleri (DGK), fosfatidik asit (PA) sentez yollarında görev almakta ve bitkilerde fitohormon salınımı, stoma hareketleri ve hücre zarı geçirgenliği gibi biyolojik süreçleri kontrol etmektedir (Arisz ve diğ., 2009). PA, hücre zarında bulunan stres algılayıcı sinyal yollarının en önemli bileşenlerinden bir tanesidir ve PA sentezinde rol oynayan DGK enzimleri bu nedenle stres yanıtıyla doğrudan ilişkilidir. *DGK* geninin anlatımının farklı

abiyotik stres türleri karşısında değişiklik gösterdiği kaydedilmiştir (Yoon ve diğ., 2016; Kue Foka ve diğ., 2020). *A. thaliana*'da bulunan ve DGK enzimini kodlayan 7 DGK izoziminden biri olan DGK2 geninin, UV-B radyasyon stresi ve *in vitro* silikon uygulamasından ne şekilde etkileneceği konusuna ilişkin herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle gerçekleştirilen tez çalışmasında DGK2 gen anlatımı incelenmiştir. Elde edilen verilere göre, kontrole göre rölatif DGK2 gen anlatım katsayısı “UV-B” grubunda 2,07 olarak kaydedilirken, sırasıyla “Si” ile “Si ve UV-B” gruplarında 3,03 ve 3,13 olarak ölçülmüştür. UV-B uygulaması, stres sinyal yollarıyla ilişkili DGK2 gen anlatımını indüklerken, silikon uygulamasının bu etkiyi daha da arttırdığı açıkça görülmektedir. DGK2 gen anlatımının UV-B stresi olan bağlantısı BR moleküler yolları üzerinden açıklanabilir. UV-B sinyal yollarında, UV-B'yi algılayarak monomer hale gelen UVR8 proteini BR sentezinden sorumlu genlerin aktivasyonunu dolaylı yoldan engellemektedir (Tossi ve diğerleri, 2019). Wu ve arkadaşlarının 2014 çalışmasına göre, BR sinyalleşmesini içeren bir transkripsiyon faktörü olan BZR1'in oranı, fosfatidik asit (PA) tedavisi ile azaltılmıştır. PA'nın varlığının, BZR1 gen ekspresyonunu baskılayarak BR sinyal yolunu baskılayabileceği sonucuna varılabilir. Bu çalışmada PA sentezinde yer alan genlerden biri olan DGK2 incelenmiştir. Elde ettiğimiz DGK2 gen ekspresyon verileri, beklendiği gibi UVR8 gen ekspresyon verileri ile doğru orantılıdır. Ek olarak, silikonun DGK2 gen ekspresyonunu artırarak, PA sinyal yolu yoluyla bitkilerde UV-B stresine bir yanıt oluşturabileceği sonucuna varılabilir.

Kalkon sentaz (CHS) bitkilerde sekonder metabolitlerin biyosentezinden sorumlu genler arasındadır. CHS'nin anlatımı doğrudan UV-B radyasyon ve yüksek seviyede ışık stresine karşı artarak bitkide stres yanıtını tetiklemektedir (Kalbina ve Strid, 2006; Heijde ve Ulm, 2012; Zhang ve diğ., 2018b). CHS gen anlatımı, UV-B radyasyon reseptörü UVR8 proteini ile ilişkilidir (Rizzini ve diğ., 2011). Doğrudan doğal Güneş ışığı uygulaması altında CHS ve onun ışıkla indüklenen transkripsiyon faktörü HY5 gen anlatımı artış göstererek yabanil tip *A. thaliana*'da CHS proteini birikmesini sağlar (Moriconi ve diğ., 2018). Bu alandaki öncü çalışmalardan birinde, UV-B uygulamasının CHS geninin anlatımını 3.5 kat arttırdığı gösterilmiştir (Fuglevand ve diğ., 1996). UV-B radyasyon stresine karşı yanıt oluşturmada *A. thaliana*'da bitki epigenetik hafızasını tetikleyerek öncül stres uygulamasının (“priming”) etkilerini araştıran bir başka çalışmada (Xiong ve diğ., 2021), kontrol grubuna göre, UV-B hasarı oluşturacak şekilde uygulamaya maruz bırakılan gruplarda CHS gen anlatımının 9 kat arttığı görülmüştür. Aynı çalışmada daha düşük dozda UV-B uygulanan “priming” gruplarında

da *CHS* gen anlatımı 3 kat artmıştır. Gerçekleştirilen tez çalışmasında ise kontrole göre rölatif *CHS* gen anlatım katsayısı “UV-B” grubunda 1,87 olarak kaydedilirken, sırasıyla “Si” ile “Si ve UV-B” gruplarında 1,13 ve 0,20 olarak ölçülmüştür. UV-B uygulaması sonucu *CHS* gen anlatımında istatistiksel olarak anlamlı bir seviyede artış görülmesine rağmen, Xiong ve diğ. (2021)’nin çalışmasında görülen katsayı artışına göre düşük bir değer elde edilmiştir. UV-B dalga boyundaki değişiklikler bitkide oluşan yanıtı etkilemektedir. Bu noktada, gerçekleştirilen tez çalışmasında 311 nm dalga boyunda pik veren dar bant bir lamba kullanıldığı ve diğer çalışmada ise 290-315 nm aralığında geniş bantta pik veren lamba tercih edildiği göz önünde bulundurulmalıdır. *CHS* gen anlatımının silikon uygulaması altındaki değişimi ise direkt olarak UV-B uygulamasında çalışılmamış ancak *Triticum aestivum* L. (buğday) bitkisinde kuraklık stresi ile olan ilişkisi araştırılmıştır (Ma ve diğ., 2016). Bu çalışmada *CHS* gen anlatımı kuraklık stresi şiddetinin çoğalmasıyla birlikte artmış, fakat silikon uygulandığında gen anlatımı azalmıştır. Diğer bir çalışmada gül bitkisinin yapraklarında silikon uygulaması altında *CHS* gen anlatımı araştırılmış ve sonuç olarak uygulamadan 72 saat sonrasına kadar gen anlatımının 2.6 kat artış gösterdiği ancak 120. saat yapılan ölçümlerde bu değer 2.2’ye gerilediği görülmüştür (Shetty ve diğ., 2011). Gerçekleştirilen tez çalışmasında UV-B uygulaması *CHS* gen anlatımını arttırmış ve Ma ve diğ. (2016)’nin çalışmasına benzer şekilde “Si ve UV-B” grubunda gen anlatım kat sayısı kontrole göre düşük bulunmuştur. *CHS* geninin bitkilerde sekonder metabolit üretimini indükleyerek stres cevabı oluşturduğu göz önüne alınırsa, UV-B stresi karşısında bu yanıtın uyarıldığı ancak silikonun bu etkiyi tersine çevirdiği söylenebilir. Bu durumda silikon uygulaması bitkide stresi tolere ederek stres cevabının tetiklenmesinin önüne geçiyor olabilir.

Çiçeklenme Bölgesi C (FLC) geninin aktivitesi bitkilerde çiçeklenmeyi düzenleyen ana etkenlerden bir tanesidir (Kennedy ve Geuten, 2020). Çiçeklenme periyotlarının biyotik ve abiyotik stres faktörlerinden etkilendiği bilinmektedir (Wada ve Takeno, 2010). Bu nedenle *FLC* gen anlatımının stres faktörlerinden etkilenmesi kaçınılmazdır. Örneğin, kısa süreli soğuk stresi uygulamasının *A. thaliana*’da *FLC* gen anlatımını arttırarak çiçeklenmeyi baskıladığı gösterilmiştir (Jung ve diğ., 2013). Yapılan bir çalışmada, UV-B radyasyonun *FLC* gen anlatımını 2 kat arttırdığı ve çiçeklenme periyodunda gecikmelere sebep olduğu ortaya konmuştur (Dotto ve diğ., 2018). Yine de bitkilerde *FLC* gen anlatımının UV-B radyasyon ve *in vitro* silikon uygulaması altında ne şekilde değiştiği bilinmemektedir. Tez çalışmasında elde ettiğimiz sonuçlara göre, *FLC* gen anlatımı katsayısı “UV-B” grubunda 1,73 olarak

kaydedilirken, sırasıyla “Si” ile “Si ve UV-B” gruplarında 2,13 ve 4,33 olarak ölçülmüştür. Burada UV-B uygulamasının *FLC* gen anlatımını arttırması beklenen bir sonuçtur. İlginç şekilde, silikon uygulaması bu etkiyi daha da arttırmış, hatta “Si ve UV-B” grubundaki artış ile bu etki sinerjistik olarak ölçülmüştür. Çiçeklenme oranı morfolojik olarak değerlendirildiğinde ise en yüksek çiçeklenme oranı, kontrol grubunda %10 olarak ölçülmüştür. Sırasıyla “UV-B”, “Si”, “Si ve UV-B” gruplarında bu oranlar %6, %3 ve %6 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre *FLC* gen anlatımı daha fazla baskılanmasına rağmen “Si ve UV-B” grubunda çiçeklenme yüzdesi “UV-B” grubu ile benzer görülmektedir. Bu durum, bitkilerde çiçeklenme mekanizmalarını *FLC* anlatımının baskılanması dışında tetikleyen diğer yollarla UV-B ve silikon uygulamasının ilişkili olabileceğini işaret etmektedir. Bu nedenle UV-B ve silikonun çiçeklenmeye olan etkisinin moleküler seviyede aydınlatılması için ilave araştırmalar gerekmektedir.

