

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Arabidopsis thaliana'DA YÜKSEK SICAKLIK STRES TOLERANSINDA
GLİOKSALAZ SİSTEMİ ARACILIĞIYLA SİSTEİN VE HSP90
PROTEİNLERİNİN KARŞILIKLI ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Selda DURMUŞOĞLU

ARALIK 2024
TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Arabidopsis thaliana*'DA YÜKSEK SICAKLIK STRES TOLERANSINDA
GLİOKSALAZ SİSTEMİ ARACILIĞIYLA SİSTEİN VE HSP90
PROTEİNLERİNİN KARŞILIKLI ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Selda DURMUŞOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"DOKTOR (BİYOLOJİ)"

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 03/12/2024

Tezin Savunma Tarihi : 25/12/2024

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Asim KADIOĞLU

Trabzon 2024

ÖNSÖZ

“*Arabidopsis thaliana*’da Yüksek Sıcaklık Stres Toleransında Glioksalaz Sistemi Aracılığıyla Sistein ve HSP90 Proteinlerinin Karşılıklı Etkileşiminin Araştırılması” adlı bu çalışma TÜBİTAK 120Z151 ve 123O867 numaralı araştırma projelerinden sağlanan destekle Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Botanik Anabilim Dalında “Doktora Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Uzun ve zorlu doktora eğitimim süresince çalışmalarımı yönlendiren, deneyim, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, desteklerini esirgemeyen, her daim güvenen ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum danışmanım Prof. Dr. Asım KADIOĞLU’na en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, bu süreçte tezimin geliştirilmesinde önemli katkılarda bulunan, değerli görüş ve önerileriyle beni yönlendiren ve desteklerini esirgemeyen Sayın Hocalarım Prof. Dr. Rabiye TERZİ, Prof. Dr. Neslihan SARUHAN GÜLER ve Prof. Dr. Aykut SAĞLAM’a sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince her zaman yanımda olan, bana rehberlik eden, desteklerini esirgemeyen Sayın hocam Arş. Dr. Dilek ÜNLÜER BİRİNCİ’ye, tez çalışmalarımdayardımcı olan ve manevi destekleriyle yanımda olan değerli takım arkadaşlarımlarım Sebahat Duygu GÜMRÜKÇÜ ŞİMŞEK ve Ece Nisa İMAMOĞLU’na ve değerli diğer tüm ekip arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak, bu çalışmayı, başta babam olmak üzere, COVID-19 pandemisi sırasında hayatını kaybeden tüm insanlara ithaf ediyorum. Babamın sevgisi, desteği ve bana kazandırdığı değerler, bu tezi tamamlamamda en büyük motivasyon kaynaklarımdan biri olmuştur. Hayatım boyunca tüm stresli anlarımda ve karşılaştığım tüm zorluklarda bana maddi ve manevi desteklerini ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, onların kızı olmaktan gurur duyduğum canım aileme, beni bu süreçte sabırla ve anlayışla destekleyen her koşulda yanımda olan sevgili eşime, bana her daim ilham kaynağı olan, hayatıma anlam katan ve varlığıyla bana güç veren sevgili oğluma ve tüm sevdiklerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selda DURMUŞOĞLU

Trabzon 2024

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “*Arabidopsis thaliana*’da Yüksek Sıcaklık Stres Toleransında Glioksalaz Sistemi Aracılığıyla Sistein ve HSP90 Proteinlerinin Karşılıklı Etkileşiminin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Asım KADIOĞLU’nun sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 25/12/2024

Selda DURMUŞOĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÖZET.....	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Literatür Araştırması	3
1.2.1. Bitkide Stres ve Stres Çeşitleri.....	3
1.2.2. Yüksek Sıcaklık Stresi ve Bitki Üzerindeki Etkileri.....	4
1.2.3. Yüksek Sıcaklık Stresinin Bitkinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi.....	6
1.2.4. Yüksek Sıcaklık Stresine Karşı Bitki Toleransı.....	7
1.2.5. Bitkilerde Glioksalaz Sistemi.....	9
1.2.6. Glioksalaz Sistem ve Yüksek Sıcaklık Stres Toleransındaki Rolü.....	12
1.2.7. GLXI İnhibitörü ve Etki Mekanizması	14
1.2.8. HSP'ler ve Yüksek Sıcaklık Stres Toleransı.....	15
1.2.9. Yüksek Sıcaklık Stresine Toleransta HSP90'ın Rolü	18
1.2.10. Yüksek Sıcaklık Stresi Toleransında Amino Asitlerin Rolü.....	20
1.2.11. Sistein.....	22
1.2.12. Sisteinin Abiyotik Stres Toleransı Üzerine Etkileri.....	23
1.3. <i>A. thaliana</i> Hakkında Genel Bilgiler.....	25
1.4. Tezin Kapsamı ve Katkısı	27
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	29
2.1. Materyal.....	29
2.1.1. Kullanılan Cihazlar	29
2.1.2. Kullanılan Kimyasallar	29

2.1.3.	Kullanılan Bitki Materyali	31
2.2.	<i>A. thaliana</i> Besiyeri Ortamı ve Büyütme Koşulları	31
2.3.	<i>A. thaliana</i> Tohumlarının Stratifikasyonu, Yüzey Sterilizasyonu ve Büyütme Ortamına Ekilmesi.....	33
2.3.1.	<i>A. thaliana</i> Tohumlarının Stratifikasyonu.....	33
2.3.2.	<i>A. thaliana</i> Tohumlarının Yüzey Sterilizasyonu.....	33
2.3.3.	<i>A. thaliana</i> Tohumlarının Büyütme Ortamına Ekilmesi	33
2.4.	Bitkilere Sistein, GLX I İnhibitörü ve Sıcaklık Stresi Uygulanması	33
2.5.	Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Parametrelerin Ölçülmesi.....	36
2.5.1.	Hayatta Kalma Oranının Belirlenmesi	37
2.5.2.	Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi	37
2.5.3.	Toplam Klorofil Miktarının Belirlenmesi	37
2.5.4.	Lipid Peroksidasyon Seviyelerinin Belirlenmesi	38
2.5.5.	Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi	38
2.5.6.	Glutasyon İçeriklerinin Belirlenmesi.....	38
2.5.7.	Metilglioksal İçeriklerinin Belirlenmesi	39
2.5.8.	GLX Sistemi Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	39
2.5.9.	Çözünebilir Protein Tayini	40
2.5.10.	RNA İzolasyonu.....	40
2.5.11.	cDNA Sentezi.....	40
2.5.12.	qRT-PCR.....	41
2.6.	İstatistiksel Değerlendirme.....	42
3.	BULGULAR.....	43
3.1.	Sistein ve Yüksek Sıcaklık Stresi Uygulamasının Col-0 Bitkilerinde Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler Üzerine Etkileri	43
3.1.1.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Hayatta Kalma Oranları Üzerine Etkisi	43
3.1.2.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Nispi Su İçerikleri Üzerine Etkisi	44
3.1.3.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Toplam Klorofil İçerikleri Üzerine Etkisi	45
3.1.4.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin TBARS İçerikleri Üzerine Etkisi	46
3.1.5.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Hidrojen Peroksit İçerikleri Üzerine Etkisi	47
3.2.	Sistein ve Yüksek Sıcaklık Stresi Uygulamasının Col-0 ve mutant <i>A. thaliana</i> Bitkilerindeki Biyokimyasal Değişiklikler Üzerine Etkileri.....	48

3.2.1.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Col-0 ve Mutant <i>A. thaliana</i> Bitkilerinin Metilglioksal İçerikleri Üzerine Etkisi.....	48
3.2.2.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Col-0 ve Mutant <i>A. thaliana</i> Bitkilerinin Glutasyon İçerikleri Üzerine Etkisi.....	49
3.2.3.	Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Col-0 ve Mutant <i>A. thaliana</i> Bitkilerinin GLXI ve GLXII Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	50
3.3.	GLXI inhibitörü BBGD'nin Sisteinin Bitkilerdeki Yüksek Sıcaklık Stresine Yanıtı Üzerindeki Etkileri	52
3.4.	Sistein ve Yüksek Sıcaklık Stresi Uygulamasının Bitkideki Moleküler Değişiklikler Üzerine Etkileri	55
3.4.1.	GLXI Enzimini Kodlayan Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler	55
3.4.2.	GLXII Enzimini Kodlayan Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler	58
3.4.3.	GLXIII Enzimini Kodlayan Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler	61
3.4.4.	<i>D-LDH</i> Gen İfadesi Üzerindeki Değişiklikler	63
3.4.5.	Bazı HSP Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler	64
4.	TARTIŞMA	70
5.	ÖNERİLER.....	86
6.	KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ		

ÖZET

Doktora Tezi

INVESTIGATION OF THE INTERACTION OF CYSTEINE AND HSP90 PROTEINS MEDIATED BY GLYOXALASE IN HIGH TEMPERATURE STRESS TOLERANCE IN *ARABIDOPSIS THALIANA*

Selda DURMUŞOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Asım KADIOĞLU
2024, 106 Sayfa

Son yıllarda artan yüksek sıcaklık (YS), bitki büyümesi ve verimini olumsuz etkileyen önemli bir abiyotik stres faktörüdür. Ancak, bitkilerin YS'ye tolerans mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Bu tez çalışmasında, sistein (SİS) uygulamasının *Arabidopsis thaliana*'da yüksek sıcaklık stresi altında ısı şok proteinleri (HSP'ler) ve glioksalaz sistemi arasındaki ilişki üzerindeki etkileri ve stres toleransını artırmadaki rolü incelenmiştir.

Bulgular, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan *A. thaliana*'da sistein uygulamasının, tiyobarbitürik asit-reaktif maddeler (TBARS) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi oksidatif hasar belirteçlerini azaltırken, nispi su içeriği (NSİ) ve klorofil seviyeleri gibi temel fizyolojik parametreleri önemli ölçüde artırdığını ortaya koymuştur. Col-0, *hsp90.1* ile *hsp90.4* mutantları ve Glioksalaz I inhibitörüne (S-p-bromobenzilglutasyon siklopentil diester (BBGD)) maruz bırakılan *A. thaliana* bitkilerinden elde edilen bulgular sisteinin, HSP90.1 ve HSP90.4 proteinleri ile birlikte GLX enzimlerinin aktivitelerini artırarak GSH-bağımlı glioksalaz (GLX) sisteminin pozitif bir düzenleyicisi olarak hareket ettiğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışma, sistein uygulamasının YS stresi altında HSP90 ile bağlantılı olarak GLX sistemi aracılığıyla *Arabidopsis thaliana*'nın stres toleransını artırdığını göstermekte ve YS stresine karşı direnç geliştirmesinde kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Arabidopsis thaliana*, yüksek sıcaklık stresi, sistein, glioksalaz sistem, ısı şok proteinleri, HSP90.

SUMMARY

PhD. Thesis

INVESTIGATING THE ROLE OF EXTERNALLY APPLIED CYSTEINE IN HIGH TEMPERATURE STRESS TOLERANCE IN PLANTS AND ITS RELATIONSHIP WITH THE GLYOXALASE PATHWAY AND HEAT SHOCK PROTEINS

Selda DURMUŞOĞLU

Karadeniz Technical University
Karadeniz Technical University, Faculty of Science, Department of Biology
Supervisor: Prof. Dr. Asım KADIOĞLU
2024, 106 Pages

High temperature (HT), which has increased in recent years, is an important abiotic stress factor that adversely affects plant growth and yield. However, the mechanisms of plant tolerance to HT are not fully understood. In this thesis, the effects of cysteine (CYS) treatment on the relationship between heat shock proteins (HSPs) and glyoxalase system and its role in enhancing stress tolerance under high temperature stress in *Arabidopsis thaliana* were investigated.

Results revealed that cysteine treatment significantly increased key physiological parameters such as relative water content (RWC) and chlorophyll levels, while decreasing oxidative damage markers such as thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and hydrogen peroxide (H₂O₂) in *A. thaliana* exposed to high temperature stress. Results from Col-0, *hsp90.1* and *hsp90.4* mutants and *A. thaliana* plants exposed to glyoxalase I inhibitor (S-p-bromobenzylglutathione cyclopentyl diester (BBGD)) reveal that cysteine acts as a positive regulator of the GSH-dependent glyoxalase (GLX) system by increasing the activities of GLX enzymes along with HSP90.1 and HSP90.4 proteins.

This study demonstrates that CYS treatment enhances the stress tolerance of *Arabidopsis thaliana* under HT stress through the GLX system in conjunction with HSP90 and plays a critical role in developing resistance to HT stress.

Key Words: *Arabidopsis thaliana*, high temperature stress, cysteine, glyoxalase system, heat shock proteins, HSP90

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Bitkilerdeki biyotik ve abiyotik stres çeşitleri.....	4
Şekil 2. Yüksek sıcaklık stresinin bitkiler üzerindeki etkileri	6
Şekil 3. Bitkilerin yüksek sıcaklık stresine tolerans mekanizmaları	9
Şekil 4. Glioksalaz sistemin şematik gösterimi	12
Şekil 5. Glioksalaz I inhibitörünün GLX sistemi üzerindeki etki mekanizması	15
Şekil 6. HSP'lerin sınıflandırılması.....	16
Şekil 7. Sistein amino asitinin yapısı.....	22
Şekil 8. <i>A. thaliana</i> bitkisinin model organizma olmasını sağlayan özelliklerini içeren görüntüsü.....	26
Şekil 9. Bitkilere uygulanan sıcaklık stresi koşulları	34
Şekil 10. <i>A. thaliana</i> Col-0 ile <i>hsp90.1</i> ve <i>hsp90.4</i> mutantlarına ait uygulama gruplarının fenotipik karşılaştırması.	35
Şekil 11. 5 µM ve 10 µM BBGD uygulamalarının Col-0 <i>A. thaliana</i> bitkileri üzerindeki etkileri.	36
Şekil 12. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde hayatta kalma oranına etkisi.....	44
Şekil 13. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde nispi su içeriğine etkisi.....	45
Şekil 14. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde toplam klorofil içeriğine etkisi	46
Şekil 15. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde TBARS içeriğine etkisi	47
Şekil 16. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde H ₂ O ₂ içeriğine etkisi	48
Şekil 17. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde MG içeriğine etkisi	49
Şekil 18. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde GSH içeriğine etkisi.....	50

Şekil 19. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde GLXI aktivitesi üzerindeki etkisi	51
Şekil 20. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde GLXII aktivitesi üzerindeki etkisi..	52
Şekil 21. Uygulama koşullarının BBGD içeren ve içermeyen ortamlarında büyütülen Col-0 ve <i>hsp90.4</i> mutant bitkilerinin fenotipleri üzerine etkisi	53
Şekil 22. Uygulama koşullarının BBGD içeren ortamda büyütülen Col-0 bitkilerinin toplam klorofil içeriği üzerine etkisi.	54
Şekil 23. Uygulama koşullarının BBGD içeren ortamda büyütülen Col-0 bitkilerinin TBARS içeriği üzerine etkisi	55
Şekil 24. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>GLXI.1</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi	56
Şekil 25. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>GLXI.2</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi..	57
Şekil 26. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>GLXI.3</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi	58
Şekil 27. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>GLXII.2</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi..	59
Şekil 28. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>GLXII.4</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	60
Şekil 29. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>GLXII.5</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi	61
Şekil 30. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>DJ-1A</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.....	62
Şekil 31. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>DJ-1D</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	63
Şekil 32. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>D-LDH</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	64
Şekil 33. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>HSP21</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	65
Şekil 34. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>HSP70</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	66
Şekil 35. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>HSP90.1</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	67

Şekil 36. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>HSP90.4</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	68
Şekil 37. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde <i>HSP101</i> gen ifadesi üzerindeki etkisi.	69



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Kullanılan cihazların listesi.....	29
Tablo 2. Kullanılan kimyasalların listesi.....	30
Tablo 3. Kullanılan bitkilerin listesi.....	31
Tablo 4. Çalışmada kullanılan MS tozunun kimyasal içeriği.....	32
Tablo 5. Col-0 ve mutant <i>A. thaliana</i> bitkileri için deney grupları ve uygulama koşulları.....	35
Tablo 6. qRT-PCR koşulları.....	41
Tablo 7. Primerlerin baz dizileri.....	41

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABA	: Absisik asit
ABRC	: <i>Arabidopsis thaliana</i> biyolojik kaynak merkezi
<i>A. thaliana</i>	: <i>Arabidopsis thaliana</i>
BBGD	: S-p-bromobenzilglutatyon siklopentil diester
BES1	: BRI1 EMS-SUPPRESSOR 1
CAT	: Katalaz
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DTNB	: 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)
Ec	: Elektrik iletkenlik
EDTA	: Etilendiaminotetraasetik asit
EtOH	: Etanol
g	: Gram
GABA	: γ -aminobütirik asit
GLX	: Glioksalaz
GLX I	: Glioksalaz I
GLX II	: Glioksalaz II
GR	: Glutatyon redüktaz
GSH	: Glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
H₂S	: Hidrojen sülfür
HCl	: Hidroklorik asit
HKO	: Hayatta kalma oranı
HSF	: Isı şok faktörü
HSP	: Isı şok proteini
sHSP	: Küçük ısı şoku proteini
HSP90	: Isı şok proteini 90
KCl	: Potasyum klorür

KI	: Potasyum iyodür
MG	: Metilglioksal
mg g⁻¹ TA	: Miligram/gram TA
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mM⁻¹ cm⁻¹	: 1/mM x cm
mmol g⁻¹ TA	: Milimol/gram TA
mRNA	: Elçi RNA
MS	: Murashige & Skoog Besiyeri
Na⁺	: Sodyum
NaClO	: Sodyum hipoklorit
NADP	: Nikotinamid adenine di nükleotid fosfat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP'nin indirgenmiş formu)
NaOH	: Sodyum Hidroksit
nm	: Nanometre
NSİ	: Nispi su içeriği
O₂	: Oksijen
O₂⁻	: Süperoksit radikali
¹O₂	: Singlet oksijen
OH⁻	: Hidroksil radikali
PSII	: Fotosistem II
qRT-PCR	: Quantitative Real time-Polymerase chain reaction
RNA	: Ribonükleik asit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RWC	: Bağlı su içeriği
S	: Kükürt
SH	: Tiyol
SİS	: Sistein
SLG	: S-D laktoilglutasyon
SOD	: Süperoksit dismutaz
TA	: Taze ağırlık
TBA	: Thiobarbitrik asit
TBARS	: Tiyobarbitünik asit reaktif maddeler

TCA	: Trikloroasetik asit
T-DNA	: Transfer DNA
w/v	: Hacimde ağırlıkça yüzde
μM	: Mikromolar
μL	: Mikrolitre
μM g⁻¹ TA	: Mikromol/gram TA
μmol m⁻¹ cm⁻¹	: Mikromol/metre x cm
μmol m⁻² cm⁻¹	: Mikromol/metre ² x cm
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
ε	: Epsilon

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Küresel ısınma, dünyanın atmosfer ve okyanus sıcaklıklarındaki uzun vadeli artış olarak tanımlanır ve büyük ölçüde hızlı sanayileşme, fosil yakıtların yakılması ve ormanların yok edilmesi gibi etkinlikler tarafından yönlendirilir. Bu faaliyetler, sera gazlarının atmosferik konsantrasyonunu artırarak küresel ısınmayı şiddetlendirir (URL-1, 2024). Son yıllarda yaşanan iklim değişiklikleri, bitkileri daha sık yüksek sıcaklıklara maruz bırakmakta, bu da büyümelerini ve gelişmelerini olumsuz etkilemektedir.

Yüksek sıcaklık, tarım sektöründe ürünlerin verim ve kalitesinde ciddi düşüşlere neden olan önemli abiyotik streslerden bir tanesidir (Goswami vd., 2022). Yüksek sıcaklık stresi, hücre bölünmesini, bitki metabolizmasını, büyümesini, gelişimini, üremesini ve verimini etkileyen önemli stres faktörlerinden biri olup bitkilerde protein denatürasyonu, biyomembran hasarı, oksidatif stres, osmotik stres, metilglioksal (MG) stresi gibi hasarlara neden olmaktadır (Lobell vd., 2011; Hasanuzzaman vd., 2013; Nguyen vd., 2013; Aleem vd., 2020; Ali vd., 2020). Bütün bunlar göz önünde bulundurulduğunda yüksek sıcaklık stresinin neden olduğu ürün kayıplarının yakın gelecekte dünya nüfusunun ciddi anlamda besin problemi yaşamasına neden olacağı düşünülmektedir (Ahanger vd., 2017). Yüksek sıcaklık stresi nedeniyle meydana gelen ürün kayıplarını en aza indireyecek stratejileri geliştirebilmek için, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı oluşturduğu fizyolojik ve gelişimsel cevapların anlaşılması günümüzde oldukça önem arz etmektedir (Aneja vd., 2022). Bu tez, bitkilerin bu yüksek sıcaklık koşullarına karşı savunmalarını güçlendirecek stratejiler geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Bu çalışma bir amino asit olan sistein kullanımının, *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) üzerindeki yüksek sıcaklık stresine karşı koruyucu etkilerini incelemektedir. Sistein, bitkilerde doğal olarak bulunan ve kükürt içeren önemli bir amino asittir. Bu amino asit, bitkilerin stres altında karşılaştığı hasarı azaltmada önemli rol oynayan glutatyon (GSH), fitoaleksinler ve çeşitli savunma proteinlerinin biosentezinde yer alır. Ayrıca, sistein bitki büyüme ve gelişimini düzenleyen etilen ve poliaminler gibi hormonların sentezinde de kritik bir öncüdür. Bu tezde ayrıca, sistein uygulamasının *A. thaliana*'nın yüksek sıcaklık stresi altındaki fizyolojik ve moleküler yanıtlarını nasıl modüle ettiği araştırılmıştır. Çalışmada,

özellikle ısı şoku proteinleri (HSP'ler) ve glioksalaz (GLX) sistemi üzerindeki etkileri incelenerek, bu moleküler mekanizmaların sıcaklık stresine karşı bitki toleransını nasıl artırabileceği değerlendirilmektedir.

Son bulgular, MG'nin HSP'lerde modifikasyonları tetikleyen ve bitki sıcaklık toleransını artıran bir sinyal molekülü olarak hareket ettiğini ortaya koymuştur (Li, 2022). MG'nin detoksifikasyon yolunun hayvan hücrelerinde HSP'ler ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Bento vd., 2010; Sudnistsyna ve Gusev, 2017). Bitkilerde, GSH ve HSP'ler (Kumar ve Chattopadhyay, 2018) arasındaki ilişkiye dair ortaya çıkan bilgiler karmaşık dinamiklere işaret etmektedir. Bununla birlikte, literatürde sistein uygulamasını takiben bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı geliştirdiği tolerans mekanizmaları ve özellikle GLX sistemi, sistein ve HSP'ler arasındaki etkileşimler ile ilgili çalışmalar eksiktir.

Bu tez çalışmasında aşağıda belirtilen hipotezler incelenmiştir:

- I. Sisteinin Yüksek Sıcaklık Toleransını Artırma Rolü: Sisteinin, *A. thaliana* bitkilerinde yüksek sıcaklık toleransını artırarak bitki stres direncini geliştirdiği varsayılmaktadır.
- II. GLX Sisteminin Modülasyonu: Sisteinin, GLX sistemini modüle ederek, yüksek sıcaklık stresi altında biriken MG gibi zararlı yan ürünleri detoksifiye etmede kritik bir rol oynayan GLX enzimlerinin aktivitesini artırdığı öne sürülmektedir.
- III. HSP90 Proteinleri ile Etkileşim: Sisteinin, bitkinin stres tepkisinin önemli bir bileşeni olan HSP90 proteinleri ile etkileşime girerek GLX sistemini modüle ettiği ve böylece sıcaklık stresine karşı direnci artırdığı varsayılmaktadır.

Bu hipotezler, sisteinin GLX sistemi ve HSP90 proteinleri ile etkileşimi yoluyla bitkinin sıcaklık toleransını ve genel stres direncini artırmada potansiyel bir rol oynadığı varsayımına dayanmaktadır. Bu doğrultuda, bu tez çalışmasında sisteinin MG gibi zararlı yan ürünleri detoksifiye etmek için önemli olan GLX enzimlerinin aktivitesini nasıl etkilediği ve yüksek sıcaklık stresi altında hem HSP90 proteinleri hem de GLX sistemi ile ilişkili genlerin ifade seviyelerindeki değişiklikler değerlendirilmiştir. Bu araştırma, sisteinin stres koşulları altında HSP proteinleri ve GLX sistemi üzerindeki etkilerini inceleyerek *A. thaliana*'da yüksek sıcaklık stres toleransını geliştirmedeki rolünü aydınlatmayı amaçlamaktadır.

Küresel ısınmanın artan etkileri altında, tarımsal üretimin sürdürülebilirliğini ve bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı direncini artırmak, bu çalışmanın odak noktasını oluşturmaktadır. Sonuçlar, gelecekte bitki stres toleransını artırma ve tarımsal üretimdeki

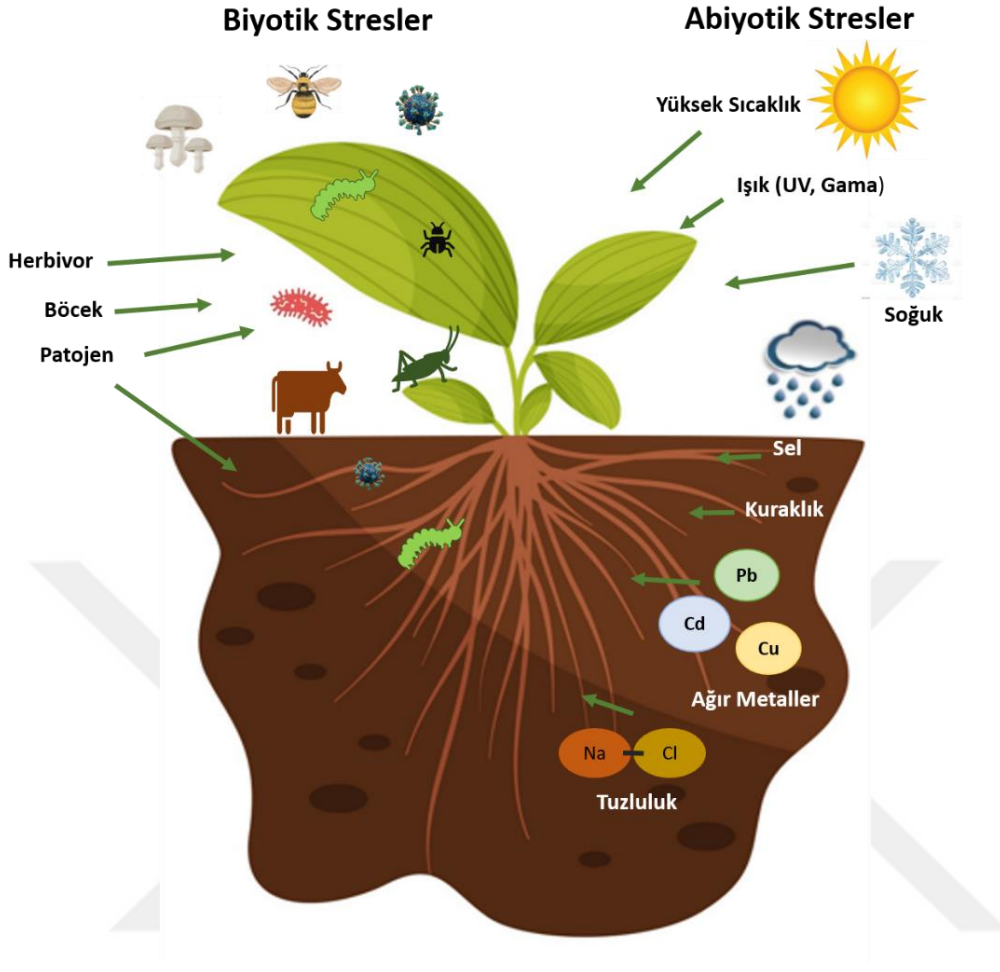
verim kayıplarını minimize etme stratejilerine önemli katkılar sağlayabilir. Bu şekilde, küresel ısınma koşulları altında tarımsal üretimin sürdürülebilirliğini artırmaya yönelik bilimsel anlayışımızın genişletilmesi hedeflenmektedir.

1.2. Literatür Araştırması

1.2.1. Bitkide Stres ve Stres Çeşitleri

Bitkisel stres, bitkilerin büyüme, gelişim ve genel sağlıklarını olumsuz etkileyen çevresel koşulları ifade etmektedir. Bu stresler, abiyotik ve biyotik faktörler olarak iki ana kategoride sınıflandırılabilir. Abiyotik stres faktörleri, kuraklık, aşırı sıcaklık, tuzluluk, soğuk ve ozmotik stres gibi çevresel unsurları içerirken, biyotik stres faktörleri, bitkilerin patojenler ve zararlılarla etkileşimlerini kapsamaktadır (Porter vd., 2020; Umar vd., 2022). Küresel iklim değişikliği ve arazi kullanımındaki değişiklikler, kuraklık, yüksek sıcaklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres faktörlerinin daha yaygın hale gelmesine yol açmakta ve bu durum, bitkilerin hayatta kalmasını ciddi şekilde tehdit eden zorluklar ortaya çıkarmaktadır (Porter vd., 2020).

Bitki stresleri, fizyolojik ve moleküler düzeyde bitki biyolojisinin çeşitli yönlerini etkileyen bir dizi değişikliği tetiklemektedir. Örneğin, kuraklık stresi altında bitkilerde biyokütle azalması, klorofil içeriğinde düşüş, kök-sürgün oranında değişiklikler ve antioksidan enzim aktivitelerinde artış gibi tepkiler gözlemlenebilir (Kadioglu vd., 2011; Tufail vd., 2022). Bu fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler, bitkilerin strese karşı yanıt mekanizmalarının ve zorlayıcı çevre koşullarına adaptasyon yeteneklerinin önemli göstergeleri olarak kabul edilmektedir. Şekil 1’de, bitkilerde gözlemlenen biyotik ve abiyotik stres türlerini gösterilmektedir (Durmuşoğlu vd., 2024).



Şekil 1. Bitkilerdeki biyotik ve abiyotik stres çeşitleri

1.2.2. Yüksek Sıcaklık Stresi ve Bitki Üzerindeki Etkileri

Bitkilerde yüksek sıcaklık stresi, bitki büyümesi, gelişimi ve verimliliğini önemli ölçüde etkileyebilen kritik bir çevresel faktördür. Bitkiler, dayanabilecekleri fizyolojik optimum sıcaklıkların üzerindeki koşullara maruz kaldıklarında yüksek sıcaklık stresine girerler; bu durum, çeşitli fizyolojik süreçlerde geri dönüşü olmayan hasar ve bozulmalara neden olabilir (Li vd., 2021). Yüksek sıcaklık stresinin bitkiler üzerindeki etkisi, biyokimyasal, moleküler, fizyolojik ve morfolojik seviyelerde gözlemlenmekte olup, genel bitki sağlığını ve performansını etkileyen bozukluklara yol açmaktadır (Khan vd., 2020).

Araştırmalar, yüksek sıcaklık stresinin fotosentezi engellediğini, Rubisco aktivitesini azalttığını ve bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROT) sentezini artırdığını göstererek, yüksek sıcaklıkların bitkilerin metabolik süreçleri üzerindeki çok yönlü etkisini vurgulamaktadır (Cocetta vd., 2022). Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerde normal hücresel

fonksiyonları bozabilecek ve oksidatif hasara yol açabilecek ROT üretimini teşvik eder (Medina vd., 2021) bu da hücrel bozulmalara ve hasara neden olur (Zhao vd., 2020).

Yüksek sıcaklık stresinin bitkiler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak ve yüksek sıcaklıklara karşı toleranslarını artırmak için biyostimulan ve büyüme düzenleyicilerinin uygulanması stratejileri araştırılmıştır (Pantoja-Benavides vd., 2021; Mushtaq vd., 2022). Ayrıca, SHK2 gibi belirli genlerin aşağı regülasyonu, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı toleransını artırmak amacıyla gen ifadesinin modülasyonuna yönelik bir yaklaşım olarak incelenmiştir (Shaffique vd., 2022). Endofitler ve bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler de yüksek sıcaklık stresini hafifletme potansiyelleri açısından ele alınmış ve bitkilerin yüksek sıcaklıklara karşı direncini artırmak için doğal ve sürdürülebilir bir yöntem sunmuşlardır (Ding vd., 2020). Ayrıca, otofaji, mikroRNA'lar ve kloroplastların yüksek sıcaklık stresine karşı bitki tepkilerine dahil olması, bitkilerin yüksek sıcaklık toleransının altında yatan moleküler mekanizmaların karmaşıklığını vurgulamaktadır (Pei vd., 2021; Pradhan vd., 2022; Sheikhi vd., 2022). Şekil 2'de, yüksek sıcaklık stresinin bitkilerin büyüme ve gelişimi üzerindeki etkilerine dair bazı örnekler gösterilmektedir (Parthasarathi vd., 2022).



Şekil 2. Yüksek sıcaklık stresinin bitkiler üzerindeki etkileri

1.2.3. Yüksek Sıcaklık Stresinin Bitkinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerin yaşam döngüsü boyunca çeşitli fizyolojik ve metabolik bozulmalara neden olan, ekosistemlerde geniş ölçekte etkili bir abiyotik stres faktörüdür. Bitkiler, bu tür stres koşullarına karşı çeşitli hücrel, fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları devreye sokarak yanıt verirler.

Yüksek sıcaklık stresi, fizyolojik anlamda bitkilerin büyüme parametreleri üzerinde önemli etkiler yaratır. Kök sistemi yapısını değiştirerek kök etkileşimlerini ve esnekliğini azaltır, böylece bitki büyümesini sınırlar ve verimi düşürür (Amarasinghe vd., 2020; Luo vd., 2020). Bu stres, fotosentez, antioksidan savunma ve pigment biyosentezi gibi kritik fizyolojik süreçleri de olumsuz etkiler (Balliu ve Sallaku, 2021). Su dengesi de yüksek sıcaklıklardan etkilenir; terleme oranları artar ve su dengesi bozulur (Sadok vd., 2020; Gautam vd., 2022). Yüksek sıcaklıklar, klorofil içeriğinin azalmasına, fotosistem II'nin

(PSII) verimliliğinin düşmesine ve oksidatif stresin artmasına neden olur (Hemantaranjan vd., 2014; Chen vd., 2023).

Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerin biyokimyasal süreçlerinde de derin etkilere yol açarak metabolik yollarda, enzim aktivitelerinde ve ROT birikiminde önemli değişiklikler yaratır. Bu durum, bitkilerin büyüme, gelişim ve genel sağlığı üzerinde ciddi olumsuz etkilere neden olur. Yüksek sıcaklık altında bitkiler, süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ($^1O_2$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi ROT'ların aşırı birikimi ile karşı karşıya kalır. Bu birikim, hücre zarları, proteinler, DNA ve diğer makromoleküllerde ciddi hasarlara yol açarak oksidatif strese neden olur (Devireddy vd., 2021; Gautam vd., 2022).

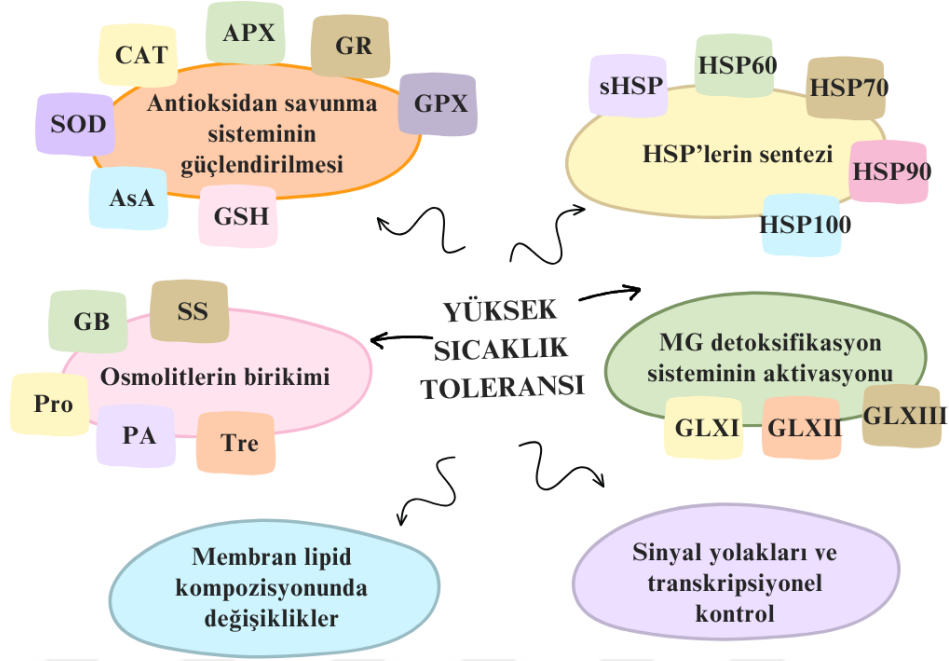
ROT'ların yol açtığı oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu süreçlerini hızlandırarak hücresel zararların stabilitesini bozar ve hücre fonksiyonlarının zarar görmesine neden olur. Özellikle H_2O_2 , protein metabolizmasını bozarak enzim aktivitelerini düşürür ve hücre içi protein yapılarının oksidasyonuna yol açar; bu da hücresel işlevlerin zayıflamasına ve bitkinin strese karşı daha hassas hale gelmesine sebep olur. Fotosentez ve solunum gibi temel biyolojik süreçler doğrudan bu bozulmalardan etkilenir; bitki büyümesi, biyokütle birikimi ve verimlilik azalır. Bitkiler, yüksek sıcaklıklara karşı adaptasyon mekanizmaları geliştirerek direnç göstermeye çalışsalar da bu mekanizmalar sınırlıdır ve iklim değişikliği bağlamında daha fazla araştırma gerekmektedir (Li vd., 2020).

1.2.4. Yüksek Sıcaklık Stresine Karşı Bitki Toleransı

Yüksek sıcaklık stresine karşı bitki adaptasyonu, iklim değişikliğinin küresel tarım üzerindeki artan etkisi nedeniyle kritik bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bitkiler, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçleri bozabilen yüksek sıcaklık stresine karşı çeşitli adaptasyon stratejileri geliştirmiştir. Bu stratejiler, bitkilerin homeostazisini sürdürmesine, hücresel yapılarını korumasına ve olumsuz çevresel koşullar altında büyümeye devam edebilmesine olanak tanır.

Bu adaptasyon mekanizmalarından biri, proteinleri ısı kaynaklı denatürasyondan koruyan moleküler şaperon olarak görev yapan HSP'lerin üretimidir (Gautam vd., 2021). Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi enzimlerin, oksidatif stresi azaltmak için ROT'ları temizlediği enzimatik antioksidan savunma sistemi de kritik bir rol oynar (Poór vd., 2021). Bitkiler ayrıca, ozmotik dengeyi korumak ve dehidrasyon sırasında hücresel yapıları korumak amacıyla prolin ve glisin betain gibi ozmolitleri biriktirirler (Devireddy

vd., 2021). Membran lipidlerinin yeniden modellenmesi, doymamış yağ asitlerinin oranını artırarak membran stabilitesini korur ve yüksek stresi altında membran işlevselliğini sağlar (Kaur vd., 2014). Stomatal düzenleme ve transpirasyon yoluyla soğutma mekanizmaları, bitkilerin stomalarını ayarlayarak su kaybını yönetmelerini ve yüzeylerini soğutmalarını sağladığı için sıcaklık kontrolü açısından kritik öneme sahiptir (Musawira, 2023). Yüksek sıcaklık stresine karşı fotosentetik verimliliğin korunması, PSII proteinlerinin stabilizasyonu ve alternatif elektron taşıma yollarının kullanımı yoluyla sağlanır (Gautam vd., 2021). Absisik asit (ABA), etilen, salisilik asit, jasmonik asit ve brassinosteroidler gibi büyüme düzenleyicilerinin rol aldığı hormonal düzenleme, stres tepkilerini ve stomatal kapanmayı modüle ederek bitkilerin stres koşullarına uyum sağlamasına yardımcı olur (Bilal vd., 2023). Gen ifadesi ve epigenetik modifikasyonlar, yüksek sıcaklığa duyarlı genleri aktive eder ve bitkileri gelecekteki yüksek sıcaklık stresine hazırlar (Devireddy vd., 2021). Bitkiler, daha derin su kaynaklarına ulaşmak için daha kapsamlı kök sistemleri geliştirirler (Taratima vd., 2022). GLX sistemi, yüksek sıcaklık stresinde biriken MG gibi zararlı yan ürünleri detoksifiye ederek hücresel süreçleri korur (Kaur vd., 2014). Metabolik ayarlamalar, şeker üretiminin artması gibi değişikliklerle membranları stabilize eder ve sinyal molekülleri olarak işlev görür (Poór vd., 2021). Son olarak, termomorfogenez olarak adlandırılan süreçte bitkiler, gövde uzaması ve yaprak açısı ayarı gibi büyüme modellerini değiştirerek ısı emilimini azaltır ve ısıyı daha etkili bir şekilde dağıtır (Musawira, 2023). Bu birleşik stratejiler, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı dayanıklılık göstermelerine ve stres koşullarında hayatta kalmalarına olanak sağlar. Şekil 3, bitkilerin yüksek sıcaklıklara adaptasyonunda etkili olan faktörleri özetlemektedir (Li, 2020).



Şekil 3. Bitkilerin yüksek sıcaklık stresine tolerans mekanizmaları

1.2.5. Bitkilerde Glioksalaz Sistemi

GLX sistemi, yüksek sıcaklık, tuzluluk ve kuraklık gibi stres koşulları altında biriken toksik bir yan ürün olan MG'nin detoksifiye edilmesinde kritik bir rol oynar. Bu sistem, MG'yi daha az zararlı bileşiklere dönüştürerek hücrel bileşenlerle etkileşime girip hasara yol açmasını engeller (Kaur vd., 2014). Detoksifikasyonun yanı sıra, GLX sistemi, bitkinin antioksidan savunma mekanizmalarıyla iş birliği yaparak ROT'ları azaltır, böylece oksidatif stresi hafifletir ve proteinler, lipidler, nükleik asitler gibi temel hücrel yapıları korur (Poór vd., 2021).

A. GLX sisteminin Bileşenleri

1. GLX sistemi Enzimleri

Bitkilerdeki GLX sistemi, MG'yi daha az zararlı bir bileşik olan D-laktata dönüştüren glioksalaz I (GLXI) ve glioksalaz II'yi (GLXII) içerir (Talaat ve Todorova, 2022). MG'nin GLXI-GLXII sistemi aracılığıyla detoksifikasyon etkinliği, bitkilerdeki GSH seviyesine bağlıdır ve GLX sistemini desteklemede enzimatik olmayan antioksidanların önemini vurgular (Guo vd., 2023). GLXI ve GLXII'nin yanı sıra, son araştırmalar bitkilerde yeni bir bileşen olan glioksalaz III'ü (GLXIII) tanımlamıştır (Li vd., 2021; Gambhir vd., 2022). GSH'a ihtiyaç duymadan MG'yi doğrudan detoksifiye edebilen GLXIII, bitkilerde tuz ve ozmotik streslere karşı toleransı artırarak MG detoksifikasyon yollarının önemine dikkat

çeker. GLXIII, bir kofaktör gereksinimi olmadan MG'yi doğrudan detoksifiye edebilen, GSH bağımsız bir enzimdir (Ghosh vd., 2022).

