

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DIŞARIDAN UYGULANAN L-SİSTEİN'İN BOR TOKSİSİTESİ  
KOŞULLARINDAKİ KARABUĞDAY BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE MİRAY ARDA

AĞUSTOS 2025  
TRABZON



**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**DIŞARIDAN UYGULANAN L-SİSTEİN'İN BOR TOKSİSİTESİ**  
**KOŞULLARINDAKİ KARABUĞDAY BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI**

**MERVE MİRAY ARDA**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce**  
**" YÜKSEK LİSANS (MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK) "**  
**Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 18 / 08 / 2025**

**Tezin Savunma Tarihi : 30 / 09 / 2025**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Aykut SAĞLAM**

**Trabzon 2025**

## ÖNSÖZ

“Dışarıdan Uygulanan L-Sistein’in Bor Toksisitesi Koşullarında Karabuğday Bitkisi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu yüksek lisans tezinin hazırlanmasında bilgi ve tecrübeleriyle bana her aşamada rehberlik eden, bilimsel bakış açımı geliştirmeme katkı sağlayan, sabrı ve destekleriyle çalışmalarımı yönlendiren çok değerli danışmanım Prof. Dr. Aykut SAĞLAM’a en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, akademik katkılarıyla tez çalışmama değerli katkılar sunan Prof. Dr. Asım KADIOĞLU’na teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca bilimsel ve akademik gelişimime önemli katkılar sunan, bilgi ve tecrübesiyle her aşamada yanımda olan, yönlendirmeleri ve yapıcı desteğiyle çalışmamın şekillenmesine katkı sağlayan Araştırmacı Dr. Dilek ÜNLÜER BİRİNCİ’ye teşekkür ederim. Ayrıca, laboratuvar ortamındaki katkıları, deneyimleri ve destekleriyle tez sürecine değerli katkılar sunan Araştırma Görevlisi Dr. Selda DURMUŞOĞLU, Araştırmacı Dr. Asiye SEZGİN MUSLU ve Sebahat Duygu GÜMRÜKÇÜ ŞİMŞEK’e teşekkür ederim.

Deneyisel süreçte birlikte çalıştığım, katkı ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili arkadaşlarım Ece Nisa İMAMOĞLU, Emine AYDIN ve Ezgi KOÇOĞLU’na da gönülden teşekkür ederim.

Son olarak, hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu süreçte de sevgileri, sabırları ve destekleriyle daima yanımda olan canım anneme ve babama; her zaman inancını ve desteğini hissettiren sevgili kardeşime en derin şükranlarımı sunuyorum. Bu başarı, onların sevgisi, emeği ve inancıyla anlam kazanmaktadır.

Merve Miray ARDA

Trabzon 2025

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Dışarıdan Uygulanan L-Sistein’in Bor Toksisitesi Koşullarında Karabuğday Bitkisi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Aykut SAĞLAM’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, 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. 30/09/2025

Merve Miray ARDA

## İÇİNDEKİLER

|                                                                  | <u>Sayfa No</u> |
|------------------------------------------------------------------|-----------------|
| ÖNSÖZ.....                                                       | III             |
| TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....                                        | IV              |
| İÇİNDEKİLER.....                                                 | V               |
| ÖZET .....                                                       | VIII            |
| SUMMARY .....                                                    | IX              |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                             | X               |
| TABLolar DİZİNİ.....                                             | XII             |
| SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                            | XIII            |
| 1. GENEL BİLGİLER .....                                          | 1               |
| 1.1. Giriş.....                                                  | 1               |
| 1.2. Karabuğday .....                                            | 5               |
| 1.2.1. Karabuğday'ın Kimyasal Bileşimi ve Kullanım Alanları..... | 7               |
| 1.3. Sistein.....                                                | 8               |
| 1.4. Klorofil İçeriği.....                                       | 10              |
| 1.5. Lipid Peroksidasyon.....                                    | 11              |
| 1.6. Yaprak Su Potansiyeli .....                                 | 12              |
| 1.7. Hidrojen Peroksit.....                                      | 12              |
| 1.8. Prolin .....                                                | 13              |
| 1.9. Fenolik Bileşikler .....                                    | 13              |
| 1.10. Çözünebilir Şekerler.....                                  | 14              |
| 1.11. Askorbik Asit .....                                        | 15              |
| 1.12. Antioksidan Enzimler.....                                  | 15              |
| 1.12.1. Askorbat Peroksidaz.....                                 | 16              |
| 1.12.2. Süperoksit Dismutaz .....                                | 16              |
| 1.12.3. Katalaz.....                                             | 17              |
| 1.13. Gen İfadeleri.....                                         | 18              |
| 1.13.1. Askorbat Oksidaz .....                                   | 18              |
| 1.13.2. Işık Yakalayan Klorofil b Bağlayıcı Protein.....         | 19              |
| 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....                                       | 20              |
| 2.1. Bitkinin Büyütülmesi, Borik Asit ve Sistein Uygulaması..... | 20              |

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2. Büyüme Parametreleri ve Morfolojik Değişimlerin İncelenmesi .....                      | 21 |
| 2.2.1. Kök ve Gövde Uzunlukları .....                                                       | 22 |
| 2.3. Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi .....                                          | 22 |
| 2.3.1. Nispi Su İçeriği .....                                                               | 22 |
| 2.3.2. Klorofil Tayini .....                                                                | 22 |
| 2.3.3. Lipid Peroksidasyon Tayini .....                                                     | 22 |
| 2.3.4. Prolin Tayini.....                                                                   | 23 |
| 2.3.5. Toplam Fenolik Tayini.....                                                           | 23 |
| 2.3.6. Toplam Şeker Tayini.....                                                             | 23 |
| 2.3.7. Hidrojen Peroksit İçeriği .....                                                      | 23 |
| 2.3.8. Askorbik Asit İçeriği.....                                                           | 24 |
| 2.3.9. DAB Boyama Yöntemi ile Hidrojen Peroksit Belirlenmesi .....                          | 24 |
| 2.3.10. NBT Boyama Yöntemi ile Süperoksit Radikali Belirlenmesi .....                       | 24 |
| 2.3.11. Protein İçeriği.....                                                                | 24 |
| 2.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri .....                                                   | 25 |
| 2.5.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi.....                                                  | 25 |
| 2.5.2. Katalaz Aktivitesi .....                                                             | 25 |
| 2.5.3. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi .....                                                 | 25 |
| 2.4. Moleküler Analizler .....                                                              | 26 |
| 2.4.1. Total RNA İzolasyonu .....                                                           | 26 |
| 2.4.2. cDNA Sentezi.....                                                                    | 26 |
| 2.4.3. Real Time PCR .....                                                                  | 27 |
| 2.5. İstatistiksel Analizler .....                                                          | 28 |
| 3. BULGULAR.....                                                                            | 29 |
| 3.1. Sistein Uygulamasını Bor Stresi Koşullarında Büyüme ve Gelişme Üzerine Etkileri.....   | 30 |
| 3.1.1. Kök-Gövde Uzunluğunun Belirlenmesi.....                                              | 30 |
| 3.1.2. Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi.....                                                | 32 |
| 3.2. Sistein ve Bor Stresi Uygulamasının Oksidatif Stres Göstergeleri Üzerine Etkileri..... | 33 |
| 3.2.1. Lipid Peroksidasyon İçeriğinin Belirlenmesi.....                                     | 33 |
| 3.2.2. Hidrojen Peroksit İçeriğinin Belirlenmesi .....                                      | 34 |
| 3.2.3. DAB Boyama Yöntemi ile H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Birkiminin Tespiti .....        | 35 |
| 3.2.4. NBT Boyama Yöntemi ile Süperoksit Radikalinin Belirlenmesi .....                     | 36 |
| 3.3. Bor Stresi ve Sistein Uygulamasının Ozmotik Denge Üzerine Etkileri.....                | 36 |

|          |                                                                                         |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3.1.   | Prolin İçeriğinin Belirlenmesi .....                                                    | 37 |
| 3.3.2.   | özünebilir Şeker İçeriğinin Belirlenmesi.....                                          | 38 |
| 3.3.3.   | Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi .....                                                  | 38 |
| 3.4.     | Sistein Uygulamasının Bor Stresi Koşullarında Antioksidan Savunma Sistemine Etkisi..... | 39 |
| 3.4.1.   | Askorbik Asit İçeriğinin Belirlenmesi .....                                             | 40 |
| 3.4.2.   | Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi .....                                            | 40 |
| 3.4.3.   | Askorbat Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....                               | 41 |
| 3.4.4.   | Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....                                           | 42 |
| 3.4.5.   | Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....                               | 43 |
| 3.5.     | Yapraktan Bor Analizi.....                                                              | 44 |
| 3.5.1.   | Sistein Uygulaması ile Bor Birikimi İlişkisi .....                                      | 44 |
| 3.6.     | Sistein Uygulamasının Bor Stresi Koşullarında Gen İfade Düzeyleri Üzerine Etkileri..... | 45 |
| 3.6.1.   | <i>AAO</i> Geninin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi.....                                 | 45 |
| 3.6.2.   | <i>LHCb</i> Geninin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi.....                                | 46 |
| 4.       | TARTIŞMA .....                                                                          | 48 |
| 5.       | SONUÇLAR.....                                                                           | 62 |
| 6.       | ÖNERİLER.....                                                                           | 64 |
| 7.       | KAYNAKLAR .....                                                                         | 65 |
| ÖZGEÇMİŞ |                                                                                         |    |

ÖZET

DIŞARIDAN UYGULANAN L-SİSTEİN'İN BOR TOKSİSİTESİ KOŞULLARINDA  
KARABUĞDAY BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve Miray ARDA

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Aykut SAĞLAM  
2025, 77 Sayfa

Bor (B) toksisitesi, hücre yapısını bozarak bitki büyüme ve gelişimini sınırlayan önemli bir abiyotik stres faktörüdür. Bu çalışmada, karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) üzerinde dışsal L-sistein uygulamasının bor toksisitesinin olumsuz etkilerini hafifletici rolü araştırılmıştır. Fideler 2 gün boyunca 100 µM L-sistein ile muamele edilmiş, ardından 5 gün süreyle 40 ppm borik asit uygulanarak bor stresi oluşturulmuştur. Bor toksisitesi, kök ve gövde uzunlukları ile klorofil a, b ve toplam klorofil içeriklerinde azalmaya yol açmıştır. L-sistein uygulaması bu etkileri hafifletmiş; lipid peroksidasyonu (MDA) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) seviyelerini düşürmüştür. Ayrıca prolin, toplam şeker ve toplam fenolik içerikler artmış; antioksidan enzim aktiviteleri (süperoksit dismutaz, katalaz, askorbat peroksidaz) yükselmiştir. Histokimyasal boyamalar, reaktif oksijen türlerinin birikiminde azalma olduğunu göstermiştir. Moleküler düzeyde, *LHCb* ve *AAO* gen ekspresyonlarının uygulamalara bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, L-sistein'in karabuğdayda bor toksisitesine karşı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde etkili bir stres azaltıcı olduğu ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Bor toksisitesi, L-sistein, Karabuğday, Antioksidan enzimler, Gen ekspresyonu

Master's Thesis

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF EXOGENOUSLY APPLIED L-CYSTEINE ON BUCKWHEAT (*FAGOPYRUM ESCULENTUM*) UNDER BORON TOXICITY CONDITIONS

Merve Miray ARDA

Karadeniz Technical University  
Institute of Science and Technology  
Department of Molecular Biology and Genetics  
Supervisor: Prof. Dr. Aykut SAĞLAM  
2025, 77 Pages

Boron (B) toxicity is a significant abiotic stress factor that disrupts cell structure and limits plant growth and development. This study investigated how exogenous L-cysteine application mitigates the adverse effects of boron toxicity on buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench).

Seedlings were treated with 100  $\mu$ M L-cysteine for 2 days, followed by the application of 40 ppm boric acid for 5 days to induce boron stress. The boron toxicity treatment led to a decrease in root and stem lengths, as well as chlorophyll a, b, and total chlorophyll content. L-cysteine administration mitigated these effects by reducing lipid peroxidation (MDA) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) levels. Additionally, proline, total sugar, and total phenolic content increased, while antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase, catalase, and ascorbate peroxidase) rose. Histochemical staining also showed a decrease in reactive oxygen species accumulation.

At the molecular level, the expression of *LHCb* and *AAO* genes varied depending on the treatment. In conclusion, L-cysteine effectively reduces stress caused by boron toxicity in buckwheat, impacting physiological, biochemical, and molecular levels.

**Keywords:** Boron toxicity, L-cysteine, Buckwheat, Antioxidant enzymes, Gene expression

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                           | <u>Sayfa No</u> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Şekil 1. Abiyotik ve biyotik stresler hakkında genel bakış .....                                                                          | 1               |
| Şekil 2. Borun bitkilerde taşınımı ve fizyolojik etkileri .....                                                                           | 4               |
| Şekil 3. <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench, <i>Fagopyrum tataricum</i> Gaerth<br>bitkilerinin anatomik görünümleri .....                 | 6               |
| Şekil 4. Sistein ve bor uygulamalarının karabuğday fidelerinin morfolojik gelişimi<br>üzerine etkileri. ....                              | 29              |
| Şekil 5a. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının kök ve gövde uzunluklarına<br>etkisi.....                                              | 31              |
| Şekil 5b. Sistein ve bor uygulamalarının karabuğday fidelerinin gelişimi<br>üzerindeki morfolojik etkileri... ..                          | 31              |
| Şekil 6. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının klorofil içeriğine etkisi.....                                                          | 33              |
| Şekil 7. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının MDA içeriğine etkisi.. ..                                                               | 34              |
| Şekil 8. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> içeriğine etkisi.. ..                                     | 35              |
| Şekil 9. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının DAB boyama yöntemi ile H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>birikimi içeriğine etkisi. .... | 36              |
| Şekil 10. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının O <sub>2</sub> <sup>-</sup> birikimine etkisi.....                                     | 36              |
| Şekil 11. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının prolin içeriğine etkisi.. ..                                                           | 37              |
| Şekil 12. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının çözünebilir şeker içeriğine<br>etkisi.....                                             | 38              |
| Şekil 13. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının nispi su içeriğine etkisi. ....                                                        | 39              |
| Şekil 14. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının askorbik asit içeriğine etkisi.. ..                                                    | 40              |
| Şekil 15. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının toplam fenolik içeriğine etkisi.. ..                                                   | 41              |
| Şekil 16. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının APX aktivitesine etkisi.. ..                                                           | 42              |
| Şekil 17. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının CAT aktivitesine etkisi. ....                                                          | 43              |
| Şekil 18. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının SOD aktivitesine etkisi.. ..                                                           | 44              |
| Şekil 19. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının yapraktan bor analizi.....                                                             | 45              |

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 20. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının <i>AAO</i> geni ekspresyonu seviyesinde meydana gelen değişimler.....                    | 46 |
| Şekil 21. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının <i>LHCb</i> geni ekspresyonu seviyesinde meydana gelen değişimler.....                   | 47 |
| Şekil 22. Bor toksisitesi altında L-sistein uygulamasının <i>F. esculentum</i> 'da tetiklediği savunma yanıtlarının şematik gösterimi. .... | 61 |



## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                     | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|---------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Tablo 1. Karabuğday'ın ortalama mineral ve vitamin içerikleri ..... | 7                      |
| Tablo 2. Deney grupları ve uygulamaları .....                       | 21                     |
| Tablo 3. Gen ve baz dizileri.....                                   | 27                     |



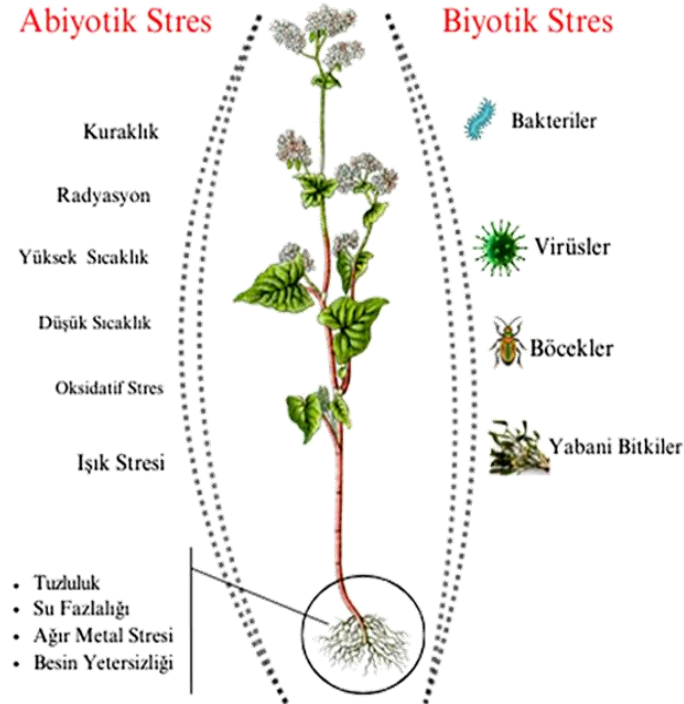
## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                                                 |                                 |
|-------------------------------------------------|---------------------------------|
| <b>Cd</b>                                       | : Kadmiyum                      |
| <b>cDNA</b>                                     | : Komplemanter DNA              |
| <b>Cu</b>                                       | : Bakır                         |
| <b>dNTP</b>                                     | : Deoksiribonükleotid trifosfat |
| <b>Fe</b>                                       | : Demir                         |
| <b>g</b>                                        | : Gram                          |
| <b>Hg</b>                                       | : Civa                          |
| <b>K</b>                                        | : Potasyum                      |
| <b>mg</b>                                       | : Miligram                      |
| <b>mg kg<sup>-1</sup></b>                       | : Miligram/kilogram             |
| <b>mg L<sup>-1</sup></b>                        | : Miligram/litre                |
| <b>mL</b>                                       | : Mililitre                     |
| <b>Mn</b>                                       | : Mangan                        |
| <b>Mo</b>                                       | : Molibden                      |
| <b>Pb</b>                                       | : Kurşun                        |
| <b>PCR</b>                                      | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu   |
| <b>qPCR</b>                                     | : Gerçek zamanlı PCR            |
| <b>RNA</b>                                      | : Ribonükleik Asit              |
| <b>ROT</b>                                      | : Reaktif oksijen türleri       |
| <b>RWC</b>                                      | : Nispi Su İçeriği              |
| <b>Zn</b>                                       | : Çinko                         |
| <b>°C</b>                                       | : Santigrat derece              |
| <b>μL</b>                                       | : Mikrolitre                    |
| <b>μM</b>                                       | : Mikromolar                    |
| <b>μmol foton m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup></b> | : Işık şiddeti                  |

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Stres, bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerinde bozulmalara neden olarak büyüme, gelişme ve verimlilik üzerinde olumsuz etkiler oluşturan iç veya dış kaynaklı faktörlerdir (Taiz vd., 2015). Bu faktörler genel olarak abiyotik ve biyotik olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılır (Şekil 1). Biyotik faktörler; mikroorganizmalar, yabani otlar, patojenler ve böcekler gibi canlı etmenlerden kaynaklanırken, abiyotik faktörler ise yüksek/düşük sıcaklık, kuraklık, tuzluluk ve oksijen yetersizliği gibi çevresel koşullara bağlıdır (Umar vd., 2022). Bu stres faktörleri, bitkinin fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerinde ciddi bozulmalara yol açarak büyüme ve gelişimini kısıtlamakta, verim kaybına neden olmakta ve şiddetli durumlarda bitki ölümüne sebep olabilmektedir. Bu nedenle, stres faktörlerinin etkilerinin anlaşılması ve uygulanabilir yöntemlerle etkilerinin azaltılması, bitki sağlığının korunması ve tarımsal verimliliğin sürdürülebilirliği açısından kritik öneme sahiptir.



Şekil 1. Abiyotik ve biyotik stresler hakkında genel bakış

Abiyotik stres, çevresel etmenlerin yol açtığı olumsuzluklar nedeniyle bitki performansını ve hayatta kalma kapasitesini önemli ölçüde sınırlayan bir stres biçimidir. Bu çevresel etmenler arasında hızla ilerleyen sanayileşme, nüfus artışı ve kentleşme gibi etkenler ön plandadır. Fosil yakıtların tüketimi ve motorlu taşıtlardan salınan egzoz gazları, madencilik faaliyetleri, atık su deşarjları ile tarımsal uygulamalarda aşırı gübre ve pestisit kullanımı, hava, su ve toprakta ağır metal birikimine yol açmakta; bu durum ekosistem fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyerek biyolojik çeşitlilik ve bitki sağlığını tehdit etmektedir (Zhou vd., 2023).

Toprakta doğal olarak bulunan ya da çevresel kirlenme sonucu biriken metaller, bitkilerde yaygın görülen abiyotik stres faktörlerinden birini oluşturmaktadır. Demir, çinko, bakır gibi bitki gelişimi için gerekli elementler ile kadmiyum, kurşun ve cıva gibi toksik metallerin yüksek düzeyleri, bitkilerde su alımı, besin taşınımı, fotosentez ve solunum gibi temel fizyolojik süreçleri olumsuz yönde etkilemektedir (Küpper ve Andresen, 2016). Metal iyonlarının neden olduğu bu dengesizlikler, hücresel düzeyde reaktif oksijen türlerinin (ROT) birikmesine, membran yapısında bozulmalara ve DNA hasarına yol açmakta; sonuç olarak oksidatif stres ve hücre ölümü meydana gelmektedir. Bitkiler, metal toksisitesine karşı antioksidan savunma sistemlerini aktive ederek zararı azaltmaya çalışmada, metalin türü, konsantrasyonu ve maruz kalma süresi bu savunmaların etkinliğini belirlemektedir (Tang vd., 2022). Metal toksisitesinin uzun vadede bitki büyümesini sınırladığı, verim ve kaliteyi düşürdüğü, dolayısıyla tarımsal üretimde ciddi kayıplara yol açtığı bildirilmektedir.

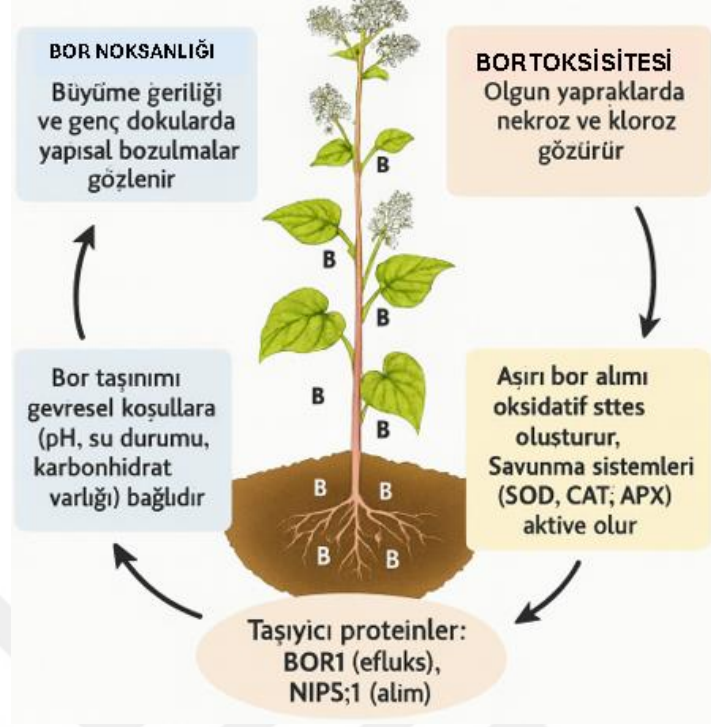
Bor (B) elementi, doğal koşullar altında genellikle borik asit ( $H_3BO_3$ ) veya borat formlarında bulunan ve bitkisel fizyoloji üzerinde hem faydalı hem de toksik etkileri olabilen önemli bir mikro besin elementidir. Dar bir toksik-doza aralığına sahip olması nedeniyle, eksikliği kadar fazlalığı da bitkilerde fizyolojik bozulmalara yol açabilmektedir. Periyodik tabloda yarı metal olarak sınıflandırılmasına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda gösterdiği toksisite nedeniyle çevresel risk değerlendirmelerinde sıklıkla ağır metallerle benzer kategoride ele alınmaktadır (Zhang vd., 2024). Özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde, endüstriyel, kentsel ve tarımsal kaynaklı atık suların sulama amacıyla kullanılması, toprakta bor birikimine neden olarak toksik düzeylere ulaşmasına yol açmaktadır. Toprakta biriken borun bu toksik seviyeleri, bitki gelişimini olumsuz etkileyerek büyüme, fotosentez ve metabolik aktivitelerde ciddi bozulmalara neden olmaktadır (Archana ve Verma, 2017).

Ancak B, bitkiler açısından yalnızca toksik etkileriyle değil; aynı zamanda büyüme ve gelişim süreçlerinde oynadığı yaşamsal rollerle de önem taşımaktadır (Landi vd., 2019).

Optimum düzeyde bor, fenolik bileşiklerin ve nükleik asitlerin sentezi, karbonhidrat ve protein metabolizması, şeker taşınımı, hücre duvarı oluşumu ve bütünlüğü, lignifikasyon, oksin metabolizması, polen çimlenmesi ve polen tüpü gelişimi gibi temel biyolojik süreçlerde doğrudan rol almaktadır (Zafar-ul-Hye vd., 2016).

Liebig'in Minimum Yasası çerçevesinde değerlendirildiğinde, borun hem eksikliği hem de fazlalığı, bitki gelişimi üzerinde sınırlayıcı etkiler doğurabilmektedir. Borun bitkiler için gerekli minimum düzeyi ile toksik eşik değeri arasındaki dar aralık, onu üretim açısından riskli bir mikro besin elementi hâline getirmektedir. Eksiklik durumlarında sürgün ucu ölümü, yaprak kıvrılması, sararma, petiyollerin kırılmaşıması, çiçeklenme geriliği ve kök gelişiminde duraksama gibi belirtiler görülürken; aşırı bor birikimi ise yaprak uçlarında nekroz, yanıklık benzeri lekelenmeler ve erken yaprak dökümü gibi semptomlarla kendini göstermektedir (Brđar-Jokanović, 2020).

Borun bitki bünyesindeki taşınımı ve dağılımı da eksiklik veya toksisite durumlarının şiddetini belirleyen önemli faktörlerdendir. Transpirasyon akımıyla taşınan bor, genellikle olgun yapraklarda birikir ve bu nedenle dokular arasında  $[B]_{\text{olgun yaprak}} > [B]_{\text{genç yaprak}} > [B]_{\text{gövde}} \approx [B]_{\text{kök}}$  şeklinde bir dağılım gösterir. Bitki hücrelerine bor alımı; pasif difüzyon, seçici/seçici olmayan kanallar yoluyla geçiş ve aktif taşıma gibi üç temel mekanizma ile gerçekleşmektedir (García-Sánchez vd., 2020). Borun taşınımı ve dokular arası mobilitesi, bor dengesinin korunmasında kritik rol oynamakta ve bu süreçler (Şekil 2) bitkinin eksiklik ya da fazlalık durumuna vereceği yanıtı doğrudan etkilemektedir.