RAS ile İlişkili Diyabet Proteini 51 (Rad51) geni, prokaryotlarda bulunan ve UV-B radyasyon stresine karşı cevap oluşturulmasında görev alan *RecA* geninin ökaryotik homologudur (Khazi ve diğ., 2003). *A. thaliana Rad51*’in DNA’da çift zincir kırıklarının tamirinde rol oynadığı ve bu şekilde stres yanıtında görev aldığı bilinmektedir (Vispé ve diğ., 1998; Osakabe ve diğ., 2005). Yapılan bir çalışmada, UV-B radyasyonu altında *A. thaliana* bitkisinde *Rad51* anlatımında artış görülmesi, bitkinin DNA hasar tamir mekanizmalarının indüklendiği şeklinde yorumlanmıştır (Ries ve diğ., 2000). *Rad51* geninin bitkilerde silikonla olan ilişkisi daha önce incelenmemiş olup, gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında UV-B radyasyon stresi altında silikon uygulaması ile gen anlatımının ne derece etkilendiği GZ-PZR ile gösterilmiştir. Sonuç olarak, *Rad51* gen anlatımı katsayısı “UV-B” grubunda 2,87 olarak kaydedilirken, sırasıyla “Si” ile “Si ve UV-B” gruplarında 2,53 ve 0,47 olarak ölçülmüştür. UV-B uygulamasında gen anlatımında görülen artış beklendiği gibidir. Ancak “Si” grubunda da yaklaşık UV-B uygulanmış gruptaki kadar gen anlatımı artmıştır. Bu sonuç, silikonun DNA hasar tamir mekanizmalarıyla moleküler olarak ilişkili olduğunu gösteriyor olabilir. Ancak, “Si ve UV-B” grubunda *Rad51* gen anlatımında ciddi bir azalma görülmektedir ki burada uygulanan silikon ve UV-B dozunun bitkide DNA tamir mekanizmalarını yeterli çalışmayacak duruma getirmiş olduğu düşünülebilir. İkinci bir yorum ise, silikonun “Si ve UV-B” grubunda DNA hasar tamirini uyarmaya gerek kalmayacak şekilde UV-B hasarını farklı yollar üzerinden tolere etmiş olabileceğidir. Her şekilde, silikonun DNA tamir mekanizmaları üzerindeki etkisini anlamak adına ek araştırmalar gerçekleştirilmelidir.

Doğrudan UV-B yanıtında rol oynayan UV-B fotoreseptörünü kodlayan “*UV direnci bölgesi 8*” (*UVR8*) geni spesifik bir moleküler sinyal yolağı üzerinden UV-B radyasyonun bitki tarafından tanınmasını ve stres cevabının oluşturulmasını sağlar (Wargent ve diğ., 2009; Rizzini ve diğ., 2011; Tilbrook ve diğ., 2013). *UVR8* fotoreseptörü ile algılanan UV-B stres sinyali COP1 ve HY5 üzerinden iletilerek gen anlatımı düzeyinde değişikliklere neden olur (Jenkins, 2009). HY5, UV-B cevabı genlerinin anlatımını artırır (Binkert ve diğ., 2014). Bu durum DNA hasar tamiri ve sekonder metabolit üretimi gibi UV-B stres cevabında görev alan moleküler yolları indükler (Li ve diğ., 2009; Shi ve Liu, 2021). Ayrıca, *A. thaliana uvr8* mutantlarında yapılan bir çalışmada UV-B stresine karşı gerçekleştirilen “priming” işleminde de *UVR8*’in kritik bir rol oynadığı gösterildi (Xiong ve diğ., 2021). Özellikle UV-B stresi karşısında etkisi çalışılmış bir gen olmasına karşın, *in vitro* silikon uygulamasının bu genin anlatımı üzerindeki etkileri konusunda literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, gerçekleştirilen tez çalışmasında *UVR8* gen anlatımı GZ-PZR ile belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, *UVR8* gen anlatımı katsayısı “UV-B” grubunda 1,37 olarak kaydedilirken, sırasıyla “Si” ile “Si ve UV-B” gruplarında 1,90 ve 1,07 olarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler, “Si” grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldüğünü ortaya koymuştur. Silikon uygulaması *UVR8* gen anlatımını indüklemiştir. Ayrıca “UV-B” grubu ile “Si-UV-B” arasındaki farklılık iki yönlü varyans analizi ve Tukey HSD testine göre anlamlı bulunmuştur. Burada UV-B uygulamasının *UVR8* anlatımını arttırması beklenen bir sonuçtur. “Si” grubundaki anlamlı artış da silikonun UV-B stres yanıtındaki destekleyici etkisinin *UVR8* yollarıyla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Ancak, “Si ve UV-B” deney grubunda gen anlatımı kontrole oldukça yakın olarak ölçülmüştür. Bu durum *Rad51* gen anlatımı sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, “Si ve UV-B” deney grubunda *UVR8*’in yeterince ifade edilmemesi sonucu stres yanıtı yollarının ve dolayısıyla DNA tamir mekanizmaları ile ilişkili *Rad51*’in anlatımının indüklenmemesi sonucuna varılabilir. Bu iki gen için “Si ve UV-B” gruplarındaki veriler birbiriyle tutarlıdır.

Epigenetik mekanizmaların bitkilerde fenotipi düzenleyerek (Graviton ve diğ., 2012) biyotik ve abiyotik stres yanıtında etkin rol oynadığı bilinmektedir (Arıkan, 2016). Canlılarda gen anlatımının düzenlenmesi ve genomik kararlılığın korunması epigenetik mekanizmaların işleyişiyle sağlanmaktadır (Kumar ve diğ., 2017). Özellikle DNA metilasyonunun bitkilerde abiyotik stres yanıtında büyük rol oynadığı açıklanmıştır (Liu ve He, 2020; Yeşildirek, 2021). Örneğin, tuz stresi ve silikon uygulanmış arpa bitkisinde DNA metilasyonu seviyelerinin

incelendiği bir çalışmada, silikon uygulamasının DNA metilasyonu yüzdesini düşürdüğü kaydedilmiştir (Stadnik ve diğ., 2022). Sıcaklık stresi üzerine gerçekleştirilen başka bir çalışmada da stres uygulaması sonucu genomik DNA metilasyonu miktarında artış görülmüştür (Tomczyk ve diğ., 2022). *Artemisia annua* L. üzerinde yapılan diğer bir çalışmada (Pandey ve Pandey-Rai, 2015) UV-B uygulamasının genomik DNA metilasyonu miktarını azalttığı gösterilmesine karşın, başka bir çalışmada (Marfil ve diğ., 2019) UV-B uygulaması metillenmiş DNA miktarını kontrole göre anlamlı şekilde arttırmıştır. Gerçekleştirilen tez çalışmasının sonuçlarında “UV-B” grubu ile kontrol arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir. Bu çalışmada silikonun UV-B stres yanıtındaki etkisi araştırılırken genomik DNA metilasyonu düzeyleri ölçülmüştür ve kontrol grubuyla “Si” ile “Si ve UV-B” grupları arasındaki farklılık anlamlı düzeyde görülmüştür. Sonuç olarak, silikon uygulaması genomik DNA metilasyonu oranını arttırmıştır. Bu durumda silikonun, UV-B varlığında veya tek başına, genomik DNA metilasyonu yüzdesinde artışa (hipermetilasyon) neden olduğu söylenebilir. Literatüre göre, sıcaklık gibi abiyotik stres faktörleri karşısında genomik DNA metilasyonunda görülen artışın silikon uygulamasıyla azalması sonucunda, UV-B stresinde de benzer bir sonuç görülmesi beklenmektedir. Ancak gerçekleştirilen çalışmada silikonun DNA metilasyonu yüzdesini arttırdığı kaydedilmiştir. Bu durum silikonun stres cevabında etki ettiği epigenetik mekanizmalar üzerinden açıklanabilir. Bu nedenle silikonun belirli genler üzerindeki epigenetik etkisi ileri çalışmalarla desteklenmelidir.