GLXI, GLXII ve yakın zamanda keşfedilen GLXIII'ü içeren GLX sistemi, bitkilerdeki antioksidan savunma mekanizmalarıyla bağlantılıdır. Araştırmalar, GLXIII de dahil olmak üzere bu sistemin ROT'ları temizleyerek ve glikasyonu azaltarak bitkilerin stres toleransını artırabileceğini göstermektedir (Ghosh vd., 2022). GLXI, GLXII ve GLXIII enzimleri, GLX sistemini düzenleyerek MG'yi detoksifiye eder ve bitkilerin stres koşullarına karşı dayanıklılığını artırır (Ghorbani vd., 2021).

2. Metilglioksal

MG, çeşitli stres koşulları altında bitkilerde birikebilen ve hücrel işlevler için tehdit oluşturan sitotoksik bir bileşiktir. Yapılan araştırmalar, bitkilerin toksik bileşiklerin zararlarından korunmasında MG detoksifikasyonunun önemini vurgulamaktadır (Mohiuddin vd., 2022). GLX sistemi aracılığıyla gerçekleştirilen MG detoksifikasyonu, bitkilerin çeşitli abiyotik stres faktörlerine yanıt vermesinde kritik bir role sahiptir ve bu süreç glutatyon metabolizması ile etkileşime girerek stres toleransını artırır (Li vd., 2022).

Bunun yanı sıra, GLX sistemi, bitkilerdeki diğer savunma mekanizmalarıyla bağlantılıdır. Örneğin, MG'yi detoksifiye etmek ve ROT homeostazını korumak için antioksidan savunma sistemi ile koordineli çalışarak bitki stres toleransını güçlendirir (Hasanuzzaman vd., 2022). GLX sistem aktivitesindeki artış, ROT ve MG seviyelerini azaltarak bitkinin abiyotik streslere karşı toleransını artırır (Kumar vd., 2022). Yapılan bir çalışmada, tuz stresinin bitkilerde MG üretimini artırdığı ve bu bileşiğin stres tepkilerindeki rolünün önemi vurgulanmıştır (Anani vd., 2022).

Kadmiyum gibi ağır metaller, aşırı ROT üretimine yol açarak MG birikimine sebep olabilir ve bu da bitkiler üzerinde olumsuz etkiler yaratır (Gambhir vd., 2022). Tuzluluk stresi altındaki bitkiler, MG seviyesindeki artışı dengelemek ve ROT ile mücadele etmek amacıyla GLX sistemi aktivitesini yükseltirler (Hasanuzzaman vd., 2021).

MG, bitkilerin stres tepkilerinde önemli bir rol oynar ve GLX sistemi, bitkileri bu bileşiğin sitotoksik etkilerinden korumada kritik bir fonksiyona sahiptir. MG metabolizmasının altında yatan mekanizmaları ve bunun bitki fizyolojisi üzerindeki etkilerini anlamak, bitkilerde stres toleransını artırmaya yönelik stratejiler geliştirmek açısından önemlidir.

3. Glutasyon

GSH, glutamin, sistein ve glisin (γ -Glu-Cys-Gly) olmak üzere üç temel amino asitten oluşan, düşük molekül ağırlıklı bir tripeptittir (Gill vd., 2013; Hasanuzzaman vd., 2017). GSH, redoks homeostazını koruyarak, ROT'u temizleyerek ve bitki hücrelerini oksidatif hasardan koruyarak bitki savunma mekanizmalarında ve stres tepkilerinde çok önemli bir rol oynar. GSH'nin antioksidan özellikleri, zararlı bileşiklerin detoksifikasyonuna, hücrel redoks dengesinin düzenlenmesine ve bitkilerin çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı korunmasına katkıda bulunur. Aynı zamanda, bitki büyümesi, hücre bölünmesi ve uzamasında rol oynayan ve hücreleri koruyan önemli bir antioksidandır (Khalaf, 2023).

GSH, askorbat-glutasyon döngüsünde, ROT'u nötralize etmek ve hücrel redoks dengesini korumak amacıyla askorbik asitle birlikte çalışarak önemli bir antioksidan ve elektron donörü olarak görev yapar. Ayrıca, GLX sisteminde kritik bir kofaktör olarak işlev görür ve öncelikle glikolizin sitotoksik bir yan ürünü olan MG'nin detoksifikasyonunda rol oynar. GLX sisteminde, GSH, MG'nin bir tiyoester bileşiği olan S-D-laktoil-glutatyona (SLG) dönüşümünü katalize eden GLXI için bir kofaktör görevi üstlenir. Bu reaksiyon, MG'nin GLXII tarafından daha ileri düzeyde işlenmesine hazırlık yaparak onu toksik olmayan D-laktata dönüştürür ve detoksifikasyon sürecini tamamlar. Bu iki aşamalı reaksiyon, MG'nin hücrel proteinleri, DNA'yı ve diğer hayati molekülleri potansiyel olarak bozabilecek birikimini önlemek için gereklidir (Batth vd., 2017; Sankaranarayanan vd., 2017).

GLX aktivitesi ile GSH seviyeleri arasındaki etkileşim kritiktir, çünkü GSH yalnızca GLX enzimleri için bir substrat olarak hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda ROT'u temizleyen güçlü bir antioksidan görevi görür (Ghosh ve Islam, 2016; Ahmed vd., 2018; Kaya vd., 2020). Bu etkileşim, hücrel homeostazın korunması ve bitkilerin tuzluluk, kuraklık ve ağır metal toksisitesi gibi abiyotik streslere karşı direnç göstermesi için hayati önem taşır (Talaat ve Todorova, 2022; Al-Zahrani vd., 2022; Hasanuzzaman vd., 2023).

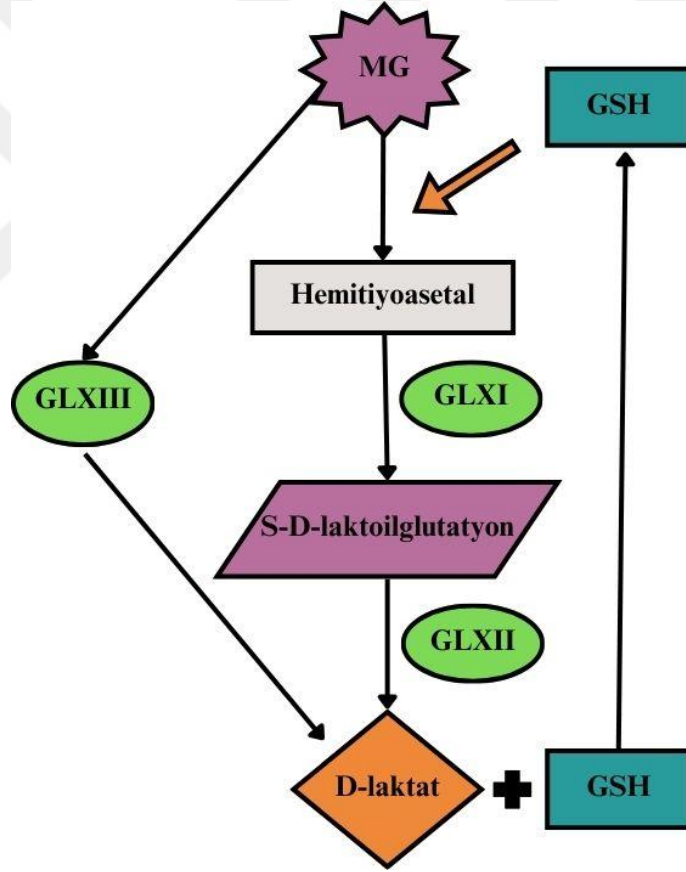
4. D-laktat

D-laktat, stres sırasında biriken oldukça reaktif ve zararlı bir bileşik olan MG'nin detoksifikasyon süreci olan GLX sistemi son ürün olarak kritik bir rol oynar. Bu detoksifikasyon sürecinde D-laktat üretimi esastır, çünkü bitkinin kontrol edilmediği takdirde glikasyon yoluyla proteinlere, nükleik asitlere ve lipitlere zarar verebilecek olan MG'yi nötralize etmesini sağlar. D-laktat üretildikten sonra, daha fazla metabolize edilebilir veya hücreden uzaklaştırılabilir. Böylece bitki, tuzluluk, kuraklık ve ağır metal maruziyeti

gibi stres koşulları altında hücrel homeostazı sürdürebilir. Bu nedenle, D-laktatın bu yoldaki rolü, oksidatif stresi azaltmak ve olumsuz koşullar altında metabolik işlev bozukluğunu önlemek için oldukça önemlidir (Imran vd., 2024; Luo vd., 2024).

D-laktat üretimi ve etkin metabolizması dolaylı olarak diğer bitki savunma mekanizmalarını da destekler. Örneğin, yapılan çalışmalar, D-laktat metabolizmasını içeren yolların bitkilerin antioksidan sisteminin önemli bir parçası olan ROT seviyelerinin düzenlenmesiyle bağlantılı olabileceğini göstermektedir (Talaat ve Todorova, 2022).

Genel olarak, D-laktat, GLX sisteminin bitkinin hayatta kalmasını ve çevresel zorluklara uyum sağlamasını etkin bir şekilde desteklemesinde kilit bir rol oynar (Wahab vd., 2022; Xu vd., 2023). GLX sisteminin şematik gösterimi Şekil 4'te sunulmuştur (Tiku, 2021).



Şekil 4. Glioksalaz sistemin şematik gösterimi

1.2.6. Glioksalaz Sistem ve Yüksek Sıcaklık Stres Toleransındaki Rolü

GLX sisteminde yer alan enzimler, MG'yi daha az zararlı bir bileşiğe dönüştürerek bitkilerin yüksek sıcaklık stresi de dahil olmak üzere çeşitli stres faktörlerine karşı

toleransını artırır. Yüksek sıcaklık koşullarında bitkiler, özellikle proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi hücrel bileşenlere zarar verebilecek ROT ve metabolizmanın toksik bir yan ürünü olan MG'nin aşırı üretimi nedeniyle bir dizi fizyolojik bozulma yaşar. GLX sistemi, MG'yi D-laktata dönüştürerek bu toksisiteyi etkili bir şekilde azaltır ve hücrel homeostazı korur. Özellikle GLXI, MG ve GSH bileşenlerinden SLG üretimini katalize ederken, GLXII bu bileşiği hidrolize ederek D-laktat üretir ve GSH'yi yeniden oluşturur (Saxena, 2011; Al-Zahrani vd., 2022; Musawira, 2023). GSH'nin bu şekilde yenilenmesi, antioksidan savunmanın sürekliliğini sağlayarak bitkilerin oksidatif stresle başa çıkmalarına olanak tanır (Al-Zahrani vd., 2022; Talaat ve Todorova, 2022).

Araştırmalar, yüksek sıcaklık stresinin GLX sistemi indüklediğini göstermiştir. Örneğin, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan maş fasulyesi (*Vigna radiata* L.) fideleri üzerinde yapılan çalışmalar, antioksidan savunma sistemlerindeki değişikliklerle birlikte GLX aktivitesinde, özellikle GLXI'de bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Bu ayarlamalar, MG seviyelerini düzenleyerek ve ROT'un daha iyi temizlenmesi yoluyla oksidatif stresi hafifletir. GLX ve antioksidan sistemleri arasındaki bu koordineli tepki, bu yolun bitkilere termal tolerans kazandırmadaki önemini vurgular, hücrel homeostazı sürdürür ve stres koşulları altındaki hasarı azaltır (Hasanuzzaman vd., 2017; Garai vd., 2020)

Ayrıca, GLX sisteminin yüksek sıcaklık stresi altında artan MG seviyelerini kontrol etme yeteneği, daha yüksek GSH seviyeleri ve kritik enzim aktivitelerinin korunması gibi gelişmiş stres toleransı özellikleriyle ilişkilidir. Bu durum, GLX sistemini yüksek sıcaklık stresine karşı bitki direncini artırmaya yönelik genetik manipülasyon için potansiyel bir hedef haline getirmektedir (Sankaranarayanan vd., 2017)

Bazı çalışmalar, GLX genlerinin yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak yukarı regüle edildiğini göstermiştir. Örneğin, *Arabidopsis* ve *Brassica* türleri gibi çeşitli bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalar, yüksek sıcaklık stresinin GLXI ve GLXII'nin ifadesini artırdığını, MG'nin detoksifikasyonunu desteklediğini ve stres toleransını iyileştirdiğini göstermiştir (Hasanuzzaman vd., 2011; Kaya, 2020). Bu yukarı regülasyona genellikle GLX sisteminin işlevi için gerekli olan GSH seviyelerinin artışı eşlik eder (Rajwanshi vd., 2016; Ghosh, 2017; Talaat vd., 2022).

Dahası, GLX genlerini aşırı ifade eden transgenik bitkiler, yüksek sıcaklık stresine karşı artan tolerans göstermektedir. Örneğin, bütün bitkilerinde GLXI'nin aşırı ifadesi, MG detoksifikasyonu ve GSH homeostazının sürdürülmesi yoluyla yüksek sıcaklık stresi altında gelişmiş hayatta kalma oranları ile ilişkilendirilmiştir (Alvarez-Gerding vd., 2015;

Varapizuela-Sánchez vd., 2022; Sun, 2023). Bu bulgular, bitkilerde yüksek sıcaklık stresi toleransını artırmak için genetik mühendislik yoluyla GLX sistemini manipüle etme potansiyelini göstermektedir.

GLX enzimlerinin askorbat-glutasyon döngüsü gibi diğer antioksidan yollarla koordineli çalışması, oksidatif strese karşı kapsamlı bir savunma sağlar. Bu sinerji, ROT ve MG'nin birleşik etkilerinin bitkilerin antioksidan kapasitesini sınavabileceği yüksek sıcaklık koşullarında özellikle önemlidir (Tuomainen vd., 2011; Hasanuzzaman vd., 2017; Masum, 2024).

GLX sisteminin etkinliği, besin mevcudiyeti ve çevresel koşullar gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir. Örneğin, çinko gibi temel mikro besinlerin varlığı GLX aktivitesini artırarak bitkilerin yüksek sıcaklık stresine direnç gösterme yeteneğini artırabilir (Siraj vd., 2016; Li vd., 2019; Talaat ve Todorova, 2022).

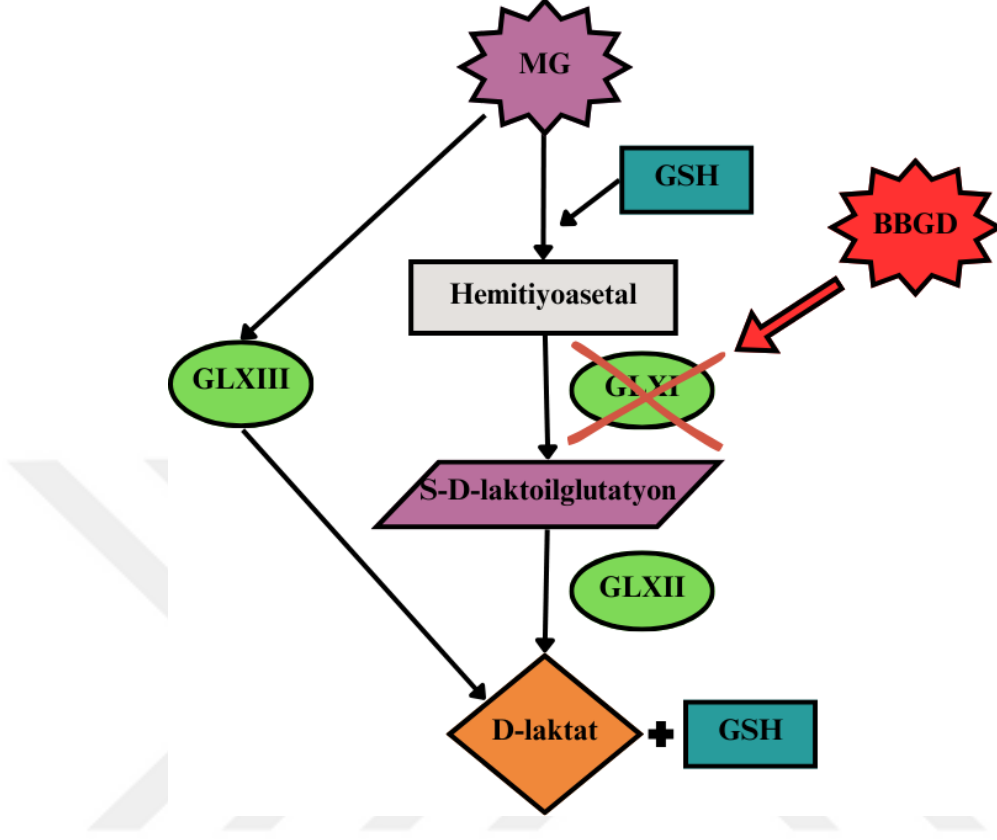
Ayrıca, GLX sisteminin rolü sadece detoksifikasyonla sınırlı kalmaz; aynı zamanda stres tepkilerini düzenleyen sinyal yollarına da katılır. Yüksek MG seviyeleri, strese duyarlı genleri aktive ederek bitkilerin yüksek sıcaklıklara karşı direnç kazanmalarını sağlayan koordineli bir tepkiye yol açabilir (Hasanuzzaman vd., 2011; Hasanuzzaman ve Fujita, 2011). GLX sisteminin hem detoksifiye edici hem de sinyal verici bir rol üstlenmesi, bitki stres fizyolojisindeki önemini vurgulamaktadır.

Özetle, GLX sistemi, MG'yi detoksifiye ederek ve hücrel homeostazı koruyarak bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı toleransını artırmada hayati bir rol oynar. GLX sisteminde yer alan mekanizmaların anlaşılması, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı direncini güçlendirmek için stratejiler geliştirilmesi açısından büyük önem taşır.

1.2.7. GLXI İnhibitörü ve Etki Mekanizması

Glioksalaz I inhibitörü, BBGD (S-p-bromobenzilglutasyon siklopentil diester), hücrel metabolizmanın sitotoksik bir yan ürünü olan MG'nin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynayan GLXI enziminin inhibitörüdür. GLXI, MG'nin daha az zararlı bileşiklere dönüştürülmesine yardımcı olarak hücrel stresi ve hasarı azaltan GLX sisteminin bir parçasıdır (Maessen vd., 2015). Bu enzimin BBGD tarafından inhibisyonu bu detoksifikasyon yolunu etkiler ve sistemin düzgün bir şekilde çalışmasına engel olur. BBGD, enzimin MG'yi daha az toksik formu olan SLG'ye dönüştürme yeteneğini bloke ederek

GLXI'i inhibe eder (Rabbani vd., 2016). Bu hücrelerde toksik miktarda MG birikimine yol açar. BBGD'nin etki mekanizması Şekil 5'te gösterilmiştir.



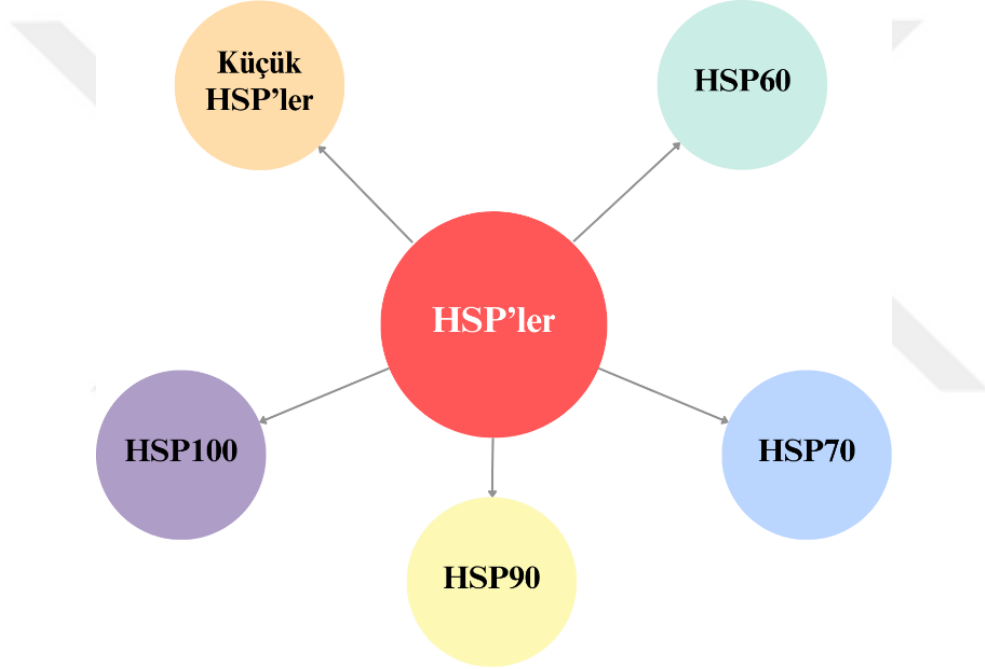
Şekil 5. Glioksalaz I inhibitörünün GLX sistemi üzerindeki etki mekanizması

BBGD, daha önce kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi insan sağlığına yönelik araştırmalarda kullanılmıştır; ancak bitkilerdeki biyolojik süreçler üzerindeki etkileri, yalnızca Borysiuk ve arkadaşlarının amonyum beslenmesiyle ilgili çalışmasında incelenmiştir (Thornalley vd., 2010; Abbas, 2020; Mohammad, 2020; Borysiuk vd., 2022; Alhujaily, 2024). Bu tez çalışmasında ise BBGD'nin bitkilerdeki potansiyel etkilerini araştıran ilk kapsamlı deneysel uygulama gerçekleştirilmiştir. Özellikle BBGD'nin sistein metabolizması, GLX sistemi ve HSP'ler üzerindeki etkilerini ortaya koymak amacıyla yapılan bu çalışma, elde edilen deneysel bulgularla literatüre yeni ve özgün bir katkı sağlamaktadır.

1.2.8. HSP'ler ve Yüksek Sıcaklık Stres Toleransı

A. HSP'lerin Sınıflandırılması ve İşlevleri

HSP'ler, hücre içinde proteinlerin katlanması, bir araya gelmesi ve yıkımı süreçlerinde normal ve stres koşulları altında kritik görevler üstlenen temel proteinlerdir (Tang vd., 2024). Moleküler ağırlıklarına göre, küçük HSP'ler (sHSP'ler), HSP60, HSP70, HSP90 ve HSP100 gibi farklı aileler halinde sınıflandırılırlar (Şekil 6). Her ailenin, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine uyum sağlama ve hücrel homeostazı sürdürme yeteneğine katkıda bulunan kendine özgü işlevleri ve etki mekanizmaları vardır (Jiang vd., 2018; Kang vd., 2022). HSP'lerin gen ifadeleri ve işlevi, bitkilerde yüksek sıcaklık stresine yanıtı düzenleyen ısı şoku faktörleri (HSF'ler) ve diğer transkripsiyon faktörleri tarafından kontrol edilir (Albertos vd., 2022; Bi vd., 2022). Bu proteinler, protein denatürasyonunu ve agregasyonunu önleyerek bitkileri ısı stresinin zararlı etkilerinden korumak için gereklidir (Guo, 2023).



Şekil 6. HSP'lerin sınıflandırılması

HSP100: Bu aile, protein agregatlarının ayrışmasında ve denatüre proteinlerin yeniden katlanmasında rol oynar. HSP100 proteinleri, hücrelerin yüksek sıcaklık stresinden kurtulmasında kritik öneme sahiptir ve genellikle yanlış katlanmış proteinlerin bozunması ile ilişkilendirilir (Kang vd., 2022).

HSP90: HSP90 proteinleri, sinyal molekülleri ve transkripsiyon faktörleri de dahil olmak üzere çeşitli müşteri proteinlerinin katlanmasına ve aktivasyonuna yardımcı olan ATP'ye bağlı moleküler şaperonlardır. Protein homeostazının korunmasında kritik bir rol oynar ve

stres altında bitkiyi koruyan proteinleri stabilize ederek ısı şoku tepkisinde görev alır (Joshi, 2018; Kang vd., 2022).

HSP70: Bu protein ailesi, protein agregasyonunu önleyen, yeni sentezlenmiş veya yanlış katlanmış proteinlerin katlanmasını destekleyen ve proteinlerin hücredeki taşınmasını kolaylaştıran moleküler şaperonlar içerir. HSP70 proteinleri, yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak hızla indüklenir ve bitki termotoleransı için temel bir rol oynar (Hong vd., 2015a; Altunoğlu, 2016; Joshi, 2018; Kang vd., 2022).

HSP60: Genellikle mitokondri ve kloroplastlarda bulunan HSP60 proteinleri, yeni sentezlenen proteinlerin uygun şekilde katlanmasına yardımcı olur. Mitokondriyal ve plastid fonksiyonu için gereklidirler ve hücreyi yüksek sıcaklık kaynaklı hasarlardan korurlar (Kang vd., 2022).

sHSP'ler: Düşük moleküler ağırlıkları ile karakterize edilen bu proteinler, stres sırasında protein agregasyonunu önlemede önemli rol oynar. sHSP'ler, geri döndürülemez protein agregasyonunun başlangıcını geciktiren hücrel strese erken yanıt verenler olarak bilinirler. Ayrıca hücrel sinyalleme ve apoptozis düzenlenmesi de dahil olmak üzere giderek artan sayıda başka süreçte de rol oynarlar. Yüksek sıcaklık stresi sırasında hücrel yapıların korunmasında kritik öneme sahiptirler (Joshi, 2018; Janowska vd., 2019; Kang vd., 2022).

B. HSP'lerin İşlevleri

1. **Moleküler Şaperonlama:** HSP'ler, yeni oluşan proteinlerin doğru katlanmasını destekler ve yanlış katlanmış proteinlerin toplanmasını önler. Bu işlev, proteinlerin denatürasyon riski altında olduğu yüksek sıcaklık stresi sırasında hayati önem taşır.
2. **Protein Stabilizasyonu:** HSP'ler, hücrel işlevler için kritik proteinleri stabilize ederek stres koşulları altında uygun konformasyonlarını korumalarına yardımcı olur. Örneğin, HSP90, bitkinin ısı stresine yanıtı için önemli olan çeşitli sinyal proteinlerini stabilize eder.
3. **Stres Yanıtlarının Düzenlenmesi:** HSP'ler, strese yanıt veren yolların düzenlenmesinde rol oynar ve ısı şoku transkripsiyon faktörleri (HSF'ler) gibi düzenleyicilerle etkileşime girerler. HSF'ler, HSP genlerinin ifadesini aktive ederek stres sırasında HSP seviyelerinin artmasına neden olur.

4. Oksidatif Strese Karşı Koruma: Isı stresi, genellikle hücrel bileşenlere zarar verebilecek ROT üretimine yol açar. HSP'ler, antioksidan enzimleri ve diğer koruyucu proteinleri stabilize ederek oksidatif stresi azaltmaya yardımcı olur, böylece bitkinin oksidatif hasarla başa çıkma yeteneğini artırır.
5. Protein Yıkımının Kolaylaştırılması: HSP'ler, protein katlanmasına yardımcı olmanın yanı sıra, yanlış katlanmış proteinlerin parçalanması için hedeflenmesine de katkıda bulunur. Bu süreç, hücrel homeostazın sürdürülmesi ve hasarlı proteinlerin birikimini önleyerek hücrel işlevin korunması için gereklidir.
6. Termotolerans Kazanımı: HSP'ler, bitkilerin hafif ısı stresine maruz kalmaları sonucunda sonraki daha şiddetli ısı streslerine karşı direnç kazandığı edinilmiş termotolerans sürecinde önemli bir rol oynar. Bu fenomene, bitkilerin daha yüksek sıcaklıklara dayanabilmesi için HSP'lerin yukarı regülasyonu aracılık eder.
7. Gelişimsel Roller: HSP'ler, tohum çimlenmesi, çiçeklenme ve meyve gelişimi gibi süreçlerde rol oynayarak stres tepkilerinin ötesinde, bitkilerin çeşitli gelişimsel süreçlerine de katılırlar.
8. Diğer Proteinlerle Etkileşim: HSP'ler, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine yanıtını koordine etmek için transkripsiyon faktörleri ve sinyal molekülleri dahil olmak üzere diğer proteinlerle etkileşime girerler. Örneğin, HSP90, ısı şoku genlerinin ifadesini düzenlemek amacıyla HSF'lerle etkileşir, böylece stres algılamayı gen ifadesine bağlar (Kang vd., 2022).

HSP'ler, yüksek sıcaklık stresi altında bitkilerin hayatta kalması için kritik öneme sahiptir. Çeşitli aileler halinde sınıflandırılmaları, moleküler şaperonlama ve protein stabilizasyonundan stres tepkilerinin ve gelişimsel süreçlerin düzenlenmesine kadar geniş işlev yelpazelerini yansıtır. HSP'lerin bitkilerdeki rollerinin anlaşılması, iklim değişikliği ve artan küresel sıcaklıklar bağlamında giderek daha önemli hale gelen bitkilerde termotolerans ve stres direncinin iyileştirilmesine yönelik içgörüler sağlayabilir.

1.2.9. Yüksek Sıcaklık Stresine Toleransta HSP90'ın Rolü

HSP90, özellikle yüksek sıcaklık stresinde bitkilerde kritik bir moleküler şaperondur. Protein katlanmasını sağlamanın yanı sıra bitkilerin termal strese karşı direncini artıran

çeşitli hücresel süreçlerde görev alır. Küresel sıcaklıkların artmasıyla birlikte, tarımsal üretkenlik ve bitki sağlığı açısından karşılaşılan zorluklar göz önüne alındığında, bu yanıt hayati önem taşımaktadır.

HSP90, moleküler bir şaperon olarak işlev gören; proteinlerin düzgün bir şekilde katlanmasını sağlayan, agregasyonu önleyen, proteinleri yüksek sıcaklık stresine karşı stabilize eden ve protein bozunumuna yardımcı olan bir şaperon proteindir. Yüksek sıcaklık stresi altında, proteinler denatüre olabilir ve yanlış katlanabilir, bu da hücresel işlev bozukluğuna yol açar. HSP90, denatüre proteinlerin yeniden katlanmasına yardımcı olarak hücre içindeki protein dengesinin korunmasına katkıda bulunur (Zhang vd., 2021; Hu vd., 2023; Nagai vd., 2023). Bu işlev, stres tepkilerinde görev alan kritik proteinlerin işlevselliğini koruyarak yüksek sıcaklık koşullarında bitkilerin hayatta kalmasına yardımcı olur. Son çalışmalar, HSP90'ın ATPaz aktivitesi, eş şaperonlarla etkileşimi ve çevresel stres faktörlerine karşı bitki tepkilerini düzenleyen karmaşık sinyal yollarındaki rolü dahil olmak üzere dinamik yapısal ve işlevsel yönlerini ortaya koymuştur (Minari vd., 2024).

HSP90, ısı şoku tepkisinin ana düzenleyicileri olan ısı HSF'ler ile etkileşime girer. Normal koşullarda, HSP90 sitoplazmadaki HSF'lere bağlanarak onları inaktif halde tutar. Yüksek sıcaklık stresi altında, HSP90 HSF'leri serbest bırakır, böylece çekirdeğe geçişlerine izin verir ve diğer HSP'leri kodlayan genler de dahil olmak üzere ısı şoku genlerinin transkripsiyonunu aktive eder (Xu vd., 2012; Hue vd., 2013). Bu düzenleyici mekanizma, ısı şoku tepkisinin hızlı bir şekilde indüklenmesi için önemlidir ve bitkilerin yüksek sıcaklık stresine uyum sağlamasına olanak tanır.

HSP90 ayrıca, antioksidan enzimler ve diğer koruyucu proteinleri stabilize ederek ROT seviyelerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Hue vd., 2013; Hibshman vd., 2023). Redoks homeostazının korunmasına katkıda bulunarak, yüksek sıcaklık stresine karşı bitkilerin genel stres toleransını artırır.

HSP'ler ile BRI1 EMS-SUPPRESSOR 1 (BES1) ve HSF'ler gibi diğer proteinler arasındaki etkileşim, bitkilerdeki karmaşık ısı stresi tepkileri ağının oluşumuna katkıda bulunur (Albertos vd., 2022; Selinga vd., 2022). HSP90, HSP70 gibi diğer ısı şoku proteinleri ile birlikte çalışarak ısı şoku tepkisinin verimliliğini artırır. HSP70, denatüre proteinlere bağlanarak onları katlanma ve stabilizasyon için HSP90'a devreder (Xu vd., 2012; Zhang vd., 2021). Bu iş birliği mekanizması, yüksek sıcaklık stresi sırasında artan protein yükünü yönetmek açısından hayati önem taşır.

HSP90, sinyal iletimi ve stres tepkileri gibi çeşitli hücrel işlevler için gerekli çoklu protein komplekslerinin bir araya gelmesinde rol oynar. HSP90, bitkilerin ısı stresine verdiği tepkilere aracılık eden sinyal proteinlerinin stabilizasyonunda ve aktivasyonunda görev alarak termotoleransı artırır (Xu vd., 2012; Zhang vd., 2021). Bu rol, stres adaptasyonu için önemli olan hücrel sinyal yollarının sürdürülmesinde kritik bir işlev görür.

HSP90'ın gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak hızla artar ve termotoleransın kazanılmasına katkıda bulunur. Çalışmalar, HSP90 gen ifadesi artan bitkilerin yüksek sıcaklık koşullarında gelişmiş hayatta kalma oranları ve fizyolojik performans sergilediğini göstermiştir (Zhou vd., 2020). HSP90'ın bitkilerin yalnızca anlık yüksek sıcaklık stresine uyum sağlamalarına yardımcı olmakla kalmayıp, onları gelecekteki termal zorluklara da hazırladığını göstermektedir.

HSP90'ın termotolerans kazandırmadaki kritik rolü göz önünde bulundurulduğunda, yüksek sıcaklık stresine dayanıklılığı artırmak amacıyla genetik mühendislik yoluyla ifadesinin manipüle edilmesine yönelik ilgi artmıştır. HSP90'ı yüksek seviyede ifade eden transgenik bitkiler, termotoleransın arttığını göstermiştir; bu da HSP90'ın, iklim değişikliği bağlamında ürün direncini artırmayı amaçlayan biyoteknolojik yaklaşımlar için değerli bir hedef olabileceğini ortaya koymaktadır (Xu vd., 2012; Zhang vd., 2021). Ayrıca termotolerans kazandırmadaki rolü, küresel ısınma bağlamında tarımsal uygulamalarda yüksek sıcaklık stresine karşı bitki adaptasyonunda onu kilit bir unsur haline getirmektedir.

1.2.10. Yüksek Sıcaklık Stresi Toleransında Amino Asitlerin Rolü

Abiyotik streslerin bitkiler üzerinde meydana getirdikleri olumsuz etkileri yenmek ve bitkilerin stres toleranslarını arttırmak için, bitkilerde doğal olarak bulunan ve bitki büyümesi ile verimi üzerine pozitif etkileri olan bazı bileşikler kullanılabilir (Sadak vd., 2021). Bu bileşiklerden biri olan amino asitler, bitki stres fizyolojisinde temel bileşenler olup, stres adaptasyon mekanizmalarına önemli katkılar sağlar. Araştırmalar, bitkilerin stres koşulları altında amino asit içeriklerini artırma eğiliminde olduğunu göstermektedir (Kazerooni vd., 2021). Amino asitler, hayati bir molekül olan proteinlerin yapı taşlarıdır ve bitkilerin stres faktörlerine verdiği tepkilere aktif olarak katılır (Salam vd., 2023). Osmolit olarak işlev görerek sitoplazmik pH'ı düzenlemeye yardımcı olur, ROT'ları detoksifiye eder ve böylece stres adaptasyonuna katkıda bulunurlar (Li vd., 2021).

Amino asitler, çeşitli fizyolojik ve metabolik süreçlere katılarak bitkilerde yüksek sıcaklık stresine toleransı artırmada önemli rol oynarlar. Araştırmalar, yüksek sıcaklık stresi altında belirli amino asitlerin konsantrasyonlarının arttığını ve bu amino asitlerin stres tepkilerine dahil olduğunu göstermiştir. Çok işlevli bir amino asit olan prolin, yüksek sıcaklık stres toleransında kilit bir oyuncudur. Prolin birikimi, bitki dokularını yüksek sıcaklık hasarına karşı korur ve kuraklık sonrası su erişimi sağlandığında yaprakların yeniden büyümesine yardımcı olur. Amino asit homeostazisi ise, protein sentezi veya yıkımı yoluyla bitkilerin tolerans mekanizmaları için kritik öneme sahiptir (Kishor vd., 2022; Raza vd., 2023) Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan kereviz (*Apium graveolens*) bitkisinde, hücrelerdeki serbest amino asitlerin çevresel koşullara uyum sağlaması, amino asitlerin stres adaptasyonundaki dinamik rollerini gözler önüne sermektedir (Li vd., 2022).

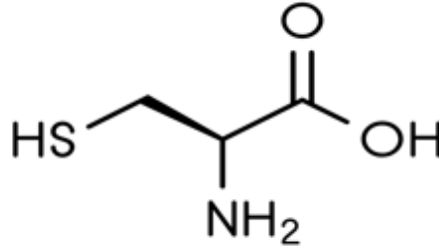
Araştırmalar, γ -aminobütirik asidin (GABA) bitkilerin yüksek sıcaklık stresine uyum sağlamasında çok önemli olduğunu göstermiştir (Balfagón vd., 2022). Amino asitler, proteinlerin yapı taşları olup, özellikle stres sırasında protein sentezinde kullanılmaları esastır. Yüksek sıcaklık stresinde HSP'lerin sentezi, hücresel fonksiyonların korunması ve hasarlı proteinlerin onarılması açısından kritik öneme sahiptir. Yeterli amino asit varlığı, bitkinin bu koruyucu proteinleri hızla sentezleyebilmesine olanak tanıyarak termal stresle başa çıkma yeteneğini artırır (Sun vd., 2015; Khan vd., 2020). Ayrıca amino asitlerin aktive ettiği sinyal yollarının, HSP'ler ve termotoleransı artıran diğer koruyucu proteinlerin ekspresyonunu tetiklediği bildirilmiştir (El-Kereamy vd., 2012; Khan vd., 2020).

Amino asitler ayrıca, iyon kanalları ve taşıyıcıların aktivitesini düzenleyerek temel besinlerin alımını ve toksik iyonların dışlanması kolaylaştırabilir (Sun vd., 2015; Khan vd., 2020). Buna ek olarak, glutamin ve aspartik asit gibi amino asitlerin, gen ifadesini, metabolik yolları ve fizyolojik tepkileri düzenleyerek bitkilerde yüksek sıcaklık stresine karşı toleransı artırdığı görülmüştür. Bu amino asitler, metabolik homeostazın korunması, stres tepkilerinin iyileştirilmesi ve yüksek sıcaklık stresi altında bitki büyümesinin desteklenmesi açısından önemli roller oynar.

Amino asitler, metabolik yolları, protein sentezini ve stres tepkilerini düzenleyerek bitkilerde yüksek sıcaklık stresine toleransı artırmada çok yönlü ve temel roller üstlenirler. Amino asit metabolizmasının karmaşık mekanizmalarını ve bitki fizyolojisi üzerindeki etkilerini anlamak, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine dayanıklılığını artırmaya yönelik stratejiler geliştirmek açısından büyük önem taşımaktadır.

1.2.11. Sistein

Sistein, bitki fizyolojisinde, özellikle stres tepkileri ve metabolik süreçlerde hayati bir rol oynayan kükürt içeren bir amino asittir (Al-Maliky vd., 2019). Tiyo (-SH) yan zinciri ile karakterize edilen sistein, çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar için önem taşıyan benzersiz kimyasal özellikler sergiler (Şekil 7). Tiyo grubunun varlığı, sisteinin diğer sistein kalıntıları ile disülfid bağları oluşturmalarını sağlayarak protein yapılarının stabilizasyonuna katkıda bulunur. Kovalent bağlar oluşturma yeteneği, proteinlerin denatürasyona eğilimli olduğu yüksek sıcaklık gibi stres koşulları altında, protein bütünlüğünün korunmasında özellikle önemlidir (Soares vd., 2016).



Şekil 7. Sistein amino asitinin yapısı

Sistein, bitkilerde sülfürün birincil organik formudur ve metiyonin, GSH ve diğer sülfür içeren bileşiklerin sentezi için gereklidir (Teixeira vd., 2018; Sadak vd., 2019). Bir sülfür donörü olarak görev yapar ve sülfattan türetilen sülfürün dahil edilmesi yoluyla serinden sentezlenir. Bu süreç, bitki hücrelerinin kloroplast, mitokondri ve sitozolünde gerçekleşir (Sadak vd., 2019; Zhou ve Imlay, 2020).

Sistein kalıntıları, disülfid bağları oluşturma yetenekleri sayesinde proteinlerin yapısal bütünlüğünün korunmasında kritik bir rol oynar. Bu kovalent bağlar, protein yapılarını stabilize eder ve özellikle yüksek sıcaklık stresinde proteinlerin denatürasyona uğrama eğilimleri göz önünde bulundurulduğunda önemlidir. Disülfid bağlarının oluşumu, proteinlerin işlevsel konformasyonunu koruyarak stresli koşullarda uygun aktivitelerini sürdürmelerini sağlar (Liu vd., 2017). Bu stabilizasyon, özellikle yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak artan ve protein katlanmasında kilit rol oynayan HSP'ler için önemlidir (Jespersen vd., 2017).

Sistein, bitkileri yüksek sıcaklıkların neden olduğu oksidatif stresten koruyan hayati bir antioksidan olan GSH'nin sentezinde öncüdür ve hücreleri ROT'ların neden olduğu oksidatif hasardan korur. Özellikle indirgenmiş formu olan GSH, yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk ve ağır metal toksisitesi gibi çevresel stresler sırasında oluşan ROT'ları temizleyerek hücresel bileşenlere verilen oksidatif hasarı azaltır (Soares vd., 2016; Biswas vd., 2023). GSH sentezi, sisteinin mevcudiyetine bağlıdır ve bu da onu antioksidan savunma sisteminde hız sınırlayıcı bir faktör haline getirir (Shu vd., 2022). GSH seviyelerini artırarak sistein, bitkideki genel redoks dengesine katkıda bulunur ve termal stres altında hayatta kalmayı teşvik eder.

Sistein, vitaminler ve koenzimler gibi temel biyomoleküllerin sentezi de dahil olmak üzere çeşitli metabolik süreçlerde rol oynar. Bu bileşikler için bir öncü olarak işlevi, yüksek sıcaklık stresi sırasında metabolik homeostazın sürdürülmesi açısından hayati önem taşır (Shu vd., 2022). Sisteinin mevcudiyeti, bitkilerin genel metabolik profilini etkileyerek stresle başa çıkma kapasitelerini de etkileyebilir.