Şekil 2. Borun bitkilerde taşınımı ve fizyolojik etkileri

Borun bitkisel gelişim ve metabolik süreçler üzerindeki olumlu etkileri, birçok araştırma ile ortaya konmuştur. Özellikle hücre duvarı stabilitesinin sağlanması, hücre bölünmesi, polen tüpü gelişimi, karbonhidrat metabolizması ve nükleik asit sentezi gibi temel fizyolojik süreçlerde borun önemli işlevlere sahip olduğu bilinmektedir (Brown vd., 2002). Türkiye'de yürütülen bir çalışmada, farklı bölgelerden alınan 298 toprak örneğinde ortalama B konsantrasyonunun  $1,10 \text{ mg kg}^{-1}$  olduğu belirlenmiş; bu seviyelerdeki borun, bu topraklarda yetiştirilen bitkilerin verimini olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir (Varol vd., 2023). Benzer şekilde, Hindistan'da yürütülen bir çalışmada farklı B kaynaklarının yer fıstığı üzerindeki etkisi incelenmiş ve B uygulamalarının çiçeklenme ile verim üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (Singh vd., 2009). Ayrıca, Sağlam vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada, B stresine maruz kalan *Arabidopsis thaliana* fidelerinde melatonin uygulamasının malondialdehit (MDA), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), prolin ve fotosentetik pigment içerikleri gibi stres göstergelerinde iyileştirici etkiler oluşturduğu ve bu etkinin antioksidan enzim aktiviteleri ile gen ekspresyonundaki değişimlerle desteklendiği bildirilmiştir.

Öte yandan, borun yüksek konsantrasyonları bitkilerde toksik etkilere yol açabilmektedir. Bor toksisitesi, bitki türleri ve genotipleri arasında farklı düzeylerde hassasiyetle kendini göstermektedir. Kayıhan (2020) orta ve şiddetli B toksisitesi

uygulamasında *A. thaliana*'da miR393 ekspresyonunun ~2,7–2,9 kat arttığını; buna karşılık kloroz ve büyüme geriliği gibi fizyolojik stres semptomlarının geliştiğini belirtmiştir. Bu mikroRNA aracılığıyla oksin sinyal yolağı ve transkripsiyon faktörleri (bHLH, MYB, WRKY33 vb.) seviyelerinde gerçekleşen düzenlemeler, B toksisitesinin bitkide stres yanıtı ve adaptasyonunda önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır. Cervilla ve arkadaşları (2007), bor toksisitesine karşı farklı tolerans düzeylerine sahip iki domates (*Solanum lycopersicum*) genotipinde yaptıkları çalışmada, yapraklardaki süperoksit anyonu, antosiyanin, klorofil b ve prolin düzeylerinin önemli stres göstergeleri olduğunu ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde, Landi ve arkadaşları (2013), farklı bor konsantrasyonlarının (0,2, 10 ve 20 mg L<sup>-1</sup>) kabak (*Cucurbita pepo*) ve salatalık (*Cucumis sativus*) bitkileri üzerindeki etkilerini incelemiş; yüksek bor seviyelerinin oksidatif stresi artırdığını, yaprak nekrozu, büyüme geriliği ve fotosentezde azalmaya neden olduğunu, buna karşılık antioksidan enzim aktivitelerinde artış gözlemlendiğini ve kabak bitkisinin salatalığa kıyasla daha hassas bir yanıt verdiğini bildirmişlerdir. Yazıcı ve Korkmaz (2020), *Fagopyrum esculentum* bitkisinin, toprak ortamında bor ve potasyum mineral besinleri arasındaki etkileşimi anlamak için klasik bir tarımsal faktöriyel tasarım kullanarak; borun optimal ve toksik seviyelerini belirlemişler ve potasyumun bor seviyelerini yönetmedeki rolünü değerlendirmişlerdir. Böylece pratik gübreleme stratejileri sağlamayı amaçlamışlardır. Söz konusu çalışma toprakta besin yönetimi hakkında değerli tarımsal veriler sağlarken, bizim tez çalışmamız *F. esculentum* bitkisinin toksisiteyle başa çıkmak için kullandığı hücresel ve moleküler stratejilere ve bunların dışardan uygulanan bir biyokimyasal ajan olan L-sistein ile nasıl etkilenebileceğine dair ayrıntılı bir mekanistik bakış sunmaktadır.

## 1.2. Karabuğday

Karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench), M.Ö. 1000'li yıllardan itibaren Çin'in Tibet Özerk Bölgesi ile Himalaya Dağları'nın yüksek rakımlı bölgelerinde yetiştirilen, Asya kökenli önemli bir tarımsal üründür. Günümüzde Avrupa, Asya ve Amerika kıtalarında yaygın olarak kültüre alınan bu türün, özellikle Rusya ve Japonya'da tarımsal verim ve kalite açısından geliştirilmiş çeşitli genotipleri bulunmaktadır. Üretim faaliyetleri büyük ölçüde kuzey yarımkürede yoğunlaşmakta; kabuğu çıkarılmış tohumları Slovenya, Polonya, Ukrayna ve Rusya'da geniş çapta tüketilmektedir (Özyazıcı, 2020). Türkiye'de ise

karabuğday yetiştiriciliği başta Karadeniz, Marmara, İç Anadolu ve Ege bölgeleri olmak üzere çeşitli ekolojik alanlarda sürdürülmektedir (URL-1, 2023).

Taksonomik olarak Polygonaceae familyasına ait olan karabuğday, tek yıllık bir bitki türüdür ve yapısal olarak tahıllardan farklılık göstermektedir (Jiang vd., 2020). Özellikle pirinç, buğday ve arpa gibi tek çenekli (monokotiledon) tahılların aksine, karabuğday çift çenekli (dikotiledon) yapıya sahiptir (Petrova vd., 2021).

Morfolojik olarak incelendiğinde, bitki ana gövde üzerinde uzanan yan dallara, düzensiz üçgen formundaki yapraklara ve beyazdan pembeye veya kırmızıya kadar değişebilen çiçek renklerine sahiptir. Tarımı en yaygın yapılan türler arasında *Fagopyrum esculentum* (yaygın karabuğday) ile *Fagopyrum tataricum* (Tatar karabuğdayı) yer almakta olup, her iki tür de gıda kaynağı olarak ekonomik değere sahiptir (Yıldız ve Yalçın, 2013).



Şekil 3. *Fagopyrum esculentum* Moench, *Fagopyrum tataricum* Gaertn bitkilerinin anatomik görünümleri

Yaygın karabuğday türü, iri tohum yapısı, kabuğunun kolay soyulabilmesi ve karakteristik hoş aroması sayesinde geniş ölçekte tüketilirken; Tatar karabuğdayı, daha küçük taneleri, sert kabuk yapısı ve belirgin acı tadı nedeniyle daha sınırlı bir kullanım alanına sahiptir (İnanır vd., 2019).

Ayrıca, karabuğdayın zengin besin içeriği, özellikle insan sağlığı açısından önemli biyolojik bileşikler barındırması nedeniyle dikkat çekmektedir. Örneğin, yüksek protein ve

diyet lifi içeriğinin yanı sıra flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler yönünden de zengin olması, karabuğdayı fonksiyonel bir gıda olarak öne çıkarmaktadır (Yavuz vd., 2016).

### 1.2.1. Karabuğday'ın Kimyasal Bileşimi ve Kullanım Alanları

Karabuğday; aminoasitler, demir, çinko, bakır, mangan ve magnezyum gibi mineraller, çeşitli vitaminler, yağ asitleri, fenolik bileşikler ve antioksidanlar açısından zengin bir besin kompozisyonuna sahiptir. Demir içeriği bakımından pek çok tahıl ve baklagil türünden daha yüksek değerlere sahip olması, karabuğdayı beslenme açısından önemli bir konuma getirmektedir (Alkay vd., 2023). Tablo 1'de bu bileşenlerin ortalama değerleri sunulmaktadır.

Tablo 1. Karabuğday'ın ortalama mineral ve vitamin içerikleri (Yıldız ve Yalçın, 2013)

| Mineraller   | Miktarı(mg/100g)  |
|--------------|-------------------|
| Kalsiyum     | 11.0-11.6         |
| Demir        | 4.0-17.5          |
| Magnezyum    | 173-390           |
| Fosfor       | 330-426           |
| Potasyum     | 450               |
| Bakır        | 0.95              |
| Mangan       | 3.37-14.3         |
| Çinko        | 0.87-2.8          |
| Vitaminler   | Miktarı(mg/1000g) |
| Tiamin       | 3.3               |
| Riboflavin   | 10.3              |
| Tokoferoller | 40.0              |
| Kolin        | 440               |
| Niasin       | 18.0              |

Mineral ve vitamin zenginliğinin yanı sıra, karabuğdayın protein bileşimi de beslenme açısından önemli bir nitelik taşımaktadır. Albumin ve globulin oranlarının yüksek, glutelin ve prolamin düzeylerinin ise düşük olması; lizin ve arjinin içeriğiyle birlikte biyolojik değerini %90'ın üzerine çıkararak anne sütü ve yumurta proteiniyle karşılaştırılabilir hale

getirmektedir. Ancak bazı bireylerde alerjik reaksiyonlara neden olabilmesi ve protein sindirilebilirliğinin görece düşük olması, proteolitik enzimlere karşı sınırlı duyarlılık ile fitik asit ve proteaz inhibitörleri gibi sindirimi engelleyici bileşenlerin varlığına bağlanmaktadır (Koç ve Coşkun, 2025).

### 1.3. Sistein

Kükürt, bitkiler için temel bir makrobesin olup, bitkilerin kuru ağırlığının %0,3-%0,5'ini oluşturur. Doğada en yaygın kükürt formu olan sülfat, bitkiler tarafından alınarak indirgenmekte ve sisteine dönüştürülmektedir. Sistein, bitkilerde indirgenmiş kükürt içeren ilk organik bileşik olarak sentezlenir (Al-Maliky vd., 2019). Bu biyosentez süreci, sisteinin bitkideki fonksiyonlarının temelini oluştururken, özellikle tiyol grubunun redoks özellikleri sayesinde antioksidan savunma mekanizmalarında kritik bir rol oynamaktadır.

Sisteinin tiyol grubu, oksidasyona karşı duyarlıdır ve proteinlerin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü sağlayan disülfid köprülerinin oluşumunda rol oynar (Fra vd., 2017). Ayrıca, bazı proteinlerin fonksiyonları, bu köprülerin redoks düzenlemesi yoluyla kontrol edilebilir. Bunun yanı sıra, sistein metiyonin, vitaminler, kofaktörler ve demir-kükürt (Fe-S) kümeleri gibi kritik metabolitlerin sentezinde de öncü bir bileşendir (Romero vd., 2014).

Sistein, birçok önemli biyomolekülün sentezinde rol oynar ve özellikle antioksidan glutatyonun (GSH) temel yapı taşıdır. Glutatyon,  $\gamma$ -glutamil-sisteinil-glisin tripeptidi olarak hücrel redoks dengesinin korunmasında kritik bir işlev görür. Bu fonksiyon, glutatyondaki sistein tiyol grubunun redoks düzenlenebilirliğine dayanmaktadır. GSH, fitokelatinler aracılığıyla ağır metal detoksifikasyonunda görev alırken, biyotik streslere karşı savunmada da önemli rol oynar (Soares vd., 2016; Biswas vd., 2023).

Sistein, bitkilerde önemli metabolik işlevlere sahip olmasının yanı sıra, farmasötik, kozmetik, gıda ve hayvan beslenmesi gibi çeşitli endüstriyel sektörlerde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Farmasötik alanda, asetaminofen toksisitesine karşı antidot olarak kullanılır ve HIV, KOAH gibi hastalıkların tedavisinde etkilidir (Atruki vd., 2007). Kozmetik sektöründe, keratin proteinindeki disülfid bağlarını kırarak perma işlemlerinde tercih edilir (Renneberg, 2008). Gıda endüstrisinde, hamurun elastikiyetini artırır ve kabarmasını sağlar. Hayvan beslenmesinde, kükürt içeren aminoasit ihtiyacını karşılar ve nitrat zehirlenmesine karşı koruyucu etki gösterir. Sistein, tarımsal ürünlerde gıda katkı

maddesi olarak ve taze kesilmiş meyve ile sebzelerin korunmasında yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, dışsal L-sistein uygulamalarının bitkilerde kuraklık, tuzluluk, ağır metal toksisitesi ve bor stresi gibi abiyotik stres koşullarına karşı toleransı artırabileceğini göstermiştir (Wang vd., 2023). Sistein, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimatik antioksidanların aktivitesini artırarak ROT'lerinin birikimini sınırlar; böylece hücrel hasarın önlenmesinde önemli bir rol oynamıştır (Foyer ve Noctor, 2005). Bunun yanı sıra, enzimatik olmayan antioksidanlar üzerinde de olumlu etkileri bulunmaktadır; örneğin, mısırda kuraklık ve tuz stresi altında yapılan sistein uygulaması glutatyon seviyelerini yükselterek oksidatif dengeyi sağlamıştır (Hasanuzzaman vd., 2018). Sistein krom toksisitesine maruz kalan bitkilerde, ROT seviyelerini düşürerek fotosentetik kapasitenin korunmasına katkı sağlamıştır. Transgenik bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar, sistein sentetaz kompleksinin kükürt metabolizmasında kritik bir rol oynadığını ve stres toleransının artırılmasında önemli katkılar sağladığını göstermiştir. Örneğin, transgenik tütün bitkilerinde sistein uygulaması Cd toleransında ve transgenik kavaklarda H<sub>2</sub>S (Hidrojen Sülfür) ve SO<sub>2</sub> (Sülfür Dioksit) toksisitesine karşı dirençte etkili olduğu belirlenmiştir (Kawashima vd., 2004; Noji vd., 2001).

Bunun yanı sıra, sistein ve selenyum (Se) kombinasyonu, ağır metal stresine karşı sinerjik bir etki göstererek bitkilerin toksik iyonları detoksifiye etmesine yardımcı olur. Prolin ve melatonin ile kullanımı, ozmotik stresin hafifletilmesine ve fotosentezin iyileştirilmesine katkı sağlayabilir (Foyer ve Shigeoka, 2011).

Sonuç olarak, L-sistein uygulamasının bitkilerde antioksidan kapasiteyi artırarak abiyotik stres toleransını güçlendirdiği düşünülmektedir. Bu nedenle, tarımsal biyoteknoloji ve bitki ıslahı çalışmalarında stres dayanıklılığını artıran bir strateji olarak sisteinin daha fazla araştırılması önerilmektedir (Mittler, 2002).

Yapılan literatür taraması sonucunda, bor toksisitesine karşı sistein uygulamasının etkilerini *Fagopyrum esculentum* üzerinde inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bilgi eksikliği, çalışmanın özgünlüğünü ve bilimsel katkı potansiyelini artırmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada bor stresine karşı bitkisel toleransın fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda;

1. Genel stres tolerans düzeyini belirlemek amacıyla nispi su içeriği, toplam klorofil miktarı, lipid peroksidasyonu ile kök ve gövde uzunluğu gibi temel büyüme ve fizyolojik parametreler analiz edilmiştir.

2. Ozmotik düzenleme mekanizmalarının strese karşı dayanıklılıktaki rolünü ortaya koymak üzere, prolin ve toplam çözünebilir şeker içerikleri belirlenmiştir.

3. Antioksidan savunma sisteminin katkısını değerlendirmek amacıyla SOD, CAT ve APX enzim aktiviteleri ile askorbik asit düzeyleri ölçülmüştür.

4. Moleküler düzeyde ise, bor stresine karşı gelişen yanıtların anlaşılabilmesi için askorbat oksidaz (*AAO*) ve ışık yakalayan klorofil a/b bağlayıcı protein (*LHCb*) genlerinin ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. *LHCb* geni, borun fotosentez verimliliği üzerindeki etkilerini; *AAO* ise oksidatif stres karşısında redoks dengesini koruma kapasitesini ortaya koymak açısından çalışmaya dahil edilmiştir.

Yukarıda belirtilen amaç ve hedefler doğrultusunda, bu tez çalışmasında bor toksisitesine maruz kalan bitkilerde meydana gelen fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimler çok yönlü olarak değerlendirilmiştir. Bu kapsamda; nispi su içeriği, lipid peroksidasyonu,  $H_2O_2$ , prolin, toplam çözünebilir şeker, toplam klorofil ve toplam fenolik bileşik içerikleri gibi stres göstergesi parametreler analiz edilerek, bor stresine karşı gelişen metabolik tepkiler belirlenmiştir. Ayrıca, SOD, CAT ve APX gibi anahtar antioksidan enzimlerin aktiviteleri ölçülerek, stres koşullarında devreye giren oksidatif savunma mekanizmalarının etkinliği ortaya konmuştur.

Bununla birlikte, stres yanıtlarının moleküler düzeyde değerlendirilmesi amacıyla, ışık hasadı ve redoks regülasyonu ile ilişkili olduğu bilinen *LHCb* ve *AAO* genlerinin ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Bu bağlamda, çalışmada değerlendirilen tüm bu parametreler aşağıda ayrı başlıklar altında sistematik olarak açıklanmıştır.

#### 1.4. Klorofil İçeriği

Klorofiller, fotosentezde kritik rol oynayan ana pigmentlerdir. Klorofil içeriği, bitkinin fotosentetik kapasitesini ve biyokütlesini yansıtan önemli bir göstergedir. Fotosentezde başlıca görev yapan klorofil türleri olan klorofil a ve b, ışık enerjisinin kimyasal enerjiye dönüşümünde hayati bir rol üstlenir. Ayrıca, çevresel stres koşullarının etkilerinin değerlendirilmesinde klorofil içeriği ve floresans parametreleri güvenilir biyobelirteçlerdir (Çetin, 2016).

Öte yandan, bor toksisitesi bitkilerde klorofil içeriğini olumsuz yönde etkileyerek fotosentetik verimliliğin düşmesine neden olmaktadır. Bor doğrudan klorofil yapısında yer almasa da pigment sentezinde görev alan enzim sistemleri ve mineral dengesini etkileyerek klorofil miktarında azalmaya yol açabilmektedir. Aşırı bor alımı sonucunda ROT'lerinin birikmesi, klorofil moleküllerinde oksidatif hasara ve yapısal bozulmalara neden olmaktadır. Bu durum, fotosentez hızının azalmasına ve dolayısıyla bitkisel biyokütlenin sınırlanmasına yol açar (Choudhary vd., 2020).

### 1.5. Lipid Peroksidasyon

Yapılarında birden fazla çifte bağ içeren doymamış yağ asitleri, biyomembranların temel bileşenlerinden biridir. Bu çifte bağlar, membranı oksidatif strese karşı daha duyarlı hale getirir. Oksidatif stres koşullarındaki doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonuna uğraması, malondialdehit (MDA) gibi reaktif aldehitlerin oluşumuna neden olur. MDA, özellikle proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerle etkileşime girerek hücresel işlevlerde bozulmalara sebep olur. Bu süreç, oksidatif stresin biyolojik sistemlerde neden olduğu hasarı değerlendirmede önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Mortensen vd., 2023).

MDA birikimi ile bor toksisitesi arasındaki ilişki dikkate alındığında bor toksisitesi, bitkilerde ROT'lerinin aşırı üretimine neden olarak oksidatif stres oluşturur ve bunun en belirgin sonuçlarından biri lipid peroksidasyonudur. ROT'leri, hücre, zarlarındaki doymamış yağ asitlerine saldırarak zar bütünlüğünü bozar, geçirgenliği artırır ve bu da genellikle MDA birikimiyle ölçülür. Çeşitli bitki türlerinde yapılan çalışmalar, bor fazlalığının MDA seviyelerini yükselttiğini ve bu yolla zar hasarına, büyüme geriliğine ve fotosentetik bozulmalara yol açtığını ortaya koymuştur. Bitkiler bu duruma karşı, antioksidan enzimler (SOD, CAT, APX) ve bileşikler (askorbat, glutatyon) aracılığıyla savunma geliştirerek lipid peroksidasyonunu sınırlamaya çalışır (Khan vd., 2021; Gülüt, 2024). Nitekim, Esim ve arkadaşları tarafından (2013), mısır (*Zea mays*) bitkisinde aşırı bor konsantrasyonlarının MDA seviyelerinde anlamlı bir artışa yol açtığını bildirmiş, bu da lipid peroksidasyonunun bor toksisitesiyle doğrudan ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.

### 1.6. Yaprak Su Potansiyeli

Yaprak su potansiyeli (RWC), bitki dokusunun mevcut su içeriğinin tam turgor halindeki maksimum su tutma kapasitesine oranını ifade eder. Bitkinin sulanma durumunu yansıtır ve su dengesi ile stres toleransının önemli bir göstergesidir (Hasanuzzaman vd., 2020). Bu nedenle, RWC bitkilerin bor toksisitesine karşı geliştirdiği fizyolojik yanıtların değerlendirilmesinde kritik bir parametre olarak kullanılmaktadır.

Bor toksisitesi, akvaporin genlerinin baskılanmasıyla su taşınımını engelleyerek transpirasyon ve stomatal iletkenliği azaltmakta, böylece RWC'nin düşmesine yol açmaktadır (Macho-Rivero vd., 2018). Ayrıca, borun neden olduğu oksidatif stres hücre zarlarına zarar vererek bitkinin su tutma kapasitesini olumsuz etkilemektedir. Orta düzey bor uygulamalarının RWC üzerinde belirgin bir etkisi görülmezken, yüksek dozlarda (>60 mg/kg) bu değerlerde anlamlı azalmalar gözlemlenmiştir; örneğin kavun (*Cucumis melo*) bitkilerinde 80 mg/kg bor, RWC'yi %71,6'ya kadar düşürmüştür (Kaya, 2025).

### 1.7. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit, tohum çimlenmesi, kök gelişimi, fotosentez, çiçeklenme ve yaşlanma gibi birçok fizyolojik süreçte görev alan önemli bir reaktif oksijen türüdür (Nazir vd., 2020). Hücre zarlarını geçebilen yapısıyla etkili bir sinyal molekülü olan  $H_2O_2$ , düşük düzeylerde savunma yanıtlarını tetiklerken, yüksek konsantrasyonlarda birikmesi durumunda lipid peroksidasyonu, zar hasarı, protein denatürasyonu ve DNA tahribatı gibi ciddi hücresel bozulmalara yol açabilir (Dat vd., 2000). Özellikle çevresel stres koşullarında (yüksek ışık şiddeti, UV radyasyonu, sıcaklık dalgalanmaları, kuraklık, tuzluluk ve ağır metal toksisitesi gibi)  $H_2O_2$  bitki dokularında belirgin şekilde birikir ve metabolik süreçleri önemli ölçüde etkiler (Krasensky ve Jonak, 2012).

Bu stres faktörlerinden biri olan bor toksisitesi de bitkilerde  $H_2O_2$  birikimini tetikleyen başlıca etmenlerden biridir. Borun aşırı alımı, ROT üretimini artırarak oksidatif stresin oluşumuna neden olur ve bu süreçte  $H_2O_2$  hem zararlı etkilerin hem de savunma yanıtlarının merkezi bir bileşeni haline gelir. Yüksek bor düzeyleri, hücre zarları, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara yol açan  $H_2O_2$  üretimini artırarak zar kararsızlığı ve fizyolojik işlev bozukluklarına sebep olur (Kaya, 2025). Öte yandan,  $H_2O_2$  aynı zamanda bitkilerde antioksidan savunma sistemlerini aktive eden bir sinyal molekülü olarak işlev görür; bor toksisitesi koşullarında CAT, peroksidaz (POX), SOD ve APX gibi antioksidan enzim

aktivitelerinde artış gözlemlenir (Wang vd., 2016). Ayrıca, hidrojen gazı ( $H_2$ ) veya  $H_2S$  uygulamaları  $H_2O_2$  birikimini azaltarak bor toksisitesinin olumsuz etkilerini hafifletmektedir (Li vd., 2016). Bu bağlamda, bor toksisitesine bağlı hasarın şiddeti,  $H_2O_2$  üretimi ile antioksidan kapasite arasındaki dengeye bağlı olup, bu dengenin korunması bitkide strese tolerans ve iyileşme açısından kritik öneme sahiptir.

### 1.8. Prolin

Prolin hem normal hem de stres koşullarında bitkilerde biriken, proteojenik bir aminoasit olup, bitki büyümesi, gelişimi ve stres toleransında önemli roller üstlenir. Hücre duvarı proteinlerinin yapısında yer alarak mekanik destek ve sinyal iletimi gibi işlevlerde görev almasının yanı sıra, hücre duvarı sentezine katkıda bulunur (Kishor vd., 2015). Aynı zamanda prolin, bir ozmoprotektan olarak abiyotik stres koşullarında özellikle kuraklık, tuzluluk ve toksisite altında hücresel su dengesinin ve turgor basıncının korunmasına yardımcı olur (Funck vd., 2012). Bu çok yönlü işlevleriyle prolin, bitkilerin çevresel streslere karşı verdiği fizyolojik yanıtların önemli bir parçasıdır.

Prolin, B toksisitesi dâhil olmak üzere çeşitli abiyotik stres koşullarında bitkilerde biriken önemli bir aminoasittir. Bor toksisitesi altında prolin; ozmoprotektan, antioksidan ve metabolik düzenleyici olarak işlev görerek hücresel homeostazın korunmasına katkı sağlar. Yaprak ve kök dokularında farklı biyosentetik yollarla sentezlendiği belirlenen prolinin, dokuya özgü düzenlemelerle yanıt verdiği bildirilmiştir (Yan vd., 2021). Dışsal prolin uygulaması, bor birikimini azaltarak toksisite belirtilerini hafifletirken büyümeyi de destekler (Dominic ve Jithin, 2012). Ayrıca glutasyon gibi antioksidanlarla birlikte çalışarak ROT birikimini azaltır, enzim aktivitelerini artırır ve zar bütünlüğünü koruyarak oksidatif hasarı sınırlar (Kohne Shahri ve Demir, 2022).

### 1.9. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde hidroksillenmiş aromatik halkalar içeren geniş bir sekonder metabolit grubudur ve biyotik ile abiyotik streslere adaptasyonda kritik roller üstlenirler. Çevresel stres faktörleri, fenilpropanoid metabolizmasının aktivasyonunu tetikleyerek bu bileşiklerin birikimini artırır. Özellikle ağır metal toksisitesi altında, fenolik bileşikler metal iyonlarını şelatlayarak ve ROT'lerini detoksifiye ederek oksidatif stresin şiddetini azaltırlar. Bu bağlamda flavonoid ve diğer fenilpropanoid türevlerinin, peroksidaz

enzimi aracılığıyla  $H_2O_2$  detoksifikasyonunda işlev gördüğü ve antioksidan özellikleri sayesinde çeşitli stres koşullarında sentezlerinin arttığı gösterilmiştir (Jańczak-Pieniżek vd., 2022; Kumar vd., 2023).

Stres koşullarından biri olan bor toksisitesi, toplam fenolik bileşiklerin bitkilerde savunma mekanizması olarak önemli bir rol oynamasına yol açar. Bor toksisitesi, ROT'lerinin artışına neden olarak hücre bileşenlerine zarar verirken, fenolik bileşikler bu ROT'leri etkisiz hale getirerek oksidatif hasarı önler (Reid vd., 2020). Fenolik içerik, bitki türü, doku ve borun bitki içindeki hareketliliğine bağlı olarak değişkenlik gösterir; bazı bitkilerde artış, bazılarında ise azalma gözlenir (Yıldırım ve Turan, 2017; Kafkaletou vd., 2021). Ayrıca dışarıdan uygulanan glutatyon ve prolin gibi antioksidanlar, fenolik seviyelerindeki azalmayı tersine çevirerek bitkinin stres karşısı savunmasını güçlendirir ve büyümeyi destekler (Kohne Shahri ve Demir, 2022).