Çalışmanın sonucunda, 1 mM silikon ve 800 $\mu\text{Watt/cm}^2$ dozunda UV-B radyasyon uygulamasının *Arabidopsis thaliana* Columbia-0 (Col-0) bitkisinde, *in vitro* kültürde, ozmolit birikimini yalnızca UV-B uygulanan deney grubuna göre 3 kat arttırdığı; ayrıca, UV-B uygulanan deney grubunda ozmolit birikiminin kontrol grubu karşısında azaldığı kaydedilmiştir. Burada, silikonun ozmotik stres cevabında ozmolit miktarını arttıracak şekilde görev aldığı düşünülmüştür. Tuz stresinin silikon varlığında hücre zarı iyon sızıntısını ne derecede etkilediğini araştıran bir diğer çalışmada, silikonun iyon sızıntısını anlamlı şekilde azalttığı gösterilmesine karşın (Wang ve diğ., 2010); tez çalışmasında beklenenin aksine “Si ve UV-B” grubunda “UV-B” grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar ozmolit birikim analizleri ile de tutarlılık göstermemektedir. Ayrıca kontrol grubunda da hücre zarı iyon sızıntısı oldukça yüksek olarak ölçülmüştür. Bu durum hücre zarı iyon sızıntısı analizlerinin yorumlanmasını güçleştirmektedir. Yapılan gen anlatım analizleri sonucunda, silikon uygulamasının *DGK2* geninin anlatımını arttırdığı görülmüş ve buna bağlı olarak hücre zarı

sinyal yolları ile silikonun moleküler etki mekanizmasının ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Silikon varlığında *CHS* gen anlatımında artış görülmesine rağmen yine silikon varlığında UV-B uygulamasının bu etkiyi tersine çevirdiği görülmüştür. Bu durum silikonun sekonder metabolit üretim yollarıyla etkileşimde olabileceğini gösterir. *FLC* geninin anlatımı silikon uygulaması sonrasında artmış ve hatta “Si ve UV-B” grubundaki artış ile bu etki sinerjistik olarak ölçülmüştür. *FLC* geninin doğrudan çiçeklenmeyi baskıladığı bilinmesine rağmen “Si ve UV-B” grubunda beklenenden fazla çiçeklenme durumu gözlemlenmiştir. Bu durumda silikonun çiçeklenmeye etkisi hakkında ilave araştırmalar gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca, sadece UV-B ve sadece silikon uygulamasının *Rad51* gen anlatımını arttırdığı, ancak “Si ve UV-B” grubunda bu etkinin tersine döndüğü görülmüştür. DNA hasar tamir yollarının silikon uygulaması karşısında indüklendiği ancak “Si ve UV-B” koşulunda tam tersine bu yolların baskılanabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle silikonun DNA tamir mekanizmaları üzerinde doğrudan etkisi olabileceği söylenebilir. Çalışılan genler arasında bulunan, doğrudan fotomorfojenik UV-B yanıtında görevli *UVR8* geninin anlatımı “UV-B” ve “Si” grubunda artış göstermiş ve “Si ve UV-B” grubunda ise tersine dönmüştür. Bu durum, “Si ve UV-B” deney grubunda *UVR8*’in yeterince ifade edilmemesi sonucu stres yanıtı yollarının ve dolayısıyla DNA tamir mekanizmaları ile ilişkili *Rad51*’in anlatımının indüklenmediği şeklinde yorumlanmıştır. Son olarak, epigenetik analizler kapsamında genomik DNA metilasyonu oranları karşılaştırılmış ve silikonun, UV-B varlığında veya tek başına, genomik DNA metilasyonu yüzdesinde artışa (hipermetilasyon) neden olduğu ortaya konmuştur.

Bu çalışma ile strese karşı bir ajan olarak kullanılan silikon molekülünün UV-B stresine karşı moleküler seviyedeki etki mekanizmalarını açığa çıkartmak ve silikonun bitki stres yanıtındaki rolünü inceleyen literatüre katkıda bulunmak amaçlanmıştır. Bu bağlamda, tez çalışmasının bitkilerde “tarımsal bir çözüm olarak silikonun kullanımı” konulu çalışmalara fayda sağlayarak gıda endüstrisi ve tarım alanında iyileştirmeyi destekleyeceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, R., Lim, C.J., Kwon, S.Y., 2013, Glycine betaine: aversatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses, *Plant biotechnology reports*, 7, 49-57.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., Wilson, J., Hunt, T., 2015a, DNA, *Chromosomes and Genomes*, Molecular biology of the cell, Chapter 4, WW Norton & Company, ISBN: 978-0-8153-4432-2, 196-197.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., Wilson, J., Hunt, T., 2015b, DNA, *Chromosomes and Genomes*, Molecular biology of the cell, Chapter 4, WW Norton & Company, ISBN: 978-0-8153-4432-2, 194-196.
- Amirsadeghi, S., Robson, C. A., Vanlerberghe, G. C., 2007, The role of the mitochondrion in plant responses to biotic stress, *Physiologia plantarum*, 129(1), 253-266.
- Arabidopsis Genome Initiative, 2000, Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*, *Nature*, 408 (6814), 796-815.
- Arıkan, B., 2016, *Arabidopsis thaliana'da abiyotik stres koşullarında genomik DNA metilasyonu analizleri*, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Arıkan, B., Özden, Ö., Turgut-Kara, N., 2018, DNA methylation related gene expression and morphophysiological response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*, *Environmental and Experimental Botany*, 149, 17-26.
- Arıkan, B., Semerci, A., Cakır, O., Turgut, K.N., 2021, *Arabidopsis thaliana* GTS1 transcripts are activated by yeast extract, *Botanica Serbica*, 45(2), 195-201.
- Arisz, S.A., Testerink, C., Munnik, T., 2009, Plant PA signaling via diacylglycerol kinase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(9), 869-875.
- Aydin, S., 2015, A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA, *Peptides*, 72, 4-15.
- Bais, A.F., McKenzie, R.L., Bernhard, G., Aucamp, P.J., Ilyas, M., Madronich, S., Tourpali, K., 2015, Ozone depletion and climate change: impacts on UV radiation. *Photochem Photobiol Sci*, 14(1), 19-52.
- Bakhat, H.F., Bibi, N., Zia, Z., Abbas, S., Hammad, H.M., Fahad, S., Ashraf, M.R., Shah, G.M., Rabbani, F., Saeed, S., 2018, Silicon mitigates biotic stresses in crop plants: a review, *Crop Protection*, 104, 21-34.
- Balakhnina, T., Borkowska, A., 2013, Effects of silicon on plant resistance to environmental stresses, *International Agrophysics*, 27(2).

- Bayer CropScience Editorial, 2008, “*We need a second green revolution*” – *Safeguarding food for a growing world population*, <https://www.seedquest.com/News/releases/2008/october/23973.htm> [Ziyaret Tarihi:10 Ağustos 2022].
- Binkert, M., Kozma-Bognár, L., Terecskei, K., De Veylder, L., Nagy, F., Ulm, R., 2014, UV-B-responsive association of the Arabidopsis bZIP transcription factor ELONGATED HYPOCOTYL5 with target genes, including its own promoter. *Plant Cell*, 26, 4200–4213.
- Bloom, D. E., 2020, Population, *Finance & Development*, 57(001).
- Boonpragob, K., 2002, Monitoring physiological change in lichens: total chlorophyll content and chlorophyll degradation, *Monitoring with lichens—monitoring lichens*, Springer, Dordrecht, 323-326.
- Bornman, J.F., Reuber, S. and Cen, Y.P., Weissenböck, G., 1998, Ultraviolet radiation as a stress factor and the role of protective pigments. *Plants and UVB. Responses to Environmental Change*, Cambridge University Press, Cambridge, 157-170.
- Borriss, R., Danchin A., Harwood, C.R., Médigue, C., Rocha, E.P.C., Sekowska, A., Vallenet, D., 2017, *Bacillus subtilis*, the model Gram-positive bacterium: 20 years of annotation refinement, *Microbial Biotechnology*, 11(1), 3-17.
- Boyko, A., Kovalchuk, I., 2008, Epigenetic control of plant stress response. *Environmental and molecular mutagenesis*, 49(1), 61-72.
- Brougham, R. K., 1960, The relationship between the critical leaf area, total chlorophyll content, and maximum growth-rate of some pasture and crop plants, *Annals of Botany*, 24(4), 463-474.
- Brown B.A., Cloix C., Jiang G.H., Kaiserli E., Herzyk P., Kliebenstein D.J., Jenkins G.I., 2005, A UV-B-specific signaling component orchestrates plant UV protection, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(50), 18225–18230.
- Caldwell, M. M., Bornman, J. F., Ballaré, C. L., Flint, S. D., Kulandaivelu, G., 2007, Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation, and interactions with other climate change factors, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6(3), 252-266.
- Canadian Nuclear Safety Commission, 2012, *Introduction to Radiation*, Introduction to Radiation, Ottawa, Canada, ISBN 978-1-100-21572-3, 1-6
- Casjens, S. R., Hendrix, R. W., 2015, Bacteriophage lambda: Early pioneer and still relevant, *Virology*, 479, 310-330.
- Cate, T.M., Perkins, T.D., 2003, Chlorophyll content monitoring in sugar maple (*Acer saccharum*), *Tree Physiology*, 23(15), 1077-1079.

