



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ



**MODEL BİTKİ *Arabidopsis thaliana*’ da REAKTİF
KARBONİL TÜRLERİNİN (RCS) ENDOPLAZMİK
RETİKULUM (ER) STRESİ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Doktora Tezi

Side Selin Su YİRMİBEŞOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir

2025

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**MODEL BİTKİ *Arabidopsis thaliana*' da REAKTİF
KARBONİL TÜRLERİNİN (RCS