#### 1.10. Çözünbilir Şekerler

Glikoz, fruktoz ve sükroz gibi çözünür şekerler, bitkilerin hem yapısal bütünlüğünün sürdürülmesinde hem de metabolik işlevlerinin düzenlenmesinde kritik bir roller üstlenir. Bu şekerler yalnızca enerji kaynağı olmakla kalmaz, aynı zamanda stres koşullarında besin ve metabolit işlevlerinin düzenlenmesinde kritik roller üstlenir. Özellikle oksidatif pentoz-fosfat yolu ve karotenoid biyosentezi gibi temel metabolik yollarla ilişkilidirler. Stres koşulları (soğuk, herbisit hasarı, patojen saldırıları) altında çözünür şekerlerin ROT üretimi, mitokondriyal solunum, fotosentez ve antioksidatif savunma mekanizmaları ile olan etkileşimi belirgin şekilde artar. Bu süreçlerin düzenlenmesinde sükroz, özgün sinyal yolları aracılığıyla gen ekspresyonu ve proteomik düzeyde anlamlı değişiklikler oluşturmakta ve bitkinin stres yanıtının koordinasyonunda merkezi bir rol oynamaktadır (Keunen vd., 2013).

Bor toksisitesi, bitkilerde ozmotik ve oksidatif stres yaratarak şeker metabolizmasını doğrudan etkiler. Bu koşullar altında, bitkiler hücre içi su dengesini korumak ve ROT birikimini sınırlamak amacıyla indirgen şekerler ve toplam çözünür şekerler gibi uyumlu çözücü bileşiklerin birikimini artırır. Bu artış, bor toksisitesine karşı geliştirilen adaptif ve koruyucu bir yanıt olarak değerlendirilir. Dolayısıyla, çözünür şekerlerin hem stres algısı hem de stres yanıtlarının düzenlenmesindeki işlevi, bor toksisitesi gibi çevresel stres

faktörlerine karşı bitki toleransının oluşumunda temel bir bileşeni temsil etmektedir (Çatav vd., 2022).

### 1.11. Askorbik Asit

Askorbik asit (ASC), bitkilerin tüm dokularında bulunan ve özellikle fotosentetik hücreler ile meristematik bölgelerde yüksek konsantrasyonlarda yer alan temel bir antioksidandır. Bu molekül,  $H_2O_2$  ve diğer toksik oksijen türevlerine karşı metabolizmayı koruyarak bitkisel savunma sisteminde kritik bir rol oynar. İndirgen özelliği sayesinde süperoksit anyonu,  $H_2O_2$  ve singlet oksijen gibi ROT'lerini etkili bir şekilde nötralize eder. Ayrıca,  $\alpha$ -tokoferolün yeniden üretilmesi ve ksantofil döngüsündeki zeaksantin sentezi gibi dolaylı süreçlerde de önemli katkılar sağlar. ASC, enzim aktivitelerini düzenleyerek oksidatif stres kaynaklı hücresel hasarı azaltmakta ve diğer antioksidan moleküllerle sinerjik etkileşim içinde çalışarak bitkilerin büyüme, farklılaşma ve metabolik süreçlerinin sağlıklı ilerlemesine destek olmaktadır (Akram vd., 2017).

Bor toksisitesi bitkilerde oksidatif stres yaratırken, ASC bu strese karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır. Güçlü bir antioksidan olarak askorbik asit, ROT'lerini temizleyerek hücresel yapıları korur ve askorbat metabolizmasında görevli enzimlerin aktivitesini artırır (Hasanuzzaman vd., 2020). Bor eksikliğinde askorbik asit seviyeleri azalırken, toksisite durumunda genellikle artış gösterir ve bu artış bitkinin oksidatif strese karşı direncinin bir göstergesidir (Gülüt, 2024). Ayrıca, askorbik asidin diğer antioksidanlarla birlikte redoks dengesinin korunmasında rol aldığı ve bor toksisitesinin olumsuz etkilerini azaltmada uygulamalarının faydalı olduğu deneysel olarak kanıtlanmıştır (El-Feky, 2012).

### 1.12. Antioksidan Enzimler

Bitkiler, çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı gelişmiş antioksidan savunma mekanizmaları aracılığıyla ile direnç göstermektedir. Bu savunma sistemlerine hem enzimatik hem de enzimatik olmayan bileşenlerden oluşan kapsamlı ve koordineli bir yapıya sahiptir. Bu sistem hem enzimatik hem de enzimatik olmayan bileşenleri içerir. Enzimatik olmayan antioksidan bileşikler arasında askorbik asit, tokoferoller (E vitamini), karotenoidler, glutatyon ve çeşitli fenolik bileşikler yer almaktadır. Enzimatik antioksidanlar ise süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz gibi

enzimlerden oluşmaktadır (Sağlam vd., 2025). Bu bileşenler, ROT'lerinin neden olduğu oksidatif hasarı önleyerek hücrel bütünlüğün korunmasını sağlamakta ve bitkisel metabolizmanın sürdürülebilirliği açısından hayati bir rol oynamaktadır.

#### 1.12.1. Askorbat Peroksidaz

APX,  $H_2O_2$  gibi reaktif oksijen türlerinin giderilmesinde görev alan önemli bir antioksidan enzimdir. Askorbatı elektron kaynağı olarak kullanarak  $H_2O_2$ 'yi suya indirger ve askorbat-glutasyon döngüsünde merkezi bir rol üstlenir. Ayrıca kök oluşumu, yaprak yaşlanması, çimlenme gibi gelişimsel süreçlerde de görev aldığı; transgenik bitkilerde artan ekspresyonunun stres toleransını yükselttiği gösterilmiştir. Ancak bazı çalışmalar, APX'in etkilerinin stres türüne ve gelişim evresine göre değişebileceğini ortaya koymuştur (Li, 2023).

Bu enzim aynı zamanda çevresel stres koşullarına karşı savunmada da etkilidir. Nitekim bor toksisitesi altında APX aktivitesi ve gen ekspresyonunun genellikle arttığı, bunun da ROT temizliği yoluyla hücrel hasarı sınırladığı bilinmektedir. Hassas çeşitlerde bu artış daha belirgin olurken, toleranslı çeşitlerde daha dengeli bir yanıt gözlenmektedir. 2017 yılında arpa bitkisiyle yapılan bir çalışmada, bor uygulaması APX aktivitesini artırmış; ancak borla birlikte sistein verildiğinde bu aktivitenin azaldığı raporlanmıştır. Bu durum, sisteinin bor kaynaklı oksidatif stresi azaltarak APX düzeyini dengelediğini göstermektedir (Akyürek, 2017). Dolayısıyla APX, bor toksisitesine karşı bitki yanıtlarını değerlendirmede önemli bir biyobelirteçtir.

#### 1.12.2. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz, bitkilerde oksidatif stresle mücadelede merkezi rol oynayan bir antioksidan enzim olup, süperoksit radikallerini ( $O_2^-$ )  $H_2O_2$  ve oksijene dönüştürerek hücrel hasarı önlenmesine katkı sağlar. Metal kofaktörlerine bağlı olarak Cu/ZnSOD, MnSOD ve FeSOD olmak üzere üç ana izoformları şeklinde sınıflandırılan bu enzim, fotosentez ve solunum gibi metabolik süreçler sırasında oluşan ROT'lerinin birikimini engelleyerek hücrel redoks dengesini korur. Ayrıca, reaktif oksidanlardan biri olan hidroksil radikalının oluşumunu sınırlayarak bitkilerin çevresel streslere karşı direnç kazanmasına katkıda bulunur (Aslankoç vd., 2019).

Bor toksisitesi, ROT'lerinin birikimini artırarak SOD aktivitesini genellikle yükseltir. Bu artış, süperoksit radikallerinin etkisiz hale getirilmesini sağlayarak bitkinin oksidatif stresle başa çıkmasına katkı sağlar. Ancak bu yanıt, borun dozu, maruz kalma süresi ve genotipe bağlı olarak değişebilir. Bazı durumlarda aşırı toksisite, SOD aktivitesinde azalmaya yol açarak hücrel hasarı artırabilir. Ayrıca bor stresi, SOD izoformlarının gen ekspresyon düzeylerini de etkileyerek moleküler adaptasyon mekanizmalarını yansıtır. Nitekim Sağlam ve arkadaşları (2023), *Arabidopsis thaliana* bitkisinde melatonin uygulamasının bor toksisitesi altında SOD aktivitesini anlamlı düzeyde artırdığını ve melatoninin antioksidan sistem üzerinde doğrudan uyarıcı etkiler gösterebildiğini bildirmiştir. Benzer şekilde, Sarıoğlu ve Kaya (2022), melatonin uygulamasının bor toksisitesi altındaki bitkilerde SOD, POD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini anlamlı düzeyde artırdığını; bu etkinin aynı zamanda  $H_2O_2$  ve MDA seviyelerinin düşürülmesiyle birlikte oksidatif hasarı hafiflettiğini bildirmiştir.

### 1.12.3. Katalaz

Katalaz, bitkilerde ROT'lerinin detoksifikasyonunda kritik bir rol oynar;  $H_2O_2$ 'yi su ve moleküler oksijene parçalayarak oksidatif hasarın önlenmesine katkı sağlar. ROT birikimi, lipidler, proteinler ve DNA gibi hücrel bileşenlerde ciddi yapısal ve işlevsel zararlara neden olabilir. CAT, bu zararlı etkileri hızlı ve etkili biçimde ortadan kaldırarak hücrel bütünlüğün korunmasında kilit görev üstlenir (Mishra vd., 2023). Nitekim yapılan araştırmalar, CAT aktivitesindeki değişimlerin, bitkilerin çeşitli abiyotik stres koşullarına karşı geliştirdiği tolerans mekanizmalarıyla yakından ilişkili olduğunu göstermektedir.

Bu stres koşullarından biri de oksidatif hasarı tetikleyici etkisiyle öne çıkan bor toksisitesidir. Bor fazlalığı, ROT birikimine neden olarak oksidatif stres oluşturur ve bu durumda özellikle  $H_2O_2$ 'nin giderilmesinde görev alan katalaz enzimi hayati öneme sahiptir. Ancak yüksek düzeyde bor birikimi, CAT enzim aktivitesinde azalmaya yol açabilir. Bu durumun, borun doğrudan enzim yapısını bozması ya da ilgili gen ekspresyonunu baskılamasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Kayıhan, 2020). Nitekim Sağlam ve arkadaşlarının (2023) *Arabidopsis thaliana* üzerinde yürüttükleri çalışmada, bor toksisitesi altında melatonin uygulamasının *CAT2* genine bağlı olarak etkili olduğu; ancak *CAT2* mutantlarında bu etkinin belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgular, bor

toksitesine karşı geliştirilen antioksidan savunma yanıtlarının, özellikle CAT enziminin varlığı ve işlevselliği ile doğrudan ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

### 1.13. Gen İfadeleri

Borun toksik düzeylerde uygulanması, özellikle fotosistem II (PSII) anten komplekslerinde yer alan *LHCb* proteinlerinin ekspresyonunu azaltmakta; bu durum, fotosentez verimliliğinde belirgin bir düşüşe yol açmaktadır. Nitekim, tahıl benzeri bitki türlerinde yürütülen genetik ve transkriptomik analizler, bor stresinin “photosynthesis–antenna proteins” yolaklarında (özellikle *LHCb* genlerinde) anlamlı değişimlere neden olduğunu ortaya koymuştur (Li vd., 2023). Bu bağlamda, *LHCb* geninin ekspresyon analizinin yapılması, borun ışık hasadı sistemine verdiği zararın moleküler düzeyde belirlenebilmesi açısından çalışmamıza dahil edilmiştir.

*AAO* geni açısından değerlendirildiğinde ise, bor toksitesinin ROT’leri üretimini artırarak bitkide oksidatif stres oluşturduğu bilinmektedir (Zhang vd., 2024). *AAO*, askorbat–dehidroaskorbat döngüsünde görev alarak apoplastik redoks homeostazının korunmasında kritik bir rol üstlenmektedir (Cervilla vd., 2007). Bu nedenle, *AAO* geninin ekspresyon düzeylerinin incelenmesi, bor stresine maruz kalan bitkilerin oksidatif dengeyi yeniden sağlama kapasitesini değerlendirmek açısından büyük önem taşımaktadır.

#### 1.13.1. Askorbat Oksidaz

Askorbat oksidazlar (*AAO*), bitkilerde ve bazı mantarlarda bulunan çok bakırlı oksidaz enzimleridir ve apoplast alanda lokalize olurlar. Bu enzimlerin temel görevi, askorbik asidi (ASC) monodehidroaskorbata (MDHA) oksitlemek ve eş zamanlı olarak oksijeni suya indirgemektir. Oluşan MDHA, dehidroaskorbata (DHA) dönüşerek sitoplazmaya taşınır ve burada askorbat-glutatyon (ASC-GSH) döngüsü aracılığı ile yeniden ASCte indirgenir. *AAO*’lar, apoplastik redoks dengesini düzenleyerek ROT’lerinin seviyelerinin kontrol altına alınmasına katkı sağlar. Aynı zamanda, bitki büyümesi, gelişimi ve çevresel stres yanıtlarının düzenlenmesinde rol alarak hücrel redoks homeostazının korunmasına yardımcı olurlar. Bu özellikleri nedeniyle, askorbat oksidazlar stres toleransının artırılması açısından önemli potansiyel olarak değerlendirilmektedir (Xu vd., 2024).

### 1.13.2. Işık Yakalayan Klorofil b Bağlayıcı Protein

LHC (light-harvesting complex) süper ailesi, bitkilerde dört ana alt aileye ayrılmaktadır: klorofil a/b bağlayan proteinler (LHC), ışık yakalama proteinleri (light-harvesting-like), fotosistem II alt ünitesi S (PsbS) ve ferroşelataz II (FCII). Bu süper ailenin en bilinen alt grubu olan LHC ailesi ise *LHCa* ve *LHCb* olmak üzere iki gruba ayrılır. *LHC* ailesi üyeleri, ışık enerjisinin yakalanmasında görev almanın yanı sıra, bitki büyümesi ve gelişiminin düzenlenmesinde de önemli roller üstlenir. LHC süper ailesinin üyeleri, *Arabidopsis thaliana*, pirinç, kivi, domates ve elma gibi çeşitli bitkilerde tanımlanmıştır. Model bitki *Arabidopsis thaliana*'da *LHCb* geninin baskılanması, daha küçük yaprak oluşumu ve azalmış klorofil içeriği ile sonuçlanırken, *AgLHCb1* geninin kerevizde aşırı ekspresyonu fotosentetik verimliliğine katkı sağlamıştır. Benzer şekilde, *Sedum alfredii* türünde yürütülen çalışmalar ise, *SaLHCb2* geninin aşırı ifadesinin, bitkide sürgün ve kök biyokütlesinde artışa neden olduğunu göstermiştir. Bu durum, *LHCb* genlerinin yalnızca fotosentezle sınırlı kalmayıp, bitkinin genel biyokütle üretimi ve muhtemel stres toleransı üzerinde de etkili olabileceğini düşündürmektedir (Zhang vd., 2011; Li vd., 2023).

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Bitkinin Büyütülmesi, Borik Asit ve Sistein Uygulaması

Bitkinin büyütülmesi, borik asit ve sistein uygulaması kullanılan bu çalışmada *Fagopyrum esculentum* Moench, yaygın olarak bilinen karabuğday bitkisi Hüdaverdi Arıcılık'tan temin edilmiştir.

Ekim öncesinde tohumlar, Jabeen ve Ahmad (2012) yöntemine göre sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu kapsamda, tohumlar %10'luk sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 10 dakika bekletilmiş, ardından saf su ile 10 dakika boyunca yıkanmış ve son olarak karanlık 24 saat saf suda inkübe edilmiştir. Çalışmada ticari olarak temin edilen General Hydroponics Flora Series besin çözeltisi kullanılmıştır. İlk olarak 1976 yılında formüle edilen FloraSeries, FloraGro, FloraBloom ve FloraMicro'dan oluşan orijinal 3 bileşenli hidroponik besin sistemidir (URL-2, 2025):

- FloraGro: Bitkilerin erken gelişim aşamalarında ihtiyaç duyduğu azot (N), fosfor (P) ve potasyum (K) gibi makro besin maddelerini içerir.
- FloraMicro: Bitkilerin sağlıklı büyümesi için gerekli olan demir (Fe), mangan (Mn), bor (B), çinko (Zn), bakır (Cu) ve molibden (Mo) gibi mikro besin elementlerini sağlar.
- FloraBloom: Çiçeklenme ve meyve verme dönemlerinde bitkilerin yüksek oranda P ve K ihtiyacını karşılar.

Flora Series besin çözeltisi ortamında, vermiküitle dolduran viyollere 4'er adet karabuğday tohumları ekilmiştir. 10 günün sonunda fidelenen karabuğday tohumları dört deney grubuna ayrılmıştır (Tablo 2). Bu gruplar kontrol, sistein, bor ve sistein+bor'dur. 2 gün boyunca sistein ve sistein+bor gruplarına 100 µM L-sistein uygulaması yapılmıştır (İmamoğlu,2024). Sistein uygulaması sonrasında 5 gün boyunca bor ve sistein+bor gruplarına 40 ppm borik asit ( $H_3BO_3$ ) uygulaması yapılmıştır. Literatürde yapılan araştırmalarda, borik asit konsantrasyonunun 40 ppm'in karabuğdayda bor toksisitesini araştırmak için uygun bir doz olduğu görülmüştür (Yazıcı ve Korkmaz, 2020).

Fideler, ışık yoğunluğunun  $400 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , sıcaklıkların gündüz  $25^\circ\text{C}$  ve gece  $22^\circ\text{C}$ , nem oranının ise  $\%60 \pm 2$  olduğu kontrollü ortam koşullarında bitki büyütme odasında yetiştirilmiştir (Sağlam vd.,2011).

Tablo 2. Deney grupları ve uygulamaları

| Gruplar            | Yapılan Uygulamalar                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Süre   |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| <b>Kontrol</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Deney süresi boyunca fideler besin çözeltisinde tutulmuştur.</li> <li>Sistein ve borik asit uygulaması yapılmamıştır.</li> </ul>                                                                                                                                                           | 17 gün |
| <b>Sistein</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>10 gün boyunca besin çözeltisinde bekletilmiştir.</li> <li>2 gün boyunca besin çözeltisine <math>100 \mu\text{M}</math> sistein eklenmiştir. Hazırlanan bu çözelti, borik asit içermemektedir.</li> <li>2 günün sonunda besin çözeltisine tekrar alınarak 5 gün bekletilmiştir.</li> </ul> | 17 gün |
| <b>Bor</b>         | <ul style="list-style-type: none"> <li>12 gün boyunca besin çözeltisinde bekletilmiştir.</li> <li>Besin çözeltisine 40 ppm borik asit eklenerek 5 gün boyunca bekletilmiştir. Hazırlanan bu çözelti, sistein içermemektedir.</li> </ul>                                                                                           | 17 gün |
| <b>Sistein+Bor</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>10 gün boyunca besin çözeltisinde bekletilmiştir.</li> <li>2 gün boyunca besin çözeltisine <math>100 \mu\text{M}</math> sistein eklenmiştir.</li> <li>Besin çözeltisine 40 ppm borik asit eklenerek 5 gün boyunca bekletilmiştir.</li> </ul>                                               | 17 gün |

17. günde bitki yaprakları hasat edilmiştir. Sonrasında sıvı azottan geçirilip morfolojik, biyokimyasal, antioksidan enzim araştırmaları ve moleküler analizler için  $-20^\circ\text{C}$  de saklanmıştır.

## 2.2. Büyüme Parametreleri ve Morfolojik Değişimlerin İncelenmesi

Kontrol, sistein, bor ve sistein+bor olarak oluşturulan dört farklı deney grubundaki karabuğday bitkileri 17 gün büyütülüp hasat edilip ardından aşağıdaki ölçümler gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.1. Kök ve Gövde Uzunlukları**

Oluşturulan dört deney grubundaki fidelerden her gruptan üçer adet örnek alınmış ve ardından her bitki için ortalama kök ve sürgün uzunlukları alınmıştır.

## **2.3. Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi**

### **2.3.1. Nispi Su İçeriği**

Bor stresine maruz kalan fidelerde sistein uygulamasının su dengesine etkisini değerlendirmek amacıyla, nispi su içeriği (RWC %) ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Castillo (1996) tarafından tanımlanan yöntem kullanılmıştır. Fidelerin yapraklarından alınan 0.1 g'lık örneklerin taze ağırlıkları belirlendikten sonra, örnekler 4 °C'de saf su içinde 24 saat bekletilerek turgor ağırlıkları ölçülmüştür. Ardından, örnekler 95 °C'de 48 saat kurutularak kuru ağırlıkları elde edilmiştir.

### **2.3.2. Klorofil Tayini**

Klorofil içeriği, Arnon (1949) yöntemine göre belirlenmiştir. 0,1 g bitki dokusu %80'lik aseton ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler 4 °C'de 10.000 g'de 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant, kla, klb ve toplam klorofil miktarlarını belirlemek için 663 nm ve 645 nm'de spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

### **2.3.3. Lipid Peroksidasyon Tayini**

Lipid peroksidasyonu, Heath ve Packer (1968) yöntemine göre belirlenmiştir. Bitki dokusu %0,1 trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edildikten sonra 15.000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanta, %20 TCA ve %0,5 tiyobarbitürik asit (TBA) içeren çözelti eklenmiş ve karışım 95 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Ardından örnekler 10 dakika süreyle buz banyosunda soğutulmuştur. Absorbans değerleri 532 nm ve 600 nm dalga boylarında spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

#### 2.3.4. Prolin Tayini

0,2 g bitki dokusu homojenizatörde parçalandıktan sonra %40'lık etanol ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen karışım, 24 saat boyunca +4 °C'de, 12 rpm hızla mikrokarıştırıcıda çalkalanmıştır. Süpernatant kısma, ninhidrin çözeltisi (%1 ninhidrin, %60 asetik asit ve %20 etanol) eklenmiş ve örnekler 95 °C'de 30 dakika etüvde inkübe edilmiştir. Ardından oda sıcaklığına getirilen örneklerin absorbansı 520 nm'de ölçülerek prolin konsantrasyonu hesaplanmıştır (Carillo vd., 2008).

#### 2.3.5. Toplam Fenolik Tayini

Singleton ve Rossi (1965)'e dayalı olarak, toplam fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. 0,1 g bitki dokusu, %95'lik metanol ile homojenize edilmiştir. Ölçüm için 2N folin ve %2'lik sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler, 20 dakika süreyle karanlıkta bekletilmiş ve absorbans değerleri 765 nm'de ölçülmüştür.

#### 2.3.6. Toplam Şeker Tayini

Toplam şeker miktarının belirlenmesinde, 0,1 g kuru bitki örneği %70'lik etanol ile homojenize edilerek 95 °C'de ısıtılmış ve ardından 4 °C'de 15.000 g'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Ölçüm için elde edilen süpernatanta %5'lik fenol ve sülfürik asit eklenmiş, çözelti oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildikten sonra 490 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar, glikoz standardına göre hesaplanmıştır (Dubois vd., 1956).

#### 2.3.7. Hidrojen Peroksit İçeriği

Bitki dokusu (0,1 g), %0,1 TCA ile homojenize edilmiş ve +4 °C'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanta 1 M potasyum iyodür (KI) eklenmiş ve ardından pH 7'ye ayarlanan 10 mM potasyum fosfat tamponu ilave edilmiştir. Karanlıkta bekletilen örneklerin absorbansı 390 nm'de ölçülmüştür. Bu yöntem, Velikova (2000) tarafından geliştirilmiştir.

### **2.3.8. Askorbik Asit İçeriği**

Askorbik asit içeriği, Jagota ve Dani (1982) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu amaçla, 0,1 g bitki dokusu %10'luk TCA çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve +4 °C'de 15.000 g'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatanta %10'luk Folin çözeltisi eklenmiş, karışım 20 dakika karanlıkta bekletildikten sonra absorbans 760 nm'de ölçülmüştür.

### **2.3.9. DAB Boyama Yöntemi ile Hidrojen Peroksit Belirlenmesi**

Hidrojen peroksit birikimini belirlemek amacıyla 3,3'-diaminobenzidin (DAB) boyama yöntemi uygulanmıştır. Bu kapsamda, 50 mg DAB, 50 mL steril suda çözülerek pH 3.8'e ayarlanmıştır. Tüm gruplardan benzer boyutlarda seçilen yapraklar saf suyla yıkandıktan sonra falkon tüplere alınmış ve her birine 20 mL DAB çözeltisi eklenmiştir. Numuneler mikrokarıştırıcıda 24 saat inkübe edilmiştir. Boyama sonrası, yapraklar 95 °C'deki su banyosunda 12 mL absolute etanol ile renk açılması gözlenene dek kaynatılmış; ardından %60 gliserol ile ıslatılmış filtre kağıdına yerleştirilerek +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Kumar vd., 2014).

### **2.3.10. NBT Boyama Yöntemi ile Süperoksit Radikali Belirlenmesi**

Süperoksit radikali birikiminin tespiti için Nitro Blue Tetrazolium (NBT) boyama yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla, 0,1 g NBT, pH 7.5'e ayarlanmış 50 mL sodyum fosfat tamponu içinde çözülmüştür. Boyama işleminde yaprak örnekleri hazırlanarak çözeltide inkübe edilmiş, ardından su banyosuna alınarak renk değişimi gözlemlenmiştir (Kumar vd., 2014).

### **2.3.11. Protein İçeriği**

Protein miktarı, Bradford (1976) yöntemine göre Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası kullanılarak 595 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Elde edilen protein konsantrasyonu (mg) enzim aktivitelerinin hesaplanmasında referans olarak kullanılmıştır.

## 2.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Antioksidan enzim analizleri için 0,1 g bitki dokusu homojenize edildikten sonra, 50 mM potasyum fosfat tamponu ((pH 7; 1 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA); %1 polivinilpolipirrolidon (PVPP), 0,590 g dipotasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ ) ve 0,2192 g monopotasyum fosfat ( $KH_2PO_4$ )) ile ekstrakte edilmiştir. APX analizi için ekstraksiyon tamponuna ayrıca 5 mM askorbik asit ilave edilmiştir. Homojenatlar +4 °C'de 15.000 g'de 20 dakika santrifüjlenmiş, elde edilen süpernatant antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Süpernatantlar analizlere kadar -20 °C'de saklanmıştır (Angelini vd., 1990).

### 2.5.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

Süperoksit dismutaz aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 13 mM metiyonin, 0,1 mM EDTA ve NBT ile hazırlanmıştır. 2 mM riboflavin 1 L saf suda çözülmiştir. Ölçümler için 50 µl ekstraksiyon sıvısı kullanılmıştır. Reaksiyon oluşumu için riboflavin çözeltisi en son ilave edilmiştir. Beyaz ışık kaynağı ( $375 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddeti) altında reaksiyon başlatılarak, 10 dakika sonra ışık kaynağı uzaklaştırılıp oluşan ürün 560 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Sağlam vd., 2025).