- Cavalieri, V., 2020, Model organisms and their application in environmental epigenetics. In *Environmental Epigenetics in Toxicology and Public Health*, Academic Press, 67-87.
- Chen, F., Li, Q., Sun, L., He, Z., 2006, The rice 14-3-3 gene family and its involvement in responses to biotic and abiotic stress. *DNA Research*, 13(2), 53-63.
- Chen, H., He, C., Wang, C., Wang, X., Ruan, F., Yan, J., Yin, P., Wang, Y., Yan, S., 2021, RAD51 supports DMC1 by inhibiting the SMC5/6 complex during meiosis, *The Plant Cell*, 33(8), 2869-2882.
- Chen, J.T., Heidari, P., 2021, Cell Signaling in Model Plants 2.0., *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 8007.
- Chen, J., Zhang, M., Eneji, A.E., Li, J., 2016, Influence of exogenous silicon on UV-B radiation-induced cyclobutane pyrimidine dimers in soybean leaves and its alleviation mechanism, *Journal of plant physiology*, 196, 20-27.
- Christie, J.M., Arvai, A.S., Baxter, K.J., Heilmann, M., Pratt, A.J., O'Hara, A., Kelly, S.M., Hothorn, M., Smith, B.O., Hitomi, K., Jenkins, G.I., 2012, Plant UVR8 photoreceptor senses UV-B by tryptophan-mediated disruption of cross-dimer salt bridges, *Science*, 335(6075), 1492-1496.
- Clark, M.F., Lister, R.M., Bar-Joseph, M., 1986, ELISA techniques, *Methods in enzymology*, Academic Press, 118, 742-766.
- Cloix, C., Kaiserli, E., Heilmann, M., Baxter, K.J., Brown, B.A., O'Hara, A., Smith, B.O., Christie, J.M., Jenkins, G.I., 2012, C-terminal region of the UV-B photoreceptor UVR8 initiates signaling through interaction with the COP1 protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(40), 16366-16370.
- Coffey, A., Prinsen, E., Jansen, M. A. K., Conway, J., 2017, The UVB photoreceptor UVR8 mediates accumulation of UV-absorbing pigments, but not changes in plant morphology, under outdoor conditions, *Plant, cell & environment*, 40(10), 2250-2260.
- Cox, M. M., 1991, The RecA protein as a recombinational repair system, *Molecular microbiology*, 5(6), 1295-1299.
- Crist, E., Mora, C., Engelman, R., 2017, The interaction of human population, food production, and biodiversity protection, *Science*, 356(6335), 260-264.
- Crowther, J.R., 2001, Systems in ELISA, *The ELISA Guidebook*, Humana Press, 9-44.
- Dao, T. T. H., Linthorst, H. J. M., Verpoorte, R., 2011, Chalcone synthase and its functions in plant resistance, *Phytochemistry Reviews*, 10(3), 397-412.
- De Castro, J., Hill, R.D., Stasolla, C., Badea, A., 2022, Waterlogging Stress Physiology in Barley, *Agronomy*, 12(4), 780.

- Del Giudice, M., Buck, C.L., Chaby, L.E., Gormally, B.M., Taff, C.C., Thawley, C.J., Vitousek, M.N., Wada, H., 2018, What is stress? A systems perspective, *Integrative and Comparative Biology*, 58(6), 1019-1032.
- Delaney, P., Nair, A. R., Palmer, C., Khan, N., Sadler K.C., 2020, Arsenic induced redox imbalance triggers the unfolded protein response in the liver of zebrafish, *Toxicology and applied pharmacology*, 409, 115307.
- Demirbaş, S., 2011, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. bitkisinde *Phelipanche ramosa* (L.) pomel parazitinin ve tuz stresinin neden olduğu fizyolojik, biyokimyasal ve gen ifadesi düzeyindeki değişimlerin araştırılması, Doktora, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Deshmukh, R.K., Vivancos, J., Guérin, V., Sonah, H., Labbé, C., Belzile, F., Bélanger, R.R., 2013, Identification and functional characterization of silicon transporters in soybean using comparative genomics of major intrinsic proteins in Arabidopsis and rice, *Plant molecular biology*, 83(4), 303-315.
- Dong, J., Chen, C., Chen, Z., 2003, Expression profiles of the Arabidopsis WRKY gene superfamily during plant defense response, *Plant molecular biology*, 51(1), 21-37.
- Dorak, M.T., 2007, *Real-time PCR*. Taylor & Francis, ISBN: 0-203-96731-3.
- Dotto, M., Gómez, M.S., Soto, M.S., Casati, P., 2018, UV-B radiation delays flowering time through changes in the PRC2 complex activity and miR156 levels in Arabidopsis thaliana, *Plant, Cell & Environment*, 41(6), 1394-1406.
- Doutriaux, M. P., Couteau, F., Bergounioux, C., White, C., 1998, Isolation and characterisation of the RAD51 and DMC1 homologs from Arabidopsis thaliana, *Molecular and General Genetics MGG*, 257(3), 283-291.
- Eagles, C. F., Wilson, D., 2018, Photosynthetic efficiency and plant productivity, *CRC Handbook of Agricultural Productivity*, CRC Press, 213-248.
- Epigentek, MethylFlash™ Methylated DNA Quantification Kit (Colorimetric), <https://www.epigentek.com/catalog/methylflash-methylated-dna-mc-quantification-kit-colorimetric-p-2094.html>, [Ziyaret Tarihi: 9 Ağustos 2022].
- Fang, J.Y., Wan, X.C., Ma, X.L., 2006, Nanoscale silicas in Oryza sativa L. and their UV absorption, *Guang pu xue yu Guang pu fen xi= Guang pu*, 26(12), 2315-2318.
- Federation, W.E., Aph Association, 2005, Standard methods for the examination of water and wastewater, *American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA*, 21.
- Feinbaum, R.L., Ausubel, F.M., 1988, Transcriptional regulation of the Arabidopsis thaliana chalcone synthase gene, *Molecular and Cellular Biology*, 8(5), 1985-1992.
- Felsenfeld, G., Allis, C.D., Jenuwein, T. and Reinberg, D., 2007, *Epigenetics*.

- Ferl, R. J., Wheeler, R., Levine, H. G., Paul, A. L., 2002, Plants in space, *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 258–263,
- Fields, S., Johnston, M., 2005, Whither model organism research?, *Science*, 307(5717), 1885-1886.
- Forster, P., Thompson, D., Baldwin, M., Chipperfield, M., Dameris, J. D., 2011, Stratospheric changes and climate, Chapter 4 in Scientific assessment of ozone depletion: 2010, Global Ozone Research and Monitoring Project–Report no. 52. *World Meteorological Organization*, Geneva, 2011.
- Fraire-Velázquez, S., Rodríguez-Guerra, R., Sánchez-Calderón, L., 2011, Abiotic and biotic stress response crosstalk in plants, *Abiotic stress response in plants—physiological, biochemical and genetic perspectives*, 3-26.
- Fuglevand, G., Jackson, J.A., Jenkins, G.I., 1996, UV-B, UV-A, and blue light signal transduction pathways interact synergistically to regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 8(12), 2347-2357.
- Gardner K. H., Correa F., 2012, How Plants See the Invisible?, *Science*, 335, 1451.
- Gerard, G.F., Fox, D.K., Nathan, M., D'alessio, J.M., 1997, Reverse transcriptase, *Molecular biotechnology*, 8(1), 61-77.
- Ghareeb, H., Bozsó, Z., Ott, P.G., Repenning, C., Stahl, F., Wydra, K., 2011, Transcriptome of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-accumulator tomato implicates priming effect, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 75(3), 83-89.
- Gibney, E. R., Nolan, C. M., 2010, Epigenetics and gene expression, *Heredity*, 105(1), 4-13.
- Gómez-Merino, F.C., Brearley, C.A., Ornatowska, M., Abdel-Haliem, M.E., Zanol, M.I., Mueller-Roeber, B., 2004, AtDGK2, a novel diacylglycerol kinase from *Arabidopsis thaliana*, phosphorylates 1-stearoyl-2-arachidonoyl-sn-glycerol and 1, 2-dioleoyl-sn-glycerol and exhibits cold-inducible gene expression, *Journal of Biological Chemistry*, 279(9), 8230-8241.
- Goodin, M. M., Zaitlin, D., Naidu, R. A., Lommel S. A., 2008, *Nicotiana benthamiana*: its history and future as a model for plant-pathogen interactions, *Molecular plant microbe interactions*, 21(8), 1015-26.
- Goto, M., Ehara, H., Karita, S., Takabe, K., Ogawa, N., Yamada, Y., Ogawa, S., Yahaya, M.S., Morita, O., 2003, Protective effect of silicon on phenolic biosynthesis and ultraviolet spectral stress in rice crop, *Plant Science*, 164(3), 349-356.
- Gökmen, S., 2013, *Arabidopsis thaliana (Coloumbia) türüne silikanın fizyolojik etkileri / Physiological effects of silica on arabidopsis thaliana (Coloumbia)*, Yüksek Lisans, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Graham, L.E., Graham J.M., Wilcox, L.W., 2008a, *Bitki Biyolojisine Giriş*, Bitki Biyolojisi, In: Işık, K. (ed.), Chapter 1, Palme Yayıncılık, Ankara, ISSN: 975-8624-90-3, 2.
- Graham, L.E., Graham J.M., Wilcox, L.W., 2008b, *DNA ve RNA Kalıtım Molekülleri*, Bitki Biyolojisi, In: Işık, K. (ed.), Chapter 10, Palme Yayıncılık, Ankara, ISSN: 975-8624-90-3, 155.
- Gravitol, C., Hemerly, A.S., Ferreira, P.C., 2012, Genetic and epigenetic regulation of stress responses in natural plant populations, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1819 (2), 176-185.
- Gulías, P., Guerra-Varela, J., Gonzalez-Aparicio, M., Ricobaraza, A., Vales, A., Gonzalez-Aseguinolaza, G., Hernandez-Alcoceba, R., Sánchez L., 2019, Danio Rerio as Model Organism for Adenoviral Vector Evaluation, *Genes*, 10(12), 1053.
- Gunning, P.W., Ghoshdastider, U., Whitaker, S., Popp, D., Robinson, R.C., 2015, The evolution of compositionally and functionally distinct actin filaments, *Journal of Cell Science*, 128 (11), 2009-2019.
- Guntzer, F., Keller, C., Meunier, J.D., 2012, Benefits of plant silicon for crops: a review, *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 201-213.
- Güney, M., 2021, *Kuraklık stresi sırasında mitojen-aktivated protein kinaz (MAPK)'ların ekspresyonlarının turuncgil anaçlarında, turunç, carrizo ve troyer'de belirlenmesi*, Yüksek Lisans, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi.
- Harris, E. H., 2001, Chlamydomonas AS A MODEL ORGANISM, *Annual Reviews Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 52, 363-406.
- Hawkins, A.F., 1982, Light interception, photosynthesis and crop productivity, *Outlook on Agriculture*, 11(3), 104-113.
- Heijde, M., Ulm, R., 2012, UV-B photoreceptor-mediated signaling in plants, *Trends Plant Science*, 17, 230–237.
- Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., Griffith, R., 1992, Simultaneous amplification and detection of specific DNA-sequences, *Biotechnology (New York)*, 10 (4), 413-417.
- Hinch, A.G., Becker, P.W., Li, T., Moralli, D., Zhang, G., Bycroft, C., Green, C., Keeney, S., Shi, Q., Davies, B., Donnelly, P., 2020, The configuration of RPA, RAD51, and DMC1 binding in meiosis reveals the nature of critical recombination intermediates. *Molecular cell*, 79(4), 689-701.
- Huang, X., Yang, P., Ouyang, X., Chen, L., Deng, X.W., 2014, Photoactivated UVR8-COP1 module determines photomorphogenic UV-B signaling output in Arabidopsis, *PLoS genetics*, 10(3), e1004218.
- Idalia, V. M. N., Bernardo, F., 2017, Escherichia coli as a Model Organism and Its Application in Biotechnology, Escherichia coli: Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications Tech Open Rij. Croat, 253-274.