Ayrıca, sistein çeşitli stres yanıt yollarında bir sinyal molekülü olarak görev yapar. Örneğin, yüksek sıcaklık dahil olmak üzere abiyotik streslere karşı bitki tepkilerini modüle eden hidrojen sülfür (H_2S) sentezinde yer alır (Hong vd., 2015b; Alvi vd., 2023). H_2S , antioksidan enzim aktivitelerini düzenleyerek ve HSP'lerin ekspresyonunu teşvik ederek termotoleransı artırır (Hong vd., 2015b). Sistein ve H_2S arasındaki etkileşim, sisteinin stres sinyal yollarına aracılık etmedeki önemini vurgular.

Sonuç olarak, sistein, protein sentezi, antioksidan savunma, stres tepkileri ve sülfür metabolizmasında çok yönlü roller oynayan temel bir amino asittir. Özellikle tiyol grubu sayesinde sahip olduğu benzersiz kimyasal özellikler, bitkilerin çevresel streslere karşı direncini artıran önemli biyokimyasal süreçlere katılmasını sağlar (Moller vd., 2007; Gill ve Tuteja, 2010; Dickinson ve Chang, 2011). Sisteinin bitki fizyolojisindeki işlevlerinin anlaşılması, iklim değişikliği karşısında kültür bitkilerinin dayanıklılığını ve verimliliğini artırmayı amaçlayan tarımsal uygulamalara değerli katkılar sunabilir.

1.2.12. Sisteinin Abiyotik Stres Toleransı Üzerine Etkileri

Sistein, bitkinin olumsuz çevresel koşullara tepkisini düzenleyen çeşitli metabolik yollara katkıda bulunarak abiyotik stres toleransını artırmada önemli bir rol oynar (Takahashi vd., 2011; Alvarez vd., 2012). Bu önem, sülfür metabolizmasındaki rolünün yanı

sıra kuraklık, tuzluluk ve ağır metaller gibi faktörlerin neden olduğu oksidatif stresi azaltmaya yardımcı olan GSH'ın sentezindeki rolünden kaynaklanmaktadır.

Araştırmalar, sisteinin çeşitli fizyolojik süreçleri düzenleyerek bitki stres toleransını artırmada etkin olduğunu göstermektedir. Örneğin, serbest amino asitlerin, özellikle sisteinin birikimi, farklı abiyotik stres koşulları altında bitkilerde gelişmiş stres toleransı ile ilişkilendirilmiştir (Genisel vd., 2015; Fatma vd., 2016; Terzi ve Yıldız, 2021; Jha ve Mishra, 2021; Chiang vd., 2022). Sistein yoluyla gerçekleşen sülfür asimilasyonu, bitkinin stres tepkilerinde kritik olan diğer sülfür içeren moleküllerin sentezine olanak tanır. Sülfür bakımından zengin bileşiklerin redoks homeostazını koruyarak bitkinin oksidatif strese karşı savunmasını güçlendirdiği belirtilmiştir (Alvi vd., 2023; Nguyen vd., 2024). Yapıtaşlarından biri sistein olan GSH, ROT'un detoksifikasyonunda önemli bir rol oynar ve bitki hücrelerini oksidatif hasardan korur (Ramegowda vd., 2013; Gangadhar vd., 2016). Sisteinin GSH seviyelerini artırma yeteneği, stres altında oksidatif hasarı azaltan ve hayatta kalma oranlarını artıran bitkilerde gelişmiş stres toleransı ile doğrudan ilişkilidir (Gangadhar vd., 2016; Yan vd., 2022). Ayrıca sisteinin ozmotik potansiyeli artırmadaki ve ROT'u temizlemedeki rolü, bitkilerin tuz ve kuraklık gibi abiyotik streslere adaptasyonunu destekler (Mijiti vd., 2022).

Araştırmalar, sisteinin antioksidan sistemleri modüle ederek tuz toksisitesinin etkilerini hafifletebileceğini göstermekte ve stres tolerans mekanizmalarındaki önemini vurgulamaktadır (Hussein ve Alshammari, 2022). Sistein, prolin ve glisin betain gibi osmolitlerin sentezini teşvik ederek ozmotik ayarlamaya katkıda bulunur. Bu bileşikler, kuraklık veya tuzluluk gibi ozmotik stres koşullarında hücre turgorunu koruyarak hücre yapısının bütünlüğünü sağlar (Ji vd., 2013; Zhang vd., 2019). Özellikle prolin birikimi, proteinleri ve membranları stabilize ederek dehidrasyonun olumsuz etkilerini azaltır ve gelişmiş stres toleransı ile ilişkilendirilir (Zhang vd., 2019; Xing vd., 2022). Çalışmalar, dıştan sistein uygulamasının prolin seviyelerini artırarak çeşitli bitki türlerinde ozmotik denge ve stres direncini güçlendirdiğini göstermektedir (Ghorbel vd., 2021; Xing vd., 2022).

Sistein, ayrıca ağır metalleri bağlayan ve detoksifiye eden fitoşelatinlerin oluşumunda önemli bir bileşen olarak görev yapar. Kadmiyum gibi toksik metalleri şelatlama yeteneği, metal toksisitesini azaltarak bitkilerin kirlenmiş topraklarda hayatta kalmalarına yardımcı olur (Waqas vd., 2019). Ek olarak, sisteinin bitki büyümesi ve gelişimi ile olan ilişkisi, abiyotik streslere karşı bitki savunma tepkilerindeki önemini desteklemektedir (Gao vd., 2018; Khan vd., 2018; Perveen vd., 2018; Sadak vd., 2019; Elkelish vd., 2021). Sistein, aynı

zamanda, strese yanıt yollarında yer alan gen ifadelerinin düzenlenmesinde de rol oynar. Özellikle sistein bakımından zengin reseptör benzeri kinazların, bitkinin stres adaptasyonu için önemli olan ABA sinyal yollarını etkileyerek tuzluluk ve kuraklık gibi abiyotik streslere verilen tepkileri düzenlediği gösterilmiştir. Sistein sentaz gen ailesinin, bitkilerde alkali toleransı sağladığı ve stres direncini artırmadaki önemini vurguladığı saptanmıştır (Yuan vd., 2022). Bitki sistein oksidazları tarafından sistein oksidasyonu, stres tepkilerinde görev alan belirli proteinlerin stabilitesini kontrol ederek kritik rol oynar (Chen vd., 2021).

Yukarıda belirtilen çalışmalar, zorlu abiyotik koşullar altında bitkilerin hayatta kalmasını desteklemede sisteinin kritik rolünü vurgulamaktadır. Genetik manipülasyon veya dıştan uygulama yoluyla sistein birikimini artırmak, bitkilerin strese karşı direncini güçlendirmek için umut verici bir strateji olarak kabul edilmektedir.

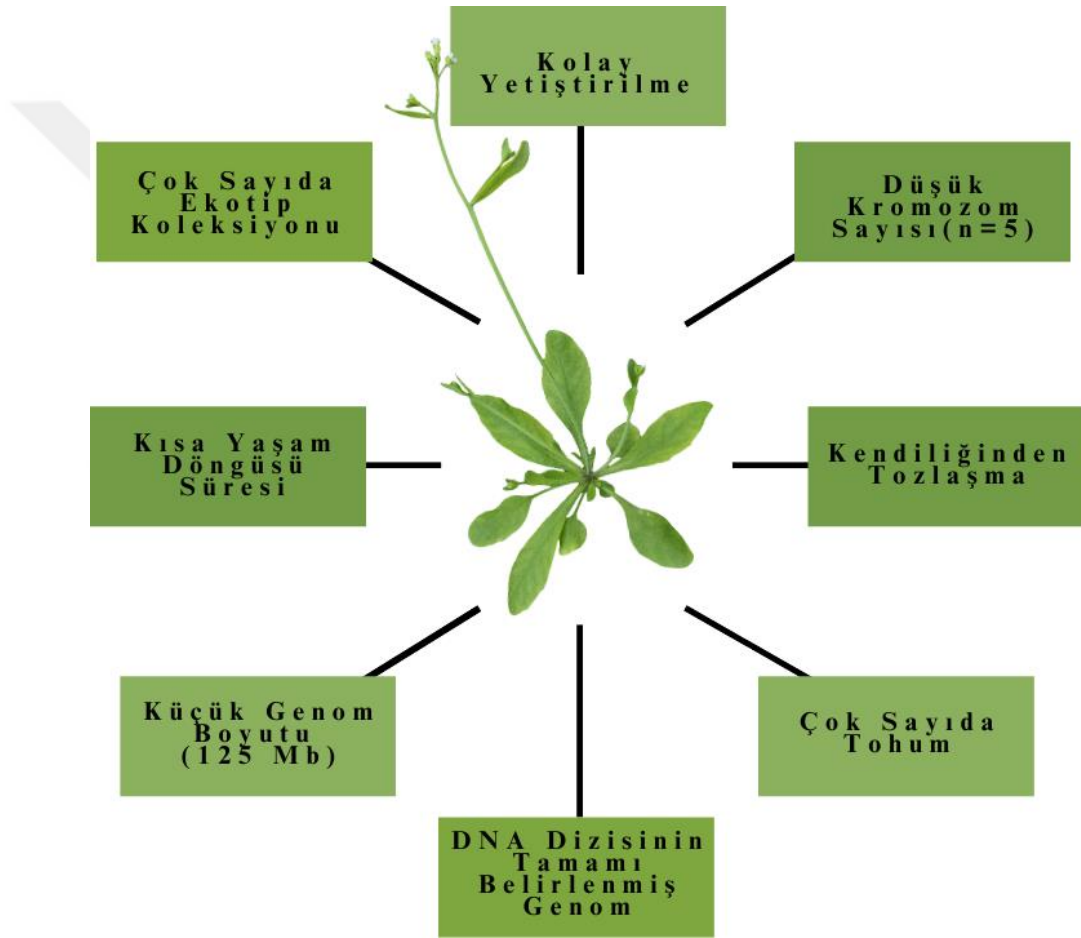
1.3. *A. thaliana* Hakkında Genel Bilgiler

Küçük ve yıllık bir otsu bitki olan *A. thaliana* Brassicaceae (Cruciferae) familyasındandır ve bitki genetiği ve moleküler biyoloji alanında model bir organizma olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Diploid ve tamamen dizilenmiş genomu sayesinde *A. thaliana*, bitki moleküler genetiğinde temel bir referans olarak işlev görmektedir ve araştırmacılara bitki biyolojisinin temel yönlerini incelemek için önemli bir araç sunmaktadır (Verstraete vd., 2020; Lian vd., 2023).

Bitkinin model organizma olarak kullanımı, araştırmacıların fotomorfogenezden popülasyon genomu kadar çok çeşitli konuları incelemelerine olanak tanımıştır. *A. thaliana*, abiyotik ve biyotik koşullara uyum sağlama yeteneği sayesinde, biyolojik süreçleri moleküler düzeyde araştırmak için ideal bir model bitkidir (Wang vd., 2020; Yuan vd., 2023). Bu bitki, özellikle bitki-patojen etkileşimleri, gen ifadesi düzenlemeleri ve epigenetik modifikasyonlar gibi konularda genetik ve moleküler biyoloji araştırmalarına önemli katkılarda bulunmaktadır. İyi karakterize edilmiş mutantları ve transgenik hatları, çeşitli özellik ve süreçlerin araştırılmasını kolaylaştırarak, *A. thaliana*'nın bitki biyolojisinde vazgeçilmez bir araç olarak yerini sağlamlaştırmıştır (Kunita vd., 2021; Zhang vd., 2021; Stockenhuber vd., 2021).

A. thaliana'nın genetik çalışmalarda öne çıkmasını sağlayan başlıca özellikleri arasında küçük genoma sahip olması, genomik kaynaklarının geniş ölçüde erişilebilirliği, doğal popülasyonları arasında nükleotid varyantlarının (ekotipler) bulunması ve beş

kromozomunun genetik olarak büyük ölçüde haritalandırılmış olması yer almaktadır (DeRose-Wilson, 2010). Bitki yaklaşık 125 MB'lık bir genoma sahiptir ve kısa yaşam döngüsü ile küçük yapısı sayesinde laboratuvar çalışmalarında tercih edilmektedir. İlk genom haritası çıkarılan bitki olan *A. thaliana*, toplam gen sayısının %5,9'unu oluşturan en az 1,533 transkripsiyon faktörüne sahiptir. Bu sayı, *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans* ve mayadaki transkripsiyon faktörlerinin yaklaşık 2-3 katıdır (Riechmann vd., 2000; Reiser vd., 2024). *A. thaliana*'nın model organizma olarak tanımlanmasını sağlayan özellikler Şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. *A. thaliana* bitkisinin model organizma olmasını sağlayan özelliklerini içeren görüntüsü.

Gelişen teknikler sayesinde, *A. thaliana*, spesifik genlerin işlevlerini araştırmada kullanılan mutant ve transgenik bitkilerin oluşturulmasında sağlam bir genetik altyapı sunmaktadır (Somerville ve Koornneef, 2002). Bu bitki ile yapılan çalışmalar, akademik araştırmaların yanı sıra bitki biyoteknolojisi ve endüstri alanlarında da uygulanmakta olup, moleküler işlevlerinin yaklaşık %74'ü tanımlanmıştır (Swarbreck vd., 2008; Reiser vd.,

2024). Genetik bilimciler, AtGenExpress Konsorsiyumu gibi girişimlerle *A. thaliana* için geniş gen ifade verileri üretmiş ve bunları Bio-Array Resource (Toufighi vd., 2005) ve NASC Arrays (Craigon vd., 2004) gibi veri tabanlarında depolamaktadır.

Özetle, *A. thaliana*, fonksiyon kaybı ve kazanımı yaklaşımlarıyla yapılan moleküler biyoloji araştırmalarında model bir bitki olarak önemini korumaktadır. Genom çalışmaları, stres adaptasyonunda rol oynayan bileşenlerin belirlenmesi ve sinyal iletim yollarının aydınlatılması gibi alanlarda gelecekteki araştırmalara katkı sağlayacaktır.

Genetik varyantlar ve hücre biyoloji teknikleri, *A. thaliana* araştırmalarının temelini oluşturmakta ve bu sayede bitki işleyişi, evrimsel süreçler ve büyüme-gelişim düzenlemeleri hakkında önemli ilerlemeler sağlanmaktadır. Ayrıca, *A. thaliana* kullanımı, ileri ve geri genetik yaklaşımlar için büyük bir avantaj sunmakta olup, genetik ve moleküler biyolojiyle daha kapsamlı entegrasyonun önünü açarak, bitki biliminde yeni keşifler yapılmasına katkı sunacaktır. (Botella vd., 2005).

1.4. Tezin Kapsamı ve Katkısı

Sisteinin yüksek sıcaklık stresindeki rolü henüz yeterince araştırılmamış olmasının yanı sıra, özellikle GLX sistemine katılımının antioksidan yollarla bağlantılı olması, onun yüksek sıcaklık toleransını artırmada önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, sistein, bitkinin temel savunma mekanizmalarını güçlendirerek, yüksek sıcaklık da dahil olmak üzere çeşitli abiyotik streslere karşı bitki direncini artırmaya yönelik sürdürülebilir yaklaşımlar geliştirmek için umut verici bir potansiyel sunmaktadır.

Bununla birlikte, bazı bulgular MG detoksifikasyon yolunun bazı hayvan hücrelerinde hastalık durumlarında HSP'lerin düzenlenmesinde rol oynadığını göstermektedir. Ancak, bitkilerde bu konuda yapılan çalışmalar, GSH ve HSP'ler arasındaki ilişkiyi vurgulamakla sınırlı kalmaktadır (Bento vd., 2010; Sudnistsyna ve Gusev, 2017; Kumar ve Chattopadhyay, 2018). Bu nedenle, bitkilerde GLX sistemi ile HSP'ler arasındaki ilişki, yüksek sıcaklık stresi altında sistein ve HSP'ler arasındaki potansiyel etkileşimler ve bunların GLX sistemi üzerindeki birleşik etkileri henüz tam anlamıyla aydınlatılmamıştır. Son çalışmalar, GLX enzimlerinin abiyotik stres tepkilerinin düzenlenmesindeki önemini vurgulamakla birlikte, sistein, GLX sistemi ve HSP'ler arasındaki etkileşimlerin anlaşılması hala araştırılmaya açık bir alan olarak varlığını sürdürmektedir. (Kumar ve Chattopadhyay, 2018).

Bu tez kapsamında, sisteinin *A. thaliana*'nın yüksek sıcaklık toleransını desteklemedeki rolü araştırılmıştır. Çalışma, sisteinin GLX sistemini modüle ederek, özellikle de bitkinin stres tepkisi mekanizmalarının kritik bileşenlerinden biri olan HSP90 proteinleri ile etkileşimleri yoluyla bitkinin strese karşı direncini artırmada kilit bir rol oynadığı hipotezine dayanmaktadır. Bu hipotez doğrultusunda, sisteinin çeşitli hayati biyokimyasal süreçler üzerindeki etkilerine dair kapsamlı bir araştırma yapılmıştır. Özellikle stres koşulları altında biriken MG gibi zararlı yan ürünlerin detoksifikasyonu için önemli olan GLX enzimlerinin aktivitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca, yüksek sıcaklık stresi koşullarında, HSP90 ve GLX sistemiyle bağlantılı genlerin ifade düzeyleri araştırılmış, sisteinin yüksek sıcaklık stresi altında GLX sistemi ve HSP90 arasındaki etkileşimleri açığa çıkarılmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışması sürecinde kullanılan cihazlar Tablo 1’de verilmektedir.

Tablo 1. Kullanılan cihazların listesi

Cihaz Adı	Modeli
Buz Dolabı (+4)	Arçelik
Buz Makinesi	Scotsman
Bio-Rad CFX96 qPCR cihazı	Bio-Rad
Bitki Büyütme Kabini	Lab Companion GC 300
Derin Dondurucu (-20)	Arçelik
Etüv	Nüve FN120
Hassas Terazı	Precisa XB 220 A
Homojenizatör	Qiagen
Mini Santrifüj	Allsheng
Nanodrop	Thermo Scientific/Multiskan GO
Otoklav	Nüve OT23S
Otomatik Pipetler	Socorex
pH metre	Hanna
Saf Su Cihazı	Nüve
Sıvı Azot Tankı	Taylor-Wharton
Steril Kabin	Telstar Bio II Advance, EN-12469
Soğutmalı Santrifüj	MPV 260R
Spektrofotometre	Thermo Scientific
Vorteks	Heidolph

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Tez çalışması sürecinde kullanılan cihazlar Tablo 2’de verilmektedir.

Tablo 2. Kullanılan kimyasalların listesi

Kimyasal Adı	Markası
Aseton	Merck
Askorbat	Sigma
Bitki Agarı	Neogen Kültür Ortamı
BBGD	Sigma
Coomassie Brilliant Blue	Merck
DTNB	Sigma
EDTA	Merck
Etanol	Merck
Gliserol	Merck
GSH	Sigma
HCl	Sigma
KCl	Sigma
K ₂ HPO ₄	Sigma
KH ₂ PO ₄	Sigma
KI	Sigma
L-sistein	Sigma
Metafosforik asit	Sigma
MG	Sigma
MgSO ₄	Merck
Murashige ve Skoog (MS) Besiyeri	Duchefa Biochemie, NLHaarlem
NaClO	Merck
NADPH	Sigma
NaOH	Sigma
Perklorik asit	Sigma
SLG	Sigma
Sükroz	Sigma
TBA	Sigma
TCA	Sigma
Tris-HCl	Sigma
cDNA Sentez Kiti	Applied Biosystems

Tablo 2'nin devamı

Kimyasal Adı	Markası
RNA İzolasyon Kiti	Qiagen Plant Mini Kit
qPCR Süpermix	Solis Biodyne

2.1.3. Kullanılan Bitki Materyali

Doktora tezi kapsamında kullanılan bitkiler, *A. thaliana* Columbia CS1093 (NASC ID: N1093) suşu ile birlikte; ısı şoku 90.1 ve ısı şoku 90.4 proteinlerini kodlayan *hsp90.1* SALK_007614 (NASC ID: N507614) ve *hsp90.4* SALK_036835C (NASC ID: N674476) gen mutantlarından oluşmaktadır (Tablo 3).

Tohumlar, Arabidopsis Biological Resource Center (ABRC) aracılığıyla temin edilmiştir.

Tablo 3. Kullanılan bitkilerin listesi

Kısaltılmış biçimi	Adı	Özelliği	Kullanım amacı
Col-0	Columbia	Hsp90 mutantlarının alt yapısı (background) ve yabani bir ekotip	Kontrol
<i>hsp90.1</i>	Heat Shock Protein 90.1 mutantı	Yüksek sıcaklığa karşı aşırı hassas	<i>HSP90.1</i> geni ile sistein ve glioksalaz sistemi arasındaki ilişkiyi aydınlatmak
<i>hsp90.4</i>	Heat Shock Protein 90.4 mutantı	Yüksek sıcaklığa karşı aşırı hassas	<i>HSP90.4</i> geni ile sistein ve glioksalaz sistemi arasındaki ilişkiyi aydınlatmak

2.2. *A. thaliana* Besiyeri Ortamı ve Büyütme Koşulları

A. thaliana bitkilerinin büyütme ortamı olarak makro ve mikro elementleri içeren vitaminli Murashige ve Skoog (MS) tozu, %0.5 w/v bitki doku kültürü agarı, %1 w/v sükröz

içeren besiyeri kullanılmıştır (Murashige ve Skoog, 1962). Kullanılan MS tozunun makro ve mikro element içeriği Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan MS tozunun kimyasal içeriği

Mikro elementler	mg/l	μM
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.10
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025	0.11
FeNaEDTA	36.70	100.00
H ₃ BO ₃	6.20	100.27
KI	0.83	5.00
MnSO ₄ .H ₂ O	16.90	100.00
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	1.03
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60	29.91
Makro elementler	mg/l	μM
CaCl ₂	332.02	2.99
KH ₂ PO ₄	170.00	1.25
KNO ₃	1900.00	18.79
MgSO ₄	180.54	1.50
NH ₄ NO ₃	1650.00	20.61

1 L MS besiyeri hazırlamak için 4.9 g MS tozu ve 10 g süktroz bir miktar distile suda çözülmüştür. Daha sonra, çözeltinin pH'sı 1 N NaOH ve 1 N HCl kullanılarak 5.8'e ayarlanmış ve son hacmi 1 L'ye tamamlanmıştır. Besiyerinin katılaşmasını sağlamak amacıyla, 5 g bitki agarı tartılarak çözeltinin içine eklenmiştir.

Hazırlanan besiyeri, 121°C'de 1.2 atm basınçta 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyonun ardından, besiyeri yaklaşık 60°C'ye kadar soğutulmuş ve laminar hava akımlı steril kabinde, 9 cm çaplı steril petri kaplarına dökülerek katılaşana kadar kurumaya bırakılmıştır.

A. thaliana bitkilerinin ekimi ve inhibitör uygulamaları laminar hava akımlı steril kabinde gerçekleştirilmiştir. Stres uygulamaları ise sıcaklık ve ışık ayarları yapılabilen bir inkübatörde yapılmıştır. Çimlendirme ve stres uygulamalarının inkübasyon aşamaları, bitki büyütme kabininde 16 saat ışık / 8 saat karanlık döngüsünde, 150 μmol m⁻² s⁻¹ ışık şiddeti ve 23±2 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

2.3. *A. thaliana* Tohumlarının Stratifikasyonu, Yüzey Sterilizasyonu ve Büyütme Ortamına Ekilmesi

2.3.1. *A. thaliana* Tohumlarının Stratifikasyonu

Sistein ve sıcaklık stresi uygulamalarında kullanılacak *A. thaliana* bitkilerine ait tohumların dormansisini kırmak amacıyla stratifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için tohumlar, su ile ıslatılmış filtre kâğıdı üzerine yerleştirilerek, bir petri kabı içerisinde 3 gün boyunca karanlıkta, 4°C’de soğuk işlemine tabi tutulmuştur (Tocquin vd., 2003).

2.3.2. *A. thaliana* Tohumlarının Yüzey Sterilizasyonu

Tohumların yüzey sterilizasyonu, laminar hava akımlı steril kabinde gerçekleştirilmiştir. Sterilizasyon işlemi için tohumlar, ependorf tüpü içerisinde 3 dakika %70’lik EtOH çözeltisinde, ardından 4 dakika %10’luk NaClO çözeltisinde bekletilmiştir. Steril su ile üç kez yıkandıktan sonra, tohumların yüzey sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Acet ve Kadioğlu, 2020).

2.3.3. *A. thaliana* Tohumlarının Büyütme Ortamına Ekilmesi

Sistein, inhibitör ve yüksek sıcaklık stresi uygulamalarında kullanılmak üzere steril edilen tohumlar, laminar hava akımlı steril kabinde, yukarıda belirtilen şekilde hazırlanan MS besiyeri içeren petri kaplarına ekilmiştir. Ekim yapılan petri kapları parafilm ile sarılarak, tohumlar bitki büyütme kabininde yukarıda belirtilen kontrollü şartlarda çimlenmeleri için inkübasyona bırakılmıştır (Acet ve Kadioğlu, 2020).

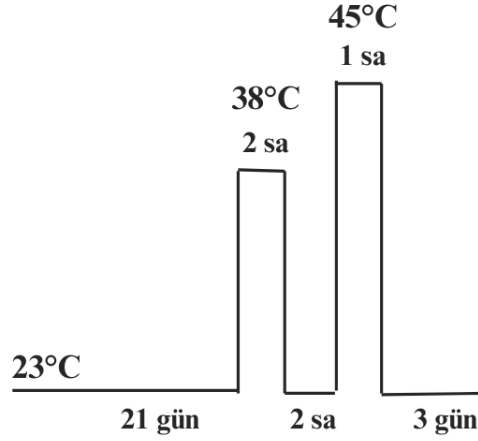
2.4. Bitkilere Sistein, GLX I İnhibitörü ve Sıcaklık Stresi Uygulanması

Sistein ve sıcaklık stresi uygulamaları için kullanılacak sistein konsantrasyonu ve uygulama süreleri yapılan literatür taraması ve laboratuvarında gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenmiştir (Song vd., 2012; Vidya vd., 2018; Kim vd., 2022).

Etkili sistein dozunun belirlenmesi amacıyla *A. thaliana* Columbia-0 Ekotipi bitkileri kullanılarak bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Sistein uygulaması için tohumlar, steril petri kaplarında 0, 50, 100 ve 150 µM sistein içeren (Kim vd., 2022) MS

besiyeri ortamlarına ekilmiş ve bitkiler 21 günlük olana kadar kontrollü koşullar altında bitki büyütme kabininde büyütülmüştür.

Bu işlemlerin ardından bitkilere sıcaklık stresi uygulanmıştır. Her bir suşun yarısı stres koşullarına maruz bırakılırken, diğer yarısı kontrol grubu olarak normal büyüme koşullarında bırakılmıştır. İfade düzeyleri incelenecek olan HSP'lerin kazanılmış termotoleransta önemli rol oynaması nedeniyle, sıcaklık stresi bu şekilde uygulanmıştır (Song vd., 2012; Vidya vd., 2018). Kazanılmış termotoleransı teşvik etmek amacıyla, bitkiler önce 38 °C'de 2 saat inkübatörde tutulmuş, ardından bitki büyütme kabininde 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra aynı bitkiler 45 °C'de 1 saat bekletilmiş ve ardından 3 gün boyunca gözlemlenmek üzere bitki büyütme kabinine alınmıştır. Sıcaklık stresi uygulama koşulları Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Bitkilere uygulanan sıcaklık stresi koşulları

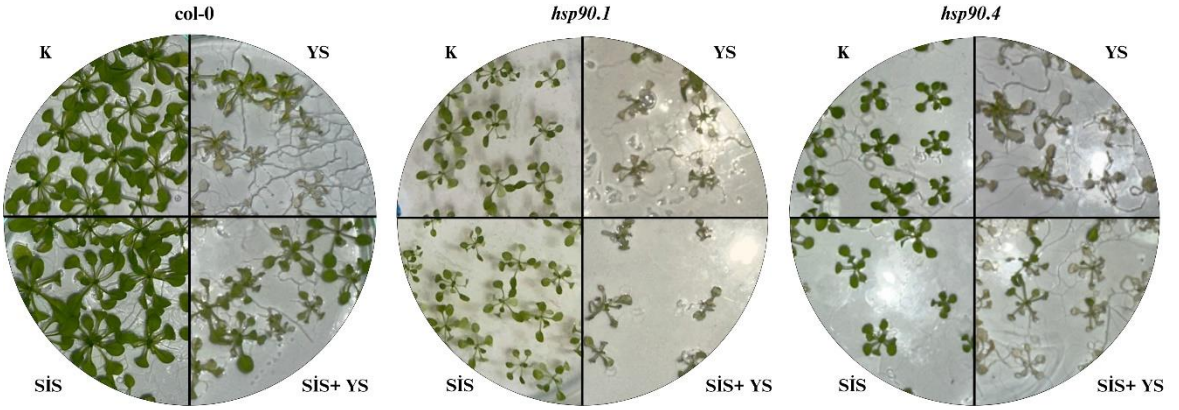
Sistein uygulanmayan kontrol bitkileri ise bu süreç boyunca bitki büyütme kabinindeki mevcut sıcaklıkta bekletilmiştir. Sıcaklık stresi uygulanan bitkiler, işlem sonrasında tekrar 22 °C'deki bitki büyütme odasına alınarak, normal büyüme koşullarında bekletilmiş ve morfolojik değişimlerin gözlenmeye başladığı 3. günün sonunda hasat edilmiştir. Bu amaçla, bitkiler köklerinden ayrılmış ve biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere sıvı azotla şoklanarak -80°C'de saklanmıştır.

Hasat edilen fidelerde membran hasarı, su durumu, hayatta kalma oranı ve toplam klorofil içeriği açısından en iyi sonuçlar 150 µM sistein konsantrasyonunda elde edilmiştir. Bu nedenle, sonraki deneylerde kullanılmak üzere bu konsantrasyon tercih edilmiştir. Oluşturulan deneme grupları ve uygulamalar Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Col-0 ve mutant *A. thaliana* bitkileri için deney grupları ve uygulama koşulları

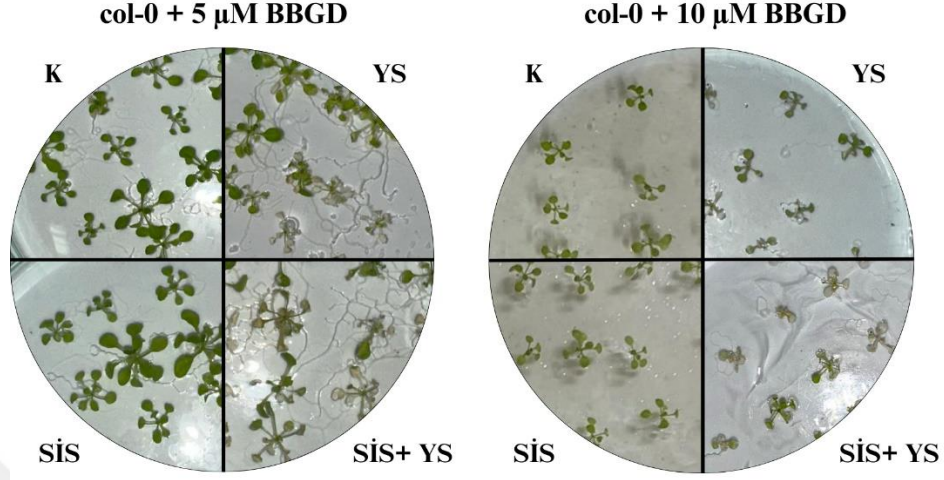
Deney Grupları	Özellikler
Kontrol (K)	Yüksek sıcaklık uygulanmayan ve sistein içermeyen ortam
Yüksek Sıcaklık (YS)	Yüksek sıcaklık stresi uygulanan (35 °C/42 °C) sistein içermeyen ortam
Sistein (SİS)	Yüksek sıcaklık stresi uygulanmayan 150 µM sistein içeren ortam
Sistein/Yüksek Sıcaklık (SİS+YS)	Yüksek sıcaklık stresi uygulanan (35 °C/42 °C) 150 µM sistein içeren ortam

Etkili sistein dozuna karar verildikten sonra, belirlenen dozda sistein hem *A. thaliana* Col-0 ekotipi bitkilerine hem de tüm mutant bitkilere uygulanarak, yukarıda belirtilen yüksek sıcaklık stresi uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu işlemin ardından bitkiler hasat edilmiş ve analizler yapılana kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. *A. thaliana* Col-0 ile *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarına ait uygulama gruplarının hasat öncesi görüntüleri Şekil 10'da sunulmuştur.

Şekil 10. *A. thaliana* Col-0 ile *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarına ait uygulama gruplarının fenotipik karşılaştırması.

GLXI inhibitörü uygulaması için bitkiler, MS ve sistein içeren besiyeri ortamlarına ekilerek 7 gün boyunca büyütülmüştür. MS ve sistein içeren besiyerlerinde büyüyen 7 günlük bitkiler, 5 µM ve 10 µM GLX I inhibitörü içeren sisteinli ve sisteinsiz MS besiyerlerine aktararak, 21 gün boyunca kontrollü şartlar altında bitki büyütme kabinde yetiştirilmiştir (Borysiuk vd., 2022). Etkili konsantrasyonu belirlemek amacıyla yapılan

inhibitör uygulaması, Col-0 bitkileri üzerinde gerçekleştirilmiştir. GLXI inhibitörü uygulamasının Col-0 *A. thaliana* bitkileri üzerindeki etkileri Şekil 11’de gösterilmiştir.



Şekil 11. 5 μ M ve 10 μ M BBGD uygulamalarının Col-0 *A. thaliana* bitkileri üzerindeki etkileri.

Etkili inhibitör konsantrasyonu 5 μ M olarak belirlenmiştir ve belirlenen dozda GLXI inhibitörü hem *A. thaliana* Col-0 ekotipi bitkileri hem de hem de *hsp90.4* mutant bitkileri üzerinde gerçekleştirilmiştir. 21 gün sonunda, bitkilere yukarıda belirtilen koşullarda kademeli sıcaklık stresi uygulanmış ve bitkiler hasat edilmiştir.

2.5. Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Parametrelerin Ölçülmesi

Belirtilen koşullarda yetiştirilen ve sistein, inhibitör ve yüksek sıcaklık stresi uygulamaları yapılarak hasat edilen Col-0 ve *hsp90.1* ile *hsp90.4* mutantlarının yaprakları kullanılarak aşağıda belirtilen analizler gerçekleştirildi.

- Hayatta kalma oranı,
- Yapraklardaki bağıl su miktarı,
- Toplam klorofil içeriği
- TBARS içeriği,
- Hidrojen peroksit miktarı,
- Glutasyon içeriği,
- Metilglioksal içeriği,

- Glioksalaz sistem enzim aktiviteleri (Glioksalaz I ve Glioksalaz II)
- *GLX1.1*, *GLX1.2*, *GLX1.3*, *GLXII.2*, *GLXII.4*, *GLXII.5*, *DJ-1A*, *DJ-1D*, *D-LDH*, *HSP21*, *HSP70*, *HSP90.1*, *HSP90.4* ve *HSP101* gen ifade seviyelerinin belirlenmesi

2.5.1. Hayatta Kalma Oranının Belirlenmesi

Yüksek sıcaklık stresi altında bitkilerin hayatta kalma oranlarını belirlemek için Chen ve ekibinin yöntemi uygulanmıştır (Chen vd., 2022). 1 günlük fideler, yüksek sıcaklık stresine maruz bırakıldıktan sonra üç gün boyunca iyileşme sürecine alınmıştır. Hayatta kalma oranları, bitkilerdeki etiyolleşme durumuna göre değerlendirilmiştir: tamamen, kısmen veya etiyolleşmemiş fideler belirlenerek hayatta kalma oranları Denklem 1'e göre hesaplanmıştır.

$$HKO = \frac{\text{Etiyole olmayan fide sayısı} - \text{Etiyole fide sayısı} + \frac{1}{2} \text{Kısmi etiyole fide sayısı}}{\text{Toplam fide sayısı}} \quad (1)$$

2.5.2. Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi

Yüksek sıcaklık stresi altında, Col-0 ile *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında, sisteinli ve sisteinsiz koşullarda yapraklardaki içsel su miktarlarında meydana gelen değişimlerin belirlenebilmesi için bağıl su miktarları ölçülmüştür. Bu amaçla, hasat edilen bitkilerin taze ağırlıkları (TA) ölçüldükten sonra, +4 °C'de 24 saat boyunca deiyonize suda bekletilerek turgor ağırlıkları tartılmıştır. Daha sonra örnekler, 70 °C'ye ayarlanmış etüvde 48 saat kurutularak kuru ağırlıkları ölçülmüş ve sonuçlar kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Denklem 2'ye göre hesaplanarak belirlenmiştir (Castillo, 1996).

$$\% NSI = \frac{\text{Taze Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık}}{\text{Turgid Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık}} \times 100 \quad (2)$$

2.5.3. Toplam Klorofil Miktarının Belirlenmesi

Sistein ve sıcaklık stresi uygulaması yapılmış col-0 ile *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinde klorofil miktarındaki değişimlerin gözlemlenmesi amacıyla toplam klorofil miktar tayini yapılmıştır. Bunun için her bitki grubundan 0.1 g bitki örneği alınmış ve sıvı azot ile

homojenize edilmiştir. Ardından, her bir örneğe 1.8 ml %80 aseton eklenmiş ve elde edilen çözelti, 13,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Toplam klorofil miktarının belirlenmesi amacıyla, santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantların 645 ve 663 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülmüştür. Örneklere ait klorofil miktarları, Denklem 3, 4 ve 5'e göre hesaplanarak belirlenmiştir (Pérez-Patricio vd., 2018).

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = (12.7 \times A_{663}) - (2.59 \times A_{645}) \quad (3)$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = (22.9 \times A_{645}) - (4.7 \times A_{663}) \quad (4)$$

$$\text{Toplam klorofil (mg/g)} = (8.2 \times A_{663}) + (20.2 \times A_{645}) \quad (5)$$

2.5.4. Lipid Peroksidasyon Seviyelerinin Belirlenmesi

Col-0 ile *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında, yüksek sıcaklık stresi altında, sisteinli ve sisteinsiz koşullarda lipid peroksidasyon seviyelerindeki değişimlerin belirlenmesi amacıyla, Rao ve Sresty, 2000 tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. TBARS miktarını belirlemek için yapraklar, trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım, 15,000 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant, tüplere aktarılmış ve üzerine tiobarbitürik asit (TBA) ile TCA içeren reaksiyon karışımı eklenmiştir. Tüm deney tüpleri 95 °C'de 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İşlem sonrası, karışım hızlı bir şekilde buz banyosunda soğutulmuş ve ardından 10,000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatantın 532 ve 600 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri okunmuştur. TBARS konsantrasyonu, ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=155 \text{ nmol.cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmış ve nmol/g⁻¹ TA olarak ifade edilmiştir.

2.5.5. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi

Bitkilerin H₂O₂ seviyelerindeki değişimleri belirlemek için Velikova vd, (2000) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla, yaprak örnekleri TCA içerisinde homojenize edilmiş, ardından santrifüj edilmiş ve süpernatant potasyum fosfat tamponu ile potasyum iyodür (KI) içeren karışım ile birleştirilmiştir. Elde edilen süpernatantın absorbansı, 390 nm dalga boyunda bir H₂O₂ standardına karşı ölçülmüş ve sonuçlar $\mu\text{mol g}^{-1}$ TA cinsinden ifade edilmiştir.

2.5.6. Glutasyon İçeriklerinin Belirlenmesi

Yaprakların GSH içerikleri Tietze, (1969)'a göre belirlenmiştir. Bu amaçla, 0.5 g yaprak örneği tartılarak sıvı azot içerisinde toz haline getirilmiş ve %5'lik metafosforik asit içeren 1 mM EDTA çözeltisi ile 5 mL olarak ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt, +4 °C'de 10,000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiş ve bu süpernatant GSH içeriğinin belirlenmesinde kullanılmıştır. GSH, 250 mM K₂HPO₄/KH₂PO₄ (pH 7.5), 200 µM NADPH, 600 µM DTNB, 25 µL ekstrakt ve 0.3 ünite GR içeren reaksiyon karışımı ile ölçülmüştür. Absorbanstaki değişim 412 nm'de 3 dakika boyunca gözlemlenmiştir. GSH konsantrasyonu, 0-5 µM aralığındaki GSH kullanılarak elde edilen standart eğri üzerinden hesaplanmıştır.

2.5.7. Metilglioksal İçeriklerinin Belirlenmesi

MG içeriği Yadav vd., (2005)'in yöntemine göre hesaplanmıştır. MG ölçümü için, 0.1 g yaprak numunesi, 3 mL %0.5 M perklorik asit içerisinde ekstrakte edilmiştir. Karışım, buz üzerinde 15 dakika inkübe edildikten sonra, 4°C'de 15,000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant, oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra tekrar 10 dakika boyunca 15,000 g'de santrifüj edilmiştir. İkinci santrifüj işlemi ile elde edilen süpernatant, MG içeriğinin belirlenmesinde kullanılmıştır. MG ölçümü için, toplam 1 mL'lik reaksiyon karışımında 7.2 mM 1,2-diaminobenzen (250 µL), 5 M perklorik asit (100 µL) ve 650 µL nötralize edilmiş süpernatant kullanılmıştır. Türevlendirilmiş MG, 25 dakika inkübasyonun ardından 335 nm'de ölçülmüş ve MG miktarı standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır.

2.5.8. GLX Sistemi Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Enzim ekstraksiyonu için, 0.5 g yaprak dokusu, 100 mM KCl, 1 mM askorbat, 5 mM β-merkaptotanol ve %10 (w/v) gliserol içeren 50 mM soğuk potasyum fosfat tamponunda (pH 7.0) 1 mL hacminde homojenize edilmiştir. Homojenatlar, 10 dakika boyunca 13,000 g'de santrifüj edilerek elde edilen süpernatantlar enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Tüm işlemler 0-4 °C'de gerçekleştirilmiştir.

GLXI aktivitesi Hasanuzzaman vd., (2011)'in yöntemine göre ölçülmüştür. Reaksiyon ortamı, son hacim 700 µL olacak şekilde, 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 15 mM MgSO₄, 1.7 mM GSH ve 3.5 mM MG içerecek şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon, MG

ilavesi ile başlatılmış ve 240 nm’de 1 dakikadaki artış kaydedilmiştir. Aktivite, $3.37 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

GLXII aktivitesi, Principato’nun (1987) yöntemine göre, 412 nm’de GSH oluşumunu izleyerek ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı, 100 mM Tris-HCl tamponu (pH 7.2), 0.2 mM DTNB ve 1 mM SLG içerecek şekilde, son hacim 1 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon, SLG ilavesi ile başlatılmış ve 1 dakika boyunca 412 nm’de absorbanı değişimi gözlemlenerek analiz edilmiştir. Aktivite, $13.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ epsilon katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

2.5.9. Çözünabilir Protein Tayini

Çözünabilir protein içeriğini belirlemek amacıyla, Coomassie Brilliant Blue-G250 boya bağlama yöntemi uygulanmıştır (Bradford, 1976). Standart eğri hazırlanırken sığır serum albümini kullanılmış ve boyar madde ile protein karışımı 595 nm’de spektrofotometre ile ölçülmüştür. Protein miktarı mg cinsinden hesaplanmış olup, elde edilen değerler enzim aktiviteleri analizlerinde kullanılmıştır.