### 2.5.2. Katalaz Aktivitesi

CAT aktivitesi, Aebi (1983) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu amaçla, pH 7.0 olacak şekilde 50 mM potasyum fosfat tamponu hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 30 mM  $H_2O_2$  içermekte olup, reaksiyon 50 µL enzim ekstraktının eklenmesiyle başlatılmıştır. Absorbansdaki azalma, 240 nm dalga boyunda ve 25 °C sıcaklıkta 3 dakika boyunca izlenmiştir.

### 2.5.3. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

APX aktivitesi, Nakano ve Asada (1987) yöntemine göre tayin edilmiştir. Reaksiyon karışımı, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7) içerisine 0.1 mM EDTA, 0.5 mM askorbat ve 0.1 mM  $H_2O_2$  eklenerek hazırlanmıştır. Reaksiyon, 50 µL bitki ekstraktının eklenmesiyle

başlatılmıştır. Askorbatın  $H_2O_2$  ile oksidasyonu sonucu meydana gelen absorbands azalması, 290 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmüştür.

## 2.4. Moleküler Analizler

### 2.4.1. Total RNA İzolasyonu

Bitki örneklerinden yüksek verimli ve saf RNA elde etmek amacıyla Favorgen RNA İzolasyon Kiti kullanılmıştır. İzolasyon sürecinde, 0,1 g yaprak dokusu sıvı azotta ezilmiş ve homojenizatörde ön işleme tabi tutulmuştur. Elde edilen homojenata,  $\beta$ -merkaptanol içeren FARB tamponu eklenmiş ve karışım kısa süre inkübe edilmiştir. Numuneler filtre sütunlara aktararak santrifüj edilmiş, elde edilen süpernatanta etanol ilavesiyle RNA'nın bağlanması sağlanmıştır. Karışım mini kolona aktarılmış ve yüksek hızda santrifüj edilmiştir. Ardından kolonlar sırasıyla Wash 1 ve iki kez Wash 2 tamponları ile yıkanmıştır. Kolonlar kurutulup yeni tüplere yerleştirilmiş ve RNA, RNAase-free su ile elüe edilmiştir. Elde edilen RNA örnekleri buz üzerinde toplanarak, saflık ve konsantrasyonları Nanodrop cihazı ile ölçülmüş ve  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

### 2.4.2. cDNA Sentezi

RNA'nın kalitesinin ve miktarının belirlenmesi için Thermo Scientific Nanodrop 2000 cihazında 260/280 nm dalga boyunda absorbands ölçümleri gerçekleştirildi. Bu aşama, cDNA sentezine uygun konsantrasyonda RNA elde etmek için önem arz etmektedir. RNA örneklerinden cDNA sentezi, "High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit" kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına göre gerçekleştirildi.

RNA ölçümü, steril tüplere nanodrop cihazı ile belirlenen RNA miktarlarının eklenmesiyle başlatıldı. Toplam hacmin  $50\text{ }\mu\text{L}$  olması sağlamak amacıyla, her tüpe yeterli miktarda su ilave edildi. Daha sonra, reaksiyon karışımının hazırlanması aşamasına geçildi. Bu aşamada, her tüpe sırasıyla  $42\text{ }\mu\text{L}$  Nuclease free  $H_2O$ ,  $2\text{ }\mu\text{L}$  10X RT Buffer,  $0.8\text{ }\mu\text{L}$  25X dNTP mix,  $2\text{ }\mu\text{L}$  10X Random Primers ve  $1\text{ }\mu\text{L}$  Multiscribe Reverse Transkriptaz eklendi. Bu eklemeler sonucunda, tüplerdeki toplam hacim  $10\text{ }\mu\text{L}$ 'ye ayarlandı.

Reaksiyon karışımının oluşturulmasının ardından, her tüpe  $25\text{ }\mu\text{L}$  RNA ve saf su eklenerek toplam  $50\text{ }\mu\text{L}$  hacim elde edildi. Karışım homojen hale gelmesi için dikkatlice karıştırıldı ve ardından 20 saniye boyunca santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Son olarak, ters

transkripsiyon süreci için ısı döngü cihazına yerleştirilen tüpler, 42 °C’de 140 dakika süreyle ısıtılarak RNA’nın cDNA’ya dönüştürülmesi sağlandı. Bu işlemler, cDNA sentezi için gerekli koşulları oluşturdu. Hazırlanan cDNA’lar ile gen ekspresyon analizleri için temel bir kalıp oluşturuldu.

#### 2.4.3. Real Time PCR

Real-time PCR reaksiyonu için her biri 1 µL olacak şekilde forward ve reverse primerler ile 1 µL cDNA örneği, 10 µL SsoFast Evagreen mix ile karıştırılmıştır. Nükleaz içermeyen su eklenerek toplam hacim 20 µL’ye ayarlandı ve reaksiyon başlatılmıştır. Referans gen olarak *β-aktin* kullanıldı (Sağlam vd., 2025). Real-time PCR sonrası, stres altında bırakılan yapraklardan elde edilen örneklerde *AAO* (L-Askorbat Oksidaz) ve *LHCb* (Chlorophyll a/b Binding Protein) genlerinin ekspresyonu polimeraz zincir reaksiyonu ile eş zamanlı olarak izlendi. Bu çalışmada kullanılan primer dizileri Oligomer Biyoteknoloji tarafından temin edildi ve primerlerin sulandırılması steril kabin içerisinde gerçekleştirildi. Çözünen primerler -20°C’de saklanılmıştır Gen isimleri, baz dizileri ve sayısı tablo 3’de gösterilmektedir (F: Forwad, R: Reverse).

Tablo 3. Gen ve baz dizileri

| Gen              | Baz Dizisi 5’-3’      | Baz Sayısı |
|------------------|-----------------------|------------|
| <i>AAO</i> F     | CAAACAACCTTACTCCTCCCT | 20         |
| <i>AAO</i> R     | ATCCCGTAGTGGTATGACC   | 19         |
| <i>LHCb</i> F    | GTGACTACGGCTGGGACA    | 18         |
| <i>LHCb</i> R    | CATGGATCAAGCTAGGGTTT  | 20         |
| <i>β-aktin</i> F | AACTGCTGAACGGGAAAT    | 18         |
| <i>β-aktin</i> R | TGAAGGCTGGAAGAGGAC    | 18         |

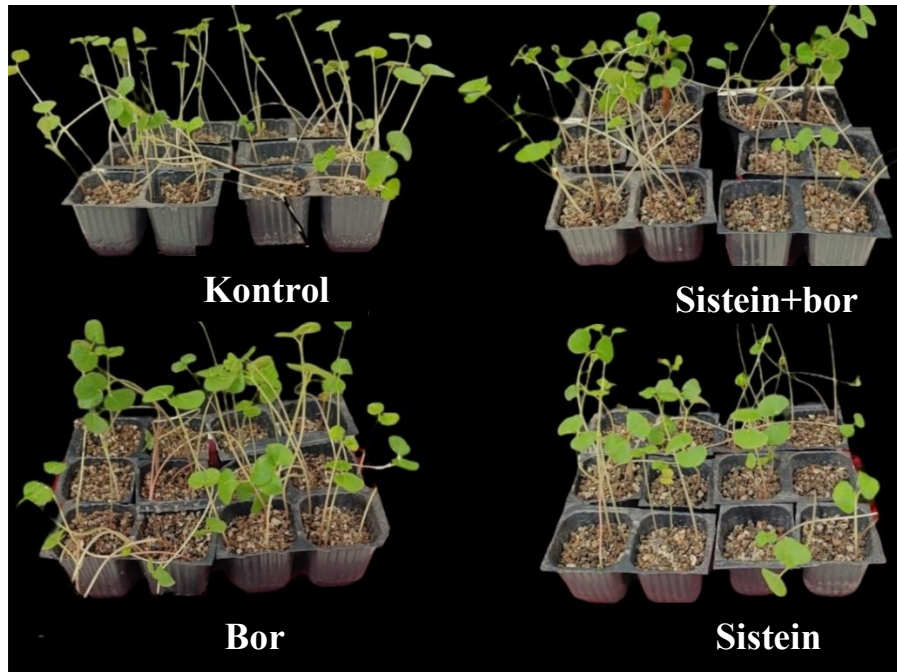
## 2.5. İstatistiksel Analizler

Elde edilen sayısal ve oransal veriler, Windows işletim sistemi üzerinde çalışan lisanslı bir program olan Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) kullanılarak bilgisayar ortamında ANOVA varyans analizi yöntemiyle değerlendirilmiştir. Analiz sürecinde SPSS'in kapsamlı istatistiksel fonksiyonları, elde edilen sonuçların doğruluk ve güvenilirliğinin artırılmasına önemli katkılar sağlamıştır.



### 3. BULGULAR

Karabuğday tohumları, ekiminden sonraki yaklaşık on gün içerisinde çimlenme sürecini tamamlamış; kotiledonların gelişimini takiben ilk gerçek yaprakların oluşmasıyla birlikte bitkiler vejetatif gelişim evresine geçiş yapmıştır. Bu evre, vejetatif büyümenin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Çimlenmeden hasada kadar yapılan düzenli gözlemler sonucunda, tüm uygulama gruplarındaki fidelerin sağlıklı bir şekilde gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle bor uygulaması yapılan gruplarda, uygulamanın oluşturduğu stres koşullarına rağmen kloroz, nekrotik leke, yara dokusu oluşumu veya gelişimsel bir anomali gibi belirgin morfolojik bozukluklar gözlemlenmemiştir. Bitkilerin genel morfolojik görünüşleri, yapısal bütünlüklerini koruduklarını ve bor toksisitesinin belirgin bir etkiye oluşturmadığını ortaya koymaktadır. Bu durumu destekleyen temsili görüntüler Şekil 4'te sunulmuş olup; farklı uygulamalar arasındaki morfolojik benzerlikler, bor uygulamasının bitki formunda gözle görülür bir deformasyona yol açmadığını görsel olarak da doğrulamaktadır.



Şekil 4. Sistein ve bor uygulamalarının karabuğday fidelerinin morfolojik gelişimi üzerine etkileri.

### 3.1. Sistein Uygulamasını Bor Stresi Koşullarında Büyüme ve Gelişme Üzerine Etkileri

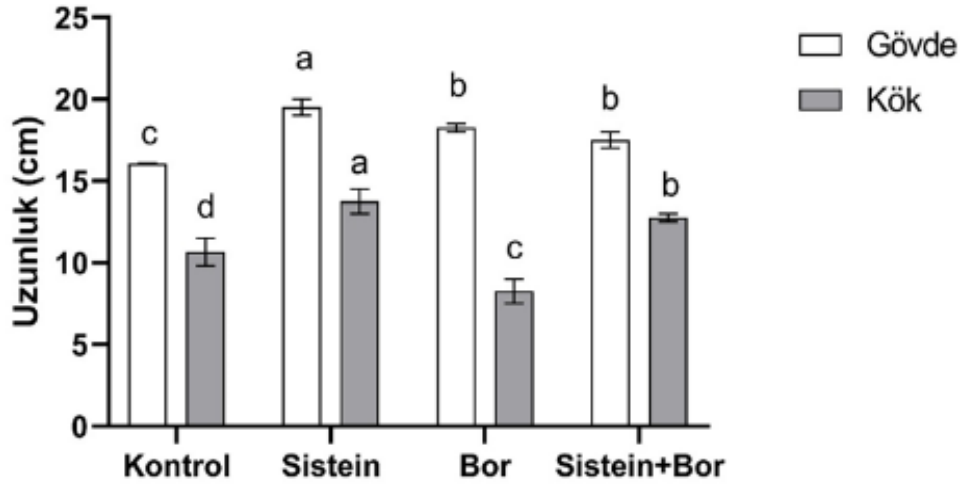
Sisteinin, bor toksisitesine karşı bitkisel dayanıklılığı artırmadaki potansiyel etkisini değerlendirmek amacıyla, *Fagopyrum esculentum* bitkileri 40 ppm konsantrasyonunda bor uygulamasına tabi tutulmuştur. Karabuğday bitkileri, “Yapılan Çalışmalar” başlığında ayrıntılı olarak tanımlanan kontrollü çevresel koşullarda yetiştirilmiştir. Bitkilerde bor toksisitesinin morfolojik ve fizyolojik etkilerini değerlendirmek amacıyla, uygulama süreci sonunda kök ve gövde uzunlukları ile k<sub>la</sub>, k<sub>lb</sub> ve toplam klorofil içerikleri temel büyüme-gelişme parametreleri olarak ölçülmüştür.

#### 3.1.1. Kök-Gövde Uzunluğunun Belirlenmesi

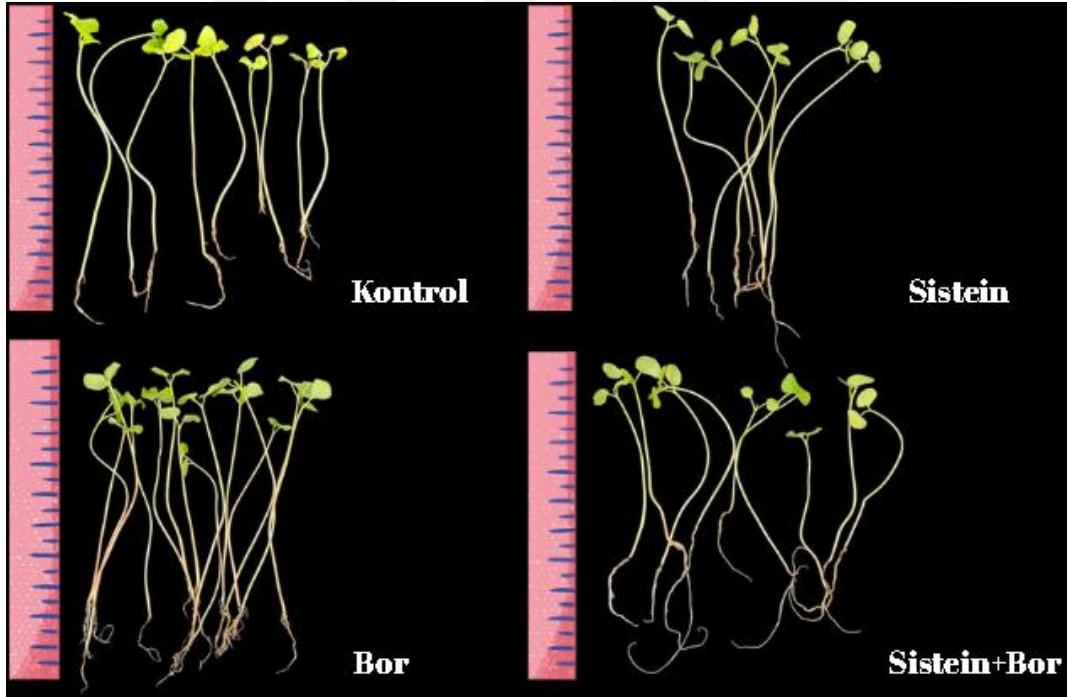
Kök ve gövde uzunluklarına ilişkin analizler, sistein ve bor uygulamalarının bitki gelişimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur (Şekil 5a). Yalnızca sistein uygulanan grupta, gövde uzunluğu tüm gruplar arasında istatistiksel olarak en yüksek ortalama değer göstermiş ve kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1,3 kat artış göstermiştir. Sistein+bor uygulanan grupta ise gövde uzunluğu, kontrol grubuna göre yaklaşık 1,2 kat artmış, ancak yalnızca sistein uygulanan grup ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Kök uzunluğu açısından da benzer bir eğilim saptanmıştır. En uzun kök gelişimi, yalnızca sistein uygulanan grupta gözlenmiş ve bor uygulanan gruba kıyasla yaklaşık 1,6 kat daha yüksektir. Sistein+bor grubunda belirlenen kök uzunluğu da yalnızca bor uygulanan gruba göre yaklaşık 1,5 kat daha fazladır. Sistein uygulaması, borun kök gelişimi üzerindeki baskılayıcı etkisini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmış, ancak sistein ve sistein+bor grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Elde edilen veriler, sisteinin hem kök hem de gövde gelişimini desteklediğini ve bor toksisitesinin olumsuz etkilerini kısmen azaltabildiğini düşündürmektedir. Morfolojik gözlemlerle desteklenen bu sonuçlar, Şekil 5b’de sunulan temsili bitki görüntüleriyle de uyumludur.



Şekil 5a. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının kök ve gövde uzunluklarına etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.



Şekil 5b. Sistein ve bor uygulamalarının karabuğday fidelerinin gelişimi üzerindeki morfolojik etkileri.

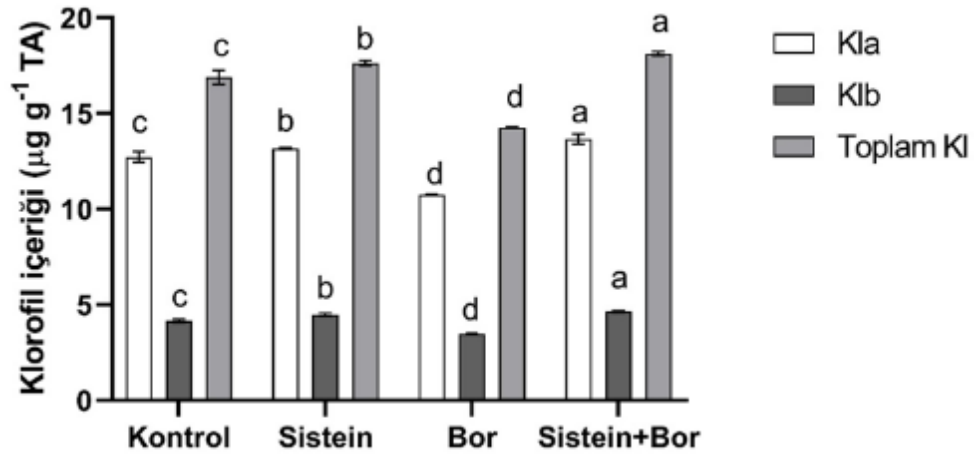
### 3.1.2. Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi

Kontrol, bor, sistein ve sistein+bor uygulama grupları arasında, karabuğday bitkisinin kla, klb ve toplam klorofil içerikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Şekil 6).

Gruplar arasında kla içeriği değerlendirildiğinde, en yüksek değer sistein+bor grubunda belirlenmiş; bu grubu sırasıyla sistein, kontrol ve bor grupları izlemiştir. Bor uygulaması, kontrol grubuna kıyasla kla düzeyinde yaklaşık 1,9 katlık bir azalmaya neden olmuştur. Buna karşılık sistein+bor uygulaması, yalnızca bor grubuna göre kla miktarını yaklaşık 1,8 kat artırarak anlamlı bir iyileşme sağlamıştır. Tek başına sistein uygulaması ise kontrol grubuna kıyasla kla içeriğinde sınırlı fakat istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir.

Klb miktarı incelendiğinde, bor uygulamasının bu parametre üzerinde de belirgin olumsuz etkiler yarattığı, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2,3 katlık bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Sistein+bor uygulaması, yalnızca bor grubuna göre klb düzeyini yaklaşık 1,9 kat artırarak toksik etkinin hafifletilmesinde etkili olmuştur. Tek başına sistein uygulaması ise kontrol grubuna kıyasla klb içeriğinde sınırlı fakat istatistiksel olarak anlamlı bir artış sağlamıştır.

Toplam klorofil içeriği değerlendirildiğinde, bor uygulaması kontrol grubuna göre yaklaşık 2 katlık bir düşüşe yol açmıştır. Bu azalma, sistein+bor uygulamasıyla belirgin şekilde hafiflemiş ve bor grubuna kıyasla toplam klorofil miktarında yaklaşık 1,8 kat artış kaydedilmiştir. Tek başına sistein uygulaması ise kontrol grubuna kıyasla toplam klorofil içeriğinde hafif fakat anlamlı bir artış göstermiştir.



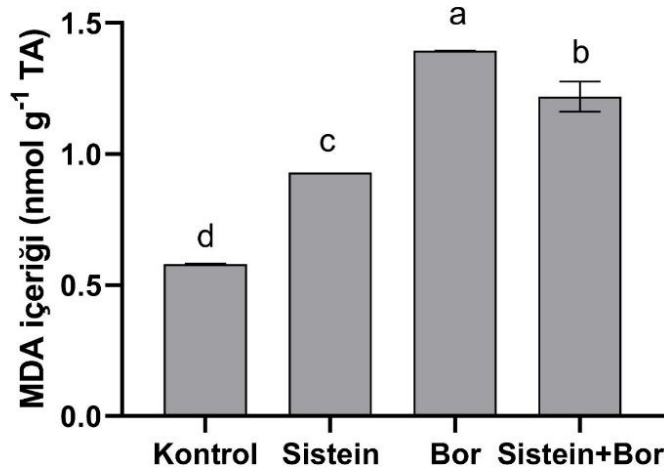
Şekil 6. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının klorofil içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

### 3.2. Sistein ve Bor Stresi Uygulamasının Oksidatif Stres Göstergeleri Üzerine Etkileri

Bor toksisitesinin *Fagopyrum esculentum* bitkisinde oluşturduğu oksidatif stres düzeyi;  $H_2O_2$  içeriği, MDA düzeyi ve histokimyasal boyama analizleri kullanılarak kapsamlı şekilde değerlendirilmiştir. Bu bağlamda,  $H_2O_2$  birikimi DAB boyama yöntemiyle;  $O_2^-$  radikali birikimi ise NBT boyama yöntemiyle tespit edilmiştir. Elde edilen kantitatif ölçümler ve histokimyasal analiz sonuçları, bor uygulamasının karabuğday bitkilerinde oksidatif stres göstergelerini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, bor toksisitesinin bitki dokularında ROT'lerinin birikimini tetikleyerek hücrel zar bütünlüğünde bozulma ve oksidatif hasara yol açtığını desteklemektedir.

#### 3.2.1. Lipid Peroksidasyon İçeriğinin Belirlenmesi

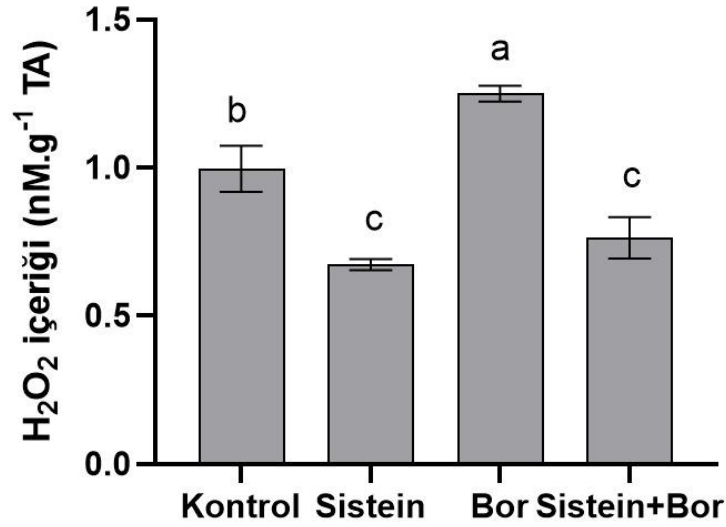
Kontrol, bor, sistein ve sistein+bor uygulama grupları arasında MDA içeriği açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (Şekil 7). En yüksek MDA içeriği, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2,4 kat artış gösteren bor grubunda saptanmıştır. Sistein grubundaki MDA içeriği ise, kontrol grubuna göre yaklaşık 1,6 kat daha yüksek bulunmuştur. Sistein+bor grubunda MDA içeriği, bor grubuna kıyasla yaklaşık 1,2 kat daha düşük olmasına rağmen hem kontrol hem de sistein gruplarından anlamlı derecede yüksektir.



Şekil 7. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının MDA içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

### 3.2.2. Hidrojen Peroksit İçeriğinin Belirlenmesi

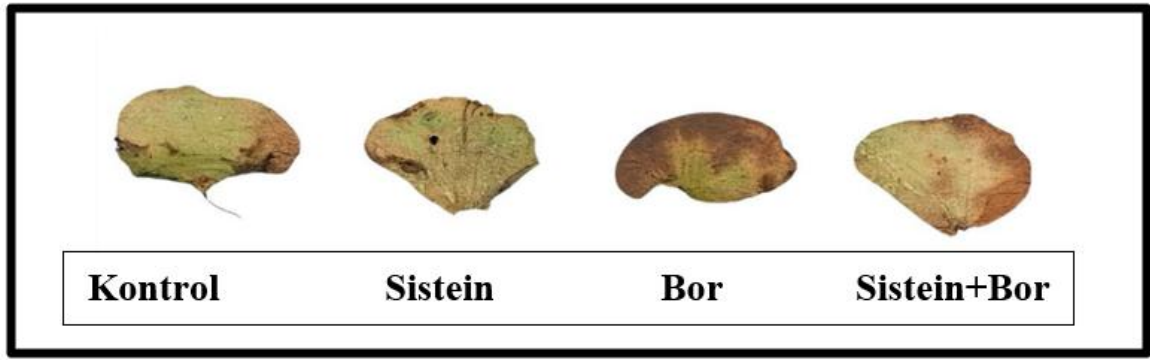
Uygulama grupları arasında  $H_2O_2$  içeriği bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Şekil 8). En yüksek  $H_2O_2$  içeriği yalnızca bor uygulanan grupta ölçülmüş ve kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1,2 kat artış göstermiştir. Bu grup, tüm diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde ayrılmıştır. Yalnızca sistein uygulanan grupta  $H_2O_2$  içeriği, kontrol grubuna göre 1,5 kat daha düşük bulunmuştur. Sistein+bor grubunda da  $H_2O_2$  seviyesi, yalnızca bor uygulamasına kıyasla yaklaşık 1,5 kat azalmış ve sistein grubuna benzer bir düzeyde ölçülmüştür. Her iki grup da bor grubundan anlamlı düzeyde ayrılırken, aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Kontrol ve sistein+bor grupları benzer düzeyde  $H_2O_2$  içeriğine sahip olup aynı istatistiksel grupta yer almıştır.



Şekil 8. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı(n=3), üzerlerindeki harfler ise p <0,05 düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

### 3.2.3. DAB Boyama Yöntemi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Birikiminin Tespiti

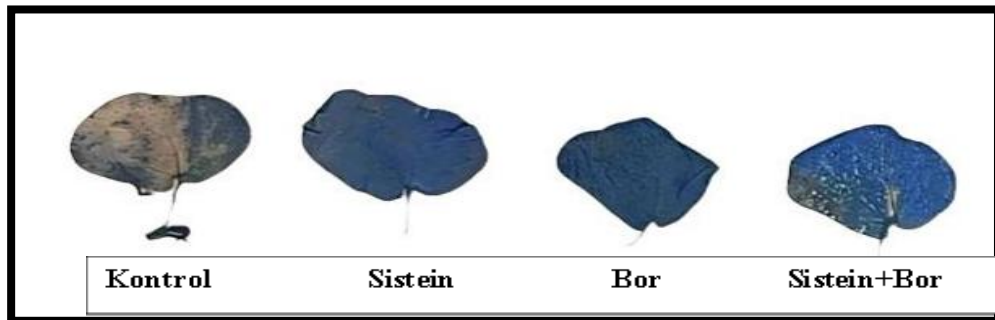
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikimi, DAB boyası kullanılarak yapılan histokimyasal analizle görsel olarak değerlendirilmiştir. Şekil 9’da görüldüğü üzere, bor uygulanan gruba ait yaprak dokularında DAB boyasına bağlı ortaya çıkan kahverengi renklenme, diğer gruplara kıyasla belirgin şekilde daha yoğun olup bu grupta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikiminin en yüksek seviyede olduğunu göstermektedir. Sistein+bor grubunda renklenme yoğunluğunun bor grubuna göre daha düşük olması, sistein uygulamasının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikimini azaltıcı etkisini görsel olarak da doğrulamaktadır. Kontrol ve sistein gruplarında ise kahverengi renklenmenin oldukça düşük düzeyde kaldığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bu görsel bulgular, biyokimyasal analizlerden elde edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği verileriyle (Şekil 9) uyumlu bir sonuç ortaya koymaktadır.