- Jambunathan, N., 2010, Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in Plants, *Plant stress tolerance*, Humana press, 291-297.
- Jansson, S., Douglas, C. J., 2007, Populus: a model system for plant biology, *Annual reviews plant biology*, 58, 435-58.
- Jasinski, S., Chardon, F., Nesi, N., Lécureuil, A., Guerche, P., 2018, Improving seed oil and protein content in Brassicaceae: some new genetic insights from *Arabidopsis thaliana*, *OCL*, 25(6), D603.
- JAXA, 2021, *List of JAXA's Utilization Themes*, *Life Sciences*, <https://iss.jaxa.jp/en/kiboexp/theme/#life>
- Jenkins, G. I., Long, J. C., Wade, H. K., Shenton, M. R., Bibikova, T. N., 2001, UV and blue light signalling: pathways regulating chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*, *New Phytologist*, 151(1), 121-131.
- Jenkins, G. I., 2009, Signal transduction in responses to UV-B radiation, *Annual review of plant biology*, 60, 407-431.
- Jenkins, G. I., 2014, The UV-B photoreceptor UVR8: from structure to physiology, *The Plant Cell*, 26(1), 21-37.
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara I., Hauer, M., Doudna, J. A., Charpentier E., 2012, A Programmable Dual-RNA–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity, *Science*, 337 (6096), 816-821.
- Jordan, B. R., 2002, Molecular response of plant cells to UV-B stress, *Functional Plant Biology*, 29(8), 909-916.
- Jung, J.H., Park, J.H., Lee, S., To, T.K., Kim, J.M., Seki, M., Park, C.M., 2013, The cold signaling attenuator HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENE1 activates FLOWERING LOCUS C transcription via chromatin remodeling under short-term cold stress in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 25(11), 4378-4390.
- Kakani, V.G., Reddy, K.R., Zhao, D., Sailaja, K., 2003, Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review, *Agricultural and forest meteorology*, 120(1-4), 191-218.
- Kalbina, I., Strid, Å., 2006, Supplementary ultraviolet-B irradiation reveals differences in stress responses between *Arabidopsis thaliana* ecotypes, *Plant, Cell & Environment*, 29(5), 754-763.
- Karathia, H., Vilaprinyo, E., Sorribas, A., Alves, R., 2011, *Saccharomyces cerevisiae* as a Model Organism: A Comparative Study, *PloS one*, 6(2), e16015.
- Karl T. R., Trenberth K. E., 2003, Modern global climate change, *Science*, 302(5651), 1719-23.

- Kennedy, A., Geuten, K., 2020, The role of FLOWERING LOCUS C relatives in cereals. *Frontiers in plant science*, 11, 2108.
- Khan, A., Khan, A.L., Imran, M., Asaf, S., Kim, Y.H., Bilal, S., Numan, M., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Lee, I.J., 2020, Silicon-induced thermotolerance in *Solanum lycopersicum* L. via activation of antioxidant system, heat shock proteins, and endogenous phytohormones, *BMC plant biology*, 20(1), 1-18.
- Khandekar, S., Leisner, S., 2011, Soluble silicon modulates expression of *Arabidopsis thaliana* genes involved in copper stress, *Journal of Plant Physiology*, 168(7), 699-705.
- Khazi, F.R., Edmondson, A.C., Nielsen, B.L., 2003, An *Arabidopsis* homologue of bacterial RecA that complements an *E. coli* recA deletion is targeted to plant mitochondria, *Molecular Genetics and Genomics*, 269(4), 454-463.
- Kim, Y. G., Cha, J., Chandrasegaran, S., 1996, Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(3), 1156–1160
- Kiss, J. Z., Brinckmann, E., Brillouet, C., 2000, Development and growth of several strains of *Arabidopsis* seedlings in microgravity, *International Journal of Plant Sciences*, 161(1), 55-62.
- Kliebenstein D.J., Lim J.E., Landry L.G., Last R.L., 2002, *Arabidopsis* UVR8 regulates ultraviolet-B signal transduction and tolerance and contains sequence similarity to human regulator of chromatin condensation 1, *Plant Physiology*, 130, 234–243.
- Klug W. S., Cummings M. R., Spencer C. A., 2011, *Ökaryotlarda DNA Kromatin Şeklinde Düzenlenmiştir*, Genetik Kavramlar, In: Öner, C., Sümer, S., Öner, R., Ögüş, A., Açık, L. (ed.), Chapter 12, Palme Yayınevi, Ankara, ISBN: 978-605-5829-26-1, 292-295.
- Kosar, F., Akram, N. A., Sadiq, M., Al-Qurainy, F., Ashraf, M., 2019, Trehalose: a key organic osmolyte effectively involved in plant abiotic stress tolerance, *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(2), 606-618.
- Kreslavski, V.D., Shirshikova, G.N., Lyubimov, V.Y., Shmarev, A.N., Boutanaev, A.M., Kosobryukhov, A.A., Schmitt, F.J., Friedrich, T., Allakhverdiev, S.I., 2013, Effect of preillumination with red light on photosynthetic parameters and oxidant-/antioxidant balance in *Arabidopsis thaliana* in response to UV-A, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 127, 229-236.
- Kubista, M., Andrade, J.M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonak, J., Lind, K., Sindelka, R., Sjöback, R., Sjögreen, B., Strömbom, L., Stahlberg, A., Zoric, N., 2006, The real-time polymerase chain reaction, *Molecular Aspects of Medicine*, 27 (2-3), 95-125.
- Kue Foka, I.C., Keteouli, T., Zhou, Y., Li, X.W., Wang, F.W., Li, H., 2020, The emerging roles of diacylglycerol kinase (DGK) in plant stress tolerance, growth, and development. *Agronomy*, 10(9), 1375.

- Kumar, S., Singh, A.K., Mohapatra, T., 2017, Epigenetics: history, present status and future perspective, *Indian J Genet Plant Breed*, 77, 445-63.
- Kültz, D., 2020, Defining biological stress and stress responses based on principles of physics, *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 333(6), 350-358.
- Lau, O.S., Deng, X.W., 2012, The photomorphogenic repressors COP1 and DET1: 20 years later, *Trends in plant science*, 17(10), 584-593.
- Leung, J., Giraudat, J., 1998, Absciscic acid signal transduction, *Annual review of plant biology*, 49(1), 199-222.
- Li, W.B., Shi, X.H., Wang, H., Zhang, F.S., 2004, Effects of silicon on rice leaves resistance to ultraviolet-B, *ACTA BOTANICA SINICA-ENGLISH EDITION*, 46(6), 691-697.
- Li, Z., Wakao, S., Fischer, B.B., Niyogi, K.K., 2009, Sensing and responding to excess light, *Annual review of plant biology*, 60, 239-260.
- Liakopoulos, G., Stavrianakou, S., Karabourniotis, G., 2006, Trichome layers versus dehaired lamina of *Olea europaea* leaves: differences in flavonoid distribution, UV-absorbing capacity, and wax yield, *Environmental and experimental botany*, 55(3), 294-304.
- Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A. 2015a, Silicon uptake and transport in plants: *Physiological and molecular aspects*, *Silicon in Agriculture*, Chapter 4, Springer, Dordrecht, ISBN: 978-94-017-9978-2, 69-82.
- Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A. 2015b, *Effect of silicon on crop growth, yield and quality*, *Silicon in Agriculture*, Chapter 11, Springer, Dordrecht, ISBN: 978-94-017-9978-2, 209-223.
- Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A. 2015c, *Silicon and plant-pathogen interactions*, *Silicon in Agriculture*, Chapter 9, Springer, Dordrecht, ISBN: 978-94-017-9978-2, 181-196.
- Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A. 2015d, *Silicon-Mediated Tolerance to Salt Stress*, *Silicon in Agriculture*, Chapter 6, Springer, Dordrecht, ISBN: 978-94-017-9978-2, 123-142.
- Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A., 2015e, *Silicon in Agriculture*, Springer, Dordrecht, ISBN: 978-94-017-9978-2.
- Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A., 2015f, *Silicon-mediated tolerance to other abiotic stresses*, *Silicon in Agriculture*, Chapter 8, Springer, Dordrecht, ISBN: 978-94-017-9978-2, 161-179.
- Liu, J., He, Z., 2020, Small DNA methylation, big player in plant abiotic stress responses and memory, *Frontiers in Plant Science*, 11, 595603.