2.5.10. RNA İzolasyonu

Hasat işlemleri sırasında her bir gruptan alınan 0.1 g bitki yaprak örnekleri, sıvı azot içerisinde dondurularak doku parçalayıcısı ile iyice parçalanmıştır. Toplam RNA eldesi için, RNA izolasyonları “Qiagen RNeasy Plant Mini Kit” kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde gerçekleştirilmiş ve numunelerden RNA eldesi sağlanmıştır. İzole edilen RNA örneklerinin miktar ve saflık tespiti, spektrofotometrik olarak nanodrop ile yapılmıştır (Acet ve Kadioğlu, 2020).

2.5.11. cDNA Sentezi

İzole edilen toplam RNA örneklerinden, yüksek kapasiteli “cDNA Reverse Transkripsiyon Kiti” kullanılarak, grup başına 2000 ng olacak şekilde cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir (Acet ve Kadioğlu, 2020).

2.5.12. qRT-PCR

qRT-PCR analizi, “CFX Connect Real-Time PCR System” (BioRAD) cihazı kullanılarak, Eva Green qPCR Supermix çözeltisi ile gerçekleştirilmiştir.

Uygulanan qRT-PCR koşulları Tablo 6'da sunulmuştur. İlgili genlere ait primer listesi, Tablo 7'de sunulmuştur.

Tablo 6. qRT-PCR koşulları

Adım	Sıcaklık	Süre	Döngü
Başlangıç Aktivasyonu	95,0°C	12 dk	1
Denatürasyon	95,0°C	15 sn	44
Bağlanma	65,0°C	30 sn	
Uzama	72,0°C	30 sn	
Plate Okuma	-	-	
Melt Curve Analizi	65,0°C-95,0°C arası 0,5°C'lik artışlar, 5 sn aralıklarla plate okuma		-

Tablo 7. Primerlerin baz dizileri

Isı Şoku ile İlişkili Genler	
Primer Adı	Primer Dizileri (5'-3')
<i>Arabidopsis thaliana heat shock protein 21 (HSP21)</i>	HSP21-F:GAACACGACTTCAGCTCCCA HSP21-R:TCGATGACTTTGCGTTTCGAC
<i>Arabidopsis thaliana heat shock protein 70 (HSP70)</i>	HSP70-F:GTCGAGTGTTGGCGAGAGA HSP70-R:ACCAGCAGTTGCCTTGACTT
<i>Arabidopsis thaliana heat shock-like protein 90.1 (HSP90.1)</i>	HSP90.1-F:TCTCGGGGACAAGGTTGAGA HSP90.1-R:CGCCTGTGCCTTCATAATCC
<i>Arabidopsis thaliana heat shock protein 90.4 (HSP90.4)</i>	HSP90.4-F:TAACAGCGGTACTGCAAGA HSP90.4-R:CGACCACGGTGTCTACTTCT
<i>Arabidopsis thaliana heat shock protein 101 (HSP101)</i>	HSP101-F:GGTTGTGCGTGAGGAAATCG HSP101-R:AAGCGTCCACTAGACCTCCA
GLX sistemi ile İlişkili Genler	
<i>GLXL1</i>	GLXL1-F:CTGTCAAGGTGGGAAACTGT GLXL1-R:GGCATTGGTGACTGTGACTG

Tablo 7'nin devamı

<i>GLXI.2</i>	GLXI.2-F:CGGCACCAGATGCTTCATT GLXI.2-R:ACAAAACAGGAAGCACACACA
<i>GLXI.3</i>	GLXI.3-F:GTCACCTGGTGGGAAGAC GLXI.3-R:GAGGCTGCTCCATTGACTT
<i>Glyoxalase II cytoplasmic isozyme (GLXII.2)</i>	GLXII.2-F:CGCAGAGTTGGGGAACAT GLXII.2-R:TCAAAGTTTGGAGTGGTAGC
<i>Glyoxalase 2-4 (GLXII.4)</i>	GLXII.4-F:TCATTCTTGTGGAGGAACGAC GLXII.4-R:TACGACGGCATGATGGACA
<i>GLXII.5</i>	GLXII.5-F:TGAAGTGGTGGTTTGACTTGG GLXII.5-R:AGCTCGACCAAGTGACAGGACA
<i>DJ-1A</i>	DJ-1A-F:TCCAGAGATGCCTCTCTCAG DJ-1A-R:TACCGACATCTGCTGCTGTT
<i>DJ-1D</i>	DJ-1D-F:GTGGATGTTTGTGGATGTT DJ-1D-R:GTGGATGTTTGTGGATGTT
<i>D-lactate dehydrogenase (D-LDH)</i>	D-LDH-F:GAAGGGATGGGAGCTTTC D-LDH-R:GCAACGCGCACCAGTAATGT
Referans Gen	
<i>Arabidopsis thaliana actin 7 (ACT7)</i>	ACT7-F:CCATCGCTCATCGGAATGGA ACT7-R:TGGAACCACCACTGAGAACG

2.6. İstatiksel Değerlendirme

Uygulamalar sonucunda elde edilen numunelerden en az üç tekrarlı gerçekleştirilen analizler sonucu kaydedilen ortalama değerler, tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA-Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi) ile Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows 23.0) yazılımında değerlendirilmiştir. İstatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar için $p \leq 0.05$ düzeyi esas alınmıştır. Tüm şekillerdeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir.

qRT-PCR analizinde nispi gen ifade seviyeleri Bio-Rad CFX Manager 3.1 yazılımı ile analiz edilmiş ve ifade seviyeleri SPSS yazılımında test edilmiştir.

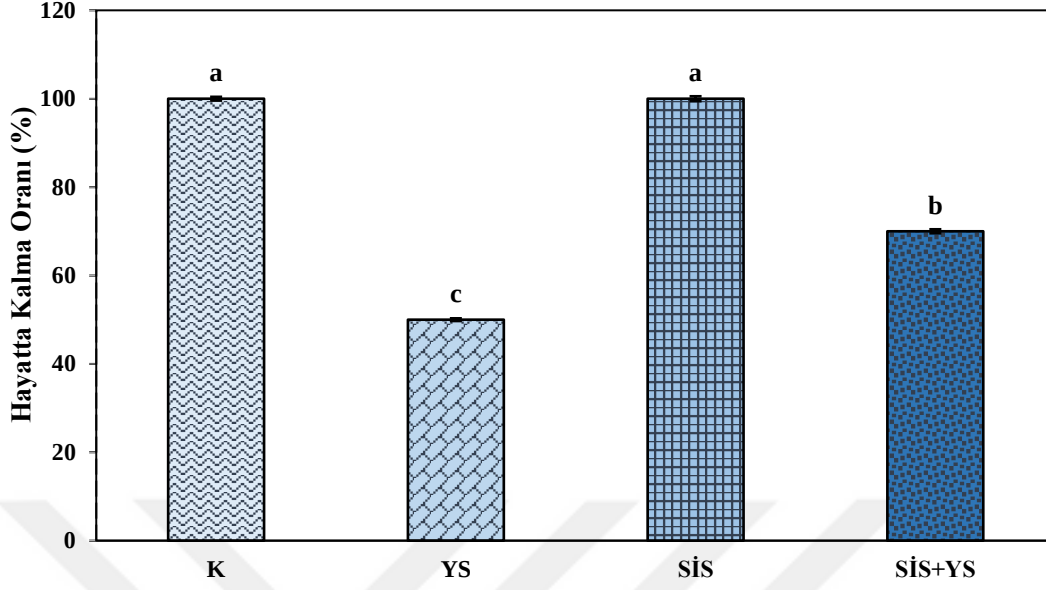
3. BULGULAR

3.1. Sistein ve Yüksek Sıcaklık Stresi Uygulamasının Col-0 Bitkilerinde Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler Üzerine Etkileri

Sisteinin yüksek sıcaklık stresine tolerans üzerindeki etkisini değerlendirmek için, 21 günlük Col-0 fideleri iki aşamalı yüksek sıcaklık uygulamasına tabi tutulmuştur. Bu fideler “Materyal ve Metod” bölümünde belirtilen koşullar altında yetiştirilmiştir. İlk analiz seti, Col-0 bitkilerinde fizyolojik olarak HKO ve NSİ, biyokimyasal olarak ise toplam klorofil içeriği, TBARS ve H₂O₂ miktarı ölçümlerini içermektedir. Bu analizlerle, sisteinin Col-0 fidelerinin yüksek sıcaklık stresi koşulları altındaki fizyolojik ve biyokimyasal tepkileri üzerine etkisinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

3.1.1. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Hayatta Kalma Oranları Üzerine Etkisi

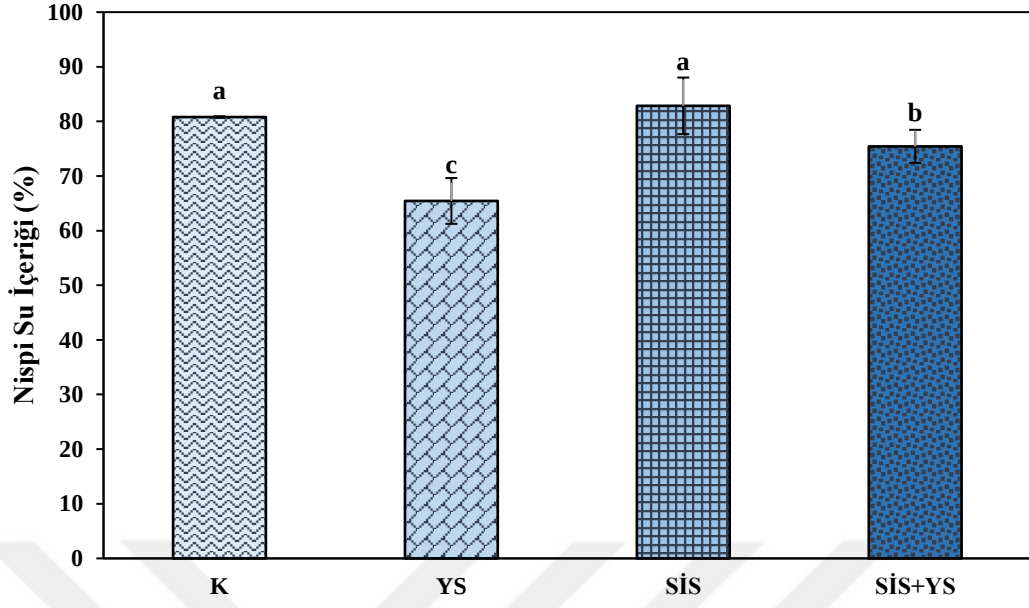
Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 bitkilerinin hayatta kalma oranları üzerine etkileri Şekil 12’de gösterilmiştir. Normal koşullar altında hem kontrol grubundaki bitkilerde hem de sistein uygulaması yapılan bitkilerde en yüksek hayatta kalma oranı gözlenmiştir. Sistein uygulaması yapılan bitkilerin hayatta kalma oranları, normal koşullarda kontrol grubu ile aynı seviyede kaydedilmiştir. Col-0 bitkilerinin hayatta kalma oranları yüksek sıcaklık stresinden önemli derecede etkilenmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ise hayatta kalma oranında gözle görülür bir düşüş meydana gelmiştir. Bu azalma, yüksek sıcaklık stresinin bitkilerin yaşam oranları üzerindeki olumsuz etkisini yansıtmaktadır ve stresin etkisi altındaki bitkilerde hayatta kalma oranının ciddi şekilde düştüğü görülmektedir. Yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulaması yapılan bitkilerde ise hayatta kalma oranı, yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruptan daha yüksek olarak ölçülmüştür.



Şekil 12. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde hayatta kalma oranına etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

3.1.2. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Nispi Su İçerikleri Üzerine Etkisi

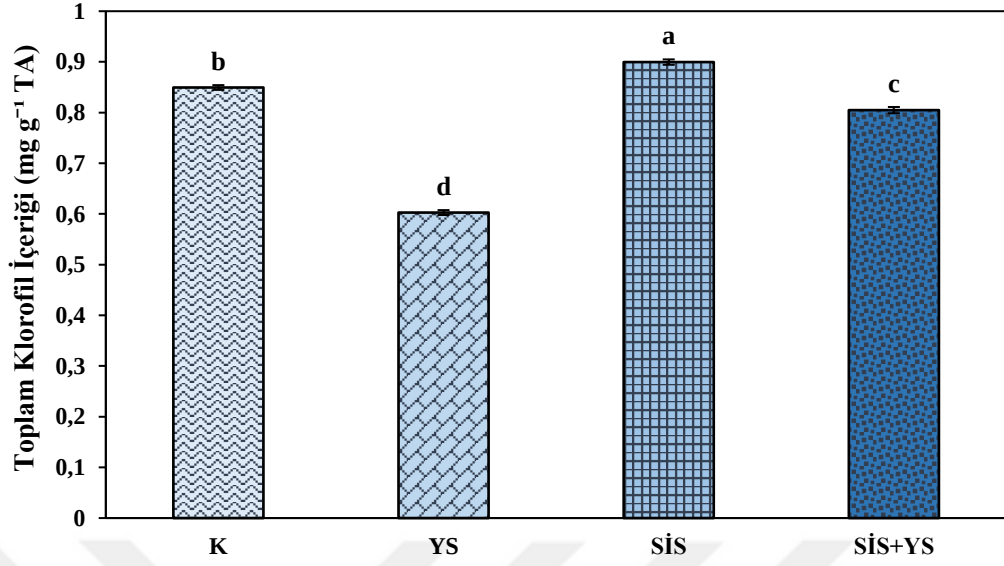
Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 bitkilerinin nispi su içerikleri üzerine etkileri Şekil 13'te gösterilmiştir. Col-0 bitkilerinin nispi su içeriği yüksek sıcaklık ve sistein uygulamaları tarafından önemli ölçüde etkilenmiştir. Normal koşullar altında kontrol grubundaki bitkiler ile sistein uygulanan bitkilerde benzer su içeriği değerleri tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ise en düşük yaprak su içeriği tespit edilmiş olup, kontrol grubuna kıyasla su içeriğinde önemli bir düşüş meydana gelmiştir. Yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulanan bitkilerde su içeriği, yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba kıyasla daha yüksek seviyede ölçülmüştür.



Şekil 13. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde nispi su içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

3.1.3. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Toplam Klorofil İçerikleri Üzerine Etkisi

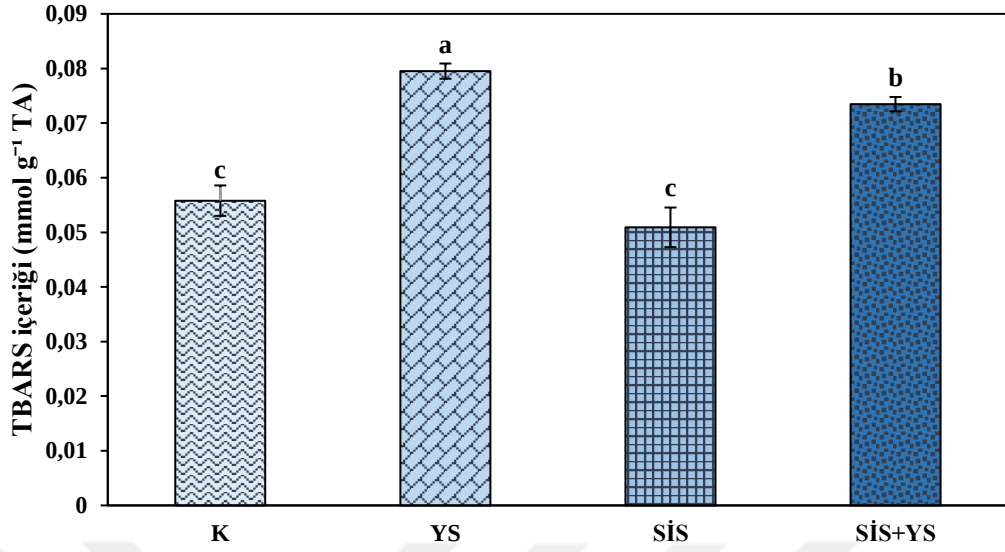
Sistein ve sıcaklık uygulamaları Col-0 bitkilerinin toplam klorofil içeriklerini önemli ölçüde etkilemiştir (Şekil 14). Kontrol grubundaki bitkilerde klorofil içeriği yüksek bir seviyede gözlemlenmiştir. Sistein uygulanan bitkilerde ise toplam klorofil içeriğinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerin toplam klorofil içeriklerinde önemli bir azalmaya yol açmıştır. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bitkilerde klorofil içeriğinde kontrol ve sistein gruplarına kıyasla önemli derecede bir azalma meydana gelmiştir. Yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulanan grupta ise klorofil içeriğinin, yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 14. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde toplam klorofil içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

3.1.4. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin TBARS İçerikleri Üzerine Etkisi

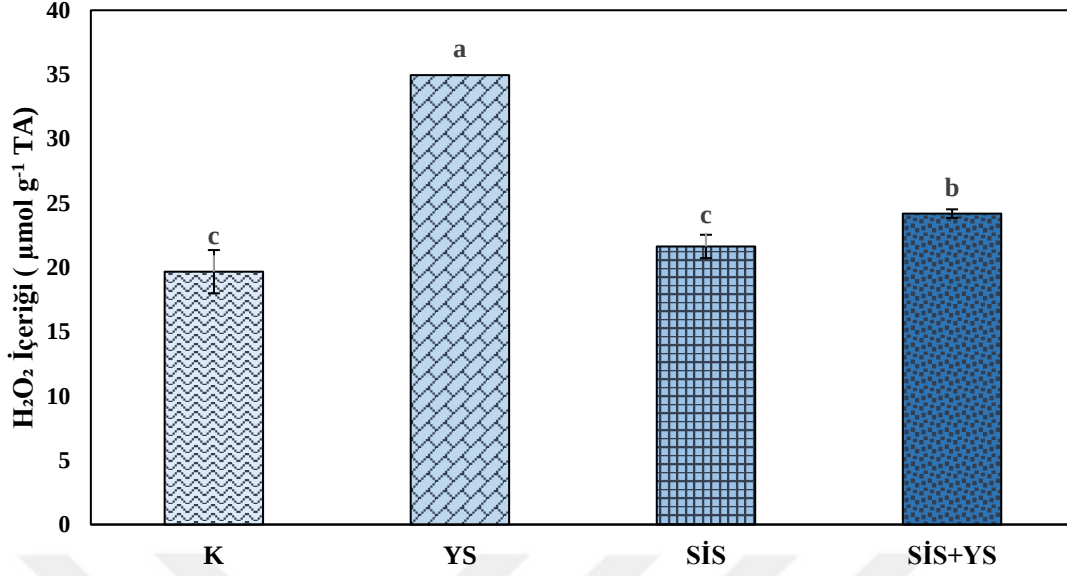
Sistein ve sıcaklık uygulamalarının, Col-0 bitkilerinin membran hasarı üzerinde önemli bir etkisi olduğu belirlenmiştir (Şekil 15). Kontrol grubundaki bitkiler, en düşük TBARS seviyelerine sahip olup bitkisel stresin minimum seviyede olduğunu göstermektedir. Sistein uygulaması yapılan bitkilerde ise TBARS seviyelerinin kontrol grubuna göre hafif bir artış gösterdiği, ancak genel olarak düşük seviyelerde kaldığı gözlemlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresinin, bitkilerde ciddi düzeyde membran hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bitkilerde TBARS seviyelerinde önemli derecede artış meydana gelmiştir. Yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulaması yapılan bitkilerde ise TBARS seviyelerinde bir düşüş gözlemlenmiştir. Sistein uygulanan stresli bitkilerde TBARS miktarının, yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba kıyasla daha düşük seviyelerde olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 15. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde TBARS içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

3.1.5. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Bitkilerin Hidrojen Peroksit İçerikleri Üzerine Etkisi

Sistein ve yüksek sıcaklık uygulamaları, farklı deney grupları arasında bitkilerde H_2O_2 içeriğinde anlamlı farklılıklara neden olmuştur (Şekil 16). Kontrol grubundaki bitkilerin en düşük H_2O_2 seviyelerine sahip olduğu belirlenmiştir. Sistein uygulanan bitkilerdeki H_2O_2 seviyelerinin, kontrol grubu bitkileriyle benzer düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi bitkilerin H_2O_2 seviyelerini ciddi anlamda etkilemiş olup, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde H_2O_2 seviyelerinde önemli derecede artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık stresi koşullarında sistein uygulanan bitkilerde ise, yalnızca yüksek sıcaklık stresi uygulanan gruba kıyasla H_2O_2 seviyelerinde düşüş gözlenmiştir. Sistein uygulaması yapılan gruptaki bitkilerde H_2O_2 miktarının, yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba göre daha düşük olması, sisteinin oksidatif stres koşullarında koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 16. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde H₂O₂ içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05).

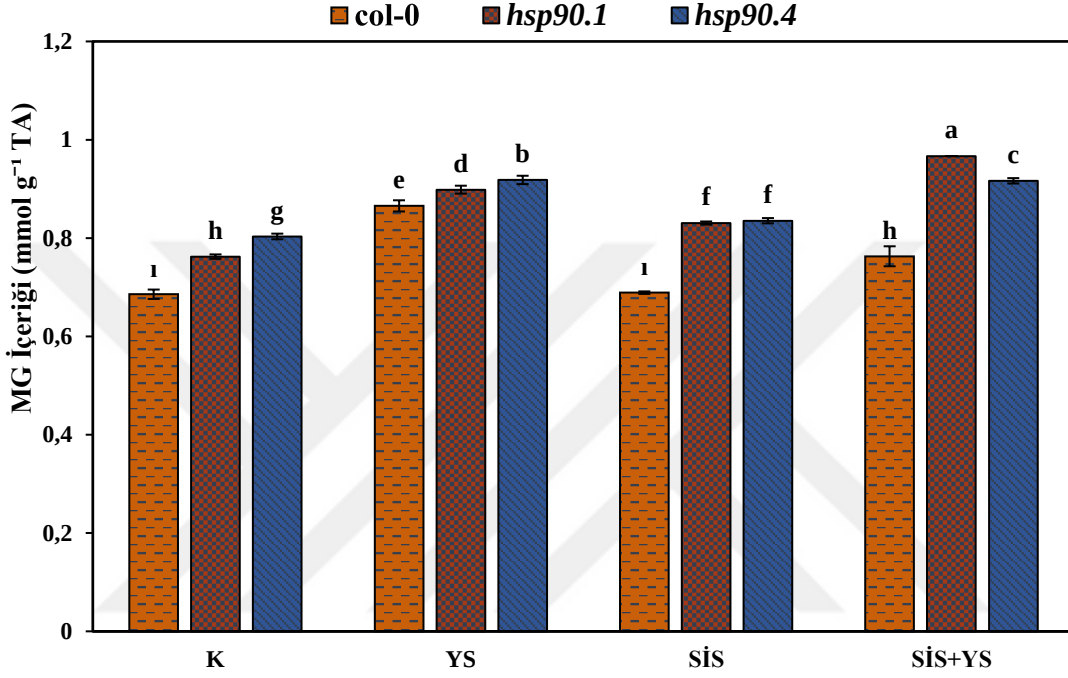
3.2. Sistein ve Yüksek Sıcaklık Stresi Uygulamasının Col-0 ve mutant *A. thaliana* Bitkilerindeki Biyokimyasal Değişiklikler Üzerine Etkileri

Çalışmanın bu kısmında, 21 günlük Col-0 fideleriyle aynı koşullar altında yetiştirilen T-DNA insersiyon mutantları *hsp90.1* ve *hsp90.4* kullanılmıştır. Sisteinin, HSP90.1 ve HSP90.4 ile etkileşimi yoluyla MG detoksifikasyon yolunun pozitif bir düzenleyicisi olarak rol oynadığı hipotezi temelinde, mutantlar ve Col-0 fidelerinde GLX sisteminin temel bileşenleri analiz edilmiştir. Bu analizler, MG ve GSH içeriğinin yanı sıra GLX enzim aktiviteleri de kapsamaktadır. Bu yaklaşım, sisteinin detoksifikasyon süreçlerindeki etkisini daha iyi anlamayı hedeflemektedir.

3.2.1. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Col-0 ve Mutant *A. thaliana* Bitkilerinin Metilglioksal İçerikleri Üzerine Etkisi

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin metilglioksal içerikleri üzerine etkileri Şekil 17’de gösterilmiştir. Col-0 bitkilerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, mutant bitkilerin kontrol gruplarında MG içeriğinin daha yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bitkilerde, MG konsantrasyonunun tüm bitki gruplarının kontrol gruplarına kıyasla arttığı gözlemlenmiştir. Col-0 fidelerinde, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan ve sistein

uygulanan grupta, yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba kıyasla MG seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. *hsp90.1* mutant bitkilerinde yüksek sıcaklık ve sistein uygulaması sonrası, yalnızca yüksek sıcaklık stresi uygulanan gruba kıyasla MG seviyelerinde artış olduğu tespit edilirken, *hsp90.4* mutantında yüksek sıcaklık ve sistein uygulaması arasında MG seviyelerinde azalma gözlenmiştir.

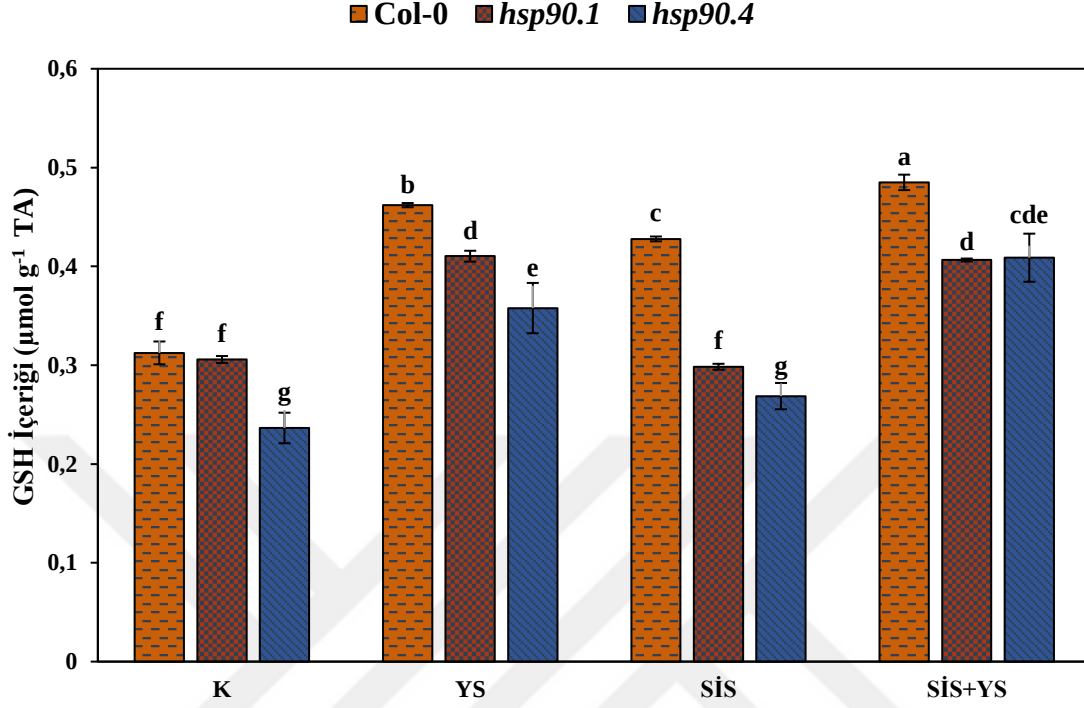


Şekil 17. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde MG içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05).

3.2.2. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Col-0 ve Mutant *A. thaliana* Bitkilerinin Glutasyon İçerikleri Üzerine Etkisi

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin glutasyon içerikleri üzerine etkileri Şekil 18’de gösterilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak tüm bitki gruplarının GSH içeriklerinde, kontrol gruplarına kıyasla bir artış gözlemlenmiştir. Col-0 bitkilerinde, sistein uygulaması, kontrol grubuna kıyasla GSH seviyelerini önemli derecede artırmıştır. Ancak, bu artış mutant gruplarda gözlenmemiştir; *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında sistein uygulaması, GSH seviyelerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır. Ayrıca mutantlarda sistein ve yüksek sıcaklık stresi kombinasyonu ile yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruplar arasında GSH

seviyeleri açısından önemli bir farklılık bulunmamaktadır. Mutant gruplarda, sisteinin GSH seviyelerini artırıcı etkisi sınırlı kalmıştır.



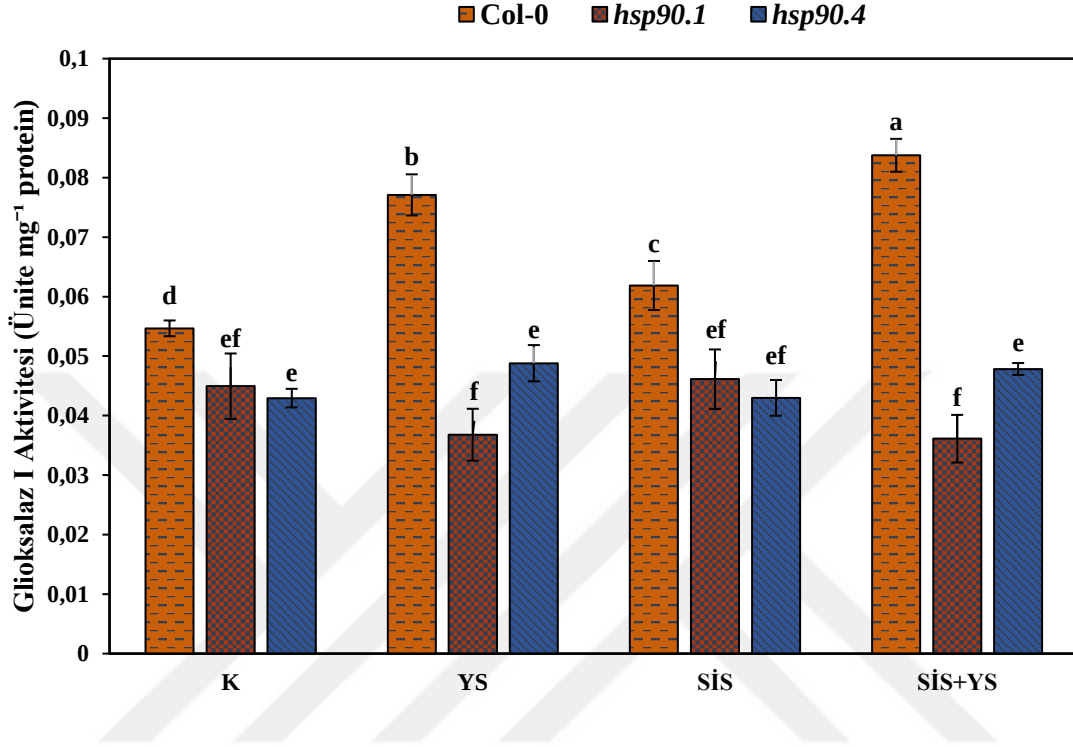
Şekil 18. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde GSH içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05).

3.2.3. Sistein Uygulamasının Yüksek Sıcaklık Stresine Maruz Bırakılan Col-0 ve Mutant *A. thaliana* Bitkilerinin GLXI ve GLXII Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Gliksalaz I Aktivitesi

Sıcaklık stresi altında sistein uygulamasının, Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin Gliksalaz I aktivitesi üzerinde önemli etkileri olduğu belirlenmiştir (Şekil 19). Yüksek sıcaklık stresi altındaki Col-0 fidelerinde GLXI enzim aktivitesi, kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Sadece sistein uygulanan Col-0 bitkilerinde de benzer şekilde GLXI aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla bir artış gözlemlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması yapılan Col-0 bitkilerinde ise, sistein uygulanmayan gruba kıyasla GLXI aktivitesinde daha yüksek seviyelere ulaşıldığı tespit edilmiştir. Diğer yandan, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant bitkilerinde, yalnızca sistein uygulaması yapılan gruplarda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik kaydedilmemiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan mutant bitkilerde, Col-0 bitkilerinin aksine, sistein uygulanmayan gruba kıyasla

GLXI aktivitesinde anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir. Mutant bitkilerde GLXI aktivitesi, tüm gruplarda Col-0'a göre daha düşük seviyelerde bulunmuş ve Col-0 bitkilerinde gözlenen artışla benzer bir etki göstermemiştir.

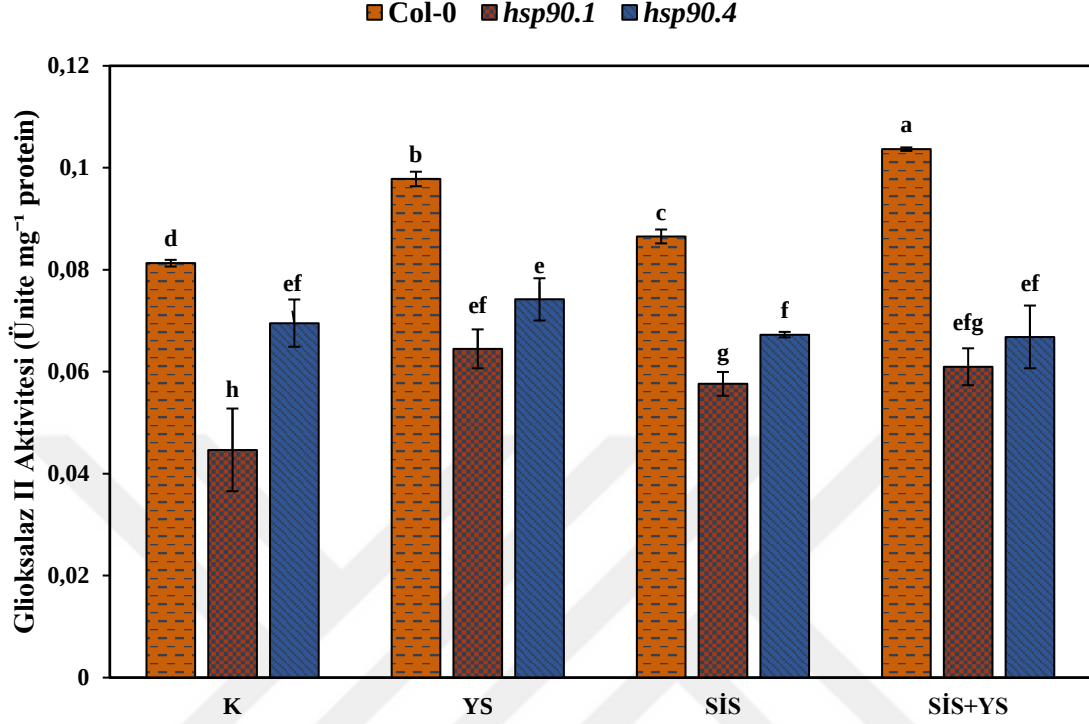


Şekil 19. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde GLXI aktivitesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Gliksalaz II Aktivitesi

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının, Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin Gliksalaz II aktivitesi üzerinde değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 20). Yüksek sıcaklık stresi maruz kalan Col-0 bitkilerinde, kontrol grubuna kıyasla GLXII enzim aktivitesinde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Sadece sistein uygulanan Col-0 bitkilerinde GLXII aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla bir artış gözlemlenmiştir. Benzer şekilde yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan Col-0 bitkilerinde, yalnızca sıcaklık stresi grubuna kıyasla GLXII enzim aktivitesinde ek bir artış kaydedilmiştir. *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında ise GLXII aktivitesindeki artış oranlarının Col-0 bitkilerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Mutantlarda yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan gruplarda, sistein uygulanmayan gruplara göre GLXII aktivitesinde anlamlı bir değişiklik meydana getirmemiştir. Ayrıca, mutant hatlarda GLXII enzim aktivitesinin tüm gruplarda

düşük seviyelerde seyrettiği ve sistein uygulamasının Col-0 bitkilerinde olduğu gibi yüksek sıcaklık stresine karşı enzim aktivitesini artırmadığı gözlenmiştir.



Şekil 20. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde GLXII aktivitesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05).

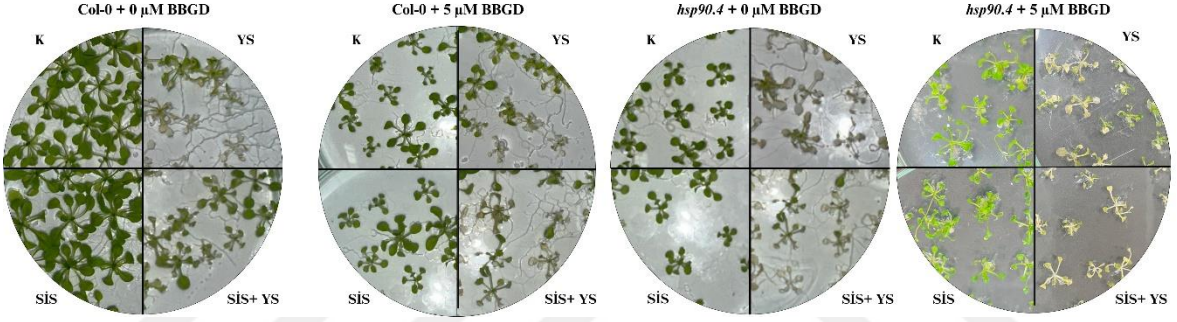
3.3. GLXI inhibitörü BBGD'nin Sisteinin Bitkilerdeki Yüksek Sıcaklık Stresine Yanıtı Üzerindeki Etkileri

GSH'ye bağlı GLX sisteminin HSP90.1 ve HSP90.4 ile birlikte yüksek sıcaklıklara karşı sistein aracılı toleransta önemli bir rol oynayıp oynamadığını daha derinlemesine incelemek için, Col-0 ve *hsp90.4 A. thaliana* fidelerinin yüksek sıcaklık stresi altında GLXI inhibitörü BBGD'ye hem sistein uygulaması ile hem de sistein uygulaması olmadan nasıl tepki verdiğini araştırılmıştır.

Kontrol gruplarında, BBGD içermeyen ortamlarda büyüyen bitkiler sağlıklı gözükmeyle birlikte, BBGD içeren ortamda büyüyen bitkilerin daha küçük olduğu ve büyüme açısından olumsuz etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. BBGD içermeyen ortamda sıcaklık stresine maruz bırakılan Col-0 bitkilerinde sistein uygulaması, kontrol gruplarına kıyasla belirgin bir iyileşme sağlamış; ancak, BBGD'nin varlığında bu koruyucu etkinin azaldığı tespit edilmiştir. BBGD uygulaması yapılan Col-0 bitkilerinde yalnızca sistein

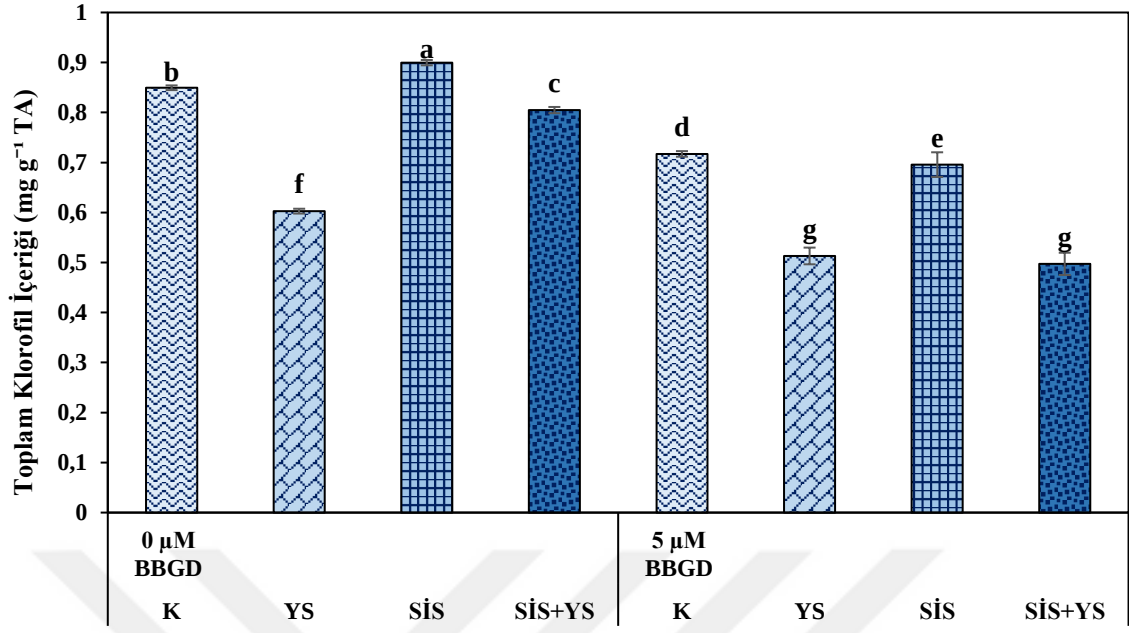
uygulaması yapılan gruptaki bitkiler de kontrol grubuna benzer bir büyüme eğilimi göstermiştir. Sıcaklık stresi uygulanan grupta, bitkilerin yaklaşık yarısının canlılığını kaybettiği gözlemlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan grupta da benzer şekilde bitkilerin yarıya yakınının canlılığını yitirdiği belirlenmiştir.

BBGD uygulanması, *hsp90.4* mutant bitkilerinde, Col-0 bitkilerine kıyasla daha belirgin fenotipik kusurlara yol açmıştır. BBGD ve sıcaklık stresine maruz kalan *hsp90.4* mutant bitkilerde büyüme ve gelişim bozuklukları, ciddi kloroz ve yapraklarda solgunluk gibi fenotipik bozukluklar meydana gelmiş, bu durum Col-0 bitkileriyle kıyaslandığında daha belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir. Ayrıca, GLXI ve GLXII enzim aktiviteleri BBGD ile baskılandığında, sistein uygulaması, BBGD uygulanmayan gruplarda olduğu gibi yüksek sıcaklık stresi altında herhangi bir olumlu etki göstermemiştir (Şekil 21).