Şekil 9. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının DAB boyama yöntemi ile  $H_2O_2$  birikimi içeriğine etkisi.

#### 3.2.4. NBT Boyama Yöntemi ile Süperoksit Radikalinin Belirlenmesi

Süperoksit radikali birikimi, NBT boyası kullanılarak yapılan histokimyasal analizle görsel olarak değerlendirilmiştir. Şekil 10'da görüldüğü üzere, yalnızca bor uygulanan grupta NBT boyasına bağlı olarak ortaya çıkan mavi renklenme en yoğun seviyede gözlenmiş ve bu durum borun yaprak dokularında aşırı süperoksit birikimini tetiklediğini göstermektedir. Sistein+bor grubunda renklenme yoğunluğu belirgin şekilde azalırken, bu azalma sistein uygulamasının süperoksit birikimini baskılayıcı etkisini görsel olarak da doğrulamaktadır. Kontrol ve sistein gruplarında ise NBT kaynaklı mavi renklenmenin düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 10. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının  $O_2^-$  birikimine etkisi.

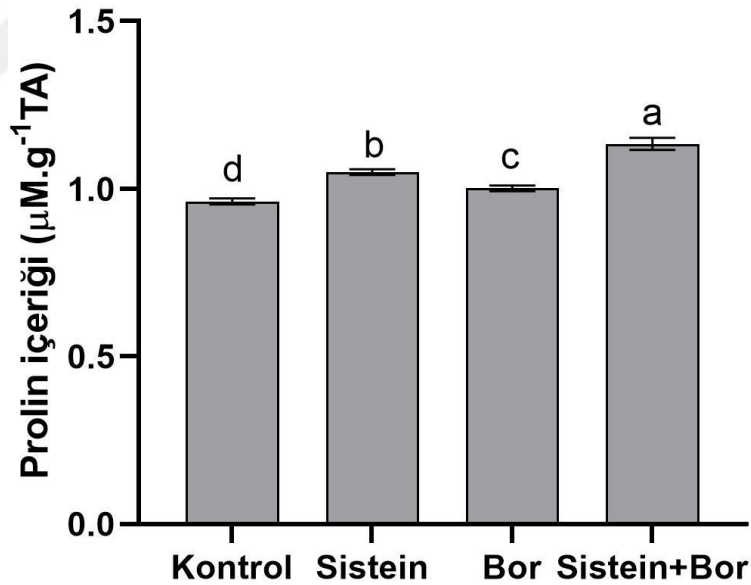
### 3.3. Bor Stresi ve Sistein Uygulamasının Osmotik Denge Üzerine Etkileri

Karabuğday bitkisinde bor toksisitesinin osmotik denge üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla prolin ve toplam çözünür şeker içerikleri analiz edilmiştir. Bu iki parametre, stres koşullarında hücre içi su potansiyelinin düzenlenmesinde görev alan başlıca

osmolitler arasında yer almaktadır. Deneysel süreçte farklı uygulamalara maruz bırakılan bitkilerde prolin birikimi, çözünür şeker miktarı ve nispi su içeriği ölçülerek, sistein uygulamasının bor kaynaklı ozmotik stres üzerindeki potansiyel koruyucu etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, sisteinin stres koşullarında ozmotik dengeyi destekleyici bir rol üstlenip üstlenmediği, bu iki fizyolojik göstergeler üzerinden değerlendirilmiştir.

### 3.3.1. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

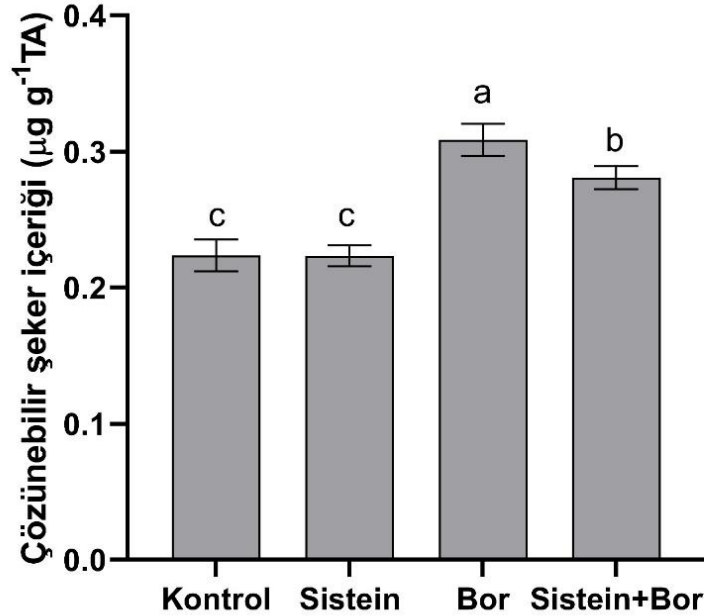
Prolin birikimine yönelik analizler, farklı uygulamaların karabuğday bitkisinde ozmotik yanıt üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur (Şekil 11). En yüksek prolin içeriği sistein+bor grubunda saptanmış ve bu değer, bor uygulama grubuna göre yaklaşık 1,25 kat, kontrol grubuna göre ise yaklaşık 1,3 kat artış göstermiştir. Sistein uygulama grubu, bor grubuna kıyasla 1,04 kat daha yüksek prolin içeriğine sahiptir. Kontrol grubu, tüm gruplar arasında en düşük prolin seviyesini göstermiştir.



Şekil 11. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının prolin içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise p < 0,05 düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

### 3.3.2. Çözünür Şeker İçeriğinin Belirlenmesi

Çözünür şeker içeriğine yönelik analizler, farklı uygulamaların karabuğday bitkisinin karbon metabolizması üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur (Şekil 12). Kontrol ve yalnızca sistein uygulanan gruplar aynı istatistiksel grupta yer almakta ve aralarında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. En yüksek çözünür şeker içeriği, bor uygulanan grupta tespit edilmiş ve kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1,4 kat artış göstermiştir. Sistein+bor grubunda, çözünür şeker düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 1,26 kat daha yüksek, ancak bor uygulama grubuna kıyasla yaklaşık 1,1 kat daha düşük bulunmuştur. Ayrıca, sistein+bor grubundaki çözünür şeker miktarı, yalnızca sistein grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksektir.

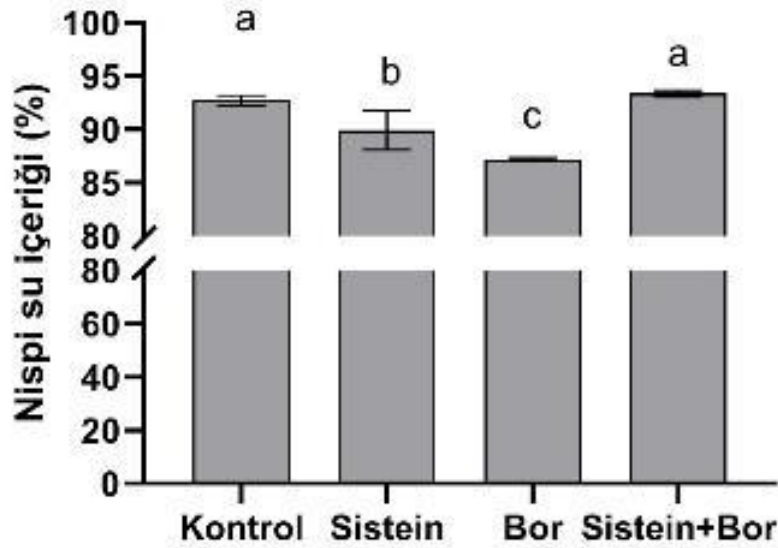


Şekil 12. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının çözünür şeker içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise p < 0,05 düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

### 3.3.3. Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi

Sistein ve bor uygulamalarının, karabuğday bitkisinin nispi su içeriği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 13). Bor uygulama grubunda RWC değeri, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1,08 kat azalma göstermiştir. Sistein+bor grubunda RWC, bor uygulama grubuna kıyasla yaklaşık 1,07 kat artış göstererek

kontrol grubuyla aynı istatistiksel grupta yer almıştır. Sistein uygulama grubunda ise RWC değeri, bor grubuna göre yaklaşık 1,03 kat artış göstermesine rağmen, kontrol ve sistein+bor gruplarına kıyasla daha düşük kalmıştır.



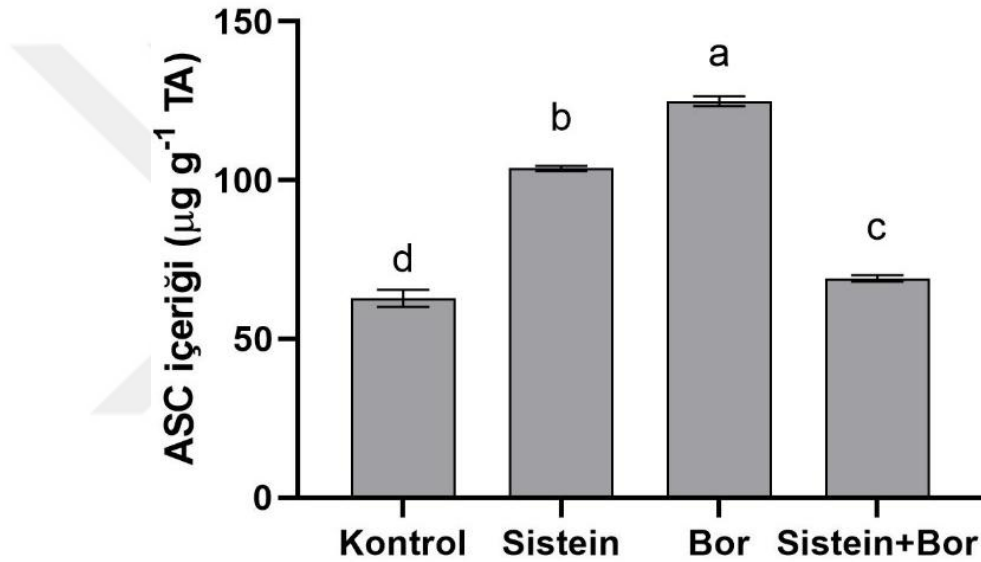
Şekil 13. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının nispi su içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir. Küçük farkların daha net gösterilebilmesi için y-ekseni 80'den itibaren kırılmıştır.

#### 3.4. Sistein Uygulamasının Bor Stresi Koşullarında Antioksidan Savunma Sistemine Etkisi

Bor toksisitesinin karabuğday bitkisinde oluşturduğu oksidatif stres yanıtını değerlendirmek amacıyla, bitkinin antioksidan savunma sistemi bileşenleri hem enzimatik hem de enzimatik olmayan parametreler üzerinden analiz edilmiştir. Enzimatik antioksidanlar olarak SOD, CAT ve APX enzimlerinin aktiviteleri ölçülmüştür. Enzimatik olmayan bileşenler arasında ise askorbik asit ve toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, farklı uygulamaların karabuğday bitkisinin antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkileri karşılaştırılmış ve sistein uygulamasının bor kaynaklı oksidatif strese karşı potansiyel koruyucu etkisi değerlendirilmiştir.

### 3.4.1. Askorbik Asit İçeriğinin Belirlenmesi

Bor toksisitesinin, karabuğday bitkisinde ASC içeriği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı artışlara neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 14). En yüksek ASC birikimi bor uygulama grubunda tespit edilmiş ve kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2 kat artış göstermiştir. Sistein uygulanan grupta, ASC içeriği kontrol grubuna göre yaklaşık 1,75 kat artmıştır. Buna karşılık, sistein+bor grubunda ASC düzeyi, bor uygulama grubuna kıyasla yaklaşık 1,7 kat azalmış ve kontrol grubuna yakın bir değer göstermiştir. Kontrol grubuna kıyasla sistein+bor grubu yaklaşık 1,1 kat artış belirlenmiştir.

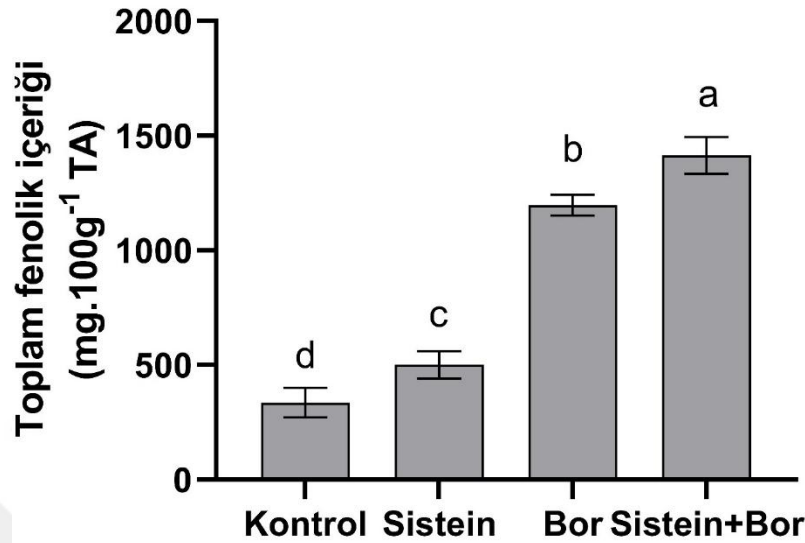


Şekil 14. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının askorbik asit içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise p < 0,05 düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

### 3.4.2. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam fenolik içerik, karabuğday bitkisinde farklı uygulamalar sonucunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir (Şekil 15). En yüksek toplam fenolik içerik sistein+bor grubunda tespit edilmiş olup, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 4,4 kat artış göstermiştir. Bu grubu sırasıyla bor uygulama grubu (yaklaşık 3,4 kat artış) ve sistein uygulama grubu (yaklaşık 1,8 kat artış) takip etmiştir. Sistein grubundaki fenolik içerik, kontrol grubuna göre artış göstermesine rağmen bor uygulama grubuna kıyasla yaklaşık 1,9 kat daha düşük düzeyde bulunmuştur. Bor uygulanan bitkilerde fenolik

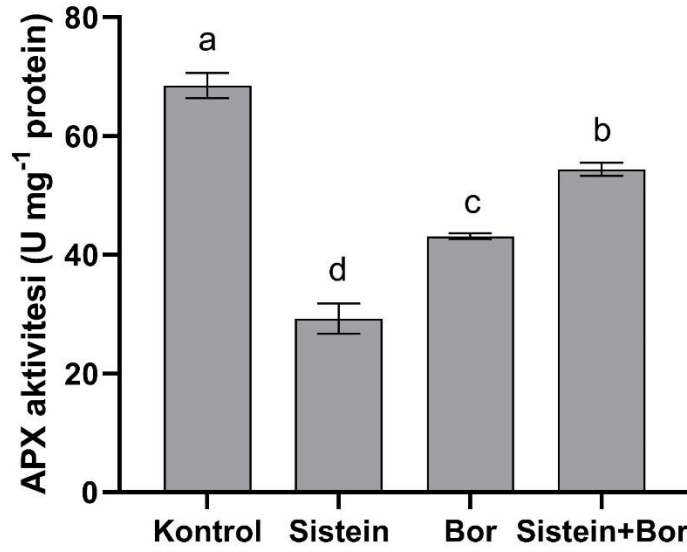
birikimin hem kontrol hem de yalnızca sistein uygulanan gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. En düşük fenolik içerik ise kontrol grubunda saptanmıştır.



Şekil 15. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının toplam fenolik içeriğine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise p < 0,05 düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

#### 3.4.3. Askorbat Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

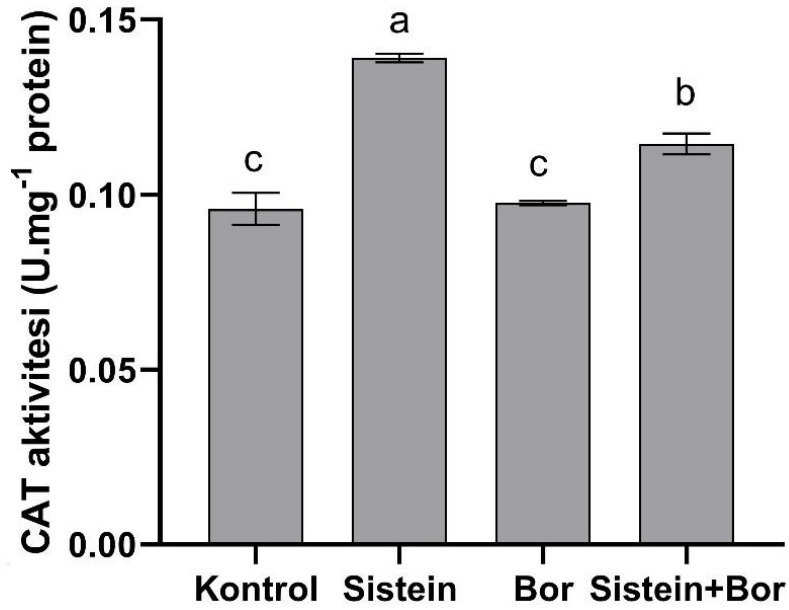
Bor toksisitesinin, karabuğday bitkisinde APX aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 16). En yüksek APX aktivitesi kontrol grubunda gözlenmiş, en düşük aktivite ise sistein uygulama grubunda tespit edilmiş ve kontrol grubuna kıyasla yaklaşık yaklaşık 2,3 kat daha düşük bulunmuştur. Bor uygulama grubunda APX aktivitesi, sistein grubuna göre yaklaşık 1,5 kat daha yüksek, ancak kontrol grubuna göre yaklaşık 1,5 kat daha düşük olarak ölçülmüştür. Sistein+bor grubunda ise APX aktivitesi, bor grubuna kıyasla yaklaşık 1,2 kat artış göstermiştir.



Şekil 16. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının APX aktivitesine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

#### 3.4.4. Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

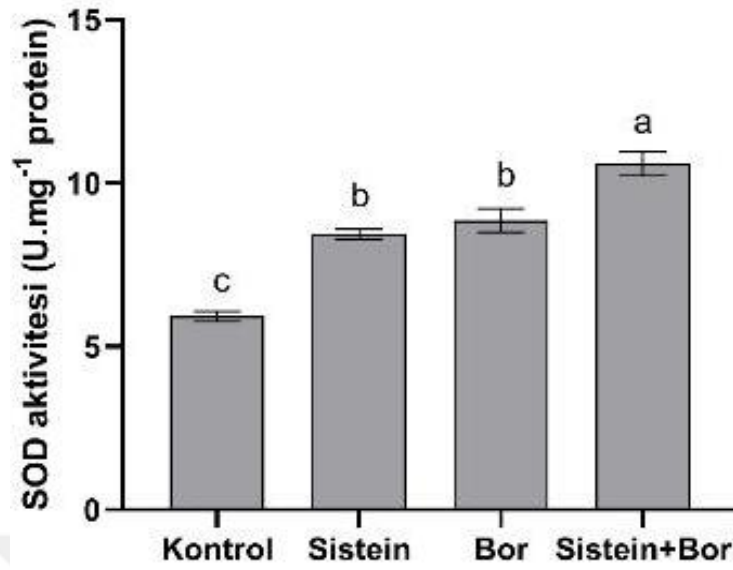
Sistein ve bor uygulamalarının karabuğday bitkisinde CAT aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 17). En yüksek CAT aktivitesi yalnızca sistein uygulanan grupta saptanmış olup, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1,4 kat, bor uygulama grubuna göre ise yaklaşık 1,5 kat daha yüksek bulunmuştur. Sistein+bor grubunda CAT aktivitesi, bor uygulama grubuna kıyasla yaklaşık 1,2 kat artmış, ancak yalnızca sistein uygulanan gruptan daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Kontrol ve bor grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir; her iki grup benzer CAT aktivitesi düzeylerine sahiptir.



Şekil 17. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının CAT aktivitesine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

#### 3.4.5. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Sistein ve bor uygulamalarının, karabuğday bitkisinde SOD aktivitesi üzerinde anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 18). Kontrol grubuna kıyasla, tüm uygulama gruplarında SOD aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlenmiştir. Sistein ve bor uygulama gruplarında, kontrol grubuna göre sırasıyla yaklaşık 1,5 kat ve 1,6 kat artış meydana gelmiştir. En yüksek SOD aktivitesi, sistein+bor uygulanan grupta tespit edilmiş olup, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1,9 kat, yalnızca sistein grubuna göre 1,2 kat, yalnızca bor grubuna göre ise 1,2 kat artış göstermiştir.



Şekil 18. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının SOD aktivitesine etkisi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

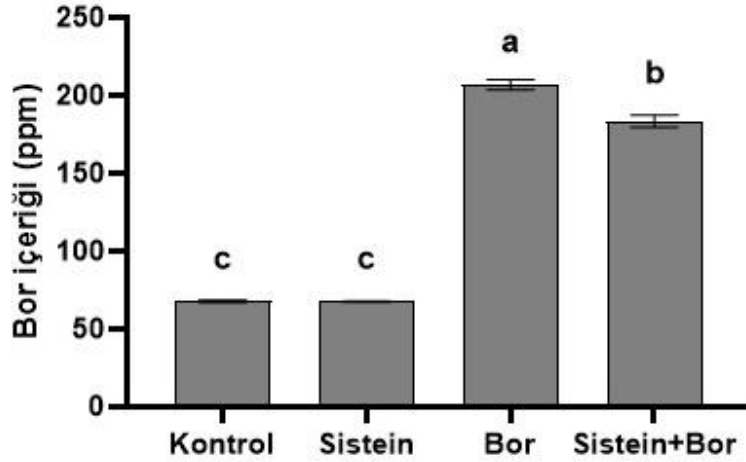
### 3.5. Yapraktan Bor Analizi

Kontrol, bor, sistein ve sistein+bor uygulama gruplarına ait karabuğday yapraklarında bor birikimi kantitatif olarak analiz edilmiştir. Yaprak dokularındaki bor miktarının belirlenmesi için İndüktif Eşleşmeli Plazma–Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) yöntemi kullanılmıştır. Bu analiz, uygulamaların yaprak bor birikimi üzerindeki etkilerini istatistiksel olarak değerlendirmek ve sistein uygulamasının bor stresi altındaki düzenleyici rolünü ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

#### 3.5.1. Sistein Uygulaması ile Bor Birikimi İlişkisi

Sistein ve bor uygulamalarının karabuğday bitkisindeki bor birikimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 19). Yaprak dokularında ICP-OES yöntemiyle yapılan analizler sonucunda, en yüksek bor birikimi yalnızca bor uygulanan grupta saptanmış ve kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 3,2 kat artış göstermiştir. Bu grubu, sistein+bor uygulama grubu izlemiş ve bu gruptaki bor düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 2,8 kat daha yüksek bulunmuştur. Sistein+bor grubu, yalnızca bor uygulanan gruba kıyasla yaklaşık 1,15 kat daha düşük bor içeriğine sahiptir. Kontrol ve yalnızca sistein

uygulanan gruplarda ise bor birikimi benzer düzeylerde ölçülmüş ve diğer iki gruba kıyasla anlamlı şekilde düşük bulunmuştur.



Şekil 19. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının yapraktan bor analizi. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

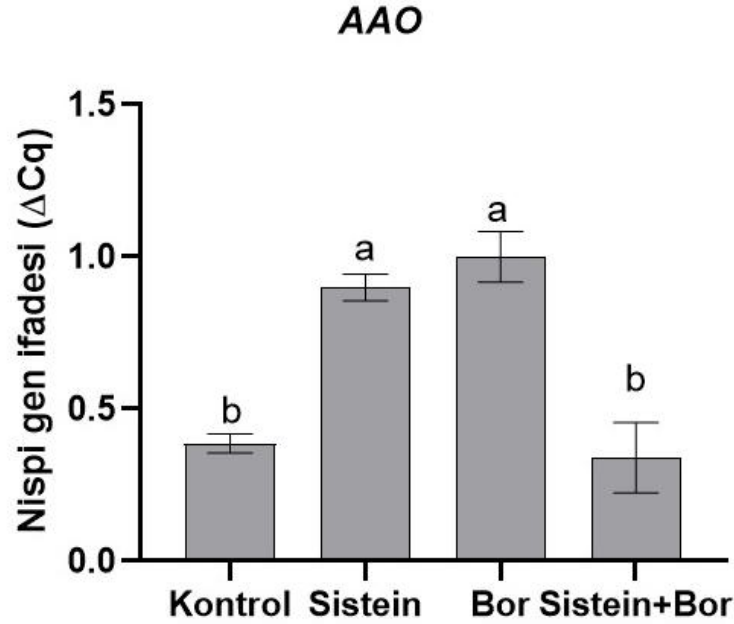
### 3.6. Sistein Uygulamasının Bor Stresi Koşullarında Gen İfade Düzeyleri Üzerine Etkileri

Sisteinin bor toksisitesine karşı etkilerini değerlendirmek amacıyla, *Fagopyrum esculentum* bitkileri kontrol, bor, sistein ve sistein+bor uygulama gruplarına ayrılmıştır. Bu doğrultuda, fotosentez verimliliği üzerindeki etkileri değerlendirmek üzere *LHCb* geni; oksidatif stres koşullarında redoks homeostazını sağlama kapasitesini ortaya koymak amacıyla ise *AAO* geni çalışmaya dahil edilmiştir. Gen ifade düzeylerini belirlemek amacıyla, *LHCb* ve *AAO* genlerinin ekspresyonları Real-Time PCR yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler, farklı uygulamaların ilgili genlerin transkripsiyonel aktivitesi üzerindeki etkilerini ortaya koymak üzere gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler uygulama grupları arasında karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

#### 3.6.1. *AAO* Geninin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi

Sistein ve bor toksisitesi uygulamaları altındaki karabuğday yapraklarının *AAO* gen ekspresyon düzeyleri incelendiğinde, yalnızca sistein ve bor uygulama gruplarının benzer düzeyde yüksek ekspresyon sergilediği belirlenmiştir. Bu iki grupta, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2,3 kat artış tespit edilmiş ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı

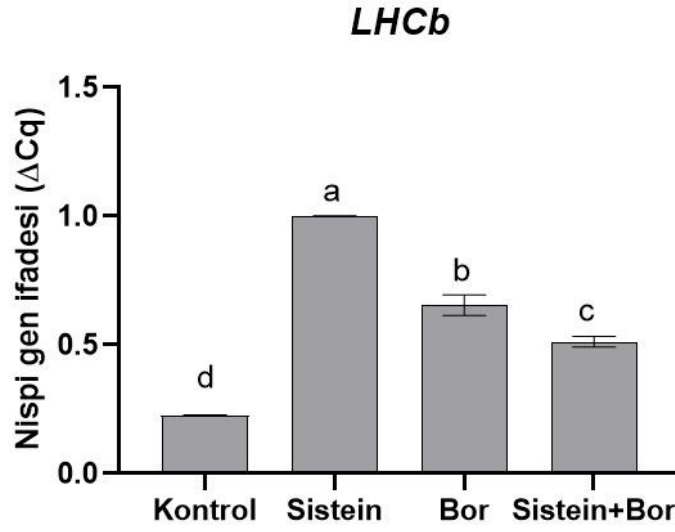
bulunmamıştır. Kontrol ve sistein+bor uygulama gruplarında ise *AAO* gen ekspresyon düzeyleri belirgin şekilde düşük olup, bu iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ayrıca, sistein+bor grubunun ekspresyon düzeyi, bor uygulama grubuna kıyasla yaklaşık 2,2 kat daha düşük bulunmuştur (Şekil 20).