- Liu, X., Zhang, J., Cai, Y., Zhang, S., Ma, K., Hua, K., Cui, Y., 2021, A novel DNA methylation biosensor by combination of isothermal amplification and lateral flow device, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 333, 129624.
- López-Pérez, M.C., Pérez-Labrada, F., Ramírez-Pérez, L.J., Juárez-Maldonado, A., Morales-Díaz, A.B., González-Morales, S., García-Dávila, L.R., García-Mata, J., Benavides-Mendoza, A., 2018, Dynamic modeling of silicon bioavailability, uptake, transport, and accumulation: applicability in improving the nutritional quality of tomato, *Frontiers in plant science*, 9, 647.
- Luyckx, M., Hausman, J.F., Lutts, S., Guerriero, G., 2017, Silicon and plants: current knowledge and technological perspectives, *Frontiers in plant science*, 8, 411.
- Ma, D., Sun, D., Wang, C., Qin, H., Ding, H., Li, Y., Guo, T., 2016, Silicon application alleviates drought stress in wheat through transcriptional regulation of multiple antioxidant defense pathways, *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(1), 1-10.
- Ma, D., Liu, F., 2015, Genome Editing and Its Applications in Model Organisms, *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 13(6), 336-344.
- Ma, J. F., Tamai, K., Ichii, M., Wu, G. F., 2002, A rice mutant defective in Si uptake, *Plant Physiology*, 130(4), 2111-2117.
- Ma, J.F., Yamaji, N., 2006, Silicon uptake and accumulation in higher plants, *Trends in plant science*, 11(8), 392-397.
- Ma, J.F., Yamaji, N., Mitani, N., Tamai, K., Konishi, S., Fujiwara, T., Katsuhara, M., Yano, M., 2007, An efflux transporter of silicon in rice, *Nature*, 448(7150), 209-212.
- Ma, J. F., 2004, Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses, *Soil Science and Plant Nutrition*, 50, 11-18.
- Ma, Y., Szostkiewicz, I., Korte, A., Moes, D., Yang, Y., Christmann, A., Grill, E., 2009, Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors, *Science*, 324(5930), 1064-1068.
- Madrid, E., Chandler, J. W., Coupland, G., 2021, Gene regulatory networks controlled by FLOWERING LOCUS C that confer variation in seasonal flowering and life history, *Journal of experimental botany*, 72(1), 4-14.
- Madronich, S., Lee-Taylor, J.M., Wagner, M., Kyle, J., Hu, Z., Landolfi, R., 2021, Estimation of Skin and Ocular Damage Avoided in the United States through Implementation of the Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer, *ACS Earth and Space Chemistry*, 5(8), 1876-1888.
- Maki, W. C., Mishra, N. N., Cameron, E. G., Filanoski, B., Rastogi, S. K., Maki, G. K., 2008, Nanowire-transistor based ultra-sensitive DNA methylation detection, *Biosensors and Bioelectronics*, 23(6), 780-787.

- Malčovská, S.M., Dučaiová, Z., Bačkor, M., 2014, Impact of silicon on maize seedlings exposed to short-term UV-B irradiation, *Biologia*, 69(10), 1349-1355.
- Manchester, K. L., 1996, Use of UV methods for measurement of protein and nucleic acid concentrations, *Biotechniques*, 20(6), 968-970.
- Mandlik, R., Thakral, V., Raturi, G., Shinde, S., Nikolić, M., Tripathi, D.K., Sonah, H., Deshmukh, R., 2020, Significance of silicon uptake, transport, and deposition in plants, *Journal of Experimental Botany*, 71(21), 6703-6718.
- Marand, A. P., Schmitz, R. J., 2022, Single-cell analysis of cis-regulatory elements, *Current Opinion in Plant Biology*, 65, 102094.
- Marfil, C., Ibañez, V., Alonso, R., Varela, A., Bottini, R., Masuelli, R., Fontana, A., Berli, F., 2019, Changes in grapevine DNA methylation and polyphenols content induced by solar ultraviolet-B radiation, water deficit and abscisic acid spray treatments, *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, 287-294.
- Mars, K., 2021, *About Space Radiation*, <https://www.nasa.gov/hrp/elements/radiation/about> [Ziyaret Tarihi:10 Ağustos 2022].
- Marsh, E. K., May, R. C., 2012, *Caenorhabditis elegans*, a Model Organism for Investigating Immunity, *Applied and Environmental Microbiology*, 78(7), 2075-2081.
- Matters, G. L., Scandalios, J. G., 1986, Changes in plant gene expression during stress, *Developmental genetics*, 7(4), 167-175.
- Mavrič Čermelj, A., Golob, A., Vogel-Mikuš, K., Germ, M., 2021, Silicon mitigates negative impacts of drought and UV-b radiation in plants, *Plants*, 11(1), 91.
- May, P., 2021, *University of Bristol Resmi Web Sayfası: Chlorophyll*, http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm, [Ziyaret tarihi: 19 Nisan 2022]
- Meinke, D.W., Cherry, J.M., Dean, C., Rounsley, S.D., Koornneef, M., 1998, *Arabidopsis thaliana*: A Model Plant for Genome Analysis, *Science*, 282(5389), 662-682.
- Mentzer, L., Yee, T., Wang, T.Y., Himmelblau, E., 2010, FLOWERING LOCUS C influences the timing of shoot maturation in *Arabidopsis thaliana*, *genesis*, 48(12), p.680.
- Mitani-Ueno, N., Yamaji, N., Zhao, F.J., Ma, J.F., 2011, The aromatic/arginine selectivity filter of NIP aquaporins plays a critical role in substrate selectivity for silicon, boron, and arsenic, *Journal of experimental botany*, 62(12), 4391-4398.
- Mittelsten Scheid, O., 2022, Mendelian and non-Mendelian genetics in model plants, *The Plant Cell*.
- Moriconi, V., Binkert, M., Costigliolo, C., Sellaro, R., Ulm, R., Casal, J.J., 2018, Perception of sunflecks by the UV-B photoreceptor UV RESISTANCE LOCUS8, *Plant physiology*, 177(1), 75-81.

- Moustafa-Farag, M., Almoneafy, A., Mahmoud, A., Elkelish, A., Arnao, M.B., Li, L. and Ai, S., 2019. Melatonin and its protective role against biotic stress impacts on plants, *Biomolecules*, 10(1), 54.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiologia Plantarum*, 15 (3), 473-497.
- Nargang, F.E., Rapaport, D., 2007, *Neurospora crassa as a Model Organism for Mitochondrial Biogenesis*, Mitochondria. Methods in Molecular Biology, In: Leister, D., Herrmann, J.M. (ed.), 372, Humana Press, Totowa NJ, ISBN: 978-1-59745-365-3, 107-123.
- Narusaka, M., Seki, M., Umezawa, T., Ishida, J., Nakajima, M., Enju, A., Shinozaki, K., 2004, Crosstalk in the responses to abiotic and biotic stresses in Arabidopsis: analysis of gene expression in cytochrome P450 gene superfamily by cDNA microarray, *Plant molecular biology*, 55(3), 327-342.
- NASA, 2022, *Analog Missions, Why space radiation matters?*, <https://www.nasa.gov/analogs/nsrl/why-space-radiation-matters> [Ziyaret Tarihi: 10 Ağustos 2022].
- Ogasawara, Y., Kaya, H., Hiraoka, G., Yumoto, F., Kimura, S., Kadota, Y., Hishinuma, H., Senzaki, E., Yamagoe, S., Nagata, K., Nara, M., 2008, Synergistic activation of the Arabidopsis NADPH oxidase AtrbohD by Ca²⁺ and phosphorylation, *Journal of Biological Chemistry*, 283(14), 8885-8892.
- Ogawa, T., Shinohara, A., Nabetani, A., Ikeya, T., Yu, X., Egelman, E.H., Ogawa, H., 1993, *RecA-like recombination proteins in eukaryotes: functions and structures of RAD51 genes*, Cold Spring Harbor symposia on quantitative Biology, 58, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 567-576.
- Osakabe, K., Abe, K., Yamanouchi, H., Takyuu, T., Yoshioka, T., Ito, Y., Kato, T., Tabata, S., Kurei, S., Yoshioka, Y., Machida, Y., 2005, Arabidopsis Rad51B is important for double-strand DNA breaks repair in somatic cells, *Plant molecular biology*, 57(6), 819-833.
- Pandey, N., Pandey-Rai, S., 2015, Deciphering UV-B-induced variation in DNA methylation pattern and its influence on regulation of DBR2 expression in *Artemisia annua* L, *Planta*, 242(4), 869-879.
- Park, S.Y., Fung, P., Nishimura, N., Jensen, D.R., Fujii, H., Zhao, Y., Lumba, S., Santiago, J., Rodrigues, A., Chow, T.F.F., Alfred, S.E., 2009, Absciscic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins, *science*, 324(5930), 1068-1071.
- Pei, Z.F., Ming, D.F., Liu, D., Wan, G.L., Geng, X.X., Gong, H.J., Zhou, W.J., 2010, Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings, *Journal of Plant Growth Regulation*, 29(1), 106-115.
- Pereira, A., 2016, Plant abiotic stress challenges from the changing environment, *Frontiers in plant science*, 7, 1123.