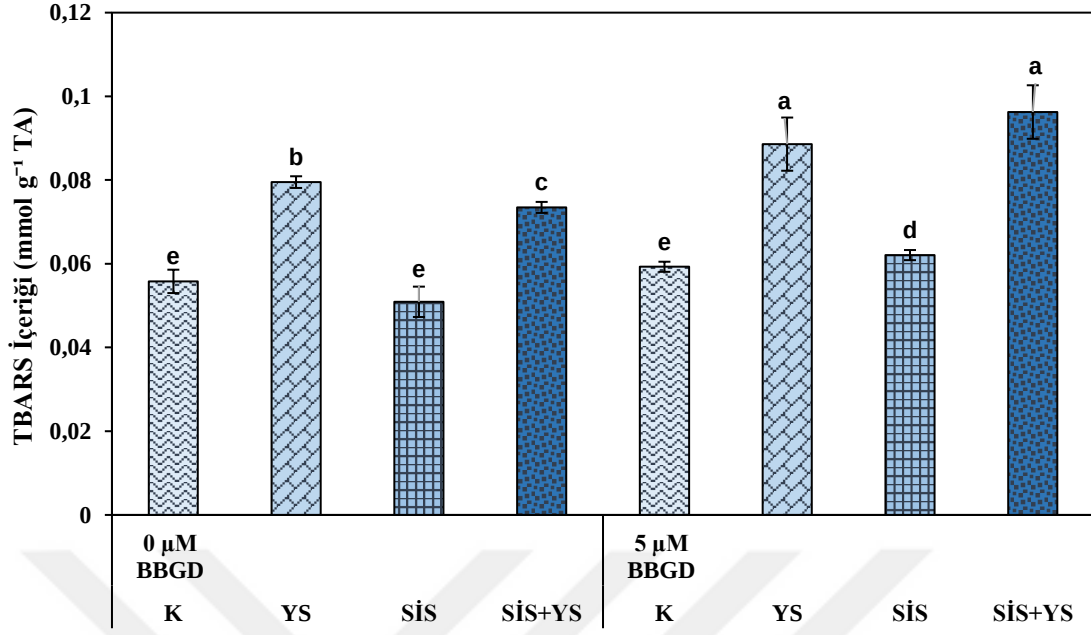
Şekil 21. Uygulama koşullarının BBGD içeren ve içermeyen ortamlarında büyütülen Col-0 ve *hsp90.4* mutant bitkilerinin fenotipleri üzerine etkisi

Klorofil analizleri, 5 μ M BBGD uygulanan ve uygulanmayan Col-0 bitkilerinde yüksek sıcaklık stresi ve sistein uygulamasının etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, BBGD ile muamele edilen gruplarda klorofil içeriğinin, inhibitör uygulanmayan gruplara kıyasla azaldığını göstermiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bitkilerde de klorofil seviyelerinin düştüğü gözlenmiş olup, sistein uygulamasının inhibitör uygulanmayan Col-0'da klorofil içeriğini desteklediği belirlenmiştir. Ancak, BBGD'nin varlığında bu artışın olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 22).



Şekil 22. Uygulama koşullarının BBGD içeren ortamda büyütülen Col-0 bitkilerinin toplam klorofil içeriği üzerine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

TBARS içeriği analizi, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan gruplarda BBGD'nin bitki hücre zarlarındaki oksidatif zararı nasıl etkilediğini incelemek amacıyla yapılmıştır. Bulgular, BBGD ile muamele edilen bitkilerde TBARS miktarının, BBGD uygulanmayan gruplara kıyasla daha yüksek olduğunu göstermiştir. Yüksek sıcaklık stresi uygulanan gruplarda da TBARS miktarında artış görülmüş olup, sistein uygulamasının BBGD uygulanmayan bitkide TBARS miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Ancak BBGD varlığında böyle bir azalmanın meydana gelmediği gözlemlenmiştir (Şekil 23).



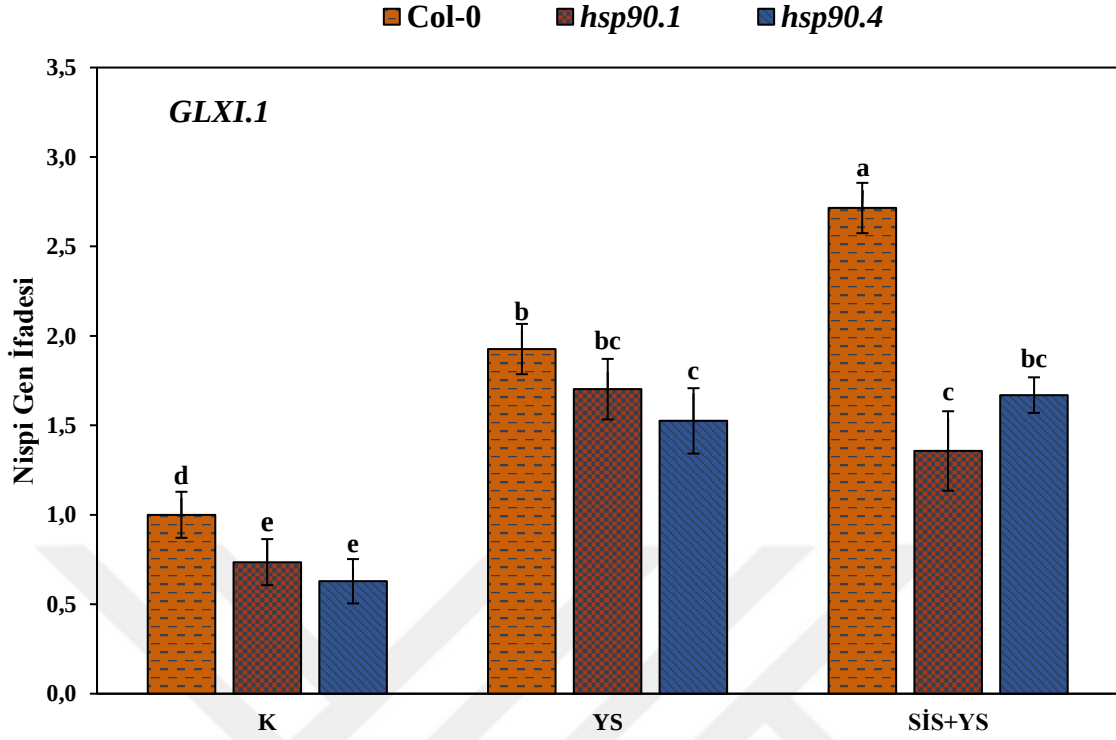
Şekil 23. Uygulama koşullarının BBGD içeren ortamda büyütülen Col-0 bitkilerinin TBARS içeriği üzerine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05).

3.4. Sistein ve Yüksek Sıcaklık Stresi Uygulamasının Bitkideki Moleküler Değişiklikler Üzerine Etkileri

3.4.1. GLXI Enzimini Kodlayan Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler

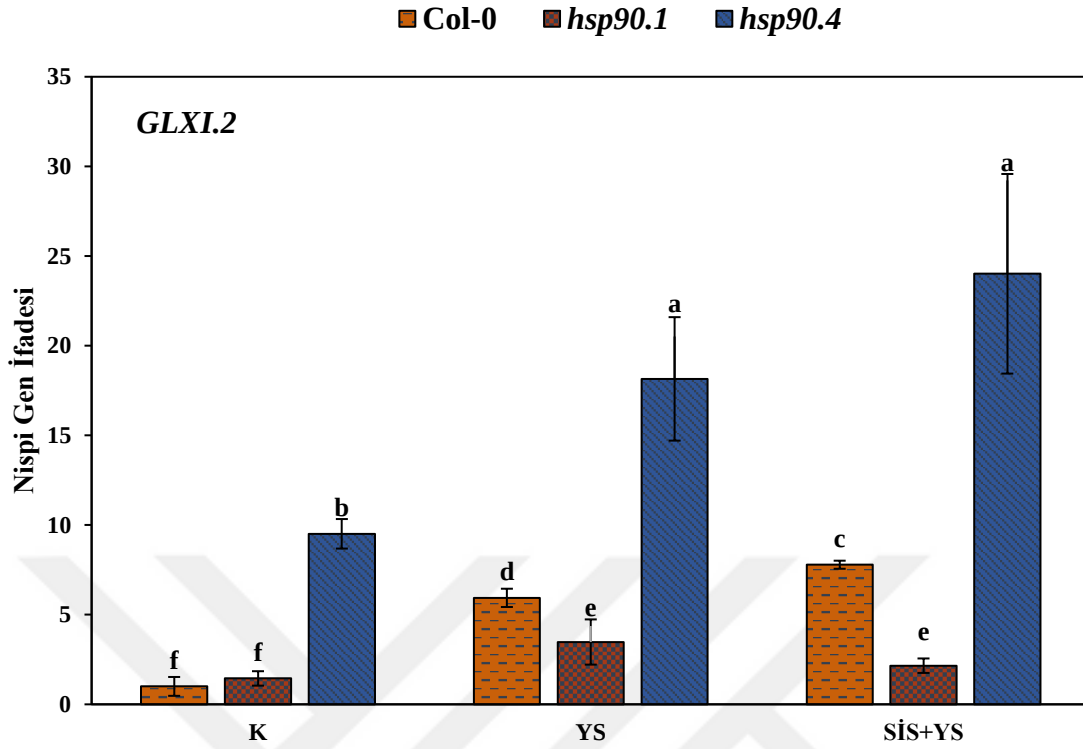
GLXI.1, *GLXI.2* ve *GLXI.3* genleri GLX aktivitesinde önemli bir rol oynar ve GLXI enzim aktivitesinde gözlenen değişikliklere katkıda bulunur.

Sistein ve yüksek sıcaklık uygulamaları, farklı deney grupları arasında bitkilerde *GLXI.1* gen ifadesinde anlamlı farklılıklara neden olmuştur (Şekil 24). Yüksek sıcaklık stresi, hem Col-0 hem de mutant bitkilerinin *GLXI.1* gen ifadelerinde kontrol grupları ile kıyaslandığında kayda değer bir artışa neden olmuştur. Col-0 bitkilerinde, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması *GLXI.1* gen ifadesini artırmış olup, sadece yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerle karşılaştırıldığında bu artış belirgin olarak gözlenmiştir. *hsp90.1* mutantında ise *GLXI.1* mRNA seviyeleri genel olarak düşük seyretmiş ve sistein uygulaması, sadece yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilere kıyasla anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Benzer şekilde, *hsp90.4* mutantında *GLXI.1* gen ifadesi düşük bir seviyede kalmış ve sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresine karşı anlamlı bir etkisi görülmemiştir.



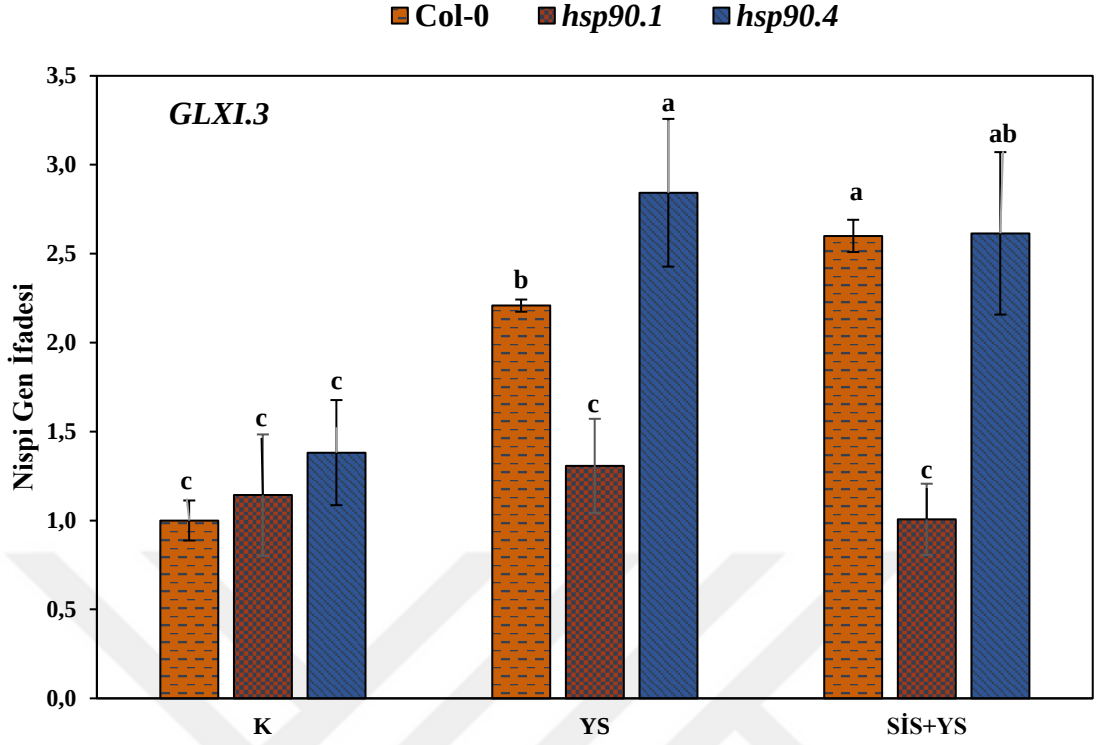
Şekil 24. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *GLXI.1* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *GLXI.2* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 25'te gösterilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan hem Col-0 hem de mutant bitkilerde, *GLXI.2* geninin ifade seviyelerinin kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Col-0 bitkilerinde yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan grupta *GLXI.2* gen ifadesi sistein uygulanmayan gruba göre artmıştır. Buna karşın, *hsp90.1* mutantında yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması *GLXI.2* mRNA seviyelerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır. Benzer şekilde, *hsp90.4* mutantında da *GLXI.2* gen ifadesinde de sistein uygulaması anlamlı bir etki göstermemiştir.



Şekil 25. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *GLXI.2* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *GLXI.3* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 26'da gösterilmiştir. Yüksek sıcaklık stresi, Col-0 ve *hsp90.4* mutant bitkilerinin *GLXI.3* gen ifadelerinde kontrol grupları ile kıyaslandığında anlamlı bir artışa neden olurken *hsp90.1* mutantında kayda değer bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması, Col-0 bitkilerinde *GLXI.3* gen ifadesini artırmıştır. Buna karşılık, *hsp90.1* mutantında sistein uygulaması *GLXI.3* mRNA seviyelerinde sistein uygulanmayan gruba göre anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. *hsp90.4* mutantında da yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması *GLXI.3* gen ifadesinde herhangi bir etki göstermemiştir.

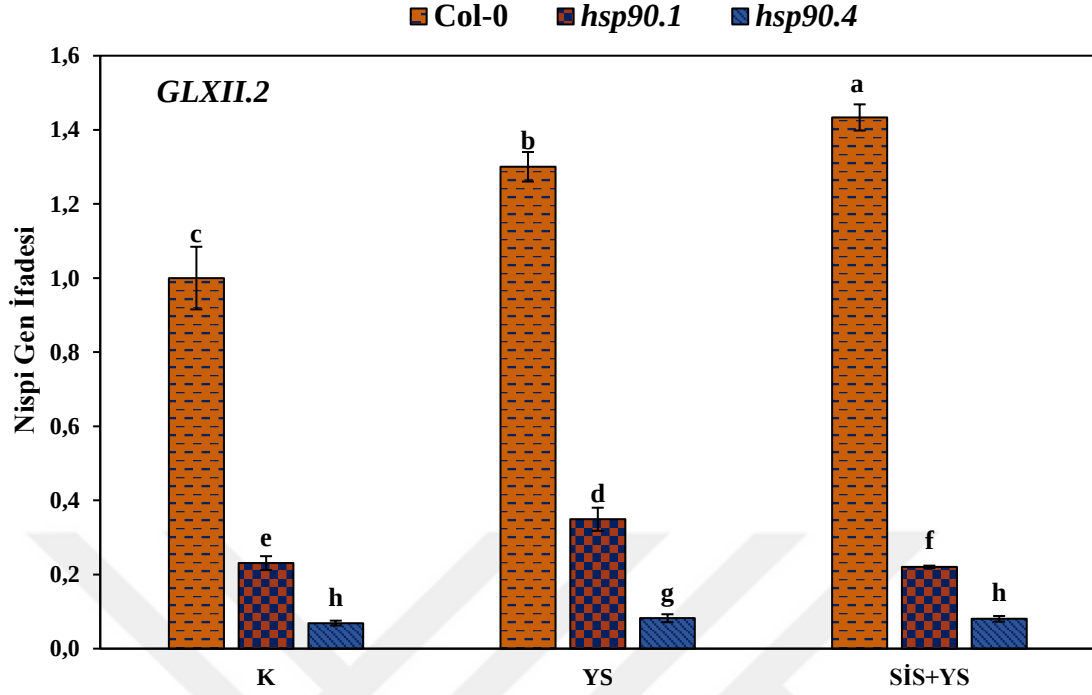


Şekil 26. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *GLXI.3* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05).

3.4.2. GLXII Enzimini Kodlayan Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler

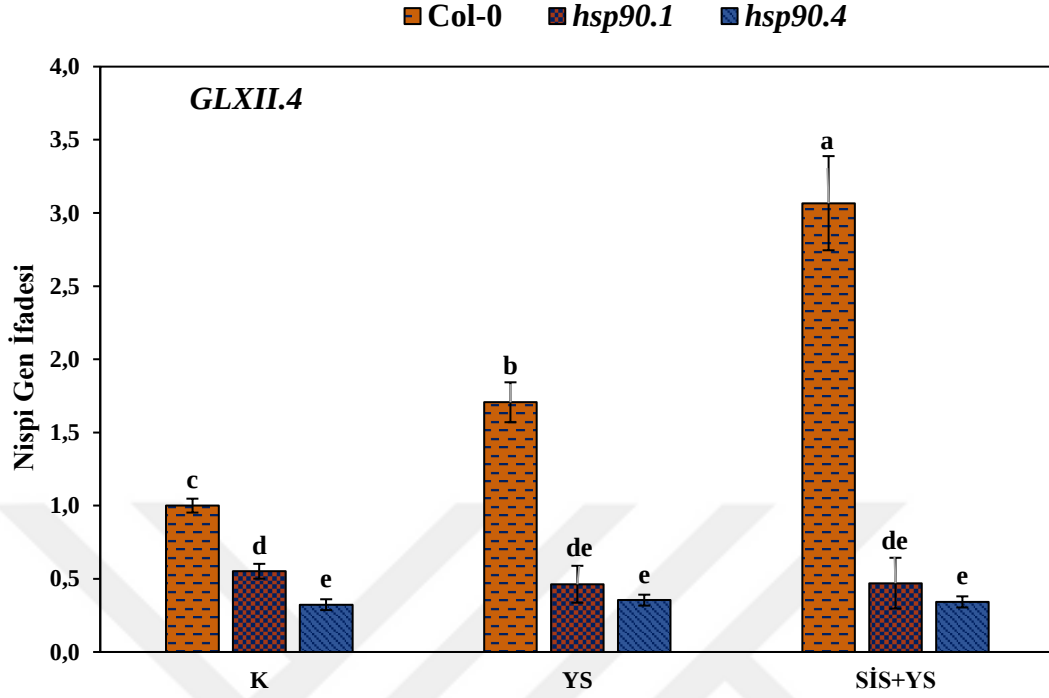
GLXII.2, *GLXII.4* ve *GLXII.5* genleri GLX aktivitesinde önemli bir rol oynar ve GLXII enzim aktivitesinde gözlenen değişikliklere katkıda bulunur.

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *GLXII.2* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 27’de gösterilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan hem Col-0 hem de mutant bitkilerde, *GLXII.2* geninin ifade seviyelerinin kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde sistein uygulaması, *GLXII.2* gen ifadesinde artışa yol açmıştır. Buna karşılık, *hsp90.1* mutantında *GLXII.2* mRNA seviyeleri belirgin ölçüde düşük kalmış ve sistein uygulaması, yalnızca yüksek sıcaklık stresi uygulanan gruba kıyasla anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Benzer şekilde, *hsp90.4* mutant bitkilerinde de sistein uygulamasının *GLXII.2* gen ifadesi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.



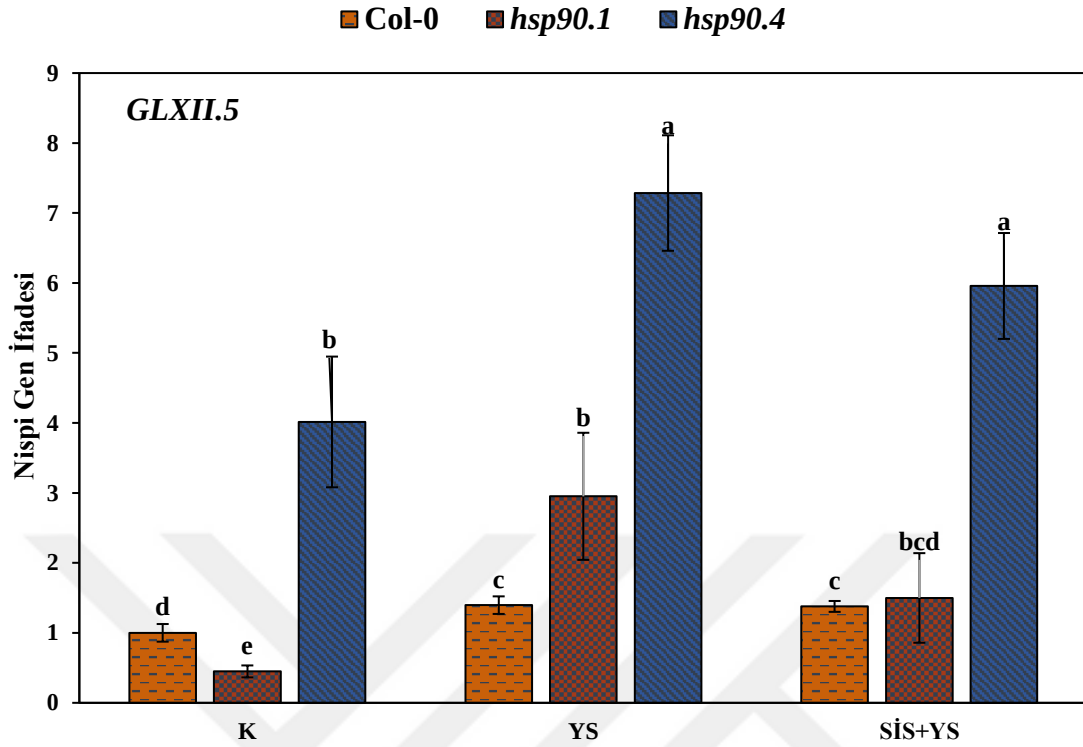
Şekil 27. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *GLXII.2* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve yüksek sıcaklık uygulamaları, farklı deney grupları arasında bitkilerde *GLXII.4* gen ifadelerinde anlamlı farklılıklara neden olmuştur (Şekil 28). Yüksek sıcaklık stresi, Col-0 bitkilerinin *GLXII.4* gen ifadelerinde kontrol grupları ile kıyaslandığında anlamlı bir artışa neden olurken *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant bitkilerinde kayda değer bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan Col-0 bitkilerinde, *GLXII.4* gen ifadesinde artış meydana gelmiştir. Buna karşılık, *hsp90.1* mutantında sistein uygulaması *GLXII.4* mRNA seviyelerinde sistein uygulanmayan sıcaklık stresi grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. *hsp90.4* mutantında da benzer şekilde yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması *GLXII.4* gen ifade seviyelerinde de anlamlı bir değişiklik meydana getirmemiştir.



Şekil 28. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *GLXII.4* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *GLXII.5* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 29’da gösterilmiştir. Yüksek sıcaklık stresi, hem Col-0 hem de mutant bitkilerinin *GLXII.5* gen ifadelerinde kontrol grupları ile kıyaslandığında anlamlı bir artışa neden olmuştur. *GLXII.5* gen ifadesi incelendiğinde, Col-0 bitkilerinde yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması *GLXII.5* gen ifadesinde bir artışa yol açmıştır. *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında ise *GLXII.5* mRNA seviyeleri, Col-0 bitkileri ile kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir.

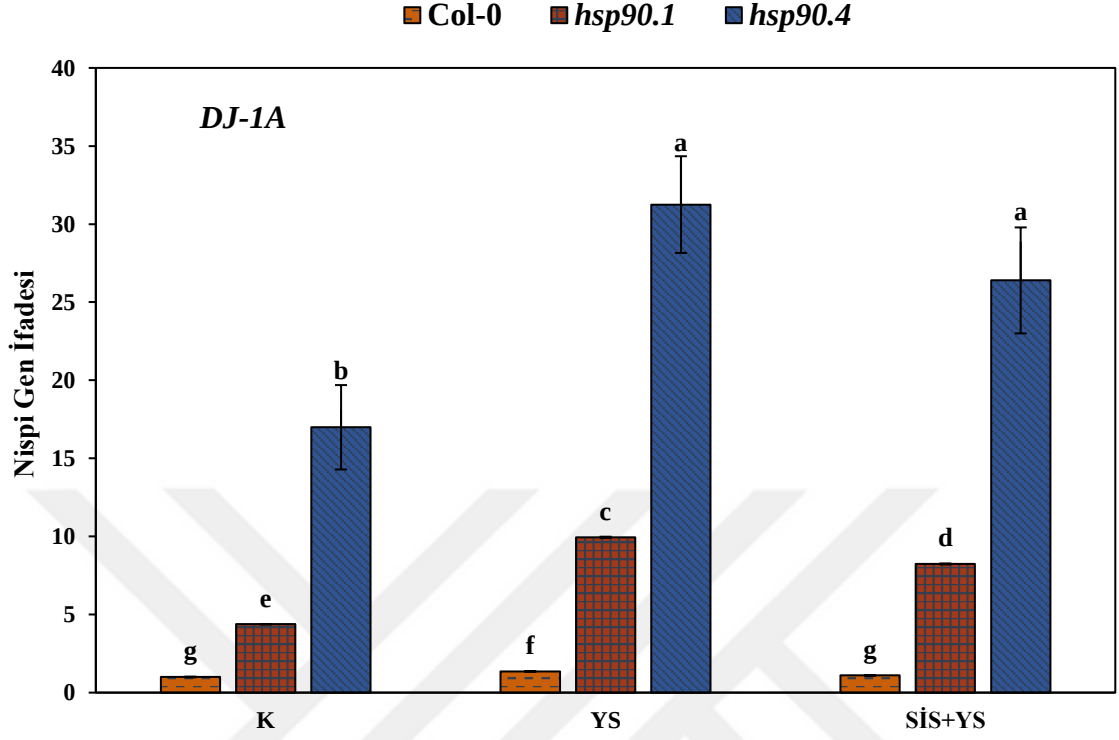


Şekil 29. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *GLXII.5* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

3.4.3. GLXIII Enzimini Kodlayan Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler

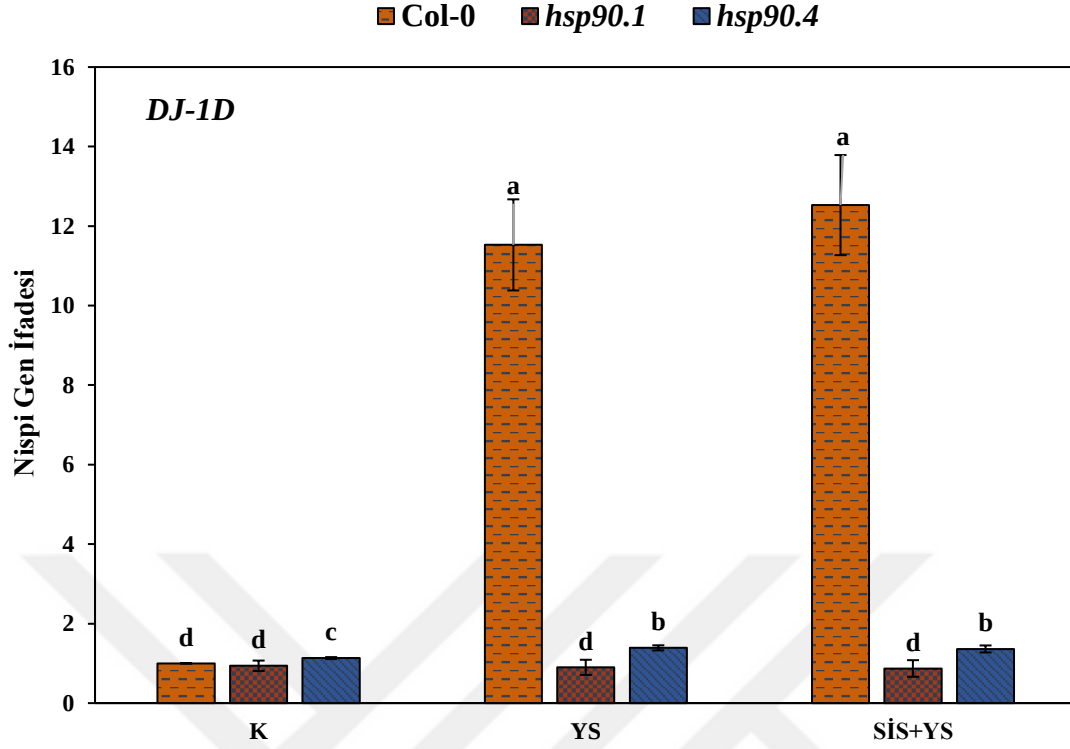
DJ-1A ve *DJ-1D* genleri GLX aktivitesinde önemli bir rol oynar ve GLXIII enzim aktivitesinde gözlenen değişikliklere katkıda bulunur.

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *DJ-1A* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 30’da gösterilmiştir. GLXIII glioksalaz ailesine ait olan *DJ-1A* geninin ifade seviyelerinin, yüksek sıcaklık stresi uygulanan hem Col-0 hem de mutant bitkilerde kontrol gruplarına kıyasla anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir. Col-0 bitkilerinde, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan grupta, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanmayan grupla karşılaştırıldığında *DJ-1A* gen ifadesinin sabit kalması, sisteinin bu gen üzerinde doğrudan bir etki oluşturmadığını göstermektedir. Benzer şekilde, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantları da *DJ-1A* gen ifade seviyeleri bakımından Col-0 ile paralel bir yanıt göstermiştir.



Şekil 30. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *DJ-1A* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

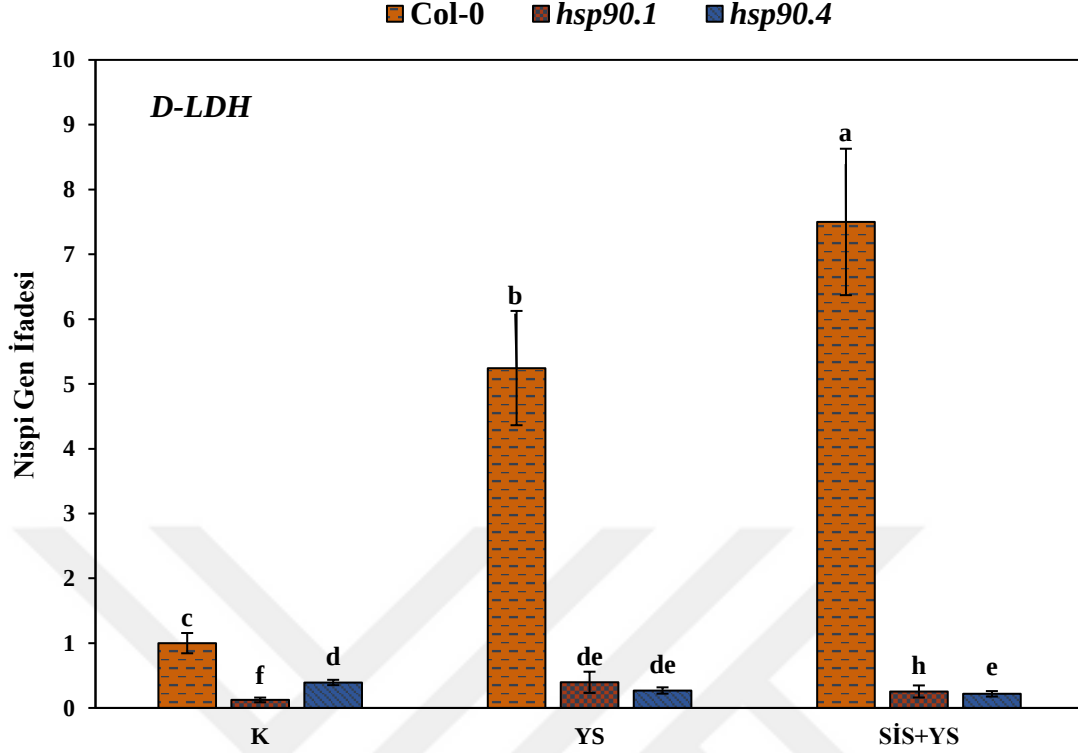
Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *DJ-1D* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 31’de gösterilmiştir. GLXIII glioksalaz ailesine ait olan *DJ-1D* geninin ifade seviyelerinin, yüksek sıcaklık stresi uygulanan Col-0 ve *hsp90.1* mutant bitkilerde kontrol gruplarına kıyasla anlamlı şekilde arttığı tespit edilirken, *hsp90.1* mutantında kayda değer bir değişiklik gözlemlenmemiştir. *DJ-1D* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresi sırasında Col-0 bitkilerinde sistein uygulamasına yanıt olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Bununla birlikte, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında da yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması yapıldığında *DJ-1D* gen ifade seviyelerinde, yalnızca yüksek sıcaklık uygulanan gruplara kıyasla kayda değer bir değişiklik meydana gelmediği gözlemlenmiştir.



Şekil 31. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *DJ-1D* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

3.4.4. *D-LDH* Gen İfadesi Üzerindeki Değişiklikler

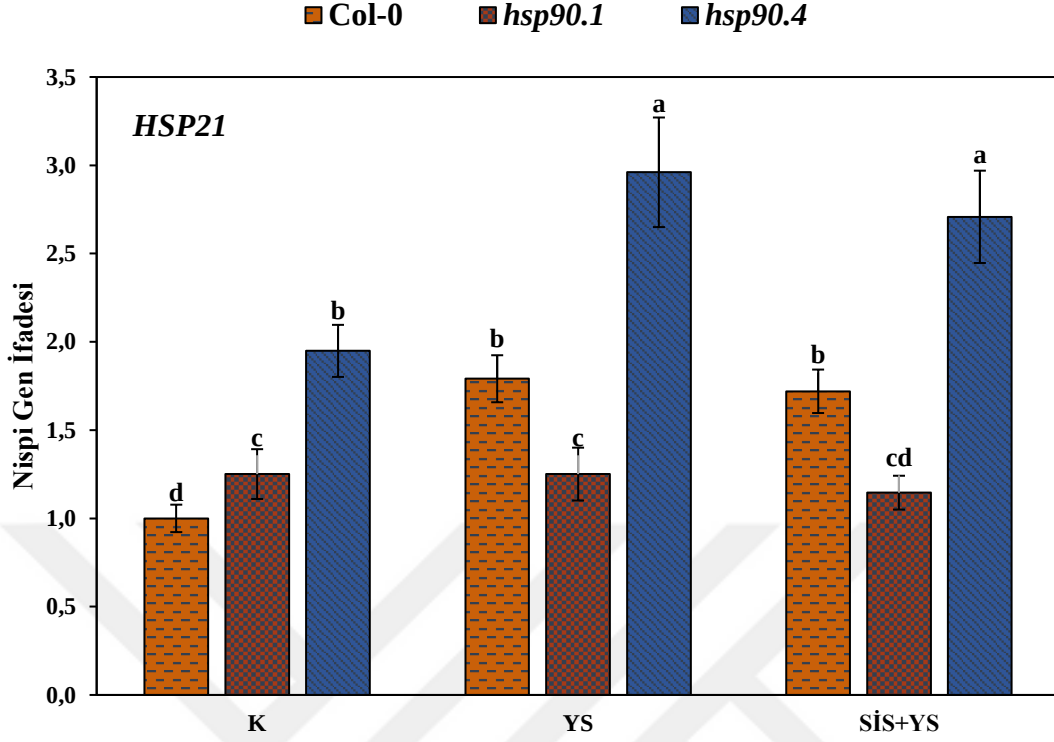
Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *D-LDH* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 32’de gösterilmiştir. *D-LDH* gen ifadesi, GLX sisteminin son ürünü olan D-laktatın pirüvata dönüşümünü katalizleyen bir enzim olarak, Col-0 bitkilerinde mutantlara kıyasla daha yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan Col-0 bitkilerinde sistein uygulamasını takiben, *D-LDH* transkript seviyesinde, sadece yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba kıyasla artış olduğu gözlenmiştir. Diğer yandan, HSP90.1 ve HSP90.4 proteinlerinin eksik olduğu mutantlarda *D-LDH* transkript seviyelerinin Col-0 bitkilerine kıyasla önemli derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Mutant gruplarda yüksek sıcaklık altında sistein uygulaması, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanmayan Col-0 bitkilerinde olduğu gibi transkript seviyelerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır.



Şekil 32. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant *bitkilerde D-LDH* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05).

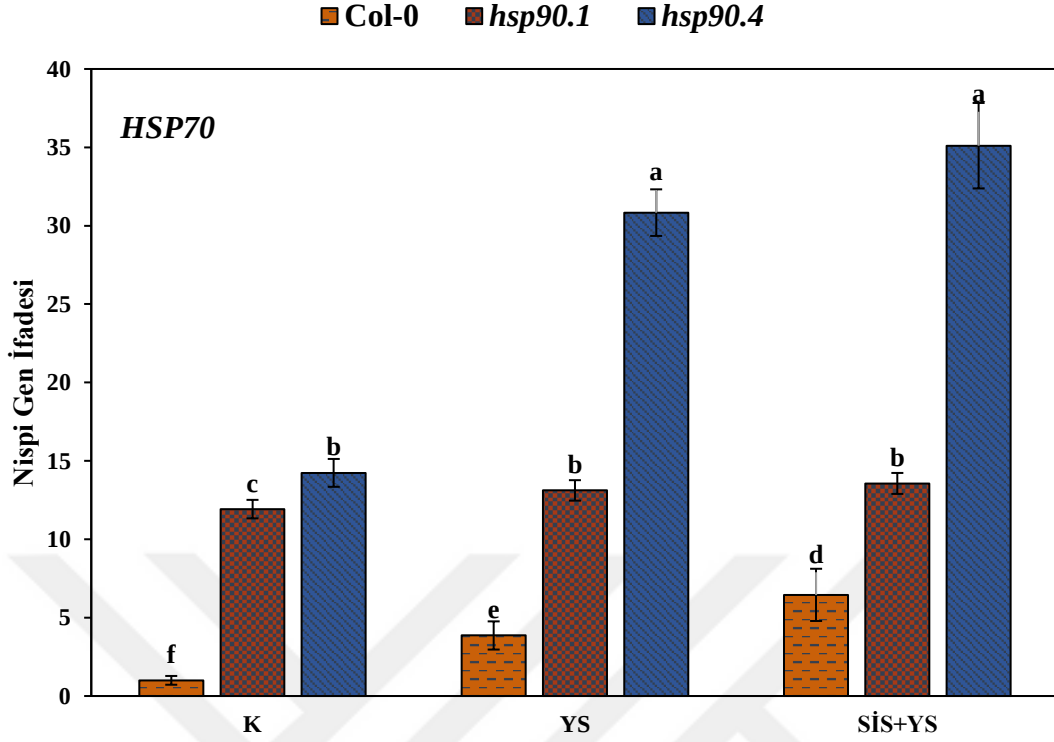
3.4.5. Bazı HSP Gen İfadeleri Üzerindeki Değişiklikler

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *HSP21* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 33'te gösterilmiştir. *HSP21* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresi maruz kalan Col-0 bitkilerinde ve *hsp90.4* mutant bitkilerinde artış gösterirken *hsp90.1* mutant bitkilerinde *HSP21* gen ifadesinde kayda değer bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması yapılan Col-0 bitkilerinde ise yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması yapılmayan bitkilerle kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. *HSP21* gen ifade düzeyleri, sıcaklık stresi ve sistein uygulaması kombinasyonundan bağımsız olarak benzer seviyelerde kalmıştır. *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant bitkilerde *HSP21* gen ifadesi, Col-0 bitkilerine göre daha düşük seviyelerde seyretmiş ve sistein uygulamasının bu mutant gruplarda *HSP21* gen ifade düzeylerine anlamlı bir etkisi olmamıştır.



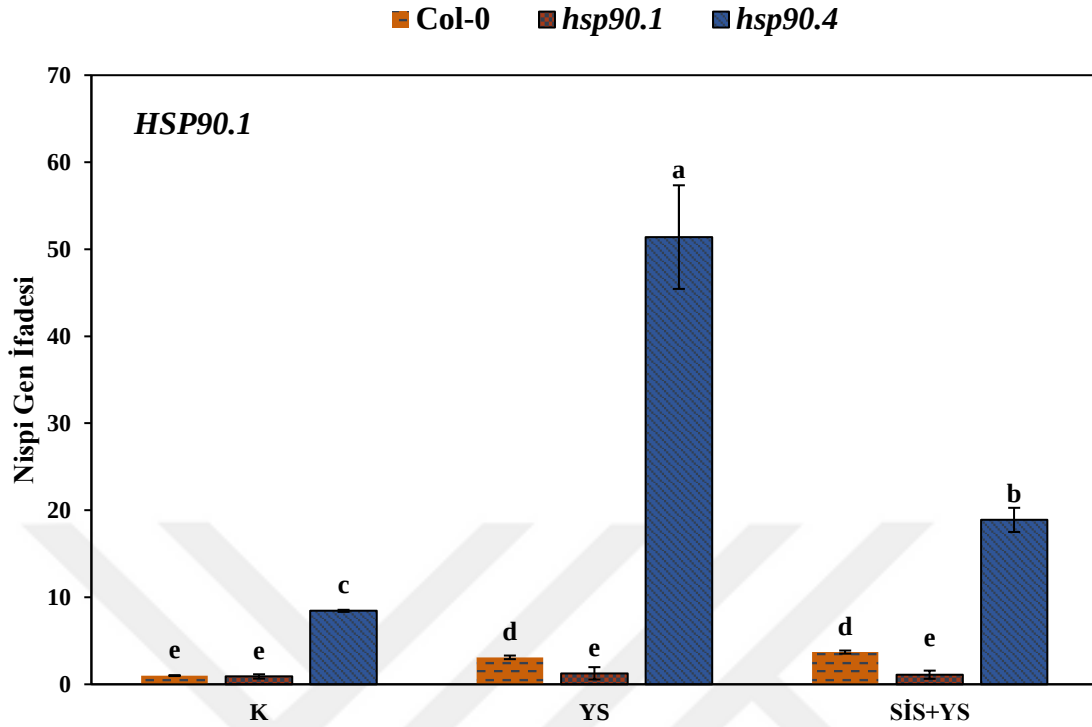
Şekil 33. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *HSP21* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *HSP70* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 34'te gösterilmiştir. *HSP70* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan Col-0 bitkilerinde ve mutant bitkilerde artış göstermiştir. *HSP70* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulanan Col-0 bitkilerinde yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilere kıyasla artış göstermiştir. *hsp90.1* mutantında, sistein ile birlikte yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılma, *HSP70* gen ifadesinde herhangi bir artışa neden olmamış ve bu durum Col-0 bitkileri ile karşılaştırıldığında farklı bir yanıt ortaya koymuştur. Diğer yandan, *hsp90.4* mutantında *HSP70* gen ifadesinin, sistein uygulaması ile birlikte artış gösterdiği gözlemlenmiştir.