Şekil 20. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının *AAO* geni ekspresyonu seviyesinde meydana gelen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

### 3.6.2. *LHCb* Geninin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi

Yapılan gen ekspresyon analizleri, *LHCb* geninin ifade düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların bulunduğunu göstermiştir (Şekil 21). Sistein uygulama grubunda *LHCb* gen ekspresyon seviyesi, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 4 kat artış göstererek tüm gruplar arasında en yüksek değere ulaşmıştır. Bor uygulama grubunda, kontrol grubuna göre yaklaşık 2,5 kat daha yüksek ekspresyon belirlenmiştir. Sistein+bor uygulanan grupta *LHCb* ekspresyonu, bor grubuna göre (yaklaşık 1,3 kat) daha düşük, kontrol grubuna göre ise yaklaşık 2 kat daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu ise en düşük ekspresyon seviyesine sahiptir.



Şekil 21. Bor toksisitesi ve sistein uygulamasının *LHCb* geni ekspresyonu seviyesinde meydana gelen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları standart sapmayı (n=3), üzerlerindeki harfler ise  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

#### 4. TARTIŞMA

Bor, bitkilerde hücre duvarı biyogenezi, karbonhidrat ve nükleik asit metabolizması gibi temel fizyolojik süreçlerde kritik bir mikrobesein elementidir ve abiyotik stres koşullarında fizyolojik bozulmaları hafifletmede önemli bir düzenleyici rol oynar (Landi vd., 2019; Oosterhuis vd., 2001). Ancak, borun eksikliği veya toksik birikimi, büyüme geriliği, ürün kalitesinde düşüş ve verim kayıplarına yol açar (Shah vd., 2017). *Fagopyrum esculentum*, yüksek besin değeri, glutensiz yapısı ve fenolik bileşiklerce zenginliğiyle tarım ve sağlık açısından öne çıksa da su stresi, tuzluluk ve besin dengesizlikleri gibi çevresel faktörlere karşı duyarlıdır; bu faktörler büyüme ve verimi olumsuz etkiler (Zhou vd., 2024; Antala vd., 2025). Bor, karabuğdayda hem eksikliği hem de toksisitesiyle metabolik dengeyi bozarak hücre duvarı stabilitesini, membran geçirgenliğini ve fotosentetik performansı etkileyebilir (Brdar-Jokanović, 2020). L-sistein, GSH biyosentezini destekleyerek oksidatif stresle mücadelede önemli bir düzenleyici olarak öne çıkar (Hasanuzzaman vd., 2020). Bu çalışmada, bor toksisitesine maruz bırakılan karabuğdayda L-sistein uygulamasının fizyolojik (nispi su içeriği, klorofil, kök ve gövde uzunluğu), biyokimyasal (prolin, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fenolik madde, şeker miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri) ve moleküler (*AAO* ve *LHCb* gen ekspresyonu) parametreler üzerindeki koruyucu etkileri araştırılmıştır.

Çimlenme aşamasından hasada kadar yapılan düzenli gözlemler sonucunda, uygulama gruplarında gözle görülür yapısal bir bozukluk (örneğin kloroz, nekroz veya deformasyon) tespit edilmemiştir. Ancak morfolojik gelişim parametrelerine ilişkin ölçümler, uygulamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların bulunduğunu ortaya koymuştur. Özellikle yalnızca bor uygulanan grupta kök ve gövde uzunluklarının belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir; buna karşın, bor stresine maruz bırakılan ve eş zamanlı olarak L-sistein uygulanan bitkilerde her iki parametrede de anlamlı artış tespit edilmiştir. Bu bulgu, borun bitki büyümesi üzerindeki baskılayıcı etkisinin sistein uygulamasıyla belirli ölçüde dengelenebileceğini ortaya koymaktadır. Nitekim Ruiz ve arkadaşları (2003), ayçiçeği (*Helianthus annuus*) bitkisinde alüminyum stresine karşı bor uygulamasının glutatyon sentezini artırdığını ve oksidatif strese karşı toleransı geliştirdiğini bildirmiştir. Bu durum, glutatyon metabolizmasının öncülü olan sisteinin, bor kaynaklı oksidatif stresin azalmasında dolaylı koruyucu rol oynayabileceği yönündeki değerlendirmeyi desteklemektedir.

Çalışmada öncelikle morfolojik büyüme parametreleri (kök ve gövde uzunluğu) analiz edilmiş, ardından fotosentetik pigment düzeylerindeki değişimler ayrıntılı şekilde değerlendirilmiştir. Literatüre göre, bor toksisitesi bitkilerde kök ve gövde gelişimini baskılayarak fitotoksik etkiler oluşturabilmektedir (Sarioğlu vd., 2023). Sistein uygulanan grupta bu parametrelerin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek seyretmesi, bu bileşiğin bitki büyümesini doğrudan teşvik edici potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Sistein+bor grubunda gözlenen orta düzeydeki gelişim değerleri ise bu iki uygulamanın birlikte fizyolojik dengeyi düzenleyici bir etki oluşturabileceğine işaret etmektedir.

Borun bitki gelişimi üzerindeki etkisinin doza bağımlı olduğu birçok çalışmada vurgulanmaktadır. Örneğin Yaman ve arkadaşları (2012), aspir (*Carthamus tinctorius*) bitkisi üzerinde düşük bor dozlarının (7.5–22.5 ppm) büyümeyi teşvik ederken, yüksek dozların (90 ppm) kök ve gövde gelişimini baskıladığını raporlamıştır. Farag ve Fang (2014) ise karpuz (*Citrullus lanatus*) bitkisinde yüksek bor seviyelerinin çimlenme ve kök uzaması gibi erken gelişim evrelerini olumsuz etkilediğini göstermiştir. Öz ve arkadaşları (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada, bor toksisitesine maruz kalan iki buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidinde kök ve gövde uzunluğunda azalma kaydedilmiş; bu azalmanın boru yapraklara daha fazla taşıyan duyarlı Atay-85 çeşidinde daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, Farooq ve arkadaşları (2015) tarafından çeltik (*Oryza sativa*) bitkisiyle yürütülen araştırmada da yüksek bor birikiminin kök gelişimini ve toplam biyokütleyle azaltıcı etkiler oluşturduğu belirtilmiştir.

Bu bulgular, çalışmamızda bor uygulaması sonucunda gözlemlenen morfolojik gerilemelerle örtüşmektedir. Ancak bu baskılayıcı etki, L-sistein uygulamasıyla önemli ölçüde dengelenmiştir. Nitekim Yıldız ve Terzi (2021), kanola (*Brassica napus*) fidelerinde L-sistein uygulamasının krom toksisitesine karşı kök gelişimini desteklediğini ve oksidatif stres düzeylerini azalttığını bildirmiştir. Benzer şekilde Kim ve arkadaşları (2022), *Arabidopsis thaliana* üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, 50 µM sistein uygulamasının civa (Hg) stresine karşı morfolojik parametrelerde iyileşme sağladığını raporlamışlardır. Bu doğrultuda, çalışmamızda bor toksisitesi altında L-sistein uygulanan gruplarda gözlenen kök ve gövde uzunluğundaki artış, bu aminoasitin stresin zararlı etkilerini hafifletici bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu etkinin büyük olasılıkla sisteinin antioksidan savunma sistemlerini aktive etmesi ve ROT birikimini azaltmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. GSH biyosentezinin temel öncülü olan sistein, GSH düzeylerini artırarak

hücre içi redoks dengesinin korunmasına katkı sağlamakta ve oksidatif zararın önüne geçmektedir (Ruiz vd., 2003). Bu mekanizmalar çerçevesinde elde edilen bulgular, sisteinin bor toksisitesi koşullarında hem büyüme süreçlerini desteklediğini hem de bitkinin stresle baş etme kapasitesini artırdığını ortaya koymaktadır.

Fotosentetik pigment analizleri, bor uygulamasının *Fagopyrum esculentum* bitkilerinde kila, kila ve toplam klorofil düzeylerinde anlamlı azalmalar meydana getirdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, bor toksisitesinin fotosentetik sistem üzerindeki baskılayıcı bir etki oluşturduğunu ve pigment sentezini doğrudan etkilediğini göstermektedir. Literatürde de benzer şekilde, bor stresinin çeşitli bitki türlerinde klorofil içeriğini azalttığı bildirilmiştir. Örneğin, kabak (*Cucurbita pepo*) (Lovatt ve Bates, 1984), biber (*Capsicum annuum*) (Supanjani vd., 2006), yer fıstığı (*Arachis hypogaea*) (Çıkkılı vd., 2015) gibi türlerde yapılan çalışmalar, bor toksisitesine bağlı olarak klorofil içeriğinde düşüş yaşandığı rapor edilmiştir.

Çalışmamızda ise yalnızca bor uygulanan grupta klorofil içeriği anlamlı şekilde azalırken, L-sistein uygulamasının bu etkiyi önemli ölçüde hafiflettiği belirlenmiştir. Özellikle sistein+bor kombinasyonu, klorofil düzeylerinin korunmasına katkı sağlarken, yalnızca sistein uygulanan grupta ise kontrol grubuna kıyasla kısmi bir artış saptanmıştır. Bu durum, sisteinin fotosentetik pigmentleri koruyucu ve bor kaynaklı oksidatif hasarı azaltıcı potansiyel bir rol üstlendiğini düşündürmektedir. Nitekim Hussein ve Alshammari (2022), keten (*Linum usitatissimum*) bitkisine yapraktan uygulanan 0.8 ve 1.6 mM sistein çözeltilerinin, NaCl kaynaklı pigment kaybını sınırlayarak klorofil düzeylerini artırdığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Durmuşoğlu (2024), yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan *Arabidopsis thaliana* Col-0 bitkilerinde sistein uygulamasının klorofil içeriğini koruyucu etkide bulunduğunu raporlamıştır.

Sisteinin bu koruyucu etkisi büyük olasılıkla antioksidan sistemin modülasyonu yoluyla gerçekleşmektedir. Bilindiği üzere bor toksisitesi, ROT birikimini artırarak kloroplast yapısında bozulmalara ve buna bağlı olarak pigment sentezinin baskılanmasına yol açmaktadır (Cervilla vd., 2007). Sistein, GSH biyosentezinin öncülü olması nedeniyle hücrel redoks dengesinin sağlanmasında kritik bir rol oynamakta, GSH seviyelerini artırarak oksidatif stresin etkilerini azaltmakta ve dolayısıyla pigment yıkımını sınırlandırarak fotosentetik kapasitenin korunmasına katkı sunmaktadır. Bu bağlamda elde edilen veriler, sisteinin bor toksisitesi altında klorofil düzeylerini stabilize edici etkisini açıkça ortaya koymakta; bu etkinin muhtemelen GSH üzerinden antioksidan savunma sistemlerinin aktive edilmesiyle ilişkili olduğu değerlendirilmektedir.

Fotosentetik pigment düzeylerindeki değişimlerin yanı sıra, bor toksisitesinin yalnızca morfolojik gelişimi ve pigment sentezini değil, aynı zamanda hücresel düzeyde oksidatif dengenin bozulmasına bağlı olarak lipid peroksidasyonunu ve ROT birikimini de tetikleyebileceği bilinmektedir. Bu doğrultuda, bor kaynaklı stresin hücresel hasar üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak amacıyla MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeyleri ve histokimyasal analizler değerlendirilmiştir.

Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun bir son ürünü olarak hücre zarında oluşan yapısal bozulmaları; hidrojen peroksit ise ROT'lerinin birikimini yansıtarak hücredeki oksidatif stres düzeyini göstermektedir (Kar ve Öztürk, 2020). Bu tez çalışmasında, bor toksisitesine maruz bırakılan *Fagopyrum esculentum* bitkilerinde MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerinde anlamlı artışlar gözlemlenmiştir. Bu bulgular, borun bitki hücrelerinde oksidatif hasarı tetiklediğini açıkça ortaya koymaktadır. L-sistein uygulanan gruplarda ise hem MDA hem de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerinde anlamlı azalmalar kaydedilmiş, bu da sisteinin oksidatif stresin hafifletilmesinde etkili bir savunma bileşiği olabileceğini göstermiştir. Benzer sonuçlar, bor toksisitesi altındaki domates (Farghaly vd., 2021), buğday (*Triticum aestivum*) (Karabal vd., 2003), arpa (*Hordeum vulgare*) (Tepe ve Aydemir, 2011), elma (*Malus domestica*) kök sürgünleri (Molassiotis vd., 2006) ve asma (*Vitis vinifera* L.) (Güneş vd., 2006) gibi türlerde yapılan çalışmalarda da MDA birikiminin baskılandığını göstermektedir.

Öte yandan, sisteinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerini düşürücü etkisi ise tuz stresi altındaki soya fasulyesi (*Glycine max*) (Sadak vd., 2020), civa stresine maruz kalan mısır (*Zea mays*) fideleri (Aysin vd., 2020) ve kadmiyum stresi altındaki *Arabidopsis Thaliana* (Jia vd., 2016) gibi çeşitli bitkilerde farklı stres koşullarında doğrulanmıştır. Ayrıca Li ve arkadaşları (2021) tarafından yürütölen bir çalışmada, bor toksisitesine maruz bırakılan marul (*Lactuca sativa*) bitkisine uygulanan melatoninin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerini azaltarak oksidatif stres hafiflettiği ve buna bağlı olarak bitki gelişimini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Sağlam ve arkadaşları (2023), *Arabidopsis thaliana*'da melatonin uygulamasının hem MDA hem de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerini anlamlı düzeyde azaltarak bor toksisitesine karşı oksidatif stres parametrelerini düzenlediğini raporlamıştır. Bu veriler hem MDA hem de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin bitkisel stresin önemli biyobelirteçleri olduğunu ve bu göstergelerin sistein gibi biyokimyasal düzenleyiciler aracılığıyla azaltılabileceğini desteklemektedir. Sisteinin etkisi, büyük ölçüde tiyol grubunun yüksek reaktivitesine bağlanabilir. Bu fonksiyonel grup, ROT'leri doğrudan nötralize edebilmekte ve böylece hücresel yapıları oksidatif hasardan korumaktadır

(Zagorchev vd., 2013). Bu mekanizma, Azarakhsh ve arkadaşları (2015) tarafından fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkisi üzerinde yapılan çalışmayla da desteklenmektedir. Araştırmada hem tohum hem de vejetatif dönemde uygulanan sisteinin, kobalt stresine bağlı artan MDA ve aldehit seviyelerini anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir. Nasibi ve arkadaşları (2016) ise buğdayda tuzluluk stresine karşı sistein uygulamasının hem  $H_2O_2$  hem de MDA düzeylerini düşürdüğünü bildirmiştir. Bu etki, sisteinin glutatyon biyosentezini desteklemesi ve glutatyonun ROT detoksifikasyonundaki merkezi rolü ile ilişkilidir. Nitekim glutatyonun, *Brassica napus* L. bitkisinde tuzluluğun zararlı etkilerini azaltarak fenol peroksidaz aktivitesini artırdığı ve doğrudan  $H_2O_2$ 'yi uzaklaştırarak membran bütünlüğünü koruduğu bildirilmiştir (Sadak vd. 2017). Bu tez çalışmasında da benzer şekilde, L-sistein uygulamasının bor toksisitesine maruz bırakılan karabuğday bitkilerinde MDA ve  $H_2O_2$  düzeylerini anlamlı şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu etki, sisteinin GSH üretimini artırarak antioksidan savunma kapasitesini güçlendirmesi ve serbest radikalleri doğrudan etkisiz hâle getirmesiyle açıklanabilir. Sistein, GSH biyosentezinde hız kısıtlayıcı bir substrat olup, düşük sistein seviyeleri GSH üretimini sınırlandırmaktadır.

Hacham ve arkadaşları (2024) tarafından yapılan çalışmada da sistein uygulamasının GSH/GSSG oranlarını artırarak oksidatif yükü azalttığını ve redoks homeostazı desteklediğini göstermektedir. Şekil 5b'de sunulan veriler de bu bulguları destekler nitelikte olup,  $H_2O_2$  düzeylerindeki düşüşün görsel olarak da doğrulandığını göstermektedir. Genel olarak, elde edilen sonuçlar sisteinin bor toksisitesine karşı bitkisel savunma mekanizmalarını destekleyerek oksidatif stresi azaltmada etkili bir düzenleyici olduğunu ortaya koymaktadır.

Histokimyasal analizler, bor toksisitesinin karabuğday yapraklarında  $H_2O_2$  ve süperoksit radikali birikimini artırdığını görsel olarak doğrulamıştır (Şekil 9, 10). DAB boyama sonuçları, bor uygulanan grupta yaprak damarlarında ve mezofil hücrelerinde yoğun kahverengi renklenme göstererek  $H_2O_2$  birikiminin bu bölgelerde daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Bu, borun damar dokularındaki taşınım süreçlerini etkileyerek oksidatif stresi artırdığını düşündürmektedir (Reid vd., 2004). Buna karşılık, sistein+bor grubunda damar dokularındaki renklenme yoğunluğunun azalması, sisteinin bor taşınımını düzenleyici bir rol oynayabileceğini ve GSH biyosentezini artırarak  $H_2O_2$  detoksifikasyonunu desteklediğini göstermektedir (Foyer ve Noctor, 2005). NBT boyama sonuçları da benzer şekilde, süperoksit radikalının özellikle mezofil hücrelerinde biriktiğini ve sistein uygulamasının bu birikimi azalttığını doğrulamaktadır. Bu bulgular, klorofil kaybı (Şekil 6) ve *LHCb* gen

ekspresyonundaki artış (Şekil 21) ile uyumludur; sisteinin fotosentetik dokuları koruyarak oksidatif hasarı hafiflettiği sonucunu desteklemektedir.

Bu oksidatif stres bulgularını, yaprak dokularında bor birikimi düzeyleriyle ilişkilendirmek amacıyla, yapraklarda bor konsantrasyonu da analiz edilmiştir (Şekil 19). Yapraklarda bor uygulaması, kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde daha yüksek bor birikimine neden olmuştur. Sistein+bor grubunda ise bor birikimi, bor grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum, sisteinin borun yapraklarda birikimini sınırlayıcı bir rol oynadığını göstermektedir. Bu etki, birkaç olası mekanizma üzerinden açıklanabilir. İlk olarak, sisteinin kükürt metabolizmasını düzenleyici etkisi, bor transporter genlerinin (*BORI*, *NIP5;1*) ekspresyonunu modüle edebilir. Takano ve arkadaşları (2010), yüksek bor koşullarında *BORI* geninin baskılanmasının yapraklarda bor birikimini azalttığını bildirmiştir; sisteinin GSH biyosentezini artırarak redoks sinyalleme yoluyla bu genlerin ekspresyonunu etkilediği düşünülebilir. Ruiz ve ark. (2003), ayçiçeğinde GSH sentezinin bor stresine karşı toleransı artırdığını göstermiştir; bu, karabuğdayda sisteinin bor detoksifikasyonundaki rolünü desteklemektedir. Bulgularımız, sisteinin GSH yoluyla oksidatif stresi hafifleterek (Şekil 9, 10) bor birikimini dolaylı olarak azalttığını da göstermektedir. Ancak, bor transporter genlerinin ekspresyon analizlerinin yapılmamış olması, bu mekanizmaların tam olarak aydınlatılmasını sınırlamaktadır.

Öte yandan, oksidatif stresin baskılanmasıyla paralel şekilde, bitkilerin ozmotik dengesini korumak amacıyla geliştirdiği savunma stratejileri de değerlendirilmiş; bu kapsamda prolin, çözünür şekerler ve nispi su içeriği gibi ozmolit parametreler analiz edilmiştir.

Stres koşullarında biriken önemli osmolitlerden biri olan prolin, bitkilerde çevresel streslere karşı çok yönlü koruyucu işlevler üstlenmektedir. Prolin artışının ozmotik dengeyi sağlama, hücresel yapıları stabil tutma, serbest radikalleri temizleme, enerji metabolizmasına katkı sağlama ve aynı zamanda bir stres sinyal molekülü olarak işlev görme gibi çeşitli rollerle ilişkili olduğu bilinmektedir (Sağlam vd., 2025). Prolin, bor toksisitesine yanıt olarak hem ozmotik denge hem de antioksidan savunma rollerini üstlenmektedir. Ozmotik potansiyeli düşürerek su alımını kolaylaştırır ve bor toksisitesinin neden olduğu nispi su içeriği azalmasına (Şekil 13) karşı hücreleri korur (Hayat vd., 2012). Çatav ve ark. (2022), biberde bor stresinin prolin birikimini ozmotik denge için artırdığını bildirmiştir. Ayrıca prolin, ROT'lerini temizleyerek oksidatif stresi hafifletir ve antioksidan enzimlerle (örn. SOD, CAT; Şekil 16, 17) sinerjik çalışır (Szabo vd., 2022). Signorelli ve ark. (2013),

prolinin singlet oksijenle reaksiyona girerek oksidatif hasarı azalttığını göstermiştir. Sistein+bor grubunda prolin düzeyinin en yüksek olması, sisteinin GSH biyosentezini artırarak redoks dengesini düzenlediğini ve prolin sentezini destekleyen enzimlerin (örn. pirolin-5-karboksilat sentetaz, *P5CS*) transkripsiyonunu uyardığını düşündürmektedir (Guo vd., 2024). Kohnehsharhi ve Demir (2022) tarafından yürütülen bir çalışmada, glutatyon ve prolin uygulamalarının bor toksisitesi altındaki buğday bitkilerinde prolin düzeyini yükselttiği ve oksidatif stres toleransını artırdığı bildirilmiştir. Bulgularımız karabuğdayda prolinin bor toksisitesine karşı çift yönlü bir rol oynadığını göstermektedir: ozmotik dengeyi sağlayarak su kaybını önler ve ROT temizleyici olarak oksidatif stresi azaltır (Ashraf ve Foolad, 2007).

RWC, bitkilerin su durumunu ve dokularındaki su tutma kapasitesini yansıtan önemli bir fizyolojik parametredir (Hasanuzzaman vd., 2020). Stres koşullarında pigment düzeyleri, ozmolit birikimi ve büyüme parametreleri ile yakından ilişkili olup, bitkinin genel fizyolojik dayanıklılığı hakkında bilgi vermektedir (Basu vd., 2016).

Bu tez kapsamında RWC ölçümlerinden elde edilen bulgulara göre, bor uygulamasının RWC'yi anlamlı düzeyde azalttığını; sistein + bor uygulamasının ise en yüksek RWC değerine ulaştığını göstermektedir. Bu durum, sisteinin bitkide su kaybını sınırlayarak su tutma kapasitesini desteklediğine işaret etmektedir. Benzer etkiler, Terzi ve Yıldız (2020) tarafından krom stresi altındaki mısır fidelerinde ve Elkelish ve arkadaşları (2021) tarafından buğday bitkisinde rapor edilmiştir. Ayrıca, Çelik ve arkadaşları (2019) ve Arslan ve arkadaşları (2022) da borun artan dozlarının aspir ve keten (*Linum usitatissimum*) gibi türlerde RWC'yi azalttığını bildirilmiştir.

Sisteinin RWC üzerindeki bu olumlu etkisi, yalnızca antioksidan kapasitesine değil, aynı zamanda prolin ve çözünür şeker gibi osmolitlerin düzenlenmesine bağlı olabilir (Elkelish vd., 2021). Bu osmolitler sayesinde hücre içi ozmotik potansiyel dengelenmekte ve suyun tutulması kolaylaşmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen RWC bulguları, sisteinin bor kaynaklı su kaybını sınırlayarak bitkisel su dengesini koruduğunu göstermektedir. Bitkilerde oksidatif stres koşullarında toplam çözünür şeker birikiminin, şekerlerin hem osmoprotektan hem de sinyal molekülü olarak işlev görmesi nedeniyle önemli bir adaptif savunma mekanizmasıdır. Şekerler aynı zamanda ROT dolaylı etkilerini azaltarak hücresel düzeyde oksidatif hasarın sınırlandırılmasına katkıda bulunurlar (Jeandet vd., 2022).

Çalışmamızda, en yüksek çözünür şeker içeriği yalnızca bor uygulanan grupta tespit edilmiştir. Bu durum, borun neden olduğu ozmotik stres karşısında bitkinin şeker birikimi

yoluyla savunma tepkisi geliştirdiğini göstermektedir. Bu bulgu, Alkharpotly ve arkadaşları (2018) tarafından patates bitkisi üzerinde ve Çataav ve arkadaşları (2022) tarafından biber bitkisi üzerinde yapılan çalışmalarda bildirilen benzer eğilimlerle örtüşmektedir.

Buna karşılık, sistein+bor uygulanan grupta çözünür şeker içeriğinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu azalma, sistein uygulamasının ozmotik yüklenmeyi dengeleyerek aşırı şeker birikimini sınırlandırdığını ve muhtemelen oksidatif stresi hafiflettiğini düşündürmektedir. Hussein ve Alshammari (2022), keten bitkisinde NaCl kaynaklı tuz stresinde sistein uygulamasının şeker düzeylerini azalttığını bildirmiştir. Bunun aksine Li ve arkadaşları (2019), buğday bitkisinde kuraklık stresi altında sistein uygulamasının şeker içeriğini artırdığını raporlamıştır. Bu çelişkili bulgular, sisteinin etkisinin bitki türüne, stres tipine ve uygulama koşullarına bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir.

Bu bağlamda, çalışmamızda gözlenen çözünür şeker azalması, sisteinin karbon akışını yeniden yapılandırarak savunma metabolitleri lehine bir yönelime neden olduğunu düşündürmektedir. Nitekim Case ve Atsumi (2016), fotosentezle elde edilen karbon kaynaklarının şeker birikimi yerine fenolik bileşikler ve antioksidan sistemlerin desteklenmesine yönlendirilmesinin metabolik denge açısından kritik olduğunu vurgulamıştır.

Osmotik dengeyi ve hücrel su tutulumunu destekleyen bu fizyolojik adaptasyonların yanı sıra, bitkiler ağır metal ve bor toksisitesi gibi stres koşullarında antioksidan bileşik üretimini artırarak oksidatif zararları sınırlamıştır. Bu çalışmada özellikle ASC ve toplam fenolik içerik gibi redoks düzenleyici metabolitler değerlendirilmiştir.