- Perlman R. L., 2016, Mouse models of human disease, An evolutionary perspective, *Evolution Medicine and Public Health*, 2016(1), 170–176.
- Peters, I.R., Helps, C.R., Hall, E.J., Day, M.J., 2004, Real-time RT-PCR: considerations for efficient and sensitive assay design, *Journal of immunological methods*, 286(1-2), 203-217.
- Primer3, 2021, *Primer3 Aracı Resmi Web Sayfası*, <https://primer3.org/>, [Ziyaret tarihi: 15 Ocak 2021]
- Qin, F., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., 2011, Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance, *Plant and Cell Physiology*, 52(9), 1569-1582.
- Qiu, Y., Yu, D., 2009, Over-expression of the stress-induced OsWRKY45 enhances disease resistance and drought tolerance in Arabidopsis. *Environmental and Experimental Botany* 65, 35-47.
- Rapp R. A., Wendel J. F., 2005, Epigenetics and plant evolution, *New Phytologist*, 168(1), 81-91.
- Raven, J.A., 2001, *Silicon transport at the cell and tissue level*, Studies in plant Science, Chapter 8, Elsevier, 41-55.
- Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., Jackson, R.B., 2013, *DNA'nın Metillenmesi*, Campbell biyoloji (9.Baskı), In: Gündüz, E., Türkan, İ., (ed.), Chapter 18, Palme Yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-605-355-147-8. 357-358.
- Ries, G., Heller, W., Puchta, H., Sandermann, H., Seidlitz, H.K., Hohn, B., 2000, Elevated UV-B radiation reduces genome stability in Plants, *Nature*, 406(6791), 98-101.
- Rizzini, L., Favory, J.J., Cloix, C., Faggionato, D., O'Hara, A., Kaiserli, E., Baumeister, R., Schäfer, E., Nagy, F., Jenkins, G.I., Ulm, R., 2011, Perception of UV-B by the Arabidopsis UVR8 protein, *Science*, 332(6025), 103-106.
- Robson, T. M., Klem, K., Urban, O., Jansen, M. A., 2015, Re-interpreting plant morphological responses to UV-B radiation, *Plant, cell & environment*, 38(5), 856-866.
- Sahebi, M., Hanafi, M.M., Azizi, P., 2016, Application of silicon in plant tissue culture, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 52(3), 226-232.
- Sancar, A., 2004, Photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors, *Advances in protein chemistry*, 69, 73-100.
- Schmidt, A.M., Ormrod, D.P., Livingston, N.J., Misra, S., 2000, The interaction of ultraviolet-B radiation and water deficit in two Arabidopsis thaliana genotypes, *Annals of Botany*, 85(4), 571-575.
- Schmittgen, T.D., Livak, K.J., 2008, Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method, *Nature protocols*, 3(6), 1101-1108.

- Serra, H., Da Ines, O., Degroote, F., Gallego, M.E., White, C.I., 2013, Roles of XRCC2, RAD51B and RAD51D in RAD51-independent SSA recombination, *PLoS genetics*, 9(11), e1003971.
- Shanker, A., Venkateswarlu, B., 2011, *Abiotic Stress Response in Plants: Physiological, Biochemical and Genetic Perspectives*. BoD—Books on Demand.
- Sharma, S., Chatterjee, S., Kataria, S., Joshi, J., Datta, S., Vairale, M. G., Veer, V., 2017, A review on responses of plants to UV-B radiation related stress, UV-B Radiation: From Environmental Stressor to Regulator of Plant Growth, In: Singh, V. P., Singh, S., Prasad, S. M., Parihar, P., (ed.), Chapter 5, John Wiley & Sons: West Sussex, UK, 75-97.
- Shen, X.; Li, J.; Duan, L.; Li, Z.; Eneji, A.E. Nutrient acquisition by soybean treated with and without silicon under Ultraviolet-B radiation, *J. Plant Nutr*, 2009, 32, 1731–1743.
- Shen, X.; Zhou, Y.; Duan, L.; Li, Z.; Eneji, A.E.; Li, J. Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and Ultraviolet-B radiation, *J. Plant Physiology*, 2010a, 167, 1248–1252.
- Shen, X.; Li, X.; Li, Z.; Li, J.; Duan, L.; Eneji, A.E. Growth, physiological attributes and antioxidant enzyme activities in soybean seedlings treated with or without silicon under UV-B radiation stress, *J. Agron. Crop Science*, 2010b, 196, 431–439.
- Shen, X., Li, Z., Duan, L., Eneji, A.E., Li, J., 2014., Silicon mitigates ultraviolet-B radiation stress on soybean by enhancing chlorophyll and photosynthesis and reducing transpiration, *Journal of Plant Nutrition*, 37(6), 837-849.
- Shetty, R., Fretté, X., Jensen, B., Shetty, N.P., Jensen, J.D., Jørgensen, H.J.L., Newman, M.A., Christensen, L.P., 2011, Silicon-induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*, *Plant physiology*, 157(4), 2194-2205.
- Shi, C., Liu, H., 2021, How plants protect themselves from ultraviolet-B radiation stress, *Plant Physiology*, 187(3), 1096-1103.
- Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q., Qian, Q., 2006, Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativus* L., *Plant growth regulation*, 48, 127-135.
- Sivanesan, I., Park, S.W., 2014, The role of silicon in plant tissue culture, *Frontiers in plant science*, 5, 571.
- Snyder, G.H., Matichenkov, V.V., Datnoff, L.E., 2016, *Silicon*, Handbook of plant nutrition, CRC Press, 567-584.
- Sommer, M., Kaczorek, D., Kuzyakov, Y., Breuer, J., 2006, Silicon pools and fluxes in soils and landscapes—a review, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169(3), 310-329.
- Souri, Z., Khanna, K., Karimi, N., Ahmad, P., 2021, Silicon and plants: current knowledge and future prospects, *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(3), 906-925.

- Speer, B.R., 1997, *Photosynthetic Pigments*, *UCMP Glossary (online)*. University of California Museum of Paleontology, <https://ucmp.berkeley.edu/glossary/gloss3/pigments.html>, [Ziyaret Tarihi: 8 Ağustos 2022].
- Stadnik, B., Tobiasz-Salach, R., Mazurek, M., 2022, Physiological and Epigenetic Reaction of Barley (*Hordeum vulgare* L.) to the Foliar Application of Silicon under Soil Salinity Conditions, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1149.
- Steinmüller, D., Tevini, M., 1985, Action of ultraviolet radiation (UV-B) upon cuticular waxes in some crop plants, *Planta*, 164(4), 557-564.
- Strable, J., Scanlon, M. J., 2009, Maize (*Zea mays*): a model organism for basic and applied research in plant biology, *Cold spring harbor protocols*, 2009(10), pdb-emo132.
- Sullivan, C. R., Kazlauciunas, A., Guthrie, J. T., 2017, Colored Apparel-Relevance to Attraction in Humans, *Journal of Fashion Technology & Textile Engineering*, 5(03).
- Syedmoradi, L., Esmaeili, F., Norton, M. L., 2016, Towards DNA methylation detection using biosensors, *Analyst*, 141(21), 5922-5943.
- SWPC, 2021, *Space Weather Prediction Center, National Oceanic and Atmospheric Administration, Earth's Magnetosphere*, <https://www.swpc.noaa.gov/phenomena/earths-magnetosphere> [Ziyaret Tarihi: 10 Ağustos 2022].
- Sztatelman, O., Grzyb, J., Gabryś, H., Banaś, A.K., 2015, The effect of UV-B on Arabidopsis leaves depends on light conditions after treatment, *BMC plant biology*, 15(1), 1-16.
- TAIR, 2008, *About Arabidopsis*, <https://www.arabidopsis.org/portals/education/aboutarabidopsis.jsp>, [Ziyaret Tarihi: 10 Ağustos 2022].
- Takahashi, A., Ohnishi, T., 2004, The significance of the study about the biological effects of solar ultraviolet radiation using the exposed facility on the international space station, *Biological Sciences in Space*, 18(4), 255-260.
- Tighe, P.J., Ryder, R.R., Todd, I., Fairclough, L.C., 2015, ELISA in the multiplex era: potentials and pitfalls, *PROTEOMICS–Clinical Applications*, 9(3-4), 406-422.
- Tilbrook, K., Arongaus, A.B., Binkert, M., Heijde, M., Yin, R., Ulm, R., 2013, The UVR8 UV-B photoreceptor: perception, signaling and response, *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 11.
- Tiwari, Y.K., Yadav, S.K., 2019, High temperature stress tolerance in maize (*Zea mays* L.): Physiological and molecular mechanisms, *Journal of Plant Biology*, 62(2), 93-102.
- Tomczyk, P.P., Kiedrzyński, M., Forma, E., Zielińska, K.M., Kiedrzyńska, E., 2022, Changes in global DNA methylation under climatic stress in two related grasses suggest a possible role of epigenetics in the ecological success of polyploids, *Scientific Reports*, 12(1), 1-10.