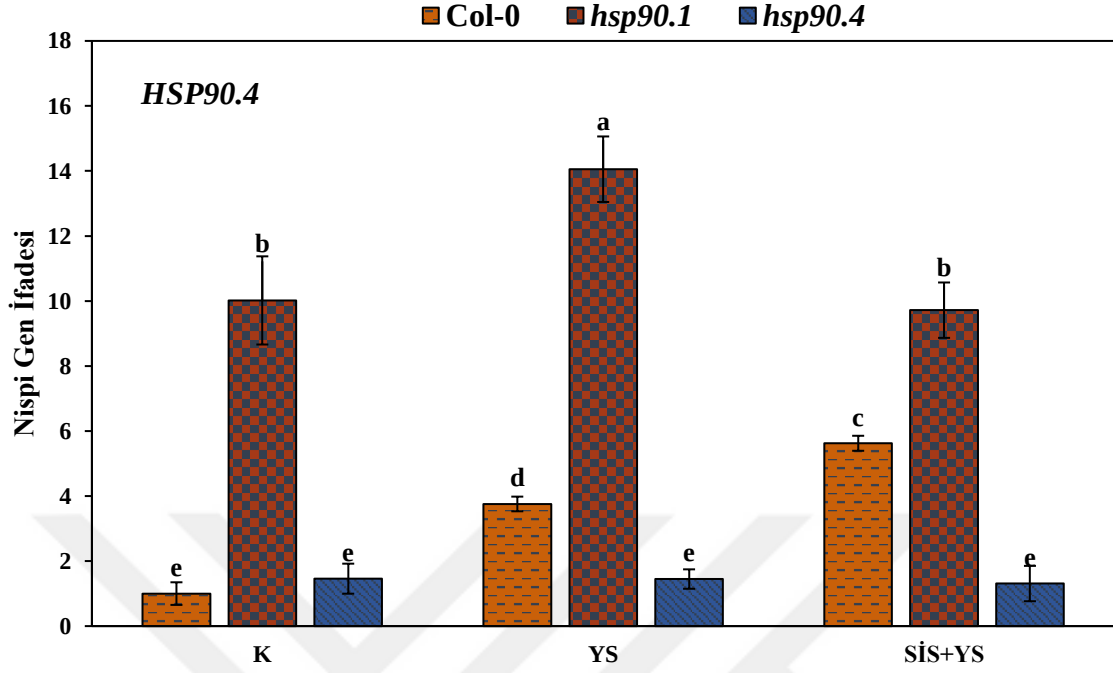
Şekil 34. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *HSP70* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *HSP90.1* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 35’te gösterilmiştir. *HSP90.1* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan Col-0 bitkilerinde ve *hsp90.4* mutant bitkilerinde artış gösterirken *hsp90.1* mutant bitkilerinde *HSP90.1* gen ifadesinde kayda değer bir değişiklik gözlemlenmemiştir. *HSP90.1* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulanan Col-0 bitkilerinde yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilere kıyasla artış göstermiştir. Kontrol grubundaki bitkilerde *HSP90.1* gen ifade seviyelerinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. Sadece yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan Col-0 bitkilerinde, gen ifade seviyelerinde önemli bir artış gözlenmiştir. Sistein uygulaması ile yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan Col-0 bitkilerinde, sistein *HSP90.1* gen ifade seviyelerinin yüksek sıcaklık stresine oranla daha da yükselmesine neden olmuştur. Ancak, *hsp90.1* mutantında sistein uygulaması, bu genin ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik oluşturmamış ve mutant bitkilerde *HSP90.1* gen ifadesinin genel olarak düşük seviyelerde kaldığı gözlenmiştir. *hsp90.4* mutantında ise yüksek sıcaklık stresi ve sistein uygulaması, *HSP90.1* gen ifadesinde anlamlı bir değişiklik meydana getirmemiştir.



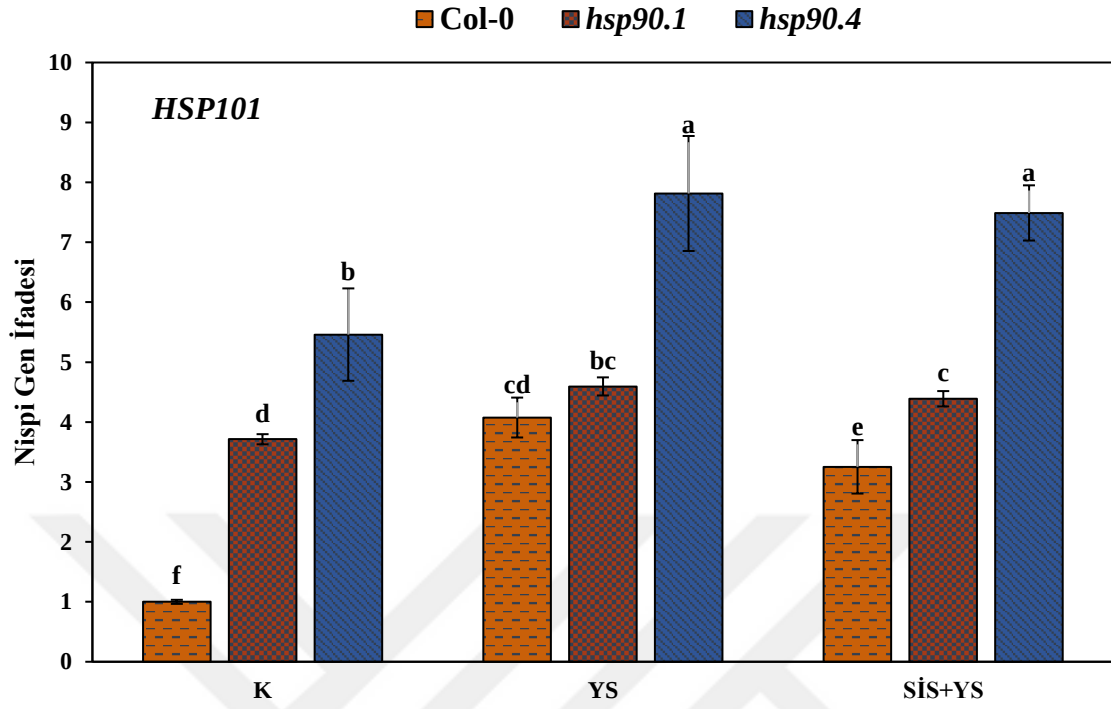
Şekil 35. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *HSP90.1* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *HSP90.4* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 36’da gösterilmiştir. *HSP90.4* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan Col-0 bitkilerinde ve *hsp90.1* mutant bitkilerinde artış gösterirken *hsp90.4* mutant bitkilerinde *HSP90.4* gen ifadesinde kayda değer bir değişiklik gözlemlenmemiştir. *HSP90.1* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulanan Col-0 bitkilerinde yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilere kıyasla artış göstermiştir. *HSP90.4* gen ifadesi, Col-0 bitkilerinde yüksek sıcaklık stresi ve sistein uygulamasıyla birlikte artış göstermiştir. Buna karşılık, *hsp90.1* mutantında sistein uygulaması *HSP90.4* ekspresyonunda bir değişiklik oluşturmamış, bu genin transkript seviyeleri sabit kalmıştır. Diğer yandan, *hsp90.4* mutantında *HSP90.4* ekspresyonu genel olarak düşük bir seviyede seyretmiş ve farklı uygulama grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 36. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *HSP90.4* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

Sistein ve sıcaklık uygulamalarının Col-0 ile mutant *hsp90.1* ve *hsp90.4* bitkilerinin *HSP101* gen ifadesi üzerine etkileri Şekil 37’de gösterilmiştir. *HSP101* gen ifadesi, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan Col-0 bitkilerinde ve mutant bitkilerde artış göstermiştir. *HSP101* gen ekspresyonu, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulanan bitkilerde yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerle kıyaslandığında anlamlı bir fark göstermemiştir. Farklı uygulama grupları arasında *HSP101*’in ekspresyon seviyelerinde artış gözlemlenmemiştir. Col-0 bitkileri ile *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantları arasında genel olarak *HSP101* ekspresyon düzeyleri açısından bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 37. Sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 ve mutant bitkilerde *HSP101* gen ifadesi üzerindeki etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$).

4. TARTIŞMA

Küresel ısınmanın yol açtığı iklim değişikliğinin hızla artmasıyla birlikte, yüksek sıcaklık stresinin bitki sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri son yıllarda giderek artan bir araştırma konusu haline gelmiştir (Sadiq vd., 2020; Tian vd., 2023). Yüksek sıcaklıklar bitkilerin fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçlerinde ciddi aksamalara yol açarak hücresel düzeyde oksidatif stres, membran yapılarında hasar ve protein denatürasyonu gibi sorunlara neden olmaktadır (Yu vd., 2022; Chen vd., 2023; Guo vd., 2023). Bulundukları ortama duyarlı organizmalar olan bitkilerin çevresel koşullara uyum sağlamaları yaşamlarını sürdürebilmeleri açısından kritik önem taşır (Suzuki vd., 2014; Arıkan vd., 2018). Bitkiler, antioksidan kapasitelerini yükselterek çevresel streslere karşı direnç gösterebilirler; ancak antioksidan kapasiteleri yetersiz kaldığında, dışarıdan antioksidan özellik taşıyan bazı bileşiklerin uygulanmasıyla direnç seviyeleri artırılabilir (Kadıoğlu vd., 2011; Zhang vd., 2015). Bu bağlamda, antioksidan bir molekül olarak sistein gibi kükürt içeren amino asitlerin bitki hücrelerindeki serbest radikalleri etkisiz hale getirdiği ve hücreleri oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir (Chandra ve Pandey, 2014; Alvi vd., 2023). Son yıllarda sisteinin çeşitli abiyotik stresler altında bitkilerdeki antioksidan mekanizmalar üzerindeki etkisine ve bitki stres toleransını artırmadaki potansiyel rolüne özellikle odaklanılmıştır (Hussein ve Alshammari, 2022; Mijiti vd., 2022; El-Bassiouny vd., 2024). Buna karşın, sisteinin bitkilerde yüksek sıcaklık stresine karşı bitki koruyucu etkileri ve bu süreçte glioksalaz sistemi ve HSP90 proteinleri gibi kritik proteinlerin etkileşimleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca glioksalaz sistemi ve HSP90 proteinleri arasındaki ilişki belirsiz kalmaktadır.

Bu tez çalışması, sisteinin *A. thaliana*'da GLX sistemini modüle ederek, özellikle de bitkinin stres tepki mekanizmalarının kritik bileşenleri olan HSP90 proteinleri ile etkileşimleri yoluyla bitkinin strese karşı direncini artırmada kilit bir oyuncu olduğu hipotezine dayanmaktadır. Bu hipotezi test etmek amacıyla, sisteinin çeşitli hayati biyokimyasal süreçler üzerindeki etkilerini kapsamlı bir şekilde araştırdık. Çalışma, sisteinin stres koşulları altında biriken ve hücre için toksik etkiler oluşturabilen MG gibi zararlı yan ürünlerin detoksifikasyonunda kritik bir öneme sahip GLX sistemi üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır. Ayrıca, özellikle yüksek sıcaklık stresi altında etkili olan HSP90 proteinlerinin bu süreçte GLX sistemi ile olan bağlantısını ayrıntılı olarak değerlendirdik.

Bu tartışma bölümü, araştırmanın temel bulgularını dört başlık altında ele alarak derinlemesine incelemeyi amaçlamaktadır. Her başlık, araştırmanın belirli bir yönünü vurgularken, elde edilen sonuçların literatürle ilişkisini kurmayı ve çalışmanın özgün katkılarını ortaya koymayı hedeflemektedir.

Sistein *A. thaliana*'da Yüksek Sıcaklık Toleransını Artırır

Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerinde olumsuz etkilere yol açarak, hayatta kalma oranlarını düşürmekte ve nispi su içeriğini azaltmaktadır. Bu parametreler, bitkilerin zorlu çevresel koşullara adaptasyon yeteneklerini değerlendirmede kritik göstergeler olup, bitkilerin sağlıklı gelişimlerini sürdürebilmeleri için su dengesini korumaları gereklidir (Hong vd., 2015b; Yan vd., 2022; Qian vd., 2023). Farklı stres koşulları altında bitkilerin hayatta kalma oranları ve su dengelerinin incelenmesi, streslerin bitki fizyolojisi ve genel sağlık durumu üzerindeki etkilerini anlamak için önemli bilgiler sunmaktadır.

Bu çalışmada, yüksek sıcaklık stresinin ardından uygulanan üç günlük iyileşme periyodunda hem kontrol grubu hem de sistein uygulanan bitkilerde hayatta kalma oranları ve NSİ değerleri değerlendirilmiştir. Normal koşullar altında, kontrol grubunda ve sistein uygulaması yapılan grupta %100 oranında hayatta kalma gözlenmiş, bu durum sistein uygulamasının normal koşullarda su tutma kapasitesini olumsuz etkilemediğini göstermiştir. Ancak, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde hayatta kalma oranı %50'ye düşmüştür. Ayrıca normal koşullar altında kontrol grubu ve sistein uygulanan bitki grubu benzer yüksek NSİ değerleri sergilemiştir. Bu durum sistein uygulamasının normal koşullarda su tutma kapasitesini olumsuz etkilemediğini göstermektedir. Bununla birlikte kontrol grubu ve sistein uygulanan gruptaki bitkiler ile karşılaştırıldığında yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruptaki Col-0 bitkilerinin NSİ seviyesinde %19 oranında bir azalma gözlenmiştir. Yüksek sıcaklık uygulaması sonucu hayatta kalma oranında ve su içeriğinde meydana gelen bu düşüşler, literatürlerdeki çalışmalarda belirtildiği bitkilerin hayatta kalma oranını ve nispi su içeriğini azaltarak, bitki sağlığı ve verimi üzerinde ciddi olumsuz etkiler yaratabileceğini göstermektedir. (Jumrani ve Bhatia, 2019; Xu vd., 2020; Yan vd., 2023; Chaudhari vd., 2024; Mei vd., 2024).

Sadak ve arkadaşları (2019), sistein uygulamasının tuzluluk stresine maruz kalan bitkilerin fizyolojik tepkilerini iyileştirerek hayatta kalma oranlarını ve NSİ seviyelerini artırdığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Al-Maliky ve arkadaşları (2019), kuraklık koşullarında yapraktan sistein uygulamasının bitkilerin NSİ seviyesini önemli ölçüde

artırdığını ortaya koymuştur. Hussein ve Alshammari (2022), ise sistein uygulamasının kuraklık koşullarında NSİ ve genel bitki sağlığı üzerindeki iyileştirici etkilerini ortaya koymuştur. Literatürdeki bu bulgularla uyumlu olarak, çalışmamızda sistein uygulaması yapılan stresli grupta hayatta kalma oranının %70'e çıkması, sisteinin bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı dayanıklılığını artırmada önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek sıcaklık stresinde sistein uygulanmış gruptaki NSİ değeri sistein uygulanmayan gruptan %15.26 daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altında su kaybını hafifletici bir etki yarattığını ve bitkilerin stres koşullarında su dengesini korumalarına yardımcı olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, sistein uygulaması yapılan bitkiler, sistein uygulanmayan sıcaklık stresi altındaki bitkilere kıyasla daha yüksek hayatta kalma oranları ve artan NSİ seviyeleri göstermiştir. Özellikle yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulaması yapılan grupta hayatta kalma oranının %70'e çıkması, sisteinin bitki sağlığını koruma ve dayanıklılığı artırma potansiyelini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, sistein uygulamasının bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı tolerans geliştirmesine yardımcı olan etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular, sisteinin bitki su dengesini koruyarak ve hayatta kalma oranını artırarak, stres koşulları altında bitki fizyolojisi üzerinde koruyucu bir etki sunduğu sonucunu desteklemektedir.

Toplam klorofil içeriği, bitkilerin fotosentetik mekanizmalarının sağlığını ve işlevsel durumunu yansıttığı için bitki stres fizyolojisinde kritik bir parametre olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, yüksek sıcaklık stresi koşullarında bitkilerde toplam klorofil içeriğinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %29,05 oranında bir azalma gözlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde klorofil içeriğinin azalması, literatürde de sıklıkla bildirilen bir bulgudur ve bu azalma, klorofil biyosentezinin engellenmesi ve klorofilin bozunma sürecinin hızlanması ile açıklanabilir. Yüksek sıcaklık, fotosentezin verimliliği için kritik olan klorofil moleküllerinde yapısal bozulmalara yol açabilir; bu da, bitkilerin fotosentetik kapasitelerini sınırlayarak genel fizyolojik performanslarını olumsuz etkiler (Allahverdiev vd., 2008; Balfagón vd., 2019; Hu vd., 2020). Bu bulgu, yüksek sıcaklık stresinin bitki fizyolojisi üzerinde ciddi sonuçlar doğurduğunu ve özellikle fotosentetik etkinliği %29,05 oranında azaltarak bitki gelişimini kısıtladığını göstermektedir. Çalışmamızda ayrıca sistein uygulan grubun toplam klorofil içeriğinde kontrol grubuna oranla %49,26 oranında anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, yüksek sıcaklık

stresine maruz kalan bitkilere sistein uygulandığında, toplam klorofil içeriği, sadece yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba göre %33,53 daha yüksek bulunmuştur. Bu durum sistein, klorofilin yapısal bütünlüğünü koruyarak ve fotosentetik verimliliği destekleyerek, bitkilerin yüksek sıcaklık stresi altında dahi fotosentetik işlevlerini sürdürebilmelerine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bu bulgu, sistein uygulamasının klorofil içeriğini koruyarak bitkilerin yüksek sıcaklık stresi koşullarında fotosentetik etkinliğini destekleyebileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda, kontrol grubuna kıyasla, yüksek sıcaklık koşulları altında toplam klorofil içeriğinde bir azalma gözlemlenmiştir. Bu azalma, yüksek sıcaklıkların klorofil biyosentezini bozduğu ve bozunma sürecini hızlandırdığına dair literatürdeki bulgularla tutarlıdır. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde klorofil kaybı, fotosentetik verimliliğin düşmesine neden olabilir. Ancak, yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan ve aynı zamanda sistein uygulanan bitkilerde toplam klorofil içeriğinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu artış, sisteinin yüksek sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmada koruyucu bir rol üstlendiğini göstermektedir. Literatürde, elde edilen bulgularımıza benzer şekilde, sistein uygulamasının çeşitli abiyotik streslere maruz kalan bitkilerde klorofil sentezi üzerindeki olumsuz etkileri azaltabileceği bilinmektedir (Ahmad vd., 2015; Subburaj vd., 2017; Khan vd., 2018; Perveen vd., 2018; Sadak vd., 2019; Lü vd., 2021; Hussein ve Alshammari, 2022; Yuan vd., 2022).

Yüksek sıcaklık stresine bağlı olarak bitki hücrelerinde lipid peroksidasyonunun artması, TBARS seviyelerindeki yükselişle kendini göstermekte olup, bu artış bitki stres fizyolojisinde yaygın bir belirteç olarak kabul edilmektedir (Rysiak vd., 2021; Galleguillos vd., 2023; Kumar vd., 2023; Yu vd., 2023; Fang vd., 2024; Mishra vd., 2024; Mondal vd., 2024). Literatürde, sisteinin antioksidan özellikleri sayesinde farklı biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonunu baskılayarak TBARS seviyelerini düşürmede etkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Rasool, 2024). Örneğin, Wang ve arkadaşlarının (2016) araştırması, kadmiyum stresine maruz kalan çeltik bitkilerinde sistein uygulamasının TBARS seviyelerini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur. Terzi ve arkadaşları (2021), krom stresi altında sistein uygulanan mısır fidelerinde lipid peroksidasyon seviyesinin önemli derecede azaldığını belirtmişlerdir. Cao ve arkadaşları (2024) çalışmalarında, arsenik stresine maruz kalan *Calendula officinalis* bitkisine sistein uygulamasının, bitkinin serbest toksik radikal ve lipid peroksidasyon seviyelerinde önemli derecede düşüş meydana getirdiğini ifade etmişlerdir. Gohari ve arkadaşları (2021), soğukta saklanan yassı şeftali

meyvelerine sistein uygulaması yapıldığında, uygulama yapılan meyvelerde diğerlerine kıyasla daha düşük oranda TBARS birikimi meydana geldiğini ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada da benzer şekilde, yüksek sıcaklık stresinin bitkilerde TBARS seviyelerinde %42,5 oranında bir artışa yol açtığı gözlemlenmiştir. Bu artış, yüksek sıcaklık stresinin bitkilerde oksidatif hasarı artırdığını ve lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre zarlarının yapısal bütünlüğünü olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir. Ancak, sistein uygulaması yapılan bitkilerde bu artışın kısmen azaldığı tespit edilmiştir. Bu bulgulara göre, sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde lipid peroksidasyonunu baskılayarak TBARS seviyelerini düşürdüğü ve hücre zar yapısını oksidatif hasara karşı koruma potansiyeline sahip olduğu söylenebilir. Yüksek sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulaması yapılan bitkilerde ise TBARS seviyelerinde yalnızca yüksek sıcaklık stresine maruz kalan gruba göre %7,6 oranında bir azalma kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, sistein yüksek sıcaklık stresi altında lipid peroksidasyonunu azalttığı ve bitki hücrelerini oksidatif hasara karşı koruma potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir. Sisteinin bu koruyucu etkisi, stres koşulları altında bitki sağlığını destekleyerek dayanıklılığı artırma kapasitesine işaret etmektedir. Sonuç olarak, sistein uygulamasının, oksidatif stres koşullarında bitkiler için koruyucu bir rol üstlenebileceği ve stres altında hücre zarı hasarını azaltarak, zarların yapısal bütünlüğünü koruyabileceği sonucuna varılmaktadır. Bu durum, sisteinin, stres koşullarında bitki dayanıklılığını artıran bir dışsal destek olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde H_2O_2 içeriği, oksidatif stresin önemli bir göstergesi olarak artış göstermektedir. Literatürde, yüksek sıcaklık stresi altında artan oksidatif stresin bitki dokularında yüksek H_2O_2 seviyelerine yol açtığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Wahid vd., 2007; Bita ve Gerats, 2013; Gururani vd., 2015; Subburaj vd., 2017; Neto vd., 2020; Gautam vd., 2022). Bu artış, bitki hücrelerinde oksidatif hasarın arttığını ve hücre metabolizmasının olumsuz etkilendiğini işaret etmektedir. Dıştan uygulanan sisteinin ise antioksidan sistemleri modüle ederek, oksidatif stres koşullarındaki bitkilerde ROT'ları azaltabileceği gösterilmiştir (Hussein ve Alshammari, 2022; Kim vd., 2022; Xue vd., 2024).

Bu çalışmada, yüksek sıcaklık stresi altındaki bitkilerde sistein uygulamasının H_2O_2 seviyeleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen verilerine göre, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde H_2O_2 miktarı kontrol grubuna kıyasla %77,76 oranında artış göstermiştir. Bu durum, yüksek sıcaklık stresinin bitkilerde oksidatif stres yanıtlarını

tetikleyerek H_2O_2 birikimine neden olduğunu ortaya koymaktadır. Daha da dikkat çekici olarak, yüksek sıcaklık stresi koşullarında sistein uygulaması yapılan bitkilerde, sistein uygulanmayan gruba göre H_2O_2 seviyelerinde %30,82 oranında bir azalma gözlemlenmiştir. Bu bulgulara göre, sisteinin sahip olduğu antioksidan özellikler sayesinde oksidatif stres altında H_2O_2 seviyelerini düşürerek bitkileri yüksek sıcaklık stresine karşı koruduğu söylenebilir. Bu sonuçlar, Elkelish ve arkadaşlarının (2021) kuraklık stresi altındaki buğday fidelerine sistein uygulamasının, bitkilerde H_2O_2 seviyelerini azalttığını belirttiği çalışmasıyla uyumludur. Benzer şekilde, Nasibi ve arkadaşlarının (2016) çalışması, tuz stresinin buğday fidelerinin kök ve gövdelerinde H_2O_2 içeriğini artırdığını, ancak sistein uygulamasının ozmotik ve tuz stresine maruz kalan bitkilerde H_2O_2 seviyelerini düşürdüğünü göstermektedir. Ayrıca, Wang ve arkadaşlarının (2023) erik bitkisinde yaptığı çalışmada, sistein uygulamasının meyvelerdeki H_2O_2 seviyelerini düzenleyerek hasat sonrası hasarı azalttığı ifade edilmektedir. Sonuçlar, yüksek sıcaklık stresinin bitkilerde H_2O_2 birikimini artırdığını; ancak sisteinin, bu birikimi azaltarak yüksek sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini hafifletmede ve bitki sağlığını korumada önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

Özetle, elde edilen bulgular, sistein uygulamasının, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde hayatta kalma oranlarını, bağıl su içeriğini ve klorofil seviyelerini artırarak, sisteinin bitki fizyolojisinde önemli bir koruyucu rol oynadığını göstermektedir. Sistein uygulanan bitkilerde, oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edilen TBARS ve H_2O_2 seviyelerinde meydana gelen azalma, sisteinin oksidatif strese karşı savunma mekanizmalarını etkinleştirerek oksidatif hasarı hafiflettiğini göstermektedir. Yüksek sıcaklık stresi, genellikle bitkilerin hayatta kalma oranlarında azalmaya, su kaybının artmasına ve klorofil seviyelerinde düşüşe neden olmaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, sistein uygulamasının bu olumsuz etkileri azaltarak, bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı direncini artırmada önemli bir potansiyele sahip olduğu söylenebilir (Hong vd., 2015b; Yan vd., 2022; Qian vd., 2023).

Sistein, HSP90.1/90.4 Varlığında GLX Sistemi Enzim ve Gen Aktivitelerini Artırarak GLX Sistemini Düzenler

MG, bitkilerde çeşitli abiyotik stres koşullarında biriken ve hücrede toksik etkilere neden olan bir bileşiktir. Normal koşullarda düşük seviyelerde bulunan MG, özellikle yüksek sıcaklık, tuz, kuraklık ve ağır metal stresleri gibi abiyotik stres durumlarında hücrede birikim gösterir. Bu birikim, hücresel zarların bütünlüğünü bozarak oksidatif stres seviyelerini

artırabilir (Yadav vd., 2005; Mostofa vd., 2015; Hoque vd., 2017; Jana vd., 2020; Ghosh vd., 2022). GLX sistemi ise MG'yi zararsız bileşiklere dönüştürerek detoksifikasyonda kritik bir rol oynamaktadır (Gambhir vd., 2022; Guo vd., 2023). Bu çalışmada, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde GLX sistemi, sistein uygulaması ve Hsp90 proteinleri arasındaki etkileşimleri incelemek amacıyla, hem Col-0 hem de *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant *A. thaliana* bitkilerinde MG ve GSH içerikleri, *D-laktat dehidrogenaz (D-LDH)* gen ekspresyon seviyesi ve GLX sisteminin iki temel enzimi olan GLXI ile GLXII enzim aktiviteleri ölçülerek sisteinin MG detoksifikasyonu ve sıcaklık toleransını düzenlemedeki potansiyel etkileri değerlendirilmiştir.

Bu çalışma, yüksek sıcaklık stresinin Col-0 ve *hsp90.1* ile *hsp90.4* mutant bitkilerde MG içeriğini artırdığını göstermiştir. Sistein uygulaması, yüksek sıcaklık stresi altındaki Col-0 bitkilerde MG seviyesini %11,84 oranında azaltırken, mutant bitkilerde benzer bir etki gözlenmemiştir. *hsp90.1* mutantında, yüksek sıcaklık ve sistein uygulanan grupta MG miktarında yaklaşık %7,6 oranında bir artış gözlenirken, *hsp90.4* mutantında bu gruplar arasında küçük miktarda bir düşüş meydana gelmiştir. Bu durum, HSP90.1 ve HSP90.4 proteinlerinin, sisteinin MG seviyesini düşürücü etkisini modüle ettiğini ve GLX sisteminin etkinliği için bu proteinlerin varlığının kritik olduğunu düşündürmektedir. Yüksek sıcaklık stresi altında tüm bitkilerde kontrol grubuna kıyasla MG seviyelerinin arttığı göz önüne alındığında, sisteinin MG detoksifikasyonundaki etkisinin HSP90 proteininin izoformlarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği ve HSP90 proteinlerinin GLX sistemi ile işlevsel bir etkileşim içinde olabileceği sonucuna varılabilir. Bu bulgular, HSP90 proteini ve GLX sisteminin sıcaklık stresine karşı bitki toleransını sağlamak amacıyla birlikte çalıştığını ve sistein gibi antioksidan bileşiklerin etkinliğini artırmak için HSP90 proteinlerinin varlığının gerekli olabileceğini göstermektedir.

Sistein uygulamasının GLX sistemi üzerindeki bu etkileri, sisteinin GSH seviyelerini artırma yeteneği ile doğrudan ilişkilidir. GSH, MG detoksifikasyonunda kofaktör olarak görev yapar ve sistein, GSH'nin yapı taşı olması nedeniyle, GSH seviyelerinde artışa neden olarak MG detoksifikasyonunu desteklemektedir (Soengas vd., 2018; Xue vd., 2024).

Çalışmamızda, yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak tüm bitki gruplarında kontrol grubuna kıyasla GSH içeriğinde artış gözlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 fidelerinde, sistein uygulaması GSH seviyelerinde %36,92 oranında bir artışa yol açmış, bu da GSH birikimini daha da artırmıştır. Bu sonuç, Col-0 bitkilerinde sistein uygulamasının GLX sistemi aracılığıyla MG detoksifikasyonunu daha etkin hale getirdiğini göstermektedir.

Ancak, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant gruplarında sistein uygulamasının GSH seviyeleri üzerinde anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir. Ayrıca, hem Col-0 hem de mutant bitkilerde Yüksek sıcaklık stresinde sistein uygulanan gruplar ile sistein uygulanmayan gruplar arasında GSH seviyeleri bakımından önemli bir fark bulunmamaktadır. Bu sonuç, yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak GSH seviyelerinin artmasının temel olarak strese karşı bir yanıt olduğunu, ancak sistein uygulamasının bu etkiyi HSP90 proteini içeren bitkilerde daha belirgin hale getirdiğini göstermektedir. Özellikle Col-0 bitkilerinde sistein uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altındaki GSH birikimini desteklemesi, HSP90 proteininin varlığının sistein ve GLX sistemi arasındaki etkileşimi güçlendirdiğini düşündürmektedir.

Bu bulgular, sisteinin GSH aracılığıyla yüksek sıcaklık stresi altında GLX sistemini destekleyerek MG detoksifikasyonuna katkı sağladığını ve bu süreçte HSP90 proteininin varlığının önemli olduğunu ortaya koymaktadır. HSP90 proteini, sistein uygulamasının GLX sistemi üzerindeki etkinliğini modüle ederek bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı direnç kazanmasına katkıda bulunabilir. Bu çalışma, sistein ve HSP90 proteininin yüksek sıcaklık stresine karşı bitki toleransını artırmada işlevsel bir etkileşime sahip olabileceğini ve HSP90 proteininin izoformlarının GLX sisteminin verimliliğini etkileyebileceğini göstermektedir.

GLX sistemi, abiyotik stres koşulları altında biriken MG gibi toksik yan ürünlerin detoksifikasyonunda kritik rol oynar (Hasanuzzaman ve Fujita, 2011; Li vd. 2020; Gambhir vd. 2022). GLXI ve GLXII enzimleri, MG'yi zararsız bileşiklere dönüştürerek hücrel hasarın önlenmesine yardımcı olur ve bu süreçte GSH gibi antioksidan moleküller kofaktör olarak işlev görür (Mostofa vd., 2015). Yüksek sıcaklıklar bitkilerde oksidatif stresi artırarak MG üretiminin artmasına neden olabilir ve bu da potansiyel hücrel hasarı azaltmak için glioksalaz sisteminin aktivasyonunu gerektirir (Hossain ve Fujita, 2010; Kumar vd., 2022; Alhammad vd., 2023). Yüksek sıcaklık stresi altında, GLXI ve GLXII'nin faaliyetleri genellikle bitkinin adaptif tepkisinin bir parçası olarak artış gösterir. Bu artış, hücrel homeostazın korunması ve protein glikasyonuna ve ardından hücrel işlev bozukluğuna yol açabilecek MG birikiminin önlenmesi için gereklidir (Hasan vd., 2020; Hoque vd., 2017). Örneğin, çalışmalar glioksalaz genlerinin ifadesinin ısı stresine yanıt olarak önemli ölçüde arttığını ve MG kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu bir mekanizmaya işaret ettiğini göstermiştir (Park vd., 2021; Enríquez-González vd., 2022).

Literatüre benzer şekilde, yüksek sıcaklık stresi altındaki Col-0 fidelerinde GLXI enziminin aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla %41,02 oranında artış göstermiştir. Yalnızca

sistein uygulanan grupta ise GLXI enzim aktivitesi kontrol grubuna kıyasla %13,17 oranında artış göstermiştir. Bu artış, sisteinin GLXI aktivitesini destekleyerek MG detoksifikasyonunda rol oynayabileceğini göstermektedir. Buna karşılık, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant bitkilerinde yalnızca sistein uygulaması yapılan gruplarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu durum, HSP90 proteinlerinin varlığının, sisteinin GLXI aktivitesi üzerindeki etkisini artırmada önemli bir rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması yapılan Col-0 bitkilerinde ise, sistein uygulaması yapılmayan gruba göre GLXI aktivitesinde %8,64 oranında bir artış gözlenmiştir. Bu bulgu, yüksek sıcaklık stresine karşı sistein uygulamasının GLXI aktivitesini desteklediğini ve bitkilerin yüksek sıcaklık stresi ile başa çıkma kapasitesini artırdığını göstermektedir. Ancak, mutantlarda sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulamasının enzim aktivitesinde anlamlı bir değişiklik yaratmaması, HSP90 protein izoformlarının GLXI aktivitesi üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir.

Yüksek sıcaklık stresi altında GLXII enzim aktivitesinde tüm bitki gruplarında artış gözlenmiştir. Col-0 bitkilerinde, sıcaklık stresine maruz kalan grupta GLXII aktivitesi kontrol grubuna kıyasla %20,32 oranında artış göstermiştir. Bu artış, Col-0 bitkilerinin sıcaklık stresi altında GLX sistemi aracılığıyla oksidatif stresle başa çıkma kapasitesini artırdığını düşündürmektedir. Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması yapılan Col-0 bitkilerinde ise, sistein uygulanmayan gruba göre GLXII enzim aktivitesinde %5,99 oranında bir artış daha kaydedilmiştir. Mutant bitkiler incelendiğinde, GLXII aktivitesindeki artış oranının Col-0 bitkilerine göre daha düşük olduğu görülmüştür. *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant bitkilerinde sıcaklık stresine ek olarak sistein uygulaması, GLXII aktivitesinde yalnızca sıcaklık stresine maruz kalan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik sağlamamış ve enzim aktivitesi düzeyinde çok küçük bir azalma meydana gelmiştir. Bu bulgu, HSP90 proteinlerinin GLXII aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini ve sisteinin GLX sistemi üzerindeki etkisini HSP90 proteininin varlığına bağlı olarak gösterebileceğini düşündürmektedir.

Deneyisel bulgularımız, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulamasının *A. thaliana*'da GLX sistemini önemli ölçüde etkilediğini ve bu etkilerin HSP90.1 ve HSP90.4 proteinleri ile yakından bağlantılı olduğunu göstermektedir. Yüksek sıcaklık stresi koşullarında MG, GSH seviyelerinde ve GLXI ile GLXII enzim aktivitelerinde artış gözlenmiş olup, bu durum önceki çalışmalarla tutarlılık göstermektedir (Li vd., 2020;

Gambhir vd., 2022). Col-0 bitkilerinde sistein uygulaması, MG seviyelerini düşürerek GLXI ve GLXII aktivitelerini artırmış ve bu yolla MG detoksifikasyonunu teşvik etmiştir. Ancak, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında sistein uygulaması, MG seviyelerinde veya GLX enzim aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik yaratmamış, bu da HSP90 proteinlerinin sisteinin GLX sistemi üzerindeki etkisini düzenlemede kritik olduğunu düşündürmektedir.

GSH'ye Bağlı GLX Sisteminin Bozulması Sisteinin Yüksek Sıcaklık Stresi Yanıtını Etkiler

GLXI inhibitörü olan BBGD (S-p-bromobenzyllutathione cyclopentyl diester), glioksalaz I enziminin spesifik bir inhibitörüdür ve yapısal olarak glutatyon türevi bir bileşiktir. BBGD, glioksalaz I enziminin aktif sitesine bağlanarak onun aktivitesini bloke eder (Rabbani vd., 2016). BBGD özellikle kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve kronik inflamasyon gibi insan sağlığına yönelik araştırmalarda kullanılmıştır (Thornalley vd., 2010; Abbas, 2020; Mohammad, 2020; Alhujaily, 2024). Bitkilerde ise yalnızca Borysiuk ve arkadaşlarının, *A. thaliana*'nın amonyum beslenmesine duyarlılığını etkilemedeki rolleri üzerine yaptıkları çalışma için kullanılmıştır. Bu çalışma, bu tür koşullara maruz kalan bitkilerde GLXI aktivitesinin önemli rolünü vurgulamıştır (Borysiuk vd. 2022). Bu tez kapsamında, BBGD'nin bitkiler üzerindeki etkilerini inceleyen detaylı ve ilk deneysel çalışma sunulmuştur. Sunulan bulgular, bu alanlarda literatüre önemli ve yenilikçi bir katkı sağlamaktadır. Bu amaçla, GSH'ye bağlı GLX sisteminin, HSP90.1 ve HSP90.4 proteinleri ile birlikte, sistein aracılı yüksek sıcaklık toleransında önemli bir rol oynayıp oynamadığını daha ayrıntılı olarak incelemek amacıyla, Col-0 ve *hsp90.4* *A. thaliana* fidelerinin yüksek sıcaklık stresi koşullarında GLXI inhibitörüne karşı hem sistein uygulaması yapılan hem de yapılmayan durumlarda nasıl tepki verdikleri araştırılmıştır.

Elde edilen görsellere göre yapılan analizler, GLXI inhibitörünün bulunmadığı ortamda büyüyen Col-0 bitkilerinin sağlıklı ve canlı bir yapıya sahip olduğunu, ancak BBGD içeren ortamda büyüyen bitkilerde büyüme ve gelişim açısından belirgin bir gerileme olduğunu göstermiştir. BBGD içermeyen ortamda sıcaklık stresine maruz bırakılan Col-0 bitkilerinde sistein uygulaması büyüme ve gelişimi olumlu yönde etkilerken, GLXI inhibitörünün varlığında bu koruyucu etkinin azaldığı gözlemlenmiştir. BBGD içeren ortamda yalnızca sistein uygulanan Col-0 bitkilerinin kontrol grubuna benzer bir büyüme gösterdiği, sıcaklık stresine maruz kalan grupta ise bitkilerin yarıya yakınının canlılığını kaybettiği tespit edilmiştir. GLXI inhibitörü uygulanan *hsp90.4* mutant bitkilerde, Col-0 bitkilerine kıyasla daha belirgin fenotipik bozukluklar, kloroz ve solgunluk gibi stres

belirtileri gözlenmiştir. Bu durum, sisteinin sıcaklık stresine karşı koruyucu etkisinin GLX sisteminin sağlıklı çalışmasına ve HSP90.4 proteininin varlığına bağlı olduğunu göstermektedir. İnhibitör uygulamasına maruz kalan bitkilerde yapılan klorofil ve TBARS analizleri, GLXI inhibitörünün bitkilerin stres altındaki durumları üzerindeki etkilerini anlamak ve bitkinin bu stres etkenine karşı verdiği tepkilerin mekanizmalarını değerlendirmek açısından önemli bulgular sağlamaktadır. Klorofil analizleri, GLXI inhibitörü ile muamele edilen Col-0 bitkilerinde, inhibitör uygulanmayan gruplara göre klorofil içeriğinde belirgin bir azalma olduğunu göstermiştir. Bu durum, GLXI inhibitörünün fotosentez pigmentlerine olumsuz etki ederek bitki büyüme ve gelişiminde yavaşlamaya yol açabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulamasının bazı gruplarda klorofil seviyelerini artırdığı gözlemlenmiştir. Ancak, GLXI inhibitörünün varlığında, sisteinin klorofil içeriğini artırıcı etkisinin sınırlı kaldığı belirlenmiştir. Bu bulgular, GLXI inhibitörünün bitkideki fotosentez kapasitesini azalttığını ve sisteinin koruyucu etkisinin bu inhibitörün varlığında yeterince etkin olamadığını göstermektedir.

TBARS analizleri ise, GLXI inhibitörü ile muamele edilen bitkilerde lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak TBARS seviyelerinde artışa neden olduğunu ortaya koymuştur. TBARS seviyelerindeki bu artış, GLXI inhibitörünün oksidatif stres düzeyini artırdığını ve hücre zarında hasara yol açtığını işaret etmektedir. Yüksek sıcaklık stresi uygulanan gruplarda da TBARS seviyelerinde yükselme görülmüş olup, sistein uygulamasının TBARS birikimini azaltmaya yönelik bazı olumlu etkileri olduğu tespit edilmiştir. Ancak, GLXI inhibitörünün varlığında bu koruyucu etkinin sınırlı kaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, sisteinin TBARS seviyesini azaltıcı etkisinin, GLX sisteminin sağlıklı çalışmasıyla ilişkili olduğunu ve GLXI inhibisyonunun bu koruyucu etkiyi büyük ölçüde azalttığını göstermektedir.