Bor toksisitesinin bitkilerde oksidatif stres oluşturduğu bilinmekte ve bu strese karşı savunma amaçlı çeşitli ikincil metabolitlerin sentezlendiği bildirilmektedir. Bu bileşikler arasında yer alan fenolikler, güçlü antioksidan kapasiteleri sayesinde ROT'lerini etkisiz hâle getirerek bitkinin stres koşullarına adaptasyonunu desteklemektedir (Sharma vd., 2005).

Yapılan tez çalışmasında, toplam fenolik içerik en yüksek seviyeye sistein+bor grubunda ulaşmış; en düşük değer ise kontrol grubunda saptanmıştır. Sistein uygulanan grupta fenolik miktarı, bor grubuna göre daha düşük; kontrol grubuna göre ise daha yüksektir. Bu, sisteinin karbon akışını fenilpropanoid yolağına yönlendirerek fenolik bileşik sentezini artırdığını ve çözünür şeker birikimini azalttığını düşündürmektedir. Sistein, GSH biyosentezini artırarak hücre içi redoks dengesini düzenler ve fenilpropanoid yolağını aktive eden transkripsiyonel faktörleri (örn. MYB) uyarabilir, böylece fenilalanin amonyak liyaz (PAL) enzimi aracılığıyla fenolik bileşik üretimini destekler (Dixon ve Paiva, 1995). Bor

toksisitesi, ozmotik denge için çözünür şeker birikimini artırırken (Çataş vd., 2022), sistein+bor grubunda şeker azalması, sisteinin oksidatif stresi hafifleterek (Şekil 9, 10) bu birikime olan ihtiyacı azalttığını ve karbonu antioksidan savunmaya (fenolikler) yönlendirdiğini göstermektedir.

Literatürde, Sogvar ve ark. (2020), sisteinin soğuk stresine maruz bırakılan erik meyvesinde fenolik içeriği artırdığını ve PPO (Polifenol Oksidaz) aktivitesini baskılayarak fenolik yıkımını önlediğini bildirmiştir. Benzer şekilde, Wang ve ark. (2022), goji (*Lycium barbarum* L.) meyvelerinde sisteinin fenilpropanoid yolağını aktive ettiğini göstermiştir. Çalışmamız, karabuğdayda sisteinin bor toksisitesi altında karbon metabolizmasını fenolik senteze yönlendirdiğini ortaya koymaktadır.

ASC, bitkisel hücrelerde apoplast dahil birçok kompartmanda bulunan temel bir antioksidan bileşiktir. Artan ASC düzeylerinin, bor fazlalığı da dâhil olmak üzere birçok stres koşuluna karşı toleransın artırılmasında etkili olduğu bildirilmektedir (Smirnoff vd., 2000). Yapılan tez çalışmasında da bor uygulanan grupta ASC düzeylerinde anlamlı artış gözlemlenmiş, bu artışın muhtemelen askorbat–glutasyon döngüsünün aktive olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Nitekim Mondy ve Munshi (1993), *Solanum tuberosum* (patates) bitkisinde; Cervilla ve arkadaşları (2007), *Solanum lycopersicum* (domates) bitkisinde bor toksisitesinin askorbik asit içeriğini artırdığını belirtmiştir.

Öte yandan, tez kapsamında yalnızca sistein uygulanan grupta da ASC düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, sisteinin antioksidan sistem üzerinde doğrudan düzenleyici etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Elkelish ve arkadaşları (2021), buğday bitkisinde; Genisel ve arkadaşları (2015) ise arpa bitkisinde, sistein uygulamasının AsA/DHA ve GSH/GSSG oranlarını iyileştirerek redoks dengesini güçlendirdiğini bildirmiştir.

Ancak yapılan çalışmada, sistein+bor grubunda ASC düzeylerinin her iki tekli uygulamaya göre daha düşük olması dikkat çekicidir. Bu durum, sisteinin bor kaynaklı oksidatif yükü azaltarak bitkinin askorbat ihtiyacını azalttığını düşündürmektedir. GSH biyosentezinin hız sınırlayıcı basamağında yer alan sistein, glutasyon üzerinden redoks sistemini dengeleyerek askorbata duyulan ihtiyacı azaltmış olabilir (Foyer ve Noctor, 2005). Bu bulgu, sisteinin savunma sistemini dolaylı yollarla dengelediğine ve bor toksisitesine karşı koruyucu bir rol üstlendiğine işaret etmektedir.

Elde edilen tüm bu bulgular, L-sistein uygulamasının bor toksisitesine karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerini aktive ederek,

bitkisel fizyolojiyi çok katmanlı bir biçimde desteklediğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, sistein, bor stresine karşı etkin bir düzenleyici ve koruyucu molekül olarak öne çıkmaktadır.

Antioksidan enzim sistemi, bitkilerin ağır metal stresine karşı verdikleri yanıtlarda kritik bir rol oynar. Bor toksisitesine maruz kalan bazı bitkilerde, antioksidan savunma yanıtının oluşan zararları azaltmada etkili olabileceği rapor edilmiştir (Gunes vd., 2006). Bu sistemin temel bileşenlerinden süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini  $H_2O_2$  ve  $O_2$ 'ye dönüştürerek hücrel oksidatif yükü sınırlar. Oluşan  $H_2O_2$  ise, katalaz tarafından su ve oksijene parçalanır. Askorbat peroksidaz ise  $H_2O_2$ 'yi askorbatı elektron verici olarak kullanarak detoksifiye eder (Corpas vd., 2024; Hadwan vd., 2024; Zheng vd., 2023).

Yapılan tez çalışmasında, SOD aktivitesinin tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir. En yüksek artış, sistein+bor kombinasyonunda gözlenmiş ve bu bulgu, her iki uygulamanın birlikte ROT'lerine karşı güçlü bir savunma yanıtı oluşturabileceğine işaret etmiştir. Bu bulgular, Güneş ve arkadaşları (2006) tarafından *Vitis vinifera* L. bitkisinde yapılan ve 20–30 mg kg<sup>-1</sup> bor uygulamasının SOD aktivitesini artırdığını gösteren çalışma ile uyumludur. Benzer şekilde, Hou ve ark. (2007), *Lemna minor* (yaprak su mercimeği) bitkisini yüksek Cu ve Cd konsantrasyonlarına maruz bıraktıklarında SOD aktivitesinde artış bildirmişlerdir. Kumar ve arkadaşları (2015) ise, bu artışın bor iyonlarının doğrudan etkisinden ya da süperoksit radikal birikiminden kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür.

Sistein uygulamasının da benzer bir savunma tepkisini tetikleyebileceği bilinmektedir. *Arabidopsis thaliana* üzerinde yapılan bir çalışmada, dışsal sistein uygulamasının SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak ağır metal toleransını güçlendirdiği rapor edilmiştir (Kim vd., 2022). Ayrıca, Hussein ve Alshammari (2022), *Linum usitatissimum* L. (keten) bitkisinde NaCl kaynaklı tuz stresine karşı uygulanan sisteinin SOD başta olmak üzere antioksidan enzimlerde anlamlı artışa neden olduğunu belirtmiştir. Bu bulgular, çalışmamızda sistein+bor uygulamasının SOD aktivitesini maksimum seviyede artırdığı sonuçlarıyla da örtüşmektedir.

CAT enzimi,  $H_2O_2$ 'yi su ve oksijene dönüştürerek bitkilerin oksidatif stresle başa çıkmasında kritik bir rol oynamaktadır (Aygün Ertürk ve Suyabatmaz, 2025). CAT aktivitesi analizleri, bor uygulanan grupta CAT aktivitesinin kontrol grubuna benzer seviyelerde olduğunu, yalnızca sistein uygulanan grupta kontrol grubuna göre arttığını ve sistein+bor grubunda bor grubuna kıyasla yükseldiğini ortaya koymuştur (Şekil 17). Bu, bor

toksisitesinin karabuğdayda CAT aktivitesini baskılamadığını, ancak sisteinin CAT aktivitesini destekleyici bir rol oynadığını göstermektedir. Borun CAT aktivitesini etkilememesi, karabuğdayın bor toleransına veya deneyde kullanılan bor konsantrasyonunun (örn. 50  $\mu$ M) CAT aktivitesini baskılayacak kadar yüksek olmamasına bağlı olabilir. Literatürde, Sezekler ve ark. (2019), bor toksisitesinin buğdayda CAT aktivitesini baskıladığını bildirmiştir; ancak, bu etki bitki türüne, bor dozuna ve stres süresine bağlı olarak değişebilir. Örneğin, Çatav ve ark. (2022), biberde düşük doz borun CAT aktivitesini artırdığını, yüksek dozların ise baskıladığını raporlamıştır. Bulgularımız, karabuğdayda borun CAT aktivitesini değiştirmediğini ve bu türün bor stresine karşı adaptif bir yanıt geliştirdiğini düşündürmektedir. Öte yandan, sistein grubunda CAT aktivitesinin en yüksek olması, sisteinin GSH biyosentezini artırarak redoks dengesini düzenlediğini ve CAT'nin  $H_2O_2$  detoksifikasyonundaki rolünü desteklediğini göstermektedir (Şekil 8, 9) (Hasanuzzaman vd., 2020). Sistein+bor grubunda CAT aktivitesinin artması, sisteinin bor kaynaklı oksidatif stresi hafifletmede CAT'yi desteklediğini doğrular (Hussein ve Alshammari, 2022). Çalışmamız, karabuğdayda borun CAT aktivitesine etkisinin literatürden farklı olduğunu ortaya koymaktadır.

SOD ve CAT enzimlerinin ardından, askorbat–glutasyon döngüsünün bir diğer önemli bileşeni olan APX aktivitesi de çalışmamız kapsamında değerlendirilmiştir. Bu enzim, özellikle kloroplast, mitokondri ve peroksizom gibi organellerdeki  $H_2O_2$  birikimini sınırlayarak bitkinin oksidatif stresle mücadelesinde kritik bir rol üstlenmektedir.

APX enzimi, kontrol grubunda en yüksek, yalnızca sistein uygulanan grupta ise kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (Şekil 16). Buna karşılık, sistein+bor grubunda APX aktivitesi bor grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Sistein grubunda APX aktivitesinin düşük olmasının temel nedeni, sisteinin GSH biyosentezini artırarak  $H_2O_2$  detoksifikasyonunda enzimatik olmayan yolları güçlendirmesi ve böylece APX ihtiyacını azaltmasıdır. Sistein, GSH sentezinin hız sınırlayıcı öncülü olarak, hücre içi redoks dengesini düzenler ve  $H_2O_2$ 'nin doğrudan GSH veya ASC yoluyla detoksifiye edilmesini destekler (Foyer ve Noctor, 2005). Bulgularımız, sistein grubunda  $H_2O_2$  içeriğinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu (Şekil 8) ve DAB boyama ile  $H_2O_2$  birikiminin azaldığını (Şekil 9) göstermektedir; bu durum, APX aktivasyonuna olan ihtiyacın azaldığını destekler. Ayrıca, SOD ve CAT aktivitelerinin sistein grubunda yüksek olması (Şekil 17),  $H_2O_2$  detoksifikasyonunda diğer enzimlerin devreye girdiğini ve APX'ye olan bağımlılığı azalttığını düşündürmektedir. Literatürde, Genisel ve ark. (2015), arpa bitkisinde sistein

uygulamasının GSH seviyelerini artırarak APX aktivitesini baskıladığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Azarakhsh ve ark. (2015), fesleğende kobalt stresi altında sisteinin APX aktivitesini azalttığını göstermiştir. Ancak, sistein+bor grubunda APX aktivitesinin artması, bor toksisitesinin neden olduğu  $H_2O_2$  birikiminin (Şekil 8) APX'yi aktive ettiğini ve sisteinin bu süreçte destekleyici bir rol oynadığını göstermektedir (Hussein ve Alshammari, 2022). Çalışmamız, sisteinin stres koşullarına bağlı olarak APX regülasyonunu farklı şekilde modüle ettiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda ayrıca bor uygulaması ASC düzeylerinde belirgin bir artışa neden olmuştur. Bu artış, borun neden olduğu oksidatif stresin askorbat–glutasyon döngüsünü aktive etmesiyle açıklanabilir. Aynı grupta SOD ve APX aktivitelerinin de yükselmiş olması, askorbatın doğrudan antioksidan rolünün yanı sıra APX enziminin substratı olarak da görev aldığını ortaya koymaktadır. Ancak bazı durumlarda, askorbat düzeylerindeki artışa rağmen APX aktivitesinin düşük kalması, bor dozu, uygulama süresi ve stresin şiddeti gibi değişkenlerle ilişkili olabilir (Gülüt vd., 2024).

Özellikle sistein+bor grubunda, yüksek SOD aktivitesine rağmen ASC düzeylerinin düşük olması, sistein uygulamasının ROT birikimini azaltarak askorbat tüketimini sınırlandırmış olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın, APX aktivitesinin düşük kaldığı Sistein grubunda ASC düzeylerinin yüksek olması, sisteinin yalnızca doğrudan antioksidan olarak değil, aynı zamanda askorbat birikimini destekleyici bir etkiye de sahip olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, askorbat düzeylerindeki değişimlerin SOD, CAT ve özellikle APX aktiviteleriyle birlikte değerlendirilmesi, askorbatın bor stresi altında hem metabolik hem de enzimatik savunma sistemlerinde merkezi bir rol üstlendiğini ortaya koymaktadır. Nitekim literatürde de bor toksisitesinin hem askorbat içeriğini hem de antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve bu artışın, ROT detoksifikasyonu için askorbat–glutasyon döngüsünün aktive olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Sutulienė vd., 2023).

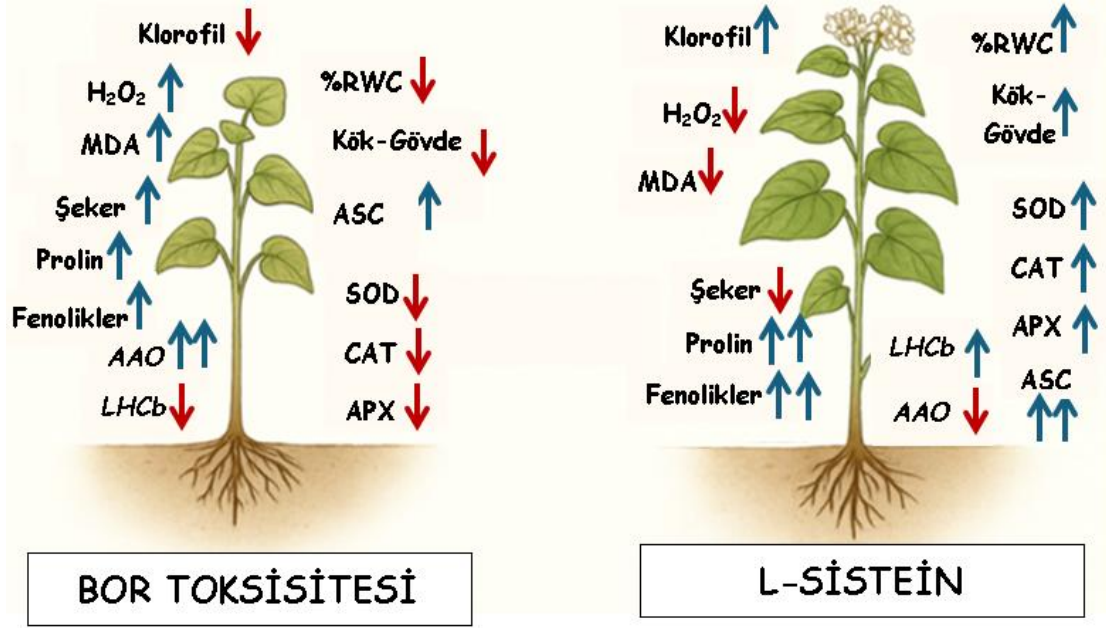
Çalışmanın moleküler düzeydeki devamında ise, fotosentezle ilişkili *LHCb* ve hücre dışı redoks dengesinde görev alan *AAO* genlerinin ifade düzeyleri analiz edilerek, bor toksisitesine karşı sistein uygulamasının genetik düzeydeki etkileri değerlendirilmiştir.

Gen ifade analizleri, *AAO* ekspresyonunun sistein ve bor gruplarında kontrol grubuna göre arttığını, sistein+bor grubunda ise azaldığını; *LHCb* ekspresyonunun ise tüm uygulama gruplarında yükseldiğini ortaya koymuştur (Şekil 20, 21). *AAO*, apoplastta askorbik asidi dehidroaskorbata (DHA) oksitleyerek hücre dışı redoks dengesini düzenler ve stres

sinyallemesinde kritik bir rol oynar (Batth vd., 2017). Bor toksisitesinin apoplastik oksidatif stresini artırarak *AAO* ekspresyonunu tetiklediği (Şekil 20) ve bu süreçte ASC tüketimini artırdığı düşünülmektedir (Sutulienė vd., 2023). Sistein+bor grubunda *AAO* ekspresyonunun azalması, sisteinin GSH biyosentezini artırarak (Şekil 14) apoplastik oksidatif yükü hafiflettiğini ve ASC'nin geri dönüşümünü desteklediğini göstermektedir (Garchery vd., 2013).

Öte yandan, *LHCb*, klorofil b bağlayıcı proteinleri kodlayarak fotosistem II (PSII) ışık hasadı kompleksini stabilize eder ve fotoproteksiyon sağlar (Zhao vd., 2020). Sistein grubunda *LHCb* ekspresyonundaki artış, klorofil b içeriğiyle (Şekil 6) uyumlu olup, sisteinin PSII stabilitesini desteklediğini ve fotosentetik verimliliği koruduğunu düşündürmektedir (Eggink vd., 2001). Bor grubunda *LHCb* ekspresyonundaki yükselme, bor toksisitesinin PSII'yi destabilize ederek adaptif bir yanıt tetiklediğini göstermektedir (Cervilla vd., 2007). Sistein+bor grubunda *LHCb* ekspresyonunun artması ise, sisteinin GSH yoluyla oksidatif hasarı hafifleterek PSII'yi koruduğunu desteklemektedir (Hussein ve Alshammari, 2022). Sisteinin GSH üretimini artırarak redoks sinyallemeyle (Hasanuzzaman vd., 2020) *AAO* ve *LHCb* ekspresyonunu modüle ettiği değerlendirilmektedir. Çalışmamız, karabuğdayda bu genlerin bor toksisitesi ve sistein uygulamasındaki farklı regülasyonunu ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak bu tez kapsamında elde edilen veriler, Şekil 22'de özetlendiği üzere, L-sistein uygulamasının bor toksisitesi altında *Fagopyrum esculentum*'un morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde çok yönlü koruyucu tepkiler geliştirmesini sağladığını göstermektedir. Sistein, antioksidan savunma sistemini (SOD, CAT, APX) ve enzimatik olmayan bileşenleri (fenolikler, ASC) aktive ederek oksidatif hasarı ( $H_2O_2$ , MDA) sınırlandırmış; pigment stabilitesini (kla, klb, toplam klorofil) ve fotosentetik verimliliği korumuş; su durumu, prolin birikimi ve yapısal bütünlük üzerinde olumlu etkiler sağlamıştır. Ayrıca *AAO* ve *LHCb* genlerindeki düzenlemeler, sisteinin hem redoks homeostazı hem de fotosentezle ilişkili gen ekspresyonunu destekleyerek bor toksisitesine karşı tolerans gelişimine katkı sağladığını ortaya koymuştur.



Şekil 22. Bor toksisitesi altında L-sistein uygulamasının *F. esculentum*'da tetiklediği savunma yanıtlarının şematik gösterimi

## 5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, bor toksisitesine maruz bırakılan *Fagopyrum esculentum* bitkisinde dışsal L-sistein uygulamasının morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yanıtlar üzerindeki etkilerini kapsamlı biçimde değerlendirmek amacıyla yürütülmüştür. Elde edilen bulgular, yüksek bor düzeylerinin bitkide oksidatif stres oluşturduğunu, buna bağlı olarak büyüme ve pigment içeriklerinde azalma meydana geldiğini, ancak L-sistein uygulamasının bu olumsuz etkileri önemli ölçüde hafiflettiğini ortaya koymuştur.

Morfolojik parametreler incelendiğinde, bor uygulaması kök ve gövde uzunluğunda belirgin azalmaya yol açarken, L-sistein uygulaması bu azalmayı kısmen telafi etmiştir. Pigment analizleri, bor toksisitesinin klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil düzeylerinde anlamlı düşümlere neden olduğunu göstermiş; sistein+bor kombinasyonu ise pigment seviyelerinin korunmasına katkı sağlamıştır. RWC ölçümleri, borun su tutma kapasitesini sınırladığını, sistein uygulamasının ise su dengesini desteklediğini ortaya koymuştur.

Biyokimyasal değerlendirmeler, bor toksisitesinin MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerinde artışa neden olarak hücresel membran bütünlüğünü bozduğunu göstermiştir. L-sistein uygulaması, bu oksidatif stres belirteçlerini anlamlı düzeyde düşürerek koruyucu bir rol oynamıştır. Ozmotik denge açısından, prolin birikiminin özellikle sistein+bor grubunda en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiş, bu durum hem ozmotik düzenleme hem de ROS temizleme kapasitesinin arttığını göstermiştir. Karbon metabolizması yönünden, bor stresi çözünür şeker birikimini artırırken, sistein uygulaması bu artışı sınırlandırmış ve karbon akışını fenolik bileşik üretimine yönlendirmiştir. Nitekim toplam fenolik içeriğin sistein+bor grubunda en yüksek değere ulaşması, fenilpropanoid yolağının aktive olduğunu düşündürmektedir.

Antioksidan savunma sistemi incelendiğinde, SOD, CAT ve APX enzim aktivitelerinin sistein+bor grubunda genellikle daha yüksek olduğu ve bunun oksidatif hasarın enzimatik yollarla sınırlandırıldığını gösterdiği anlaşılmıştır. Moleküler düzeyde ise bor toksisitesi *AAO* gen ekspresyonunu artırırken, sistein bu artışı baskılamış; *LHCB* gen ekspresyonu ise tüm uygulamalarda yükselmiş, özellikle sistein uygulaması fotosentetik aparatın korunmasına katkı sağlamıştır.

Genel olarak bu çalışma, L-sistein uygulamasının bor toksisitesine karşı çok katmanlı bir koruma sağladığını; büyüme parametrelerini desteklediğini, pigment stabilitesini koruduğunu, oksidatif stresi azalttığını, osmolit ve fenolik birikimini düzenlediğini ve fotosentezle ilişkili gen ekspresyonunu optimize ettiğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, L-sisteinin bor stresine duyarlı bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal dayanıklılığı artırabilecek potansiyel bir biyoregülatör olduğunu göstermektedir.



## 6. ÖNERİLER

- Gelecekteki çalışmalarda, *BOR1* ve *NIP5;1* genlerinin qRT-PCR ile analizi ve GSH-bor şelasyonunun doğrudan ölçümü, sisteinin bor birikimini azaltma mekanizmasını daha iyi anlamamıza katkı sağlayabilir.

- GSH seviyelerinin doğrudan ölçülmemesi ve APX izoformlarının (örn. sitozolik, kloroplastik) ayrı analiz edilmemesi mevcut çalışmanın kısıtları arasındadır. Gelecekteki çalışmalarda, GSH/GSSG oranının ölçümü ve izoform-spesifik APX analizleri, sisteinin APX aktivitesine etkisini daha net ortaya koyabilir.

- Fenilpropanoid yolağındaki enzim aktivitelerinin (örn. PAL) veya ilgili gen ekspresyonlarının belirlenmemesi, mekanizmanın tam olarak anlaşılmasını sınırlamaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, PAL enzim aktivitesinin ölçülmesi ve PAL gibi genlerin ekspresyon analizleri, fenolik metabolizma ile sistein arasındaki ilişkinin daha iyi açıklanmasına olanak sağlayabilir.

- *AAO* ve *LHCb* izoformlarının veya diğer ilgili genlerin (örn. *BOR1*) ekspresyon analizlerinin yapılmamış olması, mekanizmaların tam olarak aydınlatılmasını kısıtlamaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, izoform-spesifik qRT-PCR ve transkripsiyon faktörü analizleri, bu genlerin stres yanıtındaki rollerini ortaya koyabilir.

- CAT izoformlarının veya farklı bor dozlarının analiz edilmemesi, mevcut bulguların kapsamını daraltmaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, farklı bor konsantrasyonları ve uygulama sürelerinin CAT aktivitesine etkisi incelenerek mekanizmalar daha iyi aydınlatılabilir.

- Prolin sentez yollarındaki enzim aktivitelerinin veya *P5CS* gen ekspresyonunun ölçülmemesi, prolinin stres yanıtındaki rolüne dair detaylı bilgiyi sınırlamaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, *P5CS* gen ekspresyonu ve prolin metabolizması ölçümleri, sisteinin osmolit birikimi üzerindeki etkisini daha net ortaya koyabilir.

- L-sistein uygulamasının, bor toksisitesine duyarlı kültür bitkilerinde fizyolojik dayanıklılığı güçlendirme potansiyelinin araştırılması; bu bileşiğin tarımsal üretimde kullanım olanaklarının değerlendirilmesine ve bor toksisitesinin verim üzerindeki olumsuz etkilerini azaltacak yeni uygulama stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Abdelgawad, K. F., ElMogy, M., Mohamed, M. I. A., Garchery, C., & Stevens, R. G. (2019). Increasing ascorbic acid content and salinity tolerance of cherry tomato plants by suppressed expression of the ascorbate oxidase gene. *Agronomy*, 9(2), 51. <https://doi.org/10.3390/>
- Aebi, H. E. (1983). Catalase. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of enzymatic analysis* (pp. 273–286). Verlag Chemie.
- Ahanger, M. A., Akram, N. A., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., & Ahmad, P. (2017). Plant growth under drought stress: Physiological and molecular insights. *Frontiers in Plant Science*, 8, 613. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00613>
- Akyürek, A. M. (2017). *Bor stresine karşı sistein amino asidinin arpada (Hordeum vulgare L.) direnç kazandırmaya etkisi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
- 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.
- Alkay, R., & Kökten, K. (2020). The importance and usage areas of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Journal of Food and Feed Science – Technology*, 24, 16-21.
- Alkharpotly, A., Roshdy, A., & Mady, E. (2018). Potato growth and yield attributes as affected by boron and selenium foliar application. *Journal of Plant Production*, 9(11), 901–911. <https://doi.org/10.21608/jpp.2018.36600>
- Angelini, R., Manes, F., & Federico, R. (1990). Spatial and functional correlation between diamine-oxidase and peroxidase activities and their dependence upon de-etiolation and wounding in chick-pea stems. *Planta*, 182, 89–96. <https://doi.org/10.1007/BF00239992>
- Antala, M., Kovar, M., Sporinová, L., Filacek, A., Juszczak, R., Zivcak, M., Rastogi, A. (2025). High-throughput phenotyping of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) genotypes under water stress: Exploring drought resistance for sustainable agriculture. *BMC Plant Biology*, 25, 444. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06429-6>
- Archana, N. P., & Verma, P. (2017). Boron deficiency and toxicity and their tolerance in plants: A review. *Journal of Global Biosciences*, 6(4), 4958–4965.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1–15.