- Tossi, V.E., Regalado, J.J., Iannicelli, J., Laino, L.E., Burrieza, H.P., Escandón, A.S., Pitta-Álvarez, S.I., 2019, Beyond Arabidopsis: differential UV-B response mediated by UVR8 in diverse species, *Frontiers in plant science*, 780.
- Tripathi, D.K., Singh, S., Yadav, V., Arif, N., Singh, S., Dubey, N.K., Chauhan, D.K., 2017a, Silicon: a potential element to combat adverse impact of UV-B in plants, *UV-B radiation: from environmental stressor to regulator of plant growth*, 175-195.
- Tripathi, D.K., Singh, S., Singh, V.P., Prasad, S.M., Dubey, N.K., Chauhan, D.K., 2017b, Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 70-81.
- Tuna, A.L., Kaya, C., Higgs, D., Murillo-Amador, B., Aydemir, S., Girgin, A.R., 2008, Silicon improves salinity tolerance in wheat Plants, *Environmental and Experimental Botany*, 62(1), 10-16.
- Uçarlı, C., 2016 *Tuz stresi etkisindeki arpa bitkilerinin gen anlatım profilleri*, Doktora, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- UK AIR, 2022, Department for Environment Food & Rural Affairs, *Depletion of the Ozone Layer leading to an increase in ground-level ultraviolet radiation*, <https://uk-air.defra.gov.uk/research/ozone-uv/moreinfo?view=increase-uv-radiation> [Ziyaret Tarihi: 10 Ağustos 2022].
- Visick, K. L., Hodge-Hanson, K. M., Tischler, A. H., Bennett, A. K., Mastrodomenico, V., 2018, Tools for Rapid Genetic Engineering of *Vibrio fischeri*, *Applied and Environmental Microbiology*, 84(14), e00850-18.
- Vispé, S., Cazaux, C., Lesca, C., Defais, M., 1998, Overexpression of Rad51 protein stimulates homologous recombination and increases resistance of mammalian cells to ionizing radiation, *Nucleic acids research*, 26(12), 2859-2864.
- Vivancos, J., Deshmukh, R., Grégoire, C., Rémus-Borel, W., Belzile, F., Bélanger, R.R., 2016, Identification and characterization of silicon efflux transporters in horsetail (*Equisetum arvense*), *Journal of Plant Physiology*, 200, 82-89.
- Wada, K.C., Takeno, K., 2010, Stress-induced flowering. *Plant signaling & behavior*, 5(8), 944-947.
- Wagner, D., Przybyla, D., op den Camp, R., Kim, C., Landgraf, F., Lee, K.P., Wursch, M., Laloi, C., Nater, M., Hideg, E., Apel, K., 2004, The genetic basis of singlet oxygen induced stress responses of *Arabidopsis thaliana*, *Science*, 306(5699), 1183-1185.
- Wang, X., Ou-yang, C., Fan, Z.R., Gao, S., Chen, F., Tang, L., 2010, Effects of exogenous silicon on seed germination and antioxidant enzyme activities of *Momordica charantia* under salt stress, *Journal Animal & Plant Science*, 6(3), 700-708.
- Wang, H., Wang, H., Shao, H., Tang, X., 2016, Recent advances in utilizing transcription factors to improve plant abiotic stress tolerance by transgenic technology, *Frontiers in plant science*, 7, 67.

- Wang, J., Meng, X., Dobrovolskaya, O. B., Orlov, Y. L., Chen, M., 2017, Non-coding RNAs and their roles in stress response in plants, *Genomics, proteomics & bioinformatics*, 15(5), 301-312.
- Wang, W., Ma, Y., He, J., Qi, H., Xiao, F., He, S., 2019, Gene regulation for the extreme resistance to ionizing radiation of *Deinococcus radiodurans*, *Gene*, 715, 144008.
- Wargent, J.J., Gegas, V.C., Jenkins, G.I., Doonan, J.H., Paul, N.D., 2009, UVR8 in *Arabidopsis thaliana* regulates multiple aspects of cellular differentiation during leaf development in response to ultraviolet B radiation, *New Phytologist*, 183(2), 315-326.
- Wiedemann, G., Koprivova, A., Schneider, M., Herschbach, C., Reski, R., Kopriva, S., 2007, The role of the novel adenosine 50-phosphosulfate reductase in regulation of sulfate assimilation of *Physcomitrella patens*, *Plant Molecular Biology*, 65 (5), 667-676.
- Wixon, J., 2001, Featured organism: *Arabidopsis thaliana*, *Comparative and functional genomics*, 2(2), 91-98.
- Wright, B. W., Logel, D. Y., Mirzai, M., Pascovici, D., Molloy, M. P., Jaschke, P. R., 2020, Proteomic and transcriptomic analysis of Microviridae ϕ XI74 infection reveals broad up-regulation of host membrane damage and heat shock responses, *Msystems*, 6(3), e00046-21.
- Wu, D., Hu, Q., Yan, Z., Chen, W., Yan, C., Huang, X., Zhang, J., Yang, P., Deng, H., Wang, J., Deng, X., 2012, Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8, *Nature*, 484(7393), 214-219.
- Wu, P., Gao, H.B., Zhang, L.L., Xue, H.W. and Lin, W.H., 2014. Phosphatidic acid regulates BZR1 activity and brassinosteroid signal of *Arabidopsis*, *Molecular plant*, 7(2), pp.445-447.
- Xiong, Y., Xing, Q., Müller-Xing, R., 2021, A novel UV-B priming system reveals an UVR8-dependent memory, which provides resistance against UV-B stress in *Arabidopsis* leaves, *Plant Signaling & Behavior*, 16(4), 1879533.
- Yamaji, N., Sakurai, G., Mitani-Ueno, N., Ma, J.F., 2015, Orchestration of three transporters and distinct vascular structures in node for intervacular transfer of silicon in rice, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(36), 11401-11406.
- Yancey, P.H., 2005, Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses, *Journal of experimental biology*, 208(15), 2819-2830.
- Yao, X., Chu, J., Cai, K., Liu, L., Shi, J., Geng, W., 2011, Silicon improves the tolerance of wheat seedlings to ultraviolet-B stress, *Biological Trace Element Research*, 143(1), 507-517.
- Yap, M. L., Rossmann M. G., 2014, Structure and function of bacteriophage T4, *Future Microbiology*, 9(12), 1319-1327.

- Yaşar, S., 2021, *Arabidopsis thaliana*'da azot açlığı ve kuraklık streslerinin mikroRNA anlatımları üzerindeki etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yeşildirek, Y. V., 2021, *Arabidopsis thaliana* epigenetik mutantlarında tuz stresinin DAN metilasyonu üzerindeki etkilerinin incelenmesi, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yeşildirek, Y. V., Arıkan, B., Kara, N. T., 2022, Molecular Responses of Arabidopsis MET1 Cytosine Methyltransferase Mutants To Salinity, *PREPRINT available at Research Square*.
- Yoon, M.Y., Kim, M.Y., Shim, S., Kim, K.D., Ha, J., Shin, J.H., Kang, S., Lee, S.H., 2016, Transcriptomic profiling of soybean in response to high-intensity UV-B irradiation reveals stress defense signaling, *Frontiers in plant science*, 7,1917.
- Younis, A.A., Khattab, H., Emam, M.M., 2020, Impacts of silicon and silicon nanoparticles on leaf ultrastructure and TaPIP1 and TaNIP2 gene expressions in heat stressed wheat seedlings, *Biologia. Plantarum*, 64, 343-352.
- Yu, Y., You, L., Liu, D., Hollinshead, W., Tang, YJ., Zhang, F., 2013, Development of Synechocystis sp. PCC 6803 as a phototrophic cell factory, *Marine drugs*, 11(8), 2894-916.
- Zhang, H., Lang, Z., Zhu, J. K., 2018a, Dynamics and function of DNA methylation in plants, *Nature reviews Molecular cell biology*, 19(8), 489-506.
- Zhang, X.H., Zheng, X.T., Sun, B.Y., Peng, C.L., Chow, W.S., 2018b, Over-expression of the CHS gene enhances resistance of Arabidopsis leaves to high light, *Environmental and Experimental Botany*, 154, 33-43.
- Zhao, X., Li, F., Li, K., 2021, The 14-3-3 proteins: regulators of plant metabolism and stress responses, *Plant biology*, 23(4), 531-539.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Tuğçe CELAYİR
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Yıldız Teknik Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Mezuniyet Yılı	13.11.2018

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Programı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Makale ve Bildiriler	