Genel olarak, GLXI inhibitörü uygulandığında bitkilerde klorofil içeriğinin azalması ve TBARS seviyesinin artması, GLX sisteminin fizyolojik dengede ve stres tepkisinde önemli bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Sisteinin, GLX sistemi aracılığıyla bitkiye direnç kazandırdığı ve bu direncin özellikle GLXI ve GLXII enzimlerinin işlevselliğine bağlı olduğu anlaşılmaktadır. GLX sistemi inhibe edildiğinde, sisteinin klorofil içerik seviyelerini destekleyici ve TBARS birikimini azaltıcı etkisinin kaybolması, GSH-bağımlı GLX sisteminin sıcaklık stresine karşı toleransta kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bu bulgular, sisteinin yüksek sıcaklık stresine karşı koruyucu etkisinin,

GLXI ve GLXII enzimlerinin sağlıklı işleyişine bağlı olarak arttığını ve GLX sisteminin baskılandığı durumlarda bu etkinin sınırlı kaldığını güçlü bir şekilde göstermektedir. Bu sonuçlar, GLX sisteminin ve HSP90 proteinlerinin, sistein aracılı sıcaklık stresi toleransı mekanizmalarında önemli bir yere sahip olduğunu ve bu bileşenlerin bir arada bitkisel stres direncini artırmada potansiyel bir koruma stratejisi olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Çalışmanın genel sonuçları, HSP90 proteinlerinin sistein aracılığıyla GLX sistemi üzerinde düzenleyici bir rol oynayarak bitkilerin yüksek sıcaklık stresi toleransını artırmada kritik olduğunu göstermektedir. Sistein uygulaması, GSH seviyelerini artırarak GLXI ve GLXII enzim aktivitelerini desteklemekte ve MG detoksifikasyonu aracılığıyla sıcaklık stresinin zararlı etkilerini azaltmaktadır. Ancak HSP90 proteinlerinin eksikliğinde, GLX sisteminin etkinliğinin azalması nedeniyle sisteinin koruyucu etkisinin sınırlı olduğu ve bitkilerin sıcaklık stresine daha açık hale geldiği gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada, GLX sisteminin temel bileşenleri olan GLXI ve GLXII enzimleri ve bunlara ait genler (*GLXI.1*, *GLXI.2*, *GLXI.3*, *GLXII.2*, *GLXII.4*, *GLXII.5*) ile GLXIII glioksalaz ailesine ait olan *DJ-1A* ve *DJ-1D* genleri incelenmiş ve yüksek sıcaklık stresi koşullarında sistein uygulamasının ve HSP90 proteinlerinin bu genlerin ekspresyon seviyelerine etkisi değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar, yüksek sıcaklık stresinin GLX sistemine etkilerini ve bu sistemin gen ekspresyon değişikliklerini ortaya koymaktadır (Saxena, 2011; Shi vd., 2016; Alharby vd., 2021; Al-Zahrani vd., 2022; Kumar vd., 2022; Sun vd., 2023; Xu vd., 2023). Literatürle uyumlu olarak, *GLXI.1*, *GLXI.2*, *GLXI.3*, *GLXII.2*, *GLXII.4*, *GLXII.5*, *DJ-1A*, *DJ-1D* ve *D-LDH* genlerinin ekspresyon seviyelerinin hem Col-0 hem de mutant bitkilerde yüksek sıcaklık stresi altında arttığı gözlenmiştir. Col-0 bitkilerinde, yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması *GLXI.1*, *GLXI.2* ve *GLXI.3* gen ifadelerinde sırasıyla %1.3, %1.4 ve %1.1 oranlarında artışa neden olmuş, bu durum GLXI enzim aktivitesinde gözlenen artışla uyumlu bulunmuştur.

Ancak, HSP90.1 ve HSP90.4 proteinlerinin eksik olduğu *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında, GLXI gen ekspresyon seviyeleri Col-0 bitkilerine kıyasla düşük seyretmiş ve sistein uygulaması bu mutantlarda anlamlı bir değişiklik yaratmamıştır. Bu sonuçlar, HSP90 proteininin GLXI gen ifadesi üzerindeki düzenleyici rolünü ve sisteinin bu etkiyi yalnızca HSP90 proteinleri varlığında artırabildiğini göstermektedir.

GLXII enzimine ait *GLXII.2*, *GLXII.4* ve *GLXII.5* genleri de yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde aktive olmuştur. Özellikle *GLXII.2* ve *GLXII.4* gen ifadelerinde

sistein uygulaması ile birlikte sırasıyla %1.1 ve %1.9 oranlarında artış gözlenmiştir. Ancak, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında GLXII gen ekspresyon seviyeleri düşük kalmış ve sistein uygulaması bu gruplarda anlamlı bir değişiklik sağlamamıştır. Col-0 bitkilerinde yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulamasının *GLXII.5* gen ifadesinde bir artışa neden olmuştur. Ancak, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutant bitkilerde *GLXII.5* mRNA seviyeleri, Col-0 bitkileri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Bu bulgu, *GLXII.5* gen ekspresyonunun sıcaklık stresine ve sistein uygulamasına yanıtının, HSP90.1 ve HSP90.4 proteinlerinin yokluğundan bağımsız olduğunu göstermektedir. Bu durum, GLX sistemi ile HSP90.1 ve HSP90.4 proteinleri arasındaki etkileşimin, *GLXII.5* geninin düzenlenmesinde kritik bir rol oynamadığını veya bu spesifik genin diğer GLX genlerinden bağımsız olarak düzenlenebileceğini düşündürmektedir. Özetle, *GLXII.2* ve *GLXII.4* enzim aktivitesindeki artışın HSP90 proteinlerine bağımlı olabileceğini ve sisteinin GLXII gen ekspresyonunu düzenleme yeteneğinin HSP90 proteinlerinin varlığına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

GLXIII glioksalaz ailesinin bir parçası olan *DJ-1A* ve *DJ-1D* genlerinin ekspresyonları da incelenmiş; Col-0 bitkilerinde yüksek sıcaklık stresine ve sistein uygulamasına yanıt olarak *DJ-1A* gen ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. *DJ-1D* gen ekspresyonu ise Col-0 bitkilerinde sabit kalırken, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında önemli ölçüde azalmıştır. Bu bulgular, *DJ-1A* ve *DJ-1D* genlerinin GLX sistemindeki rollerinin HSP90 proteinlerinin varlığına bağımlı olmadığını, ancak *DJ-1D*'nin ekspresyonunun HSP90 proteinlerinin eksikliğinden olumsuz etkilenebileceğini göstermektedir.

Son olarak, GLX sisteminin son ürünü olan D-laktatı pirüvata dönüştüren *D-LDH* enziminin ekspresyonu da Col-0 ve mutant bitkilerde karşılaştırılmıştır. Yüksek sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde sistein uygulaması ile *D-LDH* ekspresyon seviyelerinin artması MG yıkımının D-laktat aracılığıyla desteklendiğini göstermektedir. Ancak, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantlarında *D-LDH* transkript seviyeleri Col-0'ya kıyasla düşük kalmış ve sistein uygulaması bu mutantlarda anlamlı bir değişiklik yaratmamıştır. Bu bulgular, HSP90 proteinlerinin GLX sistemiyle bağlantılı *D-LDH* ekspresyonunu düzenlemede önemli bir rol oynadığını ve sisteinin bu enzim üzerindeki etkisinin HSP90 varlığına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Tüm bu bulgular, HSP90.1 ve HSP90.4 proteinlerinin, GLX sistemine ait enzim ve gen aktivitelerini düzenleyerek MG detoksifikasyonu ve sıcaklık stresine karşı toleransı sağlama sürecinde kritik bir role sahip olduğunu göstermektedir. Sisteinin GLX sistemi

üzerindeki etkilerinin HSP90 proteinlerinin varlığına bağımlı olması, bu proteinlerin sistein aracılı bitki stres toleransının sağlanmasında kilit bir düzenleyici olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, GLX sistemi ile HSP90 proteinleri arasındaki etkileşimin, bitkilerin yüksek sıcaklık gibi abiyotik stres koşullarında hayatta kalma yeteneklerini artırmada önemli bir mekanizma olarak işlev görebileceğini ortaya koymaktadır.

Yüksek Sıcaklık Stresi Altında HSP ve GLX Sistem Etkileşimlerinin Sistein Aracılı Modülasyonu

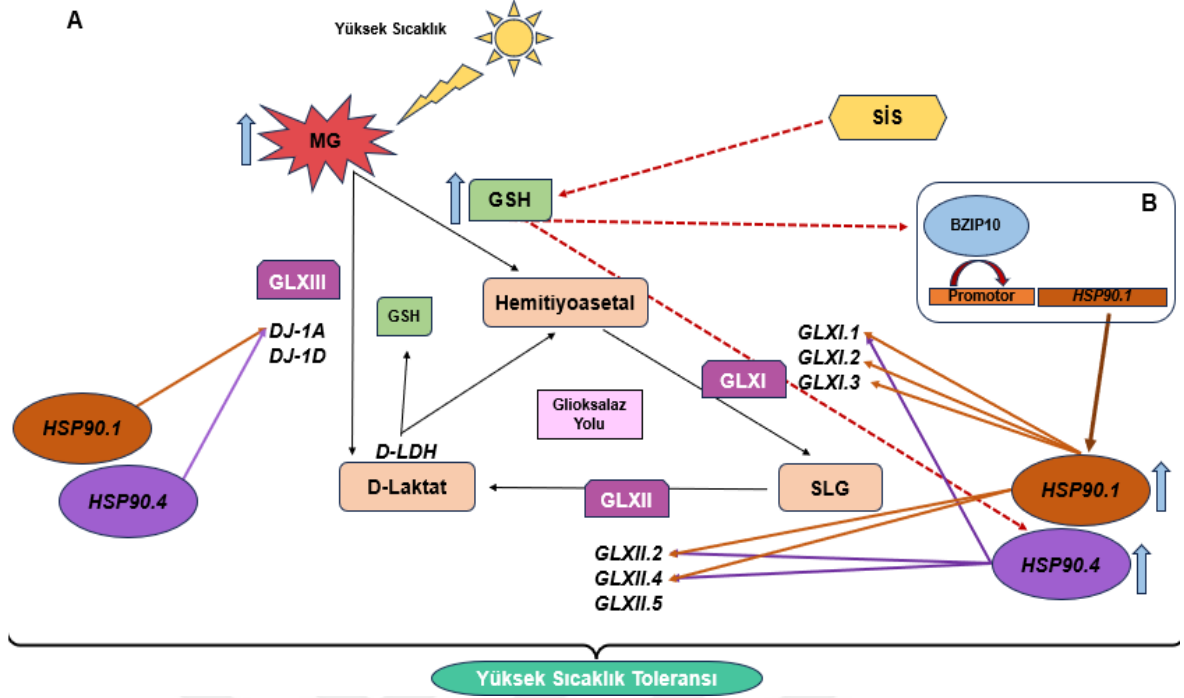
Bu çalışma, sisteinin *A. thaliana*'da GLX sistemi üzerindeki düzenleyici etkilerini ve özellikle HSP90.1 ve HSP90.4 proteinleri ile olan etkileşimini incelemeye odaklanmıştır. HSP'ler yüksek sıcaklık stresine karşı bitkilerin yanıtında kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. HSP'ler, denatüre proteinlerin uygun şekilde katlanmasını kolaylaştırarak bitkilerin stresle başa çıkmasına yardımcı olur (Bento vd., 2010; Li vd., 2020; Ticha vd., 2020; Seling vd., 2022; Kumar vd., 2023). Sıcaklık artışlarına karşı HSP üretimi önemli ölçüde artar ve böylece bitkilerin minimum hasarla bu koşulları tolere etmesine olanak tanır (Krishna ve Gloor, 2001; Song vd., 2009; Xu vd., 2010; Rodriguez-Vera vd., 2020; Zhou vd., 2020; Chen vd., 2021; Albertos vd., 2022; Chen vd., 2022). Çalışmamızda, literatüre paralel olarak, *HSP21*, *HSP70*, *HSP90.1*, *HSP90.4* ve *HSP101* gen ifadelerinin hem Col-0 hem de mutant bitkilerde sıcaklık stresi altında belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bulgular, sisteinin özellikle yüksek sıcaklık stresi altında bitki stres toleransını artırmak için spesifik HSP'lerin ekspresyonunu modüle ettiğini göstermektedir. Col-0 bitkilerinde, sistein uygulaması yüksek sıcaklık stresi altında *HSP70*, *HSP90.1* ve *HSP90.4* genlerinin ekspresyonunda sırasıyla 1.67 kat, 1.19 kat ve 1.49 kat artış sağlamıştır. Bu durum, sisteinin bitki stres toleransını artırmak için *HSP70*, *HSP90.1* ve *HSP90.4* ekspresyonunu yukarı yönde düzenlediğini göstermektedir. *hsp90.1* mutantında sistein uygulamasının *HSP70* ekspresyonunu indükleyememesi, *HSP90.1*'in, *HSP70*'in sistein aracılı yukarı regülasyonunda kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Diğer yandan, *hsp90.4* mutantında sistein uygulaması, *HSP70* ekspresyonunda 1.43 katlık bir artış sağlamış olup, *HSP90.4*'ün bu indüksiyon süreci için gerekli olmadığını göstermektedir. Bu sonuçlar, *HSP70* ekspresyonunun sistein uygulaması ve HSP90 proteinlerinin varlığına bağlı olarak farklı bir düzenleme gösterdiğini ve *HSP90.1*'in, *HSP70*'in sistein ile yukarı yönde düzenlenmesinde anahtar bir rol oynadığını desteklemektedir.

Çalışmada ayrıca, *HSP90.4* gen ekspresyonunun Col-0 bitkilerinde sistein ve yüksek sıcaklık stresi ile birlikte 1.49 kat arttığı, ancak *hsp90.1* mutantında bu artışın gözlenmediği ortaya konmuştur. Buna karşılık, *hsp90.4* mutantında *HSP90.4* ekspresyonu genel olarak düşük seviyelerde kalmış ve uygulama grupları arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Bu bulgular, *HSP90.4*'ün ekspresyonunun sıcaklık stresi altında Col-0 bitkilerinde yukarı yönde düzenlendiğini, ancak HSP90 proteinlerinden birinin eksikliğinin bu düzenlemeyi sınırlayabileceğini göstermektedir.

HSP101 ve *HSP21* genlerinin ekspresyonları, Yüksek sıcaklık stresi altında sistein uygulaması yapılan bitkilerde, sistein uygulaması yapılmayan bitkilerle karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Bu genlerin ekspresyon seviyeleri, farklı uygulama grupları arasında dikkate değer bir artış sergilememiştir, bu da *HSP101* ve *HSP21*'in sistein aracılı yanıt mekanizmalarında önemli bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Ayrıca, *hsp90.1* ve *hsp90.4* mutantları ile Col-0 arasında *HSP101* ve *HSP21* gen ekspresyonu açısından belirgin bir fark bulunmamıştır.

Özetle, bu bulgular, sisteinin HSP90.1 ve HSP90.4 proteinlerinin varlığına bağlı olarak özellikle *HSP70*, *HSP90.1* ve *HSP90.4* genlerinin ifadelerini arttırarak bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonunu desteklediğini göstermektedir. Sistein, yalnızca belirli HSP'leri (*HSP70*, *HSP90.1* ve *HSP90.4*) seçici olarak hedefleyerek bu proteinlerin ekspresyon seviyelerini arttırmakta ve böylece bitki stres direncini güçlendirmektedir. HSP90 proteinleri ve GLX sistemi arasındaki bu etkileşim, sistein ve HSP'lerin bitkilerdeki stres adaptasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu ve özellikle HSP90.1'in bu süreçteki rolünün belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu tez çalışması, yüksek sıcaklık stresine maruz kalan *A. thaliana* 'da sistein uygulamasının MG detoksifikasyonundan sorumlu GLX sisteminde kofaktör olarak görev yapan GSH miktarını artırdığını, HSP90.1 ve HSP90.4'ü uyardığını ve böylece GLX sisteminde yer alan enzimlerin aktivitelerini artırarak *A. thaliana* termotoleransını geliştirdiğini ortaya koymaktadır. Kumar ve Chattopadhyay (2018), BZIP10 transkripsiyon faktörünün artan GSH'ye yanıt olarak *HSP90.1* promotörünü uyardığını ve böylece ifade seviyesini artırdığını ortaya koymuştur (Şekil 6B). Bu bilgileri kullanarak elde ettiğimiz verileri birleştirdiğimizde elde ettiğimiz modeli destekleyen kanıtlar aşağıdaki şekil ve paragraflarda sunulmuştur (Şekil 38, A ve B).



Şekil 38. GLX sisteminin sistein, HSP90.1 ve HSP90.4 ile birlikte yüksek sıcaklık stresine yanıt olarak bitki direncini düzenlediğine dair bir çalışma modeli.

Sonuç olarak, bu çalışma, sisteinin yüksek sıcaklık stresine karşı *A. thaliana*'nın dayanıklılığını artırmada GLX sistemi ve HSP90 proteinleri ile nasıl etkileşime girdiğini detaylı bir şekilde ortaya koymaktadır. Sisteinin GSH üretimini teşvik ederek GLX sistemi enzim aktivitelerini artırdığı, böylece MG detoksifikasyonunu desteklediği ve HSP90 proteinlerinin yüksek sıcaklık stresine karşı koruyucu etkilerini optimize ettiği sonucuna varılmıştır. Bu bulgular, sisteinin sadece oksidatif stresin etkilerini hafifletmekle kalmayıp, aynı zamanda GLX sistemi ve HSP90 proteinleri aracılığıyla bitki stres toleransını artırmada önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, sisteinin hem GLX aktivitesini hem de HSP90 gen ifadelerini nasıl geliştirdiğini ortaya koyarak, bitkilerin yüksek sıcaklık stresi ile nasıl başa çıktığını anlamada önemli bir boşluğu ele alarak, bitki stres adaptasyon mekanizmaları hakkında önemli bilgiler sağlar. Ayrıca sisteinin bitki stres yönetiminde sürdürülebilir bir yaklaşım olarak kullanılabilmesi için umut verici bir adım oluşturmaktadır. İklim değişikliği bağlamında mahsul direncini artırmayla ilgisi göz önüne alındığında, bu araştırma hem bitki fizyolojisini hem de stres biyolojisini ilerletmek için geniş çıkarımlara sahiptir.

5. ÖNERİLER

- Sistein ve HSP90 proteinlerinin diğer ısı şok proteinleriyle olan ilişkisini ve diğer stres yanıt genleri üzerindeki etkisini belirlemek için kapsamlı gen ekspresyon analizleri yapılabilir. Özellikle diğer HSP proteinleri ve antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonları incelenebilir. Ayrıca GLX sistemine ait genlerin mutantları ve diğer HSP genlerinin mutantları dahil edilerek daha kapsamlı bir çalışma yapılabilir.
- Proje kapsamında belirlenen HSP'ler, sistein ve GLX enzimleri arasındaki etkileşimler proteomik analizler veya protein-protein etkileşim çalışmalarıyla belirlenebilir. Bu kapsamda HSP-sistein, HSP-sistein ile GLXI ve GLXII enzimleri ile moleküller arası etkileşimler belirlenerek enzim-yapı ilişki aktivite çalışmaları yapılabilir. Böylece GLX sistemi ile HSP-sistein arasındaki ilişki daha kapsamlı ve detaylı bir şekilde ortaya konulabilir.
- Sistein biyosentezi ve HSP90 genlerinde yapılan genetik modifikasyonlar ile *A. thaliana*'da termotoleransın artırılması hedeflenebilir. Bu amaçla, transgenik bitkiler oluşturularak HSP90 proteinlerinin aşırı ekspresyonu veya susturulması ile bu proteinlerin sistein uygulamasına tepkileri incelenebilir.
- Bu çalışmada sadece yüksek sıcaklık stresine odaklanılmıştır. Sisteinin HSP90 proteinleri aracılığıyla diğer abiyotik streslere (kuraklık, tuzluluk, ağır metal stresi vb.) olan etkilerini inceleyen çalışmalar yapılabilir. Bu sayede sisteinin çoklu stres toleransı üzerindeki potansiyel rolü daha kapsamlı olarak değerlendirilebilir.
- Sistein uygulamasının, tarımsal öneme sahip bitkiler üzerindeki etkileri araştırılarak, bu amino asidin sıcaklık stresine dayanıklılığı artırmada ticari kullanımı değerlendirilebilir. Bu şekilde, iklim değişikliği ve sıcaklık stresinin tarımsal ürünler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmaya yönelik stratejiler geliştirilebilir.

Son olarak gelecekteki araştırmaların, stres koşulları altında tarımsal verimliliği artırmaya yönelik bir araç olarak potansiyelini optimize etmek için sisteini çeşitli ürünlerde uygulamaya odaklanması önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbas, H. (2020). Glyoxalase 1 Overexpression-Associated Multi-Drug Resistance in Cancer Chemotherapy. PhD thesis, University of Warwick.
- Acet, T., & Kadioğlu, A. (2020). SOS5 Gene-Abscissic Acid Crosstalk and Their Interaction With Antioxidant System in *Arabidopsis thaliana* Under Salt Stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants: An International Journal of Functional Plant Biology*, 26(9), 1831–1845.
- Ahanger, M. A., Akram, N. A., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., & Ahmad, P. (2017). Plant Responses to Environmental Stresses-From Gene to Biotechnology. *AoB Plants*, 9(4).
- Ahmad, R., Zuily-Fodil, Y., Passaquet, C., Khan, S. A., & Repellin, A. (2015). Molecular Cloning, Characterization and Differential Expression of Novel Phytocystatin Gene During Tropospheric Ozone Stress in Maize (*Zea mays*) Leaves. *Comptes Rendus Biologies*, 338(3), 141-148.
- Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A. A., Noman, M., Hameed, A., Manzoor, N., Manzoor, I., & Muhammad, S. (2018). Biodegradation of Plastics: Current Scenario and Future Prospects for Environmental Safety. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(8), 7287–7298.
- Albertos, P., Dündar, G., Schenk, P. M. P., Carrera, S., Cavelius, P., Sieberer, T., & Poppenberger, B. (2022). Transcription Factor Bes1 Interacts With Hsf1 to Promote Heat Stress Resistance of Plants. *The EMBO Journal*. 41(3), e108664.
- Aleem S, Sharif I, Amin E, Tahir M, Parveen N, Aslam R, Najeebullah M., & Shahid MTH (2020) Heat Tolerance in Vegetables in the Current Genomic Era: An Overview. *Plant Growth Regulation* 92: 497-516.
- Alharby, H. F., Al-Zahrani, H. S., Hakeem, K. R., & Hasanuzzaman, M. (2021). Enhancing Salt Tolerance in Soybean by Exogenous Boron: Intrinsic Study of the Ascorbate-Glutathione and Glyoxalase Pathways. *Plants*, 10(10), 2085.
- Alhammad, B. A., Saleem, K., Asghar, M. A., Raza, A., Ullah, A., Farooq, T. H., Yong, J.W.H., Xu, F., Seleiman, M.F., & Riaz, A. (2023). Cobalt and Titanium Alleviate the Methylglyoxal-Induced Oxidative Stress in *Pennisetum divisum* Seedlings Under Saline Conditions. *Metabolites*, 13(11), 1162.
- Alhujaily, M. (2024). Molecular Assessment of Methylglyoxal-Induced Toxicity and Therapeutic Approaches in Various Diseases: Exploring the Interplay With the Glyoxalase System. *Life*, 14.
- Ali, M. T. A., Rashid, S., Maqbool, M., Ahmed, M., Narejo, M. A., & Marri, F. A. (2019). Fortified Fertilizer Application in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grown Under Water Stress Condition. *Pure and Applied Biology*, 8(1).

- Ali, S., Rizwan, M., Arif, M. S., Hasanuzzaman, M., Ali, B., & Hussein, A. (2020). Approaches in Enhancing Thermotolerance in Plants: An Updated Review. *Journal of Plant Growth Regulation* 39: 456–480.
- Allakhverdiev, S. I., Kreslavski, V. D., Klimov, V. V., Los, D. A., Carpentier, R., & Mohanty, P. (2008). Heat Stress: An Overview of Molecular Responses in Photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 98(1-3), 541–550.
- Altunoğlu, Y. Ç. (2016). Isı Şoku Protein Ailesinden Hsp70 Genlerinin Okaliptüs Genomunda Saptanması ve Karakterizasyonu. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 16(2).
- Alvarez-Gerding, X., Cortés-Bullemore, R., Medina, C., Romero-Romero, J. L., Inostroza-Blancheteau, C., Aquea, F., & Arce-Johnson, P. (2015). Improved Salinity Tolerance in Carrizo Citrange Rootstock Through Overexpression of Glyoxalase System Genes. *BioMed Research International*, 2015, 1-7.
- Alvi, A. F., Iqbal, N., Albaqami, M., & Khan, N. A. (2023). The Emerging Key Role of Reactive Sulfur Species in Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Physiologia Plantarum*, 175(3), e13945.
- Al-Maliky, A. W., Jerry, A. N., & Obead, F. I. (2019). The Effects of Foliar Spraying of Folic Acid and Cysteine on Growth, Chemical Composition of Leaves and Green Yield of Faba Bean (*Vicia faba* L.). *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 32(2), 223-229.
- Al-Zahrani, H. S., Alharby, H. F., Alsamadany, H., Hakeem, K. R., & Hasanuzzaman, M. (2022). Zinc Supplementation Enhances Glutathione-Mediated Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems to Conferring Salt Tolerance in Soybean (*Glycine max* L.). *Agronomy*. 12(5), 1032.
- Amarasinghe, K. I. C., Jayakody, L. K. R. R., & Silva, C. S. De. (2020). Adverse Effects of Climate Change-Induced Temperature and Water Stress on Growth and Yield of Rice (*Oryza sativa* L.) Variety Suwandel In Sri Lanka. *Journal of Food and Agriculture*. 6(2), 15-24.
- Anani, O. A., Inobeme, A., Olomukoro, J. O., & Onyeachu, I. B. (2022). Insights to Proteomics and Metabolomics Metal Chelation in Food Crops. *Journal of Proteins and Proteomics*. 13, 159–173.
- Aneja, P., Dwivedi, A., & Ranjan, A. (2022). Physiology of Crop Yield Under Heat Stress. In: Kumar, R.R., Praveen, S., Rai, G.K. (eds) *Thermotolerance in Crop Plants*. Springer, Singapore.
- Arıkan, B., Özden, S., & 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.
- Balfagón, D., Sengupta, S., Gómez-Cadenas, A., Fritsch, F. B., Azad, R., Mittler, R., & Zandalinas, S. I. (2019). Jasmonic Acid Is Required for Plant Acclimation to a Combination of High Light and Heat Stress. *Plant Physiology*, 181, 1668–1682.

- Balfagón, D., Gómez-Cádenas, A., Rambla, J. L., Granell, A., Ollas, C. de, Bassham, D. C., Mittler, R., & Zandalinas, S. I. (2022). Γ -Aminobutyric Acid Plays a Key Role in Plant Acclimation to a Combination of High Light and Heat Stress. *Plant Physiology*, 188(4), 2026–2038.
- Balliu, A., & Sallaku, G. (2021). The Environment Temperature Affects Post-Germination Growth and Root System Architecture of Pea (*Pisum sativum* L) Plants. *Scientia Horticulturae*, 278, 109858.
- Batth, R., Jain, M., Kumari, S., & Mustafiz, A. (2017). Glyoxalase System: A Glutathione-Dependent Pathway for Abiotic Stress Tolerance in Plants. In M. A. Hossain, M. G. Mostofa, P. Diaz-Vivancos, D. J. Burritt, M. Fujita, & L.-S. P. Tran (Eds.), *Glutathione in Plant Growth, Development, and Stress Tolerance* (pp. 235–263). Springer International Publishing.
- Bento, C. F., Marques, F., Fernandes, R., & Pereira, P. (2010). Methylglyoxal Alters the Function and Stability of Critical Components of the Protein Quality Control. *PLoS One*, 5, e13007.
- Bi, H., Miao, J., He, J., Chen, Q., Qian, J., Li, H., Xu, Y., Ma, D., Zhao, Y., Tian, X., & Liu, W. (2022). Characterization of the Wheat Heat Shock Factor TaHsfA2e-5D Conferring Heat and Drought Tolerance in *Arabidopsis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 2784.
- Bilal, S., Khan, T., Asaf, S., Khan, N., Jan, S. S., Imran, M., Al-Rawahi, A., Khan, A. L., Lee, I., & Al-Harrasi, A. (2023). Silicon-Induced Morphological, Biochemical and Molecular Regulation in *Phoenix dactylifera* L. Under Low-Temperature Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6036.
- Biswas, A., Pal, S., & Paul, S. (2023). Silicon as a Powerful Element for Mitigation of Cadmium Stress in Rice: A Review for Global Food Safety. *Plant Stress*, 10, 100237.
- Bitá, C. E., & Geräts, T. (2013). Plant Tolerance to High Temperature in a Changing Environment: Scientific Fundamentals and Production of Heat Stress-Tolerant Crops. *Frontiers in Plant Science*, 4.
- Borysiuk, K., Ostaszewska-Bugajska, M., Kryzheuskaya, K., Gardeström, P., & Szal, B. (2022). Glyoxalase I Activity Affects *Arabidopsis* Sensitivity to Ammonium Nutrition. *Plant Cell Reports*, 41(12), 2393–2413.
- Botella, M. A., Rosado, A., Bressan, R. A., & Hasegawa, P. M. (2005). Plant Adaptive Responses to Salinity Stress. *Plant Abiotic Stress*, 37-70.
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Cao, H., Ghorbanpour, A., Ghorbani, A., Zargar, M., & Razavi, S. M. (2024). The Impact of Silicon on the Morphological and Physio-Chemical Characteristics of *Calendula Officinalis* Exposed to Arsenic-Induced Toxicity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 71, 79.

- Castillo, F. J. (1996). Antioxidative Protection in the Inducible CAM Plant *Sedum Album* L. Following the Imposition of Severe Water Stress and Recovery. *Oecologia*, 107, 469–477.
- Chandra, N., & Pandey, N. (2014). Influence of Sulfur Induced Stress on Oxidative Status and Antioxidative Machinery in Leaves of *Allium cepa*. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 1-9.
- Chaudhari, R. S., Jangale, B. L., Krishna, B., & Sane, P. V. (2024). Heterologous Expression of Banana Madreb16 Gene in *Arabidopsis* Increases Tolerance to Dehydration and Combined Dehydration Plus Heat Stress Through Stomatal Regulation and Root Elongation. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4436910/v1>
- Chen, Z., Guo, Q., Wu, G., Wen, J., Liao, S., & Xu, C. (2021). Molecular Basis for Cysteine Oxidation by Plant Cysteine Oxidases From *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Structural Biology*. 213(1), 107663.
- Chen, X., Xue, H., Zhu, L., Wang, H., Long, H., Zhao, J., Meng, F., Liu, Y., Ye, Y., Luo, X., Liu, Z., Xiao, G., & Zhu, S. (2022). ERF49 Mediates Brassinosteroid Regulation of Heat Stress Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Biology*, 20, 254.
- Chen, P., Shu, S., Wang, Y., Du, J., Shi, L., Jahan, M. S., & Guo, S. (2023). Transcriptome Analysis of the Regulatory Mechanism of Exogenous Spermidine in High Temperature Stress Resistance of Tomato Seedlings. *Agronomy*, 13(2), 285.
- Chiang, F., Chao, T., Huang, S., Cheng, C., Tseng, Y., & Huang, Y. (2022). Cysteine Regulates Oxidative Stress and Glutathione-Related Antioxidative Capacity Before and After Colorectal Tumor Resection. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 9581.
- Cocetta, G., Landoni, M., Pilu, R., Repiso, C., Nolasco, J., Alajarin, M., Ugena, L., B. Levy, C. C., Scatolino, G., Villa, D., & Ferrante, A. (2022). Priming Treatments With Biostimulants to Cope the Short-Term Heat Stress Response: A Transcriptomic Profile Evaluation. *Plants. (Basel, Switzerland)*, 11(9), 1130.
- Craigon, D. J., James, N. I., Okyere, J., Higgins, J., Jotham, J., & May, S. (2004). Nascarrays: A Repository for Microarray Data Generated by Nasc's Transcriptomics Service. *Nucleic Acids Research*, 32(90001), 575D-577.
- Devireddy, A. R., Tschaplinski, T. J., Tuskan, G. A., Muchero, W., & Chen, J.-G. (2021). Role of Reactive Oxygen Species and Hormones in Plant Responses to Temperature Changes. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(16), 8843.
- DeRose-Wilson, L. (2010). Genome Evolution and the Genetics of Abiotic Stress Tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis lyrata*. University of California, Irvine ProQuest Dissertations & Theses, 3397280.
- Dickinson, B. C., & Chang, C. J. (2011). Chemistry and Biology of Reactive Oxygen Species in Signaling or Stress Responses. *Nature Chemical Biology*, 7, 504-511.
- Ding, Y., Huang, L., Jiang, Q., & C, Z. (2020). MicroRNAs as Important Regulators of Heat

- Stress Responses in Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 68(41), 11320–11326.
- Durmusoglu, S., Saglam, A., & Kadioglu, A. (2024). Chapter 13 - Modulation of HSPs by phytohormone applications. In M. A. Ahanger, J. A. Bhat, P. Ahmad, & R. John (Eds.), *Improving Stress Resilience in Plants* (pp. 277–295). *Academic Press*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18927-2.00007-8>
- Elkelish, A., El-Mogy, M. M., Niedbała, G., Piekutowska, M., Atia, M. A. M., Hamada, M. M. A., & Ibrahim, M. (2021). Roles of Exogenous α -Lipoic Acid and Cysteine in Mitigation of Drought Stress and Restoration of Grain Quality in Wheat. *Plants*, 10(11), 2318.
- Enríquez-González, C., Garcidueñas-Piña, C., Castellanos-Hernández, O. A., Enríquez-Aranda, S., Loera-Muro, A., Ocampo, G., & Morales-Domínguez, J. F. (2022). De Novo Transcriptome of *Mammillaria bombycina* (Cactaceae) Under In Vitro Conditions and Identification of Glyoxalase Genes. *Plants*, 11(3), 399.
- El-Bassiouny, H. M. S., Al-Ashkar, N. M., Bakry, B. A., Abdallah, M. M. S., & Ramadan, A. A. (2024). Adjusting the Antioxidant Defense System by Sulfur-Containing Compounds to Improve the Growth and Yield of Flax Under Sandy Soil Conditions. *Sabao Journal of Breeding and Genetics*, 56(2), 771-786.
- El-Kereamy, A., Bi, Y., Ranathunge, K., Beatty, P. H., Good, A. G., & Rothstein, S. J. (2012). The Rice R2r3-Myb Transcription Factor Osmyb55 Is Involved in the Tolerance to High Temperature and Modulates Amino Acid Metabolism. *Plos One*, 7(12), e52030.
- Fang, G., Yang, S., Ruan, B., Ye, G., He, M., Su, W., & Yang, S. (2024). Research Progress on Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms of Potato in Response to Drought and High Temperature. *Horticulturae*, 10(8), 827.
- Fatma, M., Masood, A., Per, T. S., & Khan, N. A. (2016). Nitric Oxide Alleviates Salt Stress Inhibited Photosynthetic Performance by Interacting with Sulfur Assimilation in Mustard. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Galleguillos, C., Acuña-Rodríguez, I. S., Torres-Díaz, C., Gundel, P. E., & Molina-Montenegro, M. A. (2023). Genetic Control Underlying the Flowering-Drought Tolerance Trade-Off in the Antarctic Plant *Colobanthus quitensis*. *Plant Cell & Environment*. 46(10), 3158–3169.
- Gambhir, P., Singh, V., Raghuvanshi, U., Parida, A. P., Pareek, A., RoyChowdhury, A., Sopory, S. K., Kumar, R., & Sharma, A. K. (2022). A Glutathione-Independent DJ-1/PfpI Domain-Containing Tomato GlyoxalaseIII2, SGLYIII2, Confers Enhanced Tolerance Under Salt and Osmotic Stresses. *Plant Cell & Environment*. 46(2), 518–548.
- Gangadhar, B., Kappachery, S., Venkatesh, J., Venkidasamy, B., Abhinandan, K., Yu, J., & Mishra, R. (2016). Enhanced Tolerance of Transgenic Potato Plants Over-Expressing Non-Specific Lipid Transfer Protein-1 (Stns1tp1) Against Multiple Abiotic Stresses. *Frontiers in Plant Science*, 7.

- Gao, W., Zhou, Y., Feng, Z., Bai, Q., He, J., & Wang, Y. (2018). Effects of Melatonin on Antioxidant Capacity in Naked Oat Seedlings Under Drought Stress. *Molecules*, 23(7), 1580.
- Garai, S., Bhowal, B., Pareek, A., Singla-Pareek, S. L., Kaur, C., & Sopory, S. K. (2020). Expression Dynamics of Glyoxalase Genes Under High Temperature Stress in Plants. *Plant Physiology Reports*, 25, 533–548.
- Gautam, B., Mandal, P., & Yangden, N. (2021). Students' Awareness Towards Climate Change: A Study of Climate Change Effects on Human Health in Nepal. *Prithvi Academic Journal*, 4, 18-26.
- Gautam, H., Fatma, M., Sehar, Z., Mir, I. R., & Khan, N. A. (2022). Hydrogen Sulfide, Ethylene, and Nitric Oxide Regulate Redox Homeostasis and Protect Photosynthetic Metabolism Under High Temperature Stress in Rice Plants. *Antioxidants. (Basel, Switzerland)*, 11(8), 1478.
- Genisel, M., Erdal, S., & Kizilkaya, M. (2015). The Mitigating Effect of Cysteine on Growth Inhibition in Salt-Stressed Barley Seeds Is Related to Its Own Reducing Capacity Rather Than Its Effects on Antioxidant System. *Plant Growth Regulation*, 75, 187–197.
- Ghorbani, A., Pishkar, L., Roodbari, N. H., Pehlivan, N., & Wu, C. (2021). Nitric Oxide Could Allay Arsenic Phytotoxicity in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by Modulating Photosynthetic Pigments, Phytochelatin Metabolism, Molecular Redox Status, and Arsenic Sequestration. *Plant Physiology and Biochemistry*. 167, 337-348.
- Ghorbel, M., Zribi, I., Haddaji, N., Besbes, M., Bouali, N., & Brini, F. (2021). The Wheat Pathogenesis Related Protein (Tdpr1.2) Ensures Contrasting Behaviors to *E. coli* Transformant Cells Under Stress Conditions. *Advances in Microbiology*, 11(09), 453-468.
- Ghosh, A., & Islam, T. (2016). Genome-Wide Analysis and Expression Profiling of Glyoxalase Gene Families in Soybean (*Glycine max*) Indicate Their Development and Abiotic Stress Specific Response. *BMC Plant Biology*, 16, 87.
- Ghosh, A. (2017). Genome-Wide Identification of Glyoxalase Genes in *Medicago truncatula* and Their Expression Profiling in Response to Various Developmental and Environmental Stimuli. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Ghosh, A., Mustafiz, A., Pareek, A., Sopory, S. K., & Singla-Pareek, S. L. (2022). Glyoxalase III Enhances Salinity Tolerance Through Reactive Oxygen Species Scavenging and Reduced Glycation. *Physiologia Plantarum*. 174(3), e13693.
- Gill SS, & Tuteja N (2010). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
- Gill, D. L., Hammond, C. C., Reifsteck, E. J., Jehu, C. M., Williams, R. A., Adams, M. M., Lange, E. H., Becofsky, K., Rodriguez, E., & Shang, Y. T. (2013). Physical Activity and Quality of Life. *Journal of Preventive Medicine and Public Health = Yebang Uihakhoe chi*, 46 Suppl 1(Suppl 1), S28–S34.

- Gohari, G., Molaei, S., Kheiry, A., Ghafouri, M., Razavi, F., Lorenzo, J. M., & Juárez-Maldonado, A. (2021). Exogenous Application of Proline and L-cysteine Alleviates Internal Browning and Maintains Eating Quality of Cold Stored Flat ‘Maleki’ Peach Fruits. *Horticulturae*, 7(11), 469.
- Guo, L., Long, L., Wang, X., Cheng, T., Wang, H., & Ruan, Y. (2023). Exogenous Hydrogen Sulfide and Methylglyoxal Alleviate Cadmium-Induced Oxidative Stress in *Salix Matsudana koidz* by Regulating Glutathione Metabolism. *BMC Plant Biology*, 23(1), 73.
- Gururani, M. A., Ganesan, M., Song, I., Han, Y., Kim, J., Lee, H., & Song, P. (2015). Transgenic Turfgrasses Expressing Hyperactive Ser599Ala *Phytochrome A Mutant Exhibit Abiotic Stress Tolerance*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(1), 11-21.
- Hasan, M. M., Ali, M. A., Soliman, M. H., Alqarawi, A. A., & Fang, X. (2020). Insights Into 28-Homobrassinolide (HBR)-Mediated Redox Homeostasis, ASA–GSH Cycle, and Methylglyoxal Detoxification in Soybean Under Drought-Induced Oxidative Stress. *Journal of Plant Interactions*, 15(1), 371-385.
- Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2011). Selenium Pretreatment Upregulates the Antioxidant Defense and Methylglyoxal Detoxification System and Confers Enhanced Tolerance to Drought Stress in Rapeseed Seedlings. *Biological Trace Element Research*, 143, 1758–1776.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., & Fujita, M. (2011). Nitric Oxide Modulates Antioxidant Defense and the Methylglyoxal Detoxification System and Reduces Salinity-Induced Damage of Wheat Seedlings. *Plant Biotechnology Reports*, 5, 353–365.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms of Heat Stress Tolerance in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 9643-9684.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Hossain, M. S., Mahmud, J. Al, Rahman, A., Inafuku, M., Oku, H., & Fujita, M. (2017). Coordinated Actions of Glyoxalase and Antioxidant Defense Systems in Conferring Abiotic Stress Tolerance in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 200.
- Hasanuzzaman, M., Raihan, M. R. H., Khojah, E., Samra, B. N., & Fujita, M. (2021). Biochar and Chitosan Regulate Antioxidant Defense and Methylglyoxal Detoxification Systems and Enhance Salt Tolerance in Jute (*Corchorus olitorius* L.). *Antioxidants*. (Basel, Switzerland), 10(12), 2017.
- Hasanuzzaman, M., Raihan, M. R. H., Nowroz, F., & Fujita, M. (2022). Insight Into the Mechanism of Salt-Induced Oxidative Stress Tolerance in Soybean by the Application of *Bacillus Subtilis*: Coordinated Actions of Osmoregulation, Ion Homeostasis, Antioxidant Defense, and Methylglyoxal Detoxification. *Antioxidants*. (Basel, Switzerland), 11(10), 1856.
- Hasanuzzaman, M., Raihan, M. R. H., Alharby, H. F., Al-Zahrani, H. S., Alsamadany, H., Al-Ghamdi, K. A., & Ahmed, N. (2023). Foliar Application of Ascorbic Acid and

- Tocopherol in Conferring Salt Tolerance in Rapeseed by Enhancing K⁺/Na⁺ Homeostasis, Osmoregulation, Antioxidant Defense, and Glyoxalase System. *Agronomy*. 13(2), 361.
- Hemantaranjan, A., Bhanu, A. N., Singh, M. N., Yadav, D., Patel, P., Singh, R., & Katiyar, D. (2014). Heat Stress Responses and Thermotolerance. *Advances in Plants & Agriculture Research*, 1(3).
- Hibshman, J. D., Carra, S., & Goldstein, B. (2023). Tardigrade Small Heat Shock Proteins Can Limit Desiccation-Induced Protein Aggregation. *Communications Biology*. 6(1), 121.
- Hong, J., Mao, Y., Niu, S., Sun, T., & Su, Y. (2015a). Molecular Characterization and Expression of *HSP70*, *HSF* and *HSBP* Genes in *Octopus vulgaris* During Thermal Stress. *Acta Oceanologica Sinica*., 34, 62–72.
- Hong, S., Ye, T., Han, N., Bian, H., Liu, X., & Chan, Z. (2015b). Hydrogen Sulfide Regulates Abiotic Stress Tolerance and Biotic Stress Resistance in *Arabidopsis*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 57(7).
- Hoque, T. S., Uraji, M., Hoque, M. A., Nakamura, Y., & Murata, Y. (2017). Methylglyoxal Induces Inhibition of Growth, Accumulation of Anthocyanin, and Activation of Glyoxalase I and II in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(7).
- Hu, S., Ding, Y., & Zhu, C. (2020). Sensitivity and Responses of Chloroplasts to Heat Stress in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 375.
- Hu, X., Xue, T., Zhou, Y., Ahmad, B., Zhang, D., Zeng, Y., Wei, J., Deng, L., Chen, S., & Pan, Y. (2023). Bioinformatics Analysis, Expression Profiling, and Functional Characterization of Heat Shock Proteins in *Wolfiporia cocos*. *Bioengineering. (Basel, Switzerland)*, 10(3), 390.
- Hue, N. T., Tran, H. T. L., Phan, T., Nakamura, J., Iwata, T., Harano, K., & Iwaya-Inoue, M. (2013). Hsp90 and Reactive Oxygen Species Regulate Thermotolerance of Rice Seedlings via Induction of Heat Shock Factor A2 (Oshsfa2) and Galactinol Synthase 1 (Osgols1). *Agricultural Sciences*, 04(03), 154-164.
- Hussein, H.-A. A., & Alshammari, S. O. (2022). Cysteine Mitigates the Effect of NaCl Salt Toxicity in Flax (*Linum usitatissimum* L). Plants by Modulating Antioxidant Systems. *Scientific Reports*. 12(1), 11359.
- Imran, M., Widemann, E., Shafiq, S., Bakhsh, A., Chen, X., & Tang, X. (2024). Salicylic Acid and Melatonin Synergy Enhances Boron Toxicity Tolerance via ASA–GSH Cycle and Glyoxalase System Regulation in Fragrant Rice. *Metabolites*, 14(10).
- Jana, G. A., Krishnamurthy, P., Kumar, P. P., & Yaish, M. W. (2020). Functional Characterization and Expression Profiling of Glyoxalase III Genes in Date Palm Grown Under Abiotic Stresses. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 780-794.
- Janowska, M. K., Baughman, H. E., Woods, C. N., & Klevit, R. E. (2019). Mechanisms of

- Small Heat Shock Proteins. Cold Spring Harbor *Perspectives in Biology*, 11(10), a034025.
- Jespersen, D., Yu, J., & Huang, B. (2017). Metabolic Effects of Acibenzolar-S-Methyl for Improving Heat or Drought Stress in Creeping Bentgrass. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Jha, R. K., & Mishra, A. (2021). Introgression of SbERD4 Gene Encodes an Early-Responsive Dehydration-Stress Protein That Confers Tolerance Against Different Types of Abiotic Stresses in Transgenic Tobacco. *Cells*, 11(1), 62.
- Ji, X., Liu, G., Liu, Y., Zheng, L., Nie, X., & Wang, Y. (2013). The BZIP Protein From Tamarix Hispidula, Thbzip1, Is ACGT Elements Binding Factor That Enhances Abiotic Stress Signaling in Transgenic *Arabidopsis*. *BMC Plant Biology*, 13(1).
- Jiang, Y., Zheng, Q., Chen, L., Liang, Y., & Wu, J. (2018). Ectopic Overexpression of Maize Heat Shock Transcription Factor Gene ZmHsf04 Confers Increased Thermo and Salt-Stress Tolerance in Transgenic *Arabidopsis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 9.
- Joshi, R. (2018). Biosynthesis of Protein in Plants Under Different Environmental Factors. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(2d), 261-264.
- Jumrani, K. & Bhatia, V. S. (2019). Interactive Effect of Temperature and Water Stress on Physiological and Biochemical Processes in Soybean. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(3), 667-681.
- Kadioglu, A., Saruhan, N., Sağlam, A., Terzi, R., & Acet, T. (2011). Exogenous Salicylic Acid Alleviates Effects of Long Term Drought Stress and Delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant System. *Plant Growth Regulation*, 64(1), 27-37.
- Kang, Y., Lee, K., Hoshikawa, K., Kang, M., & Jang, S. (2022). Molecular Bases of Heat Stress Responses in Vegetable Crops with Focusing on Heat Shock Factors and Heat Shock Proteins. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Kaur, C., Ghosh, A., Pareek, A., Sopory, S. K., & Singla-Pareek, S. L. (2014). Glyoxalases and Stress Tolerance in Plants. *Biochemical Society Transactions*, 42(2), 485–490.
- Kaya, C., Murillo-Amador, B., & Ashraf, M. (2020). Involvement of L-Cysteine Desulphydrase and Hydrogen Sulfide in Glutathione-Induced Tolerance to Salinity by Accelerating Ascorbate-Glutathione Cycle and Glyoxalase System in Capsicum. *Antioxidants. (Basel, Switzerland)*, 9(7), 603.
- Kazerooni, E. A., Maharachchikumbura, S. S. N., Adhikari, A., Al-Sadi, A. M., Kang, S. M., Kim, L. R., & Lee, I. J. (2021). Rhizospheric *Bacillus Amyloliquefaciens* Protects *Capsicum annuum* cv. *Geumsugangsan* From Multiple Abiotic Stresses via Multifarious Plant Growth-Promoting Attributes. *Frontiers in Plant Science*, 12, 669693.
- Khalaf, R. A., Abdullah, K. M., Khalaf, A. A., & Al-Fatlawi, M. M. (2023). Improving the Chemical Content and Mineral Elements of Drought Stressed (*Moringa oleifera* L.) by Application of Glutathione and Bio-Fertilizer. *Iop Conference Series Earth and*

Environmental Science. 1225(1), 012021.