- Arslan, Ö., Çulha Erdal, Ş., & Ekmekçi, Y. (2022). Salt pretreatment-mediated alleviation of boron toxicity in safflower cultivars: Growth, boron accumulation, photochemical activities, antioxidant defense response. *Plants*, 11(17), 2316.
- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206–216.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş., & Yılmaz, B. (2019). The role of antioxidant enzymes in oxidative stress: Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx). *Medical Journal of SDU*, 26(3), 362–369.
- Atruki, K. R., Mantovani, J. J., Herzenberg, L. A., & Herzenberg, L. A. (2007). N-acetylcysteine: A safe antidote for cysteine/GSH deficiency. *Current Opinion in Pharmacology*, 7(4), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2007.04.005>
- Aygün Ertürk, F., & Suyabatmaz, E. (2025). Ağır metal stresi altındaki buğday bitkilerinde antioksidan enzim profili üzerine kurkuminin etkisi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3), 1464–1477. <https://doi.org/10.47495/okufbed.1667841>
- Aysin, F., Karaman, A., Yılmaz, A., Aksakal, Ö., Gezginçioğlu, E., & Kohnehsahri, S. M. (2020). Exogenous cysteine alleviates mercury stress by promoting antioxidant defence in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(5), Article 8.
- Banin Sogvar, O., Razavi, F., Rabiei, V., & Gohari, G. (2020). Postharvest application of L-cysteine to prevent enzymatic browning of “Stanley” plum fruit during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), e14788.
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought. *F1000Research*, 5, 1554.
- Batth, R., Singh, K., Kumari, S., & Mustafiz, A. (2017). Transcript profiling reveals the presence of abiotic stress and developmental stage specific ascorbate oxidase genes in plants. *Frontiers in Plant Science*, 8, 198.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276–287.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100237>
- Bradford, M. M., (1976). Rapid and Sensitive Method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Brdar-Jokanović, M. (2020). Boron Toxicity and Deficiency in Agricultural Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1424. <https://doi.org/10.3390/ijms21041424>

- Brown, P. H., Bellaloui, N., Wimmer, M. A., Bassil, E. S., Ruiz, J., Hu, H., & Römheld, V. (2002). Boron in plant biology. *Plant Biology*, 4(2), 205–223.
- Case, A. E., & Atsumi, S. (2016). Cyanobacterial chemical production. *Journal of Biotechnology*, 231, 106–114.
- Castillo, F.J. 1996. Antioxidative protection in the inducible CAM plant *Sedum album* L. following the imposition of severe water stress and recovery, *Oecologia*, cilt 107, pp 469–477.
- Cervilla, L. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2007). Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity. *Annals of Botany*, 100(4), 747–756.
- Cervilla, L. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Rosales, M. A., SánchezRodríguez, E., RubioWilhelmi, M. M., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2012). Parameters symptomatically bore toxicity in leaves of tomato plants. *Scientifica*, 2012, 726206.
- Choudhary, S., Zehra, A., Naeem, M., Khan, M., & Aftab, T. (2020). Effects of boron toxicity on growth, oxidative damage, antioxidant enzymes and essential oil fingerprinting in *Mentha arvensis* and *Cymbopogon flexuosus*. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 7(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0175-y>
- Corpas, F. J., González-Gordo, S., & Palma, J. M. (2024). Ascorbate peroxidase in fruits and modulation of its activity by reactive species. *Journal of Experimental Botany*, 75(9), 2716–2732.
- Çatav, Ş. S., Köşkeroğlu, S., & Tuna, A. L. (2022). Selenium supplementation mitigates boron toxicity induced growth inhibition and oxidative damage in pepper plants. *South African Journal of Botany*, 146, 375–382.
- Çetin, M. (2016). Peyzaj çalışmalarında kullanılan bazı bitkilerde klorofil miktarının değişimi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 16(1), 239–245
- Çıkılı, Y., Samet, H. and Dursun, S. (2015). Mutual effects of boron and zinc on peanut (*Arachis hypogaea* L.) growth and mineral nutrition. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 46(5), 641–651.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., Van Montagu, M., Inzé, D., & Van Breusegem, F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57(5), 779–795. <https://doi.org/10.1007/s000180050041>.
- Dixon, R. A., & Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, 7(7), 1085–1097.
- Dominic, V. J., & Jithin, T. (2012). Effect of NaCl and boron toxicity on proline biosynthesis of *Oryza sativa* (Pokkali VTL-4). *International Journal of Life Sciences, Biotechnology and Pharma Research*, 1(2), 74–80.

- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. ve Smith, F., 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Durmuşoğlu, S. (2024). *Bitkilerde Dıştan Uygulanan Sisteinin Yüksek Sıcaklık Stres Toleransındaki Rolü, Glioksalaz Yolağı ve Isı Şok Proteinleri ile İlişkisinin Araştırılması*, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon.
- Eggink, L. L., Park, H., & Hooper, J. K. (2001). The role of chlorophyll b in photosynthesis: Hypothesis. *BMC Plant Biology*, 1(2).
- El-Feky, S. S., El-Shintinawy, F. A., Shaker, E. M., & Shams El-Din, H. A. (2012). Effect of elevated boron concentrations on the growth and yield of barley (*Hordeum vulgare* L.) and alleviation of its toxicity using different plant growth modulators. *Australian Journal of Crop Science*, 6(12), 1687–1695.
- Elkelish, A., El-Mogy, M. M., Niedbała, G., Piekutowska, M., Atia, M. A. M., Hamada, M. M. A., Shahin, M., Mukherjee, S., El-Yazied, A. A., Shebl, M., (2021). Roles of exogenous  $\alpha$ -lipoic acid and cysteine in mitigation of drought stress and restoration of grain quality in wheat. *Plants*, 10, 2318. <https://doi.org/10.3390/plants10112318>
- Esim N., Tiryaki D., Karadagoglu O., Atici O., (2013), “Toxic effects of boron on growth and antioxidant system parameters of maize (*Zea mays* L.) roots,” *Toxicology and Industrial Health*, 29 (9), 800–805.
- Farag, M., Fang, Z. M. (2014). Effect of boron toxicity stress on seed germination, root elongation and early seedling development of watermelon *Citrullus lanatus* Thumb. *Journal of Animal and Plant Science*, 21(2), 3313 – 3325
- Fotopoulos, V., Sanmartín, M., & Kanellis, A. K. (2006). Effect of ascorbate oxidase overexpression on ascorbate recycling gene expression in response to agents imposing oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, 57(15), 3933–3943.
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2005). Oxidant and antioxidant signaling in plants: A re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell & Environment*, 28(8), 1056–1071.
- Foyer, C. H., & Shigeoka, S. (2011). Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiology*, 155(1), 93–100.
- Fra, A., Yoboué, E. D., & Sitia, R. (2017). Cysteines as redox molecular switches and targets of disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 167. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00167>
- Funck, D., Winter, G., Baumgarten, L., & Forlani, G. (2012). Proline metabolism and transport in plant development. *Plant Physiology*, 160(1), 80–92. <https://doi.org/10.1104/pp.112.207456>

- García-Sánchez, F., Simón-Grao, S., Martínez-Nicolás, J. J., Alfosea-Simón, M., Liu, C., Chatzissavvidis, C., Pérez-Pérez, J. G., & Cámara-Zapata, J. M. (2020). Multiple stresses occurring with boron toxicity and deficiency in plants. *Journal of Hazardous Materials*, 397, 122713.
- Genisel, M., Erdal, S., & Kızılkaya, 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(1), 187–197.
- Guo, C. J., Lu, X., Liu, Y., Zhao, J., Zhang, L., Liu, X., & Zhang, C. (2024). Dynamic *Arabidopsis* P5CS filament facilitates substrate channeling in proline biosynthesis. *Nature Plants*, 10(3), 412–423.
- Gülüt, K. Y. (2024). A comprehensive review on exploring the mechanisms of boron toxicity in plants. *MAS Journal of Applied Sciences (MASJAPS)*, 9(2), 279–289.
- Güneş, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bagci, E. G., Coban, S., & Sahin, O. (2006). Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 110, 279–284.
- Hacham, Y., Zmora, N., & Amir, R. (2024). Sulfur metabolism under stress: Oxidized glutathione inhibits methionine biosynthesis by targeting adenosine phosphosulfate reductase. *Journal of Integrative Plant Biology*, 66(2), 313–327.
- Hadwan, M. H., Hussein, M. J., Mohammed, R. M., Hadwan, A. M., Saad Al-Kawaz, H., Al-Obaidy, S. S. M., & Al Talebi, Z. A. (2024). An improved method for measuring catalase activity in biological samples. *Biology Methods and Protocols*, 9(1), bpae015. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpae015>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Mahmud, J. A., Nahar, K., Mohsin, S. M., Parvin, K., & Fujita, M. (2018). Interaction of sulfur with phytohormones and signaling molecules in conferring abiotic stress tolerance to plants. *Plant Signaling & Behavior*, 13(5), e1477905. <https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1477905>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfikar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling & Behavior*, 7(11), 1456–1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>
- Heath, R.L. ve Packer, L., (1968). Photoperoxidation in Isolated Chloroplast. I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-98
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q., & Chang, C. C. (2007). Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(1), 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.12.005>

- 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.
- İmamoğlu, E. N. (2024). *Tuz stresi altındaki Gökçe ve Küsmen nohut çeşitlerinde ekzojen olarak uygulanan sisteinin etkilerinin araştırılması*. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- İnanır, C., Albayrak, S. & Ekici, L. (2019). Karabuğdayın fitokimyası, farmakolojisi ve biyofonksiyonel özellikleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16), 713-722.
- Jabeen, N., Ahmad, R. 2012. Improvement in growth and leaf water relation parameters of sunflower and safflower plants with foliar application of nutrient solutions under salt stress, *Pak. J. Bot.*, 44(4):1341- 1345.
- Jagota SK, Dani HM., 1982. “A new calorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent”, *Anal Biochem*, 127:178–182.
- Jańczak Pieniążek, M., Cichoński, J., Michalik, P., & Chrzanowski, G. (2022). Effect of heavy metal stress on phenolic compounds accumulation in winter wheat plants. *Molecules*, 27(1), 241. <https://doi.org/10.3390/molecules27010241>
- Jeandet, P., Formela-Lubowska, M., Labudda, M., & Morkunas, I. (2022). The role of sugars in plant responses to stress and their regulatory function during development. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8614.
- Jiang, W., Chang, S., Wang, Z., Li, X., Zhang, X., & Liu, Y. (2020). The genome of buckwheat and the genetic basis of agronomically important traits. *Nature Communications*, 11, Article 1-10.
- Kar, M., & Öztürk, N. (2020). The evolution of stress related gene expression level and relationship to cellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under copper stress. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(2), 303-315.
- Karuppanapandian, T., Wang, H.W., Prabakaran, N., Jeyalakshmi, K., Kwon, M., Manoharan, K., (2011). 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf senescence in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with silver nanoparticles. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 168–177.
- Kawashima, C. G., Noji, M., Nakamura, M., Ogra, Y., Suzuki, K. T., & Saito, K. (2004). Heavy metal tolerance of transgenic tobacco plants over-expressing cysteine synthase. *Biotechnology letters*, 26(2), 153–157. <https://doi.org/10.1023/b:bile.0000012895.60773.ff>
- Kavi Kishor, P. B., Hima Kumari, P., Sunita, M. S. L., & Sreenivasulu, N. (2015). Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. *Frontiers in Plant Science*, 6, 544. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00544>
- Kaya, G. (2025). Boron toxicity affects plant growth by destroying the cell membrane stability and micronutrient balance in melon. *Scientific Reports*, 15(1), 17126.

- Kaythan, C. (2020). Orta ve şiddetli seviyelerde bor toksisitesinin *Arabidopsis thaliana*'da miR393 ekspresyonu üzerine etkisi. *BOR Dergisi*, 5(4), 183–191.
- Keunen, E., Peshev, D., Van den Ende, W., & Vangronsveld, J. (2013). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant, Cell & Environment*, 36(7), 1242–1255.
- Khan, M. K., Pandey, A., Hamurcu, M., Avsaroglu, Z. Z., Ozbek, M., Omay, A. H., Elbasan, F., Omay, M. R., Gokmen, F., Topal, A., & Gezgin, S. (2021). Variability in physiological traits reveals boron toxicity tolerance in *Aegilops* species. *Frontiers in Plant Science*, 12, 736614.
- 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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.898247>
- Kohne Shahri, M., & Demir, Y. (2022). Glutathione and proline attenuate injury induced by boron toxicity in wheat. *Journal of Agricultural Sciences*, 29(2), 123–134.
- Koç, S. T., & Coşkun, F. (2025). Buckwheat: Nutritional value, health effects and applications in foods. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*, 13(6), 1665–1674.
- Krasensky, J., Jonak, C., (2012). Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, 63, 1593–1608.
- Kumar, D., Yusuf, M. A., Singh, P., Sardar, M., & Sarin, N. B. (2014). Histochemical detection of superoxide and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in *Brassica juncea* seedlings. *Bio-protocol*, 4(8), e1108. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1108>
- Kumar, S. P., Rajendra Prasad, S., Banerjee, R., & Thammineni, C. (2015). Seed birth to death: Dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. *Annals of Botany*, 116(4), 663–668.
- Kumar, K., Shekhawat, G. S., & Barman, S. (2023). An overview of plant phenolics and their involvement in abiotic stress tolerance. *Stresses*, 3(3), 570–585.
- Küpper, H., & Andresen, E. (2016). Mechanisms of metal toxicity in plants. *Metallomics*, 8(11), 1090–1104.
- Landi, L., Santini, M., Feliziani, E., Romanazzi, G., (2013). Pre- and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 78, 133–138.
- Landi, M., Remorini, D., Pardossi, A., & Guidi, L. (2019). Boron toxicity in higher plants: An update. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 1–12. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31236697/>

- Li, H., Chen, S., Wang, X., Zhang, H., & Yu, X. (2019). Exogenous Application of  $\alpha$ -Lipoic Acid and Cysteine Maintains Wheat Grain Quality under Drought Stress: A Proteomic Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3882.
- Li, X., Jiang, Z., Zhang, C., Cai, K., Wang, H., Pan, W., Sun, X., Gao, Y., & Xu, K. (2023). Comparative genomics analysis provides insights into evolution and stress responses of *Lhcb* genes in *Rosaceae* fruit crops. *BMC Plant Biology*, 23(1), 484.
- Li, Z. G., Min, X., & Zhou, Z. H. (2016). Hydrogen sulfide: A signal molecule in plant cross-adaptation. *Frontiers in plant science*, 7, 1621.
- Lovatt, C. J. and Bates, L. M., Early effects of excess boron on photosynthesis and growth of *Cucurbita pepo.*, *Journal of Experimental Botany*, 35: 297-305 (1984).
- Macho-Rivero, M. A., Herrera-Rodríguez, M. B., Brejcha, R., Schäffner, A. R., Tanaka, N., Fujiwara, T., González-Fontes, A., & Camacho-Cristóbal, J. J. (2018). Boron toxicity reduces water transport from root to shoot in *Arabidopsis* plants: Evidence for a reduced transpiration rate and expression of major PIP aquaporin genes. *Plant and Cell Physiology*, 59(4), 841–849.
- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1110622.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410.
- Miwa, K., & Fujiwara, T. (2010). Boron transport in plants: Co-ordinated regulation of transporters. *Annals of Botany*, 105(7), 1103–1108.  
<https://doi.org/10.1093/aob/mcq044>
- Mondy NI, Munshi CB. (1993). Effect of boron on enzymatic discoloration and phenolic and ascorbic acid contents of potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 554–558.
- Mortensen, M. S., Ruiz, J., & Watts, J. L. (2023). Polyunsaturated fatty acids drive lipid peroxidation during ferroptosis. *Cells*, 12(5), 804.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: Its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28(1), 131–140.
- Nasibi F, Kalantari KM, 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. *Ind J Plant Physiol* 21(3):279–286
- Nazir, F., Fariduddin, Q., & Khan, T. A. (2020). Hydrogen peroxide as a signalling molecule in plants and its crosstalk with other plant growth regulators under heavy metal stress. *Chemosphere*, 252, 126486.

- Noji, M., Saito, M., Nakamura, M., Aono, M., Saji, H., & Saito, K. (2001). Cysteine synthase overexpression in tobacco confers tolerance to sulfur-containing environmental pollutants. *Plant physiology*, 126(3), 973–980. <https://doi.org/10.1104/pp.126.3.973>
- Oosterhuis, D., 2001. Physiology and nutrition of high yielding cotton in the USA. *Informacoes Agronomicas NSetembro*, 95: 18-24.
- Öz, M. T., Turan, Ö., Kayihan, C., Eyidoğan, F., Ekmekçi, Y., Yücel, M., & Öktem, H. A. (2014). Evaluation of photosynthetic performance of wheat cultivars exposed to boron toxicity by the JIP fluorescence test. *Photosynthetica*, 52(4), 555–563.
- Özyazıcı, G. (2020). Azotlu gübre dozlarının karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench.) bitkisinin tohum verimi ve bazı tarımsal özelliklerine etkisi. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 635-648.
- Wang, Y., Zhang, W. H., Zhou, Y., Xu, F., Lin, Q., & Liang, H. (2016). Linking hydrogen-mediated boron toxicity tolerance with improvement of root elongation, water status and reactive oxygen species balance: A case study for rice. *Annals of Botany*, 118(7), 1279–1291. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw181>
- Petrova, T. A., Ivanov, I. V., & Smirnova, E. P. (2021). Botanical and agronomic features of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and its adaptation to various environmental conditions. *Plant Science Today*, 8(3), 395–405.
- Reid, R. J., Hayes, J. E., Post, A., Stangoulis, J. C. R., & Graham, R. D. (2004). A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell and Environment*, 27(11), 1405–1414.
- Reid, R., Hayes, J., Post, A., Stangoulis, J., & Graham, R. (2020). Boron toxicity and deficiency in agricultural plants. *Plant and Soil*, 446(1-2), 1-27.
- Renneberg, R. (2008). High grade cysteine no longer has to be extracted from hair. In A. L. Demain (Ed.), *Biotechnology for beginners* (p. 106). *Academic Press*. <https://doi.org/10.1016/B978-012374373-2.00032-3>
- Romero, L. C., Aroca, M. Á., Laureano-Marín, A. M., Moreno, I., García, I., & Gotor, C. (2014). Cysteine and cysteine-related signaling pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant*, 7(2), 264-276.
- Ruiz, J. M., Romero, L., & Rivero, R. M. (2003). Boron increases synthesis of glutathione in sunflower plants subjected to aluminum stress. *Plant and Soil*, 287(1–2), 77–84.
- Sadak, M., Abd Elhamid, E., & Mahmoud, M. (2017). Glutathione Induced Antioxidant Protection Against Salinity Stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Plant. *Egyptian Journal of Botany*, 57(2), 293-302. doi: 10.21608/ejbo.2017.636.1029
- Sarioğlu, A. (2023). *Bitki büyümesini ve stres toleransını artırmak: Abiyotik stres altında biber ve soya bitkilerinde melatonin, salisilik asit ve bakteri aşılmasının etkilerinin incelenmesi*. Doktora tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.

- Sarioğlu, A., & Kaya, C. (2022). Melatonin improves tolerance to salt stress and boron toxicity in soybean and pepper plants. *International Journal of Applied and Experimental Biology*, 1(1), 9–19.
- Sağlam, A., Saruhan, N., Terzi, R., & Kadioğlu, A. (2011). The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 60–68.
- Sağlam, A., Sezgin Muslu, A., Altuntaş, C., Demiralay, M., & Kadioğlu, A. (2023). Knock-out mutation of *CAT2* drastically reduced the melatonin-mediated resistance to boron toxicity in *Arabidopsis thaliana*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 65(2), Article 6521.
- Sağlam, A., Demiralay, M., Ozturk, K., Kucuk, L., & Kadioğlu, A. (2025). Regulation of endogenous proline biosynthesis influences boron toxicity response in *Arabidopsis thaliana*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 72(3).
- Sezekler, I., Coşkun, Z. M., & Ersöz, M. (2019). Borik asit uygulanan farklı hasat dönemlerindeki yeşil çay yapraklarının biyokimyasal değişikliklerinin incelenmesi. *International Journal of Advanced Engineering and Pure Science* 2(2), 149–154. <https://doi.org/10.7240/jeps.517719>
- Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 35–52.
- Signorelli, S., Arellano, J. B., Melø, T. B., Borsani, O., & Monza, J. (2013). Proline does not quench singlet oxygen: evidence to reconsider its protective role in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 64, 80–83.
- Singh, A. L., Jat, R. S., & Misra, J. B. (2009). Boron fertilization is a must to enhance peanut production in India (Paper No. 1140). *Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*, 1–5.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Skorupa, M., Szczepanek, J., Yolcu, Mazur, J., Tretyn, A., & Tyburski, J. (2022). Characteristics of the ascorbate oxidase gene family in *Beta vulgaris* and analysis of the role of *AAO* in response to salinity and drought in beet. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12773.
- Smirnoff, N. (2000). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology*, 3, 229–235.
- Soares, C., & Knuckley, B. (2016). Mechanistic studies of the agmatine deiminase from *Listeria monocytogenes*. *Biochemical Journal*, 473(11), 1553–1561.

- Sogvar, O., Razavi, F., Rabiei, V., & Gohari, G. (2020). Postharvest application of L-cysteine to prevent enzymatic browning of “Stanley” plum fruit during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), e14788.
- Sutulienė, R., Brazaitytė, A., Małek, S., Jasik, M., & Samuolienė, G. (2023). Response of oxidative stress and antioxidant system in pea plants exposed to drought and boron nanoparticles. *Antioxidants*, 12(2), 528.
- Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
- Szabó, M., Tari, I., & Zsigmond, L. (2022). Proline metabolism and its regulatory role in plant-environment interactions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 173, 1–17.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development* (6th ed.). Sinauer Associates.
- Takano, J., Tanaka, M., Toyoda, A., Miwa, K., Kasai, K., Fuji, K., Onouchi, H., Naito, S., & Fujiwara, T. (2010). Polar localization and degradation of Arabidopsis boron transporters through distinct trafficking pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(11), 5220–5225.
- Tang, X., Luo, Q., Zheng, J., & Liu, J. (2022). Molecular mechanisms underlying the toxicity and detoxification of trace metals and metalloids in plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 64(3), 534–551.
- Terzi, H., & Yıldız, M. (2021). Proteomic analysis reveals the role of exogenous cysteine in chromium tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111784.
- 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*.
- URL-1. Esular. (2023, Ağustos 21). <https://esular.com/> adresinden alındı.
- URL-2. (2025, Şubat 09). <https://generallyhydroponics.com/> adresinden alındı.
- Varol, M., Deliboran, A., Aytıp, H., Ateş, Ö. (2023). Boron contamination and related health risk assessment in the soils collected from olive groves in İzmir province, Türkiye. *Chemosphere*, 343, 140210.
- Velikova, V., Yordanov, I. ve Edreva, A., (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid aain-treated bean plants: Protective roles of exogenous polyamines, *Plant Science*, 151, 59-66.
- Wang, J., Wei, L., Yan, L., Zheng, H., Liu, C., & Zheng, L. (2022). Effects of postharvest cysteine treatment on sensory quality and contents of bioactive compounds in goji fruit. *Food Chemistry*, 366, 130546. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130546>

- Wang, W., Ling, Y., 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.
- Xu, X., Miao, X., Deng, N., Liang, M., Wang, L., Jiang, L., & Zeng, S. (2024). Identification of ascorbate oxidase genes and their response to cold stress in *Citrus sinensis*. *Agriculture*, 14(9), 1643.
- Yan, L., Li, S., Riaz, M., & Jiang, C. (2021). Proline metabolism and biosynthesis behave differently in response to boron-deficiency and toxicity in *Brassica napus*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 529–540.
- Yavuz, H., Yiğit, A., & Ereku, O. (2016). Farklı ekim sıklıklarının karabuğday'da (*Fagopyrum esculentum* Moench.) verim ve bazı tane kalitesi özelliklerine etkisi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(2), 17–22.
- Yazıcı, D., & Korkmaz, K. (2020). Karabuğday bitkisinde bor alınımlı ve toksitesi üzerine potasyum uygulamalarının etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 9(1), 151-162.
- Yıldırım, E., & Turan, M. (2017). Boron toxicity effects on grafted and non-grafted pepper (*Capsicum annuum* L.) plants: Phenol, flavonoid concentrations and antioxidant capacity. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 77(2), 251-258.
- Yıldız, N., & Yalçın, E. (2013). Karabuğdayın (buckwheat) kimyasal, besinsel ve teknolojik özellikleri. *GIDA / Journal of Food*, 38(6), 383–390.
- Zafar-ul-hye, M., Imran, M., & Ahmad, M. (2016). Influence of boron fertilization on growth and yield of wheat crop under salt stress environment. *Soil & Environment*, 35(2), 181-186.
- Zagorchev, L., Seal, C. E., Kranner, I., & Odjakova, M. (2013). A central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 7405–7432.
- Zhang, J., Li, M., Chen, W., He, X., Zhao, Y., Zhou, J., & Wang, S. (2024). Boron toxicity-induced root growth inhibition is associated with regulation of auxin transport and reactive oxygen species homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports*, 43(3), 413–427.
- Zhang, Y.Y.; Li, H.X.; Shu, W.B.; Zhang, C.J.; Zhang, W.; Ye, Z.B. (2011). Suppressed expression of ascorbate oxidase gene promotes ascorbic acid accumulation in tomato fruit *Plant Molecular Biology Reporter*, 29, 638–645.
- Zhao, S., Gao, H., Luo, J., Wang, H., Dong, Q., Wang, Y., Yang, K., & Mao, K. (2020). Genome-wide analysis of the light-harvesting chlorophyll a/b-binding gene family in apple (*Malus domestica*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 154, 517–529.
- Zheng, M., Liu, Y., Zhang, G., Yang, Z., Xu, W., & Chen, Q. (2023). The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics. *Antioxidants*, 12(9), Article 1675. <https://doi.org/10.3390/antiox12091675>

- Zhou, J., Dang, Z., Qiu, Y., Hou, L., & Wu, Y. (2023). Heavy metal contamination in agricultural soil: Effects on crop health and management strategies. *Agronomy*, 13(6), 1521. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061521>
- Zhu, M., Liu, Q., Liu, F., Zheng, L., Bing, J., Zhou, Y., & Gao, F. (2023). Gene profiling of the ascorbate oxidase family genes under osmotic and cold stress reveals the role of *AnAO5* in cold adaptation in *Ammopiptanthus nanus*. *Plants*, 12(3), 677.



## ÖZGEÇMİŞ

Merve Miray ARDA, ilk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2015 yılında Mektebim Okulları Hemşirelik bölümünden mezun oldu. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Teknikerliği programına başladı ve 2018 yılında mezun oldu. 2018 yılında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji bölümünü kazandı. 2021 yılında Biyoteknoloji bölümünden mezun oldu. 2022 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Aykut SAĞLAM danışmanlığında tezli yüksek lisans eğitimine başladı ve halen devam etmektedir. Lisansüstü eğitimi süresince BAP13 kodlu projede bursiyer olarak görev aldı.