- Khan, M. R., Alzuaibr, F. M., Al-Huqail, A. A., Siddiqui, M. H., Ali, H. M., Al-Muwayhi, M. A. R., & Al-Haque, H. N. (2018). Hydrogen Sulfide-Mediated Activation of O-Acetylserine (Thiol) Lyase and L/D-Cysteine Desulfhydrase Enhance Dehydration Tolerance in *Eruca sativa* Mill. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 3981.
- Khan, A., Numan, M., Khan, A. L., Lee, I., Imran, M., Asaf, S., & Al-Harrasi, A. (2020). Melatonin: Awakening the Defense Mechanisms During Plant Oxidative Stress. *Plants*. (Basel, Switzerland), 9(4), 407.
- Kidwai, M., Singh, P., Dutta, P., Chawda, K., & Chakrabarty, D. (2021). Molecular Mechanisms of Heat Shock Proteins for Sustainable Plant Growth and Production. In: Husen, A. (eds) Harsh Environment and Plant Resilience. *Springer, Cham*. (pp. 141–169). https://doi.org/10.1007/978-3-030-65912-7_7
- Kim, Y. O., Gwon, Y., & Kim, J. (2022). Exogenous Cysteine Improves Mercury Uptake and Tolerance in *Arabidopsis* by Regulating the Expression of Heavy Metal Chelators and Antioxidative Enzymes. *Frontiers in Plant Science*, 13: 898247.
- Kishor, P. B. K., Tiozon, R. N., Fernie, A. R., & Sreenivasulu, N. (2022). Absciscic Acid and Its Role in the Modulation of Plant Growth, Development, and Yield Stability. *Trends in Plant Science*, 27(12), 1283-1295.
- Krishna, P., & Gloor, G. (2001). The Hsp90 Family of Proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Stress & Chaperones*, 6: 238-246.
- Kumar, D., & Chattopadhyay, S. (2018). Glutathione Modulates the Expression of Heat Shock Proteins via the Transcription Factors BZIP10 and MYB21 in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 69(15), 3729–3743.
- Kumar, D., Rajwanshi, R., Singh, P., Yusuf, M., & Sarin, N. B. (2022). Pyramiding of γ -TMT and Gly I Transgenes in *Brassica juncea* Enhances Salinity and Drought Stress Tolerance. *Physiologia Plantarum*. 174(1), e13618.
- Kumar, A., Prasad, A., Sedlářová, M., & Pospíšil, P. (2023). Malondialdehyde Enhances Psbp Protein Release During Heat Stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 202, 107984.
- Kunita, I., Morita, M. T., Toda, M., & Higaki, T. (2021). A Three-Dimensional Scanning System for Digital Archiving and Quantitative Evaluation of *Arabidopsis* Plant Architectures. *Plant and Cell Physiology*. 62(12), 1975–1982.
- Li, T., Cheng, X., Wang, Y., Yin, X., Li, Z., Liu, R., & Wang, Y. (2019). Genome-Wide Analysis of Glyoxalase-Like Gene Families in Grape (*Vitis vinifera* L.) and Their Expression Profiling in Response to Downy Mildew Infection. *BMC Genomics*, 20(1).
- Li, C., Han, Y., Hao, J., Qin, X., Liu, C., & Su, F. (2020). Effects of Exogenous Spermidine on Antioxidants and Glyoxalase System of Lettuce Seedlings Under High Temperature. *Plant Signaling & Behavior*. 15(12), 1824697.

- Li, N., Euring, D., Yung, J., Zeng, L., Lu, M.-Z., Huang, L., & Kim, W. Y. (2021). Plant Hormone-Mediated Regulation of Heat Tolerance in Response to Global Climate Change. *Frontiers in Plant Science*, 11, 627969.
- Li, Z. G. (2022). Role of Methylglyoxal and Its Detoxification System in Plant Thermotolerance. *Acta Physiologica Plantarum*, 44: 69.
- Li, Z., Cheng, B., Zhao, Y., Luo, L., Zhang, Y., Feng, G., Han, L., Peng, Y., & Zhang, X. (2022). Metabolic Regulation and Lipidomic Remodeling in Relation to Spermidine-induced Stress Tolerance to High Temperature in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12247.
- Lian, Q., Hüttel, B., Walkemeier, B., Mayjonade, B., Roques, C., Gil, L., Roux, F., Schneeberger, K., & Mercier, R. (2023). A Pan-Genome of 72 *Arabidopsis thaliana* Accessions Reveals a Conserved Genome Structure Throughout the Global Species Range. *Nature Genetics*, 56(5), 982-991.
- Liu, G., Wang, J., Hou, Y., Huang, Y., Li, C., Li, L., & Hu, S. (2017). Improvements of Modified Wheat Protein Disulfide Isomerases With Chaperone Activity Only on the Processing Quality of Flour. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 568–581.
- Lobell, D. B., Schlenker, W., & Costa-Roberts, J. (2011). Climate Trends and Global Crop Production Since 1980. *Science*, 333(6042), 616–620.
- Luo, H., Xu, H., Chu, C., He, F., & Fang, S. (2020). High Temperature Can Change Root System Architecture and Intensify Root Interactions of Plant Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 11, 160.
- Luo, P., Wu, J., Li, T.-T., Shi, P., Ma, Q., & Di, D.-W. (2024). An Overview of the Mechanisms Through Which Plants Regulate ROS Homeostasis Under Cadmium Stress. *Antioxidants*, 13(10).
- Lü, Y., Li, Y., Zhou, Z., Wang, M., Wang, X., Zhang, S., & Sun, Q. (2021). The Thiol-Disulfide Exchange Activity of Atpdi1 Is Involved in the Response to Abiotic Stresses. *BMC Plant Biology*, 21(1).
- Maessen, D. E., Stehouwer, C. D., & Schalkwijk, C. G. (2015). The Role of Methylglyoxal and the Glyoxalase System in Diabetes and Other Age-Related Diseases. *Clinical Science* (London, England: 1979), 128(12), 839–861.
- Masum, A. A., Arman, M. S., & Ghosh, A. (2024). Methylglyoxal Detoxifying Gene Families in Tomato: Genome-Wide Identification, Evolution, Functional Prediction, and Transcript Profiling. *Plos One*, 19(6), e0304039.
- Medina, E., Kim, S., Yun, M. P., & Choi, W. (2021). Recapitulation of the Function and Role of ROS Generated in Response to Heat Stress in Plants. *Plants. (Basel, Switzerland)*, 10(2), 371.
- Mei, J., Che, J., Shi, Y., Fang, Y., Wu, R., & Zhu, X. (2024). Mapping the Influence of Light Intensity on the Transgenerational Genetic Architecture of *Arabidopsis thaliana*. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(8), 8148–8169.

- Mijiti, M., Wang, Y., Rui, W., & Habuding, X. (2022). Tamarix Hispida NAC Transcription Factor ThNAC4 Confers Salt and Drought Stress Tolerance to Transgenic *Tamarix* and *Arabidopsis*. *Plants. (Basel, Switzerland)*, 11(19), 2647.
- Minari, K.; Balasco Serrão, V.H.; Borges, J.C. (2024). New Insights Into Hsp90 Structural Plasticity Revealed by Cryoem. *BioChem*, 4, 62-89.
- Mishra, S.K., Chaudhary, C., Baliyan, S., Poonia, A. K., Sirohi, P., Kanwar, M., Gazal, S., Kumari, A., Sircar, D., Germain, H., & Chauhan, H. (2024). Heat-Stress-Responsive HvHSFA2e Gene Regulates the Heat and Drought Tolerance in Barley Through Modulation of Phytohormone and Secondary Metabolic Pathways. *Plant Cell Report*, 43, 172.
- Mohammad, L. (2020). The Glyoxalase 1 – Methylglyoxal Pathway Regulates Neurite Development of Cerebral Cortical Neurons in the Mammalian Brain. Master's thesis, University of Calgary, Calgary, Canada.
- Mohiuddin, M., Siddiqui, M. N., Rahman, M. M., Jagadish, K. S. V, Ahmed, J. U., & Islam, T. (2022). Heat-Induced Oxidative Damage Is Ameliorated by Enhanced Antioxidants Activity in the Tolerant Wheat Variety.
- Moller, I. M., Jensen, P. E., & Hansson, A. (2007). Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 459-481.
- Mondal, K., Kar, R.K., Chakraborty, A., & Dey, N. (2024). Concurrent Effect of Drought and Heat Stress in Rice (*Oryza Sativa* L.): Physio-Biochemical and Molecular Approach. *3 Biotech*, 14, 132.
- Mostofa, M.G., Hossain, M.A., & Fujita, M. (2015). Trehalose Pretreatment Induces Salt Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) Seedlings: Oxidative Damage and Co-Induction of Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems. *Protoplasma*, 252, 461–475.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays With Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
- Musawira, Miftahudin, Tjahjoleksono, A., & Hamim (2023). Enhanced Tolerance of Ipb Cp1 Potato (*Solanum tuberosum* L.) Transgenic Expressing Superoxide Dismutase Gene Under High Temperature Stress. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1271(1), 012096.
- Mushtaq, N. U., Wang, Y., Fan, J., Li, Y., & Ding, J. (2022). Down-Regulation of Cytokinin Receptor Gene SIHK2 Improves Plant Tolerance to Drought, Heat, and Combined Stresses in Tomato. *Plants. (Basel, Switzerland)*, 11(2), 154.
- Nagai, T., Kawai, N., Gonda, M., Iida, K., Etani, T., Kobayashi, D., Naiki, T., Naiki-Ito, A., Ando, R., Yamaguchi, S., Sugahara, Y., Ueno, S., Tsutsumiuchi, K., Imae, T., & Yasui, T. (2023). Role of HIKESHI on Hyperthermia for Castration-Resistant Prostate Cancer and Application of a Novel Magnetic Nanoparticle with Carbon Nanohorn for Magnetic Hyperthermia. *Pharmaceutics*. 15(2), 626.
- Nasibi, F., Kalantari, K.M., Zanganeh, R., Mohammadinejad, G., & Oloumi, H. (2016). Seed

- Priming With Cysteine Modulates the Growth and Metabolic Activity of Wheat Plants Under Salinity and Osmotic Stresses at Early Stages of Growth. *Indian Journal of Plant Physiology*, 21, 279–286.
- Neto, A. P. dos A., Oliveira, G. R. F. de, Mello, S. da C., Silva, M. S. da, Gomes-Júnior, F. G., Novembre, A. D. da L. C., & Azevedo, R. A. (2020). Seed Priming With Seaweed Extract Mitigate Heat Stress in Spinach: Effect on Germination, Seedling Growth, and Antioxidant Capacity. *Bragantia*, 79(4), 502-511.
- Nguyen, T. M., Bressac, C., & Chevrier, C. (2013). Heat Stress Affects Male Reproduction in a Parasitoid Wasp. *Journal of Insect Physiology*, 59, 248–254.
- Nguyen, T. T., Nguyen, P. L., Park, S., Jung, C. H., & Jeon, T. (2024). Hydrogen Sulfide and Liver Health: Insights into Liver Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 40(1-3), 122-144.
- Pantoja-Benavides, A. D., Garces-Varon, G., & Restrepo-Díaz, H. (2021). Foliar Growth Regulator Sprays Induced Tolerance to Combined Heat Stress by Enhancing Physiological and Biochemical Responses in Rice. *Frontiers in Plant Science*, 12, 702892.
- Park, S. Y., Suh, K. S., Jung, W., & Chin, S. O. (2021). Spironolactone Attenuates Methylglyoxal-Induced Cellular Dysfunction in MC3T3-E1 Osteoblastic Cells. *Journal of Korean Medical Science*, 36(38).
- Pei, X., Zhang, Y., Zhu, L., Zhao, D., Lu, Y., & Zheng, J. (2021). Physiological and Transcriptomic Analyses Characterized High Temperature Stress Response Mechanisms in *Sorbus pohuashanensis*. *Scientific Reports*, 11(1), 10117.
- Pérez-Patricio, M., Camas-Anzueto, J., Sanchez-Alegría, A., Aguilar-González, A., Gutiérrez-Miceli, F. A., Escobar-Gómez, E. N., & Grajales-Coutiño, R. (2018). Optical Method for Estimating the Chlorophyll Contents in Plant Leaves. *Sensors*, 18(2), 650.
- Perveen, S., Iqbal, N., Saeed, M., Zafar, S., & Arshad, Z. (2018). Role of Foliar Application of Sulfur-Containing Compounds on Maize (*Zea mays* L. Var. Malka and Hybrid Dtc) Under Salt Stress. *Brazilian Journal of Botany*, 41(4), 805-815.
- Poór, P., Nawaz, K., Gupta, R., Ashfaq, F., & R. Khan, M. I. (2021). Ethylene Involvement in the Regulation of Heat Stress Tolerance in Plants. *Plant Cell Reports*, 41(3), 675–698.
- Porter, S. S., Bantay, R. M., Friel, C. A., Garoutte, A., Gdanetz, K., Ibarreta, K., Moore, B. M., Shetty, P., Siler, E., & Friesen, M. (2020). Beneficial Microbes Ameliorate Abiotic and Biotic Sources of Stress on Plants. *Functional Ecology*, 34(10), 2075-2086.
- Pradhan, A. K., Aher, L., Hegde, V., Jangid, K. K., & Rane, J. (2022). Cooler Canopy Leverages Sorghum Adaptation to Drought and Heat Stress. *Scientific Reports*, 12(1), 4603.
- Principato, G. B., Rosi, G., Talesa, V., Giovanni, E., & Uotila, L. (1987). Purification and characterization of two forms of glyoxalase II from the liver and brain of Wistar rats.

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology, 911(3), 349-355.

- Qian, Y., Xi, Y., Xia, L., Qiu, Z., Liu, L., & Ma, H. (2023). Membrane-Bound Transcription Factor ZmNAC074 Positively Regulates Abiotic Stress Tolerance in Transgenic *Arabidopsis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22); 16157.
- Rabbani, N., Xue, M., & Thornalley, P. J. (2016). Methylglyoxal-Induced Dicarbonyl Stress in Aging and Disease: First Steps Towards Glyoxalase 1-Based Treatments. *Clinical Science* (London, England: 1979), 130(19), 1677–1696.
- Rajwanshi, R., Kumar, D., Yusuf, M., DebRoy, S., & Sarin, N. B. (2016). Stress-Inducible Overexpression of Glyoxalase I Is Preferable to Its Constitutive Overexpression for Abiotic Stress Tolerance in Transgenic *Brassica juncea*. *Molecular Breeding*, 36(6).
- Ramegowda, V., Senthil-Kumar, M., Udayakumar, M., & Mysore, K. S. (2013). A High-Throughput Virus-Induced Gene Silencing Protocol Identifies Genes Involved in Multi-Stress Tolerance. *BMC Plant Biology*, 13(1).
- Rao, K.M., Sresty, T.V.S. (2000). Antioxidative Parameters in the Seedlings of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses. *Plant Science*, 157(1), 113–128.
- Rasool, S., Alhaithloul, H. A. S., Shahzad, S., Rasul, F., Lihong, W., Shah, A. N., Nawaz, M., Ghafoor, A., Aamer, M., Hassan, M. U., Ercisli, S., Alharbi, R. S., Rashed, A. A., & H Qari, S. (2024). Mitigation of Salinity Stress and Lead Toxicity in Maize by Exogenous Application of the Sorghum Water Extract. *Acs Omega*. 9(11), 13041–13050.
- Raza, A., Charagh, S., Abbas, S., Hassan, M. U., Saeed, F., Haider, S., Sharif, R., Anand, A., Corpas, F. J., Jin, W., & Varshney, R. K. (2023). Assessment of Proline Function in Higher Plants Under Extreme Temperatures. *Plant Biology. (Stuttgart, Germany)*, 25(3), 379–395.
- Reiser, L., Bakker, E., Subramaniam, S., Chen, X., Sawant, S., Khosa, K., & Berardini, T. Z. (2024). The *Arabidopsis* Information Resource in 2024. *Genetics*, 227(1).
- Riechmann, J. L., Heard, J., Martin, G., Reuber, L., Jiang, C., Keddie, J., Adam, L., Pineda, O., Ratcliffe, O. J., Samaha, R. R., Creelman, R., Pilgrim, M., Broun, P., Zhang, J. Z., Ghandehari, D., Sherman, B. K., & Yu, G. (2000). *Arabidopsis* Transcription Factors: Genome-Wide Comparative Analysis Among Eukaryotes. *Science* (New York, N.Y.), 290(5499), 2105–2110.
- Rodriguez-Vera, A. P., Acosta-Gallegos, J. A., Ruiz-Nieto, J. E., & Montero-Tavera, V. (2020). Selection by Genetic Expression Profiles of Desi and Kabuli Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Genotypes Tolerant to High Temperature Stress. *Legume Research - An International Journal*. (OF). <https://doi.org/10.18805/lr-541>
- Rysiak, A., Dresler, S., Hanaka, A., Hawrylak-Nowak, B., Strzemiński, M., Kováčik, J., Sowa, I., Latański, M., & Wójciak, M. (2021). High Temperature Alters Secondary Metabolites and Photosynthetic Efficiency in *Heracleum sosnowskyi*. *International*

Journal of Molecular Sciences, 22(9), 4756.

- Sadak, M. S., El-Hameid, A. R. A., Zaki, F. S. A., Dawood, M., & El-Awadi, M. E. (2019). Physiological and Biochemical Responses of Soybean (*Glycine max* L.) to Cysteine Application Under Sea Salt Stress. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1).
- Sadak, M.S., & Ramadan, A.A.EM. (2021). Impact of Melatonin and Tryptophan on Water Stress Tolerance in White Lupine (*Lupinus termis* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27, 469–481.
- Sadiq, I. Z., Abubakar, F. S., Hassan, H. A., & Ibrahim, M. (2020). Working With Bioactive Substances From Medicinal Plants in Animals. *South Asian Research Journal of Natural Products*, 3(2), 78–88.
- Sadok, W., López, J. R., & Smith, K. P. (2020). Transpiration Increases Under High-Temperature Stress: Potential Mechanisms, Trade-Offs and Prospects for Crop Resilience in a Warming World. *Plant Cell & Environment*. 44(7), 2102–2116.
- Salam, U., Ullah, S., Tang, Z., Elateeq, A., Khan, Y., Khan, J., Khan, A., & Ali, S. (2023). Plant Metabolomics: An Overview of the Role of Primary and Secondary Metabolites Against Different Environmental Stress Factors. *Life. (Basel, Switzerland)*, 13(3), 706.
- Sankaranarayanan, S., Jamshed, M., Abhinandan, K., Skori, L., Scandola, S., Wang, T., Spiegel, D. A., & Samuel, M. A. (2017). Glyoxalase Goes Green: The Expanding Roles of Glyoxalase in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(4), 898.
- Saxena, M. (2011). Overexpression of the Glyoxalase II Gene Leads to Enhanced Salinity Tolerance in *Brassica juncea*. *The Open Plant Science Journal*, 5(1), 23-28.
- Seling, T. I., Maseko, S. T., Gabier, H., Rafudeen, M. S., Muasya, A. M., Crespo, O., Ogola, J. B. O., Valentine, A. J., Ottosen, C., Rosenqvist, E., & Chimphango, S. B. M. (2022). Regulation and Physiological Function of Proteins for Heat Tolerance in Cowpea (*Vigna unguiculata*) Genotypes Under Controlled and Field Conditions. *Frontiers in Plant Science*. 13, 954527.
- Shaffique, S., Khan, M. A., Wani, S. H., Pande, A., Imran, M., Kang, Sang-Mo, Rahim, W., Khan, S., Bhatta, D., Kwon, E.-H., & Lee, I. (2022). A Review on the Role of Endophytes and Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Mitigating Heat Stress in Plants. *Microorganisms*. 10(7), 1286.
- Sheikhi, S., Ebrahimi, A., Heidari, P., Amerian, M. R., Monfared, S. R., & Alipour, H. (2022). Exogenous 24-Epibrassinolide Ameliorates Tolerance to High-Temperature by Adjusting the Biosynthesis of Pigments, Enzymatic, Non-Enzymatic Antioxidants, and Diosgenin Content in Fenugreek. *Scientific Reports*, 13(1), 6661.
- Shi, J., Gao, H., Wang, H., Lafitte, H., Archibald, R. L., Yang, M., & Habben, J. E. (2016). Argos8 Variants Generated by CRISPR-Cas9 Improve Maize Grain Yield Under Field Drought Stress Conditions. *Plant Biotechnology Journal*, 15(2), 207-216.
- Shu, W., Yu, J., Wang, H., Yu, A., Xiao, L., Li, Z., Zhang, H., Zhang, Y., & Wu, Y. (2022). Rational Design of a Reversible Fluorescent Probe for Sensing GSH in Mitochondria.

Analytica Chimica Acta, 1220, 340081.

- Siraj, M., Thulaseedharan, A., & Augustine, A. (2016). Glyoxalase I Expression Pattern in *Hevea brasiliensis* Seedlings Under Varied Stress Conditions. *African Journal of Biotechnology*, 15(11), 376-383.
- Soares, C., & Knuckley, B. (2016). Mechanistic Studies of the Agmatine Deiminase From *Listeria monocytogenes*. *Biochemical Journal*, 473(11), 1553-1561.
- Soengas, P., Rodríguez, V. M., Velasco, P., & Cartea, M. E. (2018). Effect of Temperature Stress on Antioxidant Defenses in *Brassica oleracea*. *ACS Omega*, 3(5), 5237-5243.
- Somerville, C., & Koornneef, M. (2002). A Fortunate Choice: The History of *Arabidopsis* as a Model Plant. *Nature Reviews. Genetics*, 3(11), 883-889.
- Song, H., Zhao, R., Fan, P., Wang, X., Chen, X., & Li, Y. (2009). Overexpression of AtHsp90.2, AtHsp90.5, and AtHsp90.7 in *Arabidopsis thaliana* Enhances Plant Sensitivity to Salt and Drought Stresses. *Planta*, 229(4), 955-965.
- Song, L., Jiang, Y., Zhao, H., & Hou, M. (2012). Acquired Thermotolerance in Plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 111, 265-276.
- Stockenhuber, R., Akiyama, R., Tissot, N., Yamazaki, M., Wyler, M., Arongaus, A. B., Podolec, R., Sato, Y., Milosavljevic, S., Widmer, A., Ulm, R., & Shimizu, K. (2021). The UV Resistance Locus 8-Mediated UV-B Response Is Required Alongside Cryptochrome1 for Plant Survival Under Sunlight in the Field. *Plant & cell physiology*, 65(1), 35-48.
- Subburaj, S., Zhu, D., Li, X., Hu, Y., & Yan, Y. (2017). Molecular Characterization and Expression Profiling of Brachypodium Distachyon L. Cystatin Genes Reveal High Evolutionary Conservation and Functional Divergence in Response to Abiotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Sudnitsyna, M. V., & Gusev, N. B. (2017). Methylglyoxal and Small Heat Shock Proteins. *Biochemistry (Mosc)*, 82(7); 751-759.
- Sun, C., Gao, X., Li, M. Q., Fu, J., & Zhang, Y. L. (2015). Plastic Responses in the Metabolome and Functional Traits of Maize Plants to Temperature Variations. *Plant Biology*, 18(2), 249-261.
- Sun, M., Sun, S., Jia, Z., Zhang, H., Ou, C., Ma, W., & Mao, P. (2023). Genome-Wide Analysis and Expression Profiling of Glyoxalase Gene Families in Oat (*Avena sativa*) Indicate Their Responses to Abiotic Stress During Seed Germination. *Frontiers in Plant Science*, 14.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., & Mittler, R. (2014). Abiotic and Biotic Stress Combinations. *New Phytologist*, 203(1), 32-43.
- Swarbreck, D., Wilks, C., Lamesch, P., Berardini, T. Z., Garcia-Hernandez, M., Foerster, H., Li, D., Meyer, T., Muller, R., Ploetz, L., Radenbaugh, A., Singh, S., Swing, V., Tissier, C., Zhang, P., & Huala, E. (2008). The *Arabidopsis* Information Resource

- (TAIR): Gene Structure and Function Annotation. *Nucleic Acids Research*, 36(Database issue), D1009–D1014.
- Talaat, N., Mostafa, A., & El-Rahman, S. (2022). A Novel Plant Growth–Promoting Agent Mitigates Salt Toxicity in Barley (*Hordeum vulgare* L.) by Activating Photosynthetic, Antioxidant Defense, and Methylglyoxal Detoxification Machineries. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(1), 308–324.
- Talaat, N. B., & Todorova, D. (2022). Antioxidant Machinery and Glyoxalase System Regulation Confers Salt Stress Tolerance to Wheat (*Triticum aestivum* L.) Plants Treated With Melatonin and Salicylic Acid. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 22(3), 3527–3540.
- Takahashi, H., Kopriva, S., Giordano, M., Saito, K., & Hell, R. (2011). Sulfur assimilation in photosynthetic organisms: Molecular functions and regulations of transporters and assimilatory enzymes. *Annual Review of Plant Biology*, 62, 157–184.
- Tang, S., Ling, Q., Ma, Q., Cheng, Y., Mei, P., Miao, Y., Pan, Y., Jia, Y., Wu, M., Yong, X., & Jiang, B. (2024). *LrHSP17.2* plays an important role in abiotic stress responses by regulating ROS scavenging and stress-related genes in *Lilium regale*. *Plants*, 13(17), 2416.
- Taratima, W., Chuanchumkan, C., Maneerattananarungroj, P., Trunjaruen, A., Theerakulpisut, P., & Dongsansuk, A. (2022). Effect of Heat Stress on Some Physiological and Anatomical Characteristics of Rice (*Oryza sativa* L.) Cv. KDML105 Callus and Seedling. *Biology*. 11(11), 1587.
- Teixeira, W. F., Fagan, E. B., Soares, L. H., Soares, J. N., Reichardt, K., & Neto, D. D. (2018). Seed and Foliar Application of Amino Acids Improve Variables of Nitrogen Metabolism and Productivity in Soybean Crop. *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Terzi, H. & Yıldız, M. (2021). Proteomic Analysis Reveals the Role of Exogenous Cysteine in Alleviating Chromium Stress in Maize Seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 209, 111784.
- Tian, Y., Ghausi, S. A., Zhang, Y., Zhang, M., Xie, D., Cao, Y., Mei, Y., Wang, G., Zhong, D., & Kleidon, A. (2023). Radiation as the Dominant Cause of High-Temperature Extremes on the Eastern Tibetan Plateau. *Environmental Research Letters*, 18(7); 074007.
- Ticha, T., Samakovli, D., Kuchařová, A., Vavrdová, T., Šamaj, J., & Dongsansuk, A. (2020). Multifaceted Roles of HEAT SHOCK PROTEIN 90 Molecular Chaperones in Plant Development. *Journal of Experimental Botany*, 71(14): 3966–3985.
- Tietze, F. (1969). Enzymic Method for Quantitative Determination of Nanogram Amounts of Total and Oxidized Glutathione: Applications to Mammalian Blood and Other Tissues. *Analytical Biochemistry*, 27(3), 502–522.
- Tiku, N. A. A. B. (2021). Oxidative Stress and Glyoxalase Pathway in Cancer. Handbook of Oxidative Stress in Cancer: *Mechanistic Aspects*, 1–18.

- Tocquin, P., Corbesier, L., Havelange, A., Pieltain, A., Kurtem, E., Bernier, G., & Périlleux, C. (2003). A novel high efficiency, low maintenance, hydroponic system for synchronous growth and flowering of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology* 3: 2.
- Toufighi, K., Brady, S. M., Austin, R., Ly, E., & Provart, N. J. (2005). The Botany Array Resource: E-Northerns, Expression Angling, and Promoter Analyses. *The Plant Journal for Cell and Molecular Biology*, 43(1), 153–163.
- Tufail, M. A., Ayyub, M., Irfan, M., Shakoor, A., Chibani, C. M., & Schmitz, R. A. (2022). Endophytic Bacteria Perform Better Than Endophytic Fungi in Improving Plant Growth Under Drought Stress: A Meta-Comparison Spanning 12 Years (2010–2021). *Physiologia Plantarum*. 174(6), e13806.
- Tuomainen, M., Ahonen, V., Kärenlampi, S., Paasela, T., Švanys, A., Tuohimetsä, S., & Tervahauta, A. (2011). Characterization of the Glyoxalase 1 Gene TcGLX1 in the Metal Hyperaccumulator Plant *Thlaspi caerulescens*. *Planta*, 233(6), 1173–1184.
- Umar, O. B., Ranti, L. A., Abdulbaki, A. S., Bola, A. L., Abdulhamid, A. K., Biola, M. R., & Victor, K. O. (2022). Stresses in plants: biotic and abiotic. Current Trends in Wheat Research. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.100501
- URL-1. (2004, Kasım 13). İklim Değişikliği: <https://iklim.gov.tr/ss/iklim-degisikligi> adresinden alınmıştır.
- Varapizuela-Sánchez, C., Sánchez-Medina, M. A., Canseco, M. d. S. P., Rosas-Murrieta, N. H., Pérez-Santiago, A. D., & García-Montalvo, I. A. (2022). Glyoxalase I (GLX-I) Analysis in Native Maize From Oaxaca, Mexico, Infected with *Aspergillus flavus* in Vitro. *Revista De La Facultad De Agronomía, Universidad Del Zulia*, 39(4), e223946.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Poly-Amines. *Plant Science*, 151, 59–66.
- Verstraete, J., Strobbe, S., Straeten, D. Van Der, & Stove, C. (2020). The First Comprehensive LC–MS/MS Method Allowing Dissection of the Thiamine Pathway in Plants. *Analytical Chemistry*. 92(5), 4073–4081.
- Vidya, S. M., Ravishankar, K. V., & Laxman, R. H. (2018). Genome-Wide Analysis of Heat Responsive MicroRNAs in Banana During Acquired Thermotolerance. *Journal of Horticultural Sciences*, 13(1), 61–71.
- Waqas, M., Kaya, C., Riaz, A., Farooq, M., Nawaz, I., Wilkes, A., & Li, Y. (2019). Potential mechanisms of abiotic stress tolerance in crop plants induced by thiourea. *Frontiers in Plant Science*, 10.
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., Mumtaz, S., Yasin, G., Muresan, C. C., & Marc, R. A. (2022). Plants' Physio-Biochemical and Phyto-Hormonal Responses to Alleviate the Adverse Effects of Drought Stress: A Comprehensive Review. *Plants*, 11(13).
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Heat Tolerance in Plants: An

- Overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), 199-223.
- Wang, W., Cang, L., Zhou, D., & Yu, Y. (2016). Exogenous Amino Acids Increase Antioxidant Enzyme Activities and Tolerance of Rice Seedlings to Cadmium Stress. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 36(1), 155-161.
- Wang, X. J., Su, X., Li, J. M., & Zhu, P. (2020). Changes of Lipid Metabolism of *Arabidopsis thaliana* in Response to Oligochitosan Treatment. *Biologia Plantarum*, 64, 43-49.
- Wang, W., Yang, L., Deng, L., Yao, S., & Zeng, K. (2023). Effect of L-Cysteine Treatment to Induce Postharvest Disease Resistance of *Monilinia fructicola* in Plum Fruits and the Possible Mechanisms Involved. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 191, 105367.
- Wiedemann, G., Koprivova, A., Schneider, M., Herschbach, C., Reski, R., & Kopriva, S. (2007). The role of the novel adenosine 5'-phosphosulfate reductase in regulation of sulfate assimilation of *Physcomitrella patens*. *Plant Molecular Biology*, 65(5), 667–676.
- Xing, J., Zhao, R., Zhang, Q., Huang, X., Yin, T., Zhang, J., & Xu, B. (2022). Genome-Wide Identification and Characterization of the LPSAPK Family Genes in Perennial Ryegrass Highlight LPSAPK9 as an Active Regulator of Drought Stress. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Xu, X., Song, H., Zhou, Z., Shi, N., Ying, Q., & Wang, H. (2010). Functional Characterization of *AtHsp90.3* in *Saccharomyces cerevisiae* and *Arabidopsis thaliana* Under Heat Stress. *Biotechnology Letters*, 32(7), 979–98.
- Xu, Z., Li, Z., Chen, Y., Chen, M., Li, L., & Ma, Y. (2012). Heat Shock Protein 90 in Plants: Molecular Mechanisms and Roles in Stress Responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 15706-15723.
- Xu, C., Yang, Z., Yang, S., Wang, L., & Wang, M. (2020). High Humidity Alleviates Photosynthetic Inhibition and Oxidative Damage of Tomato Seedlings Under Heat Stress. *Photosynthetica*, 58(1), 146-155.
- Xu, M., Zuo, D., Wang, Q., Lv, L., Zhang, Y., Jiao, H., & Cheng, H. (2023). Identification and Molecular Evolution of the Glx Genes in 21 Plant Species: A Focus on the *Gossypium hirsutum*. *BMC Genomics*, 24(1).
- Xue, J., Wang, Y., Yang, Z., Huang, Z., Yao, Y., Liu, L., Zeng, C., Liu, Z., & Yan, M. (2024). Exogenous Cysteine Alleviates Cadmium Stress Better Than Sulfate by Enhancing Nonenzymatic Antioxidant System in *Brassica juncea*. *Scientia Horticulturae*, 328, 112943.
- Yadav, S. K., Singla-Pareek, S. L., Reddy, M. K., & Sopory, S. K. (2005). Transgenic Tobacco Plants Overexpressing Glyoxalase Enzymes Resist an Increase in Methylglyoxal and Maintain Higher Reduced Glutathione Levels Under Salinity Stress. *FEBS Letters*, 579(27), 6265–6271.
- Yan, X., Wang, X., Yang, Y., Wang, Z., Zhang, H., Yang, L., & Yang, S. (2022). Cysteine

- Supplementation Enhanced Inhibitor Tolerance of *Zymomonas mobilis* for Economic Lignocellulosic Bioethanol Production. *Bioresource Technology*, 349, 126878.
- Yan, M., Yu, X., Gen, Z., Sun, D., Hu, Y., Huang, C., & Yu, S. (2022). Ghcdpk60 Positively Regulates Drought Stress Tolerance in Both Transgenic *Arabidopsis* and Cotton by Regulating Proline Content and ROS Level. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Yan, Z., Xu, J., Li, R., Ge, Y., Li, Y., & Li, R. (2023). Plants' Response to Abiotic Stress: Mechanisms and Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10915.
- Yu, B., Ming, F., Liang, Y., Wang, Y., Gan, Y., Qiu, Z., & Cao, B. (2022). Heat Stress Resistance Mechanisms of Two Cucumber Varieties From Different Regions. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1817.
- Yuan, Y., Song, T., Yu, J., Zhang, W., Hou, X., Ling, Z. K., & Cui, G. (2022). Genome-Wide Investigation of the Cysteine Synthase Gene Family Shows that Overexpression of Csase Confers Alkali Tolerance to Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*. 12, 792862.
- Yuan, Y., Cao, F., & Yuan, G. (2023). Fluorescent-Dye-Labeled Amino Acids for Real-Time Imaging in *Arabidopsis thaliana*. *Molecules. (Basel, Switzerland)*, 28(7), 3126.
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., Guo, Y. D. (2015). Roles of Melatonin in Abiotic Stress Resistance in Plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 647-656.
- Zhang, H., Gao, X., Zhi, Y., Xu, L., Zhang, Q., Niu, J., & He, S. (2019). A Non-Tandem CCCH-Type Zinc-Finger Protein, IBC3H18, Functions as a Nuclear Transcriptional Activator and Enhances Abiotic Stress Tolerance in Sweet Potato. *New Phytologist*, 223(4), 1918-1936.
- Zhang, H., Jiang, C., Wang, R., Zhang, L., Gai, R., Peng, S., & Ming, F. (2021). Insights Into Heat Response Mechanisms in Clematis Species: Physiological Analysis, Expression Profiles and Function Verification. *Plant Molecular Biology*, 106(6), 569-587.
- Zhao, J., Lu, Z., Wang, L., & Jin, B. (2020). Plant Responses to Heat Stress: Physiology, Transcription, Noncoding RNAs, and Epigenetics. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(1), 117.
- Zhou, Y., & Imlay, J. A. (2020). Escherichia Coli K-12 Lacks a High-Affinity Assimilatory Cysteine Importer. *mBio*, 11(3), e01073-20.
- Zhou, L., Zeng, W., Cheng, B., Huang, T., Peng, Y., & Zhang, X. (2020). Γ -Aminobutyric Acid Enhances Heat Tolerance Associated With the Change of Proteomic Profiling in Creeping Bentgrass. *Molecules*, 25(18), 4270.

ÖZGEÇMİŞ

Selda DURMUŞOĞLU Lise eğitimini 2009 yılında Akçaabat Anadolu Lisesinde tamamlamıştır. 2010-2011 öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimine başladı. 2015 yılında bu bölümden Fakülte ikincisi ve bölüm üçüncüsü olarak mezun oldu. 2015 yılında Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği anabilim dalında yüksek lisansa başladı ve 2018 yılında mezun oldu. 2018 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim dalında Prof. Dr. Asım KADIOĞLU danışmanlığında doktora başladı. Eylül 2020 tarihinden itibaren Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID:

Yazarın Ulusal ve Uluslararası Dergilerde Yayınlanmış Makaleleri:

Durmusoglu, S., Saglam, A., & Kadioglu, A. (2024). Chapter 13 - Modulation of HSPs by phytohormone applications. In M. A. Ahanger, J. A. Bhat, P. Ahmad, & R. John (Eds.), *Improving Stress Resilience in Plants* (pp. 277–295). *Academic Press*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18927-2.00007-8>

Öksüz, S., Şahin, E., & Dertli, E. (2018). Synthesis of Enantiomerically Enriched Drug Precursors by *Lactobacillus paracasei* BD87E6 as a Biocatalyst. *Chemistry & biodiversity*, 15(6), e1800028. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800028>

Nanotoxicology and Nanoecotoxicology Vol. 1, Tekmen Süleyman, Durmuşoğlu Selda, Yayın Yeri: Springer, Editör: Vineet Kumar, Praveen Guleria Shivendu Ranjan, Nandita Dasgupta, Eric Lichtfouse, Basım Sayısı: 1, Sayfa Sayısı: 333, ISBN: 978-3-030-63240-3, Bölüm Sayfaları: 21 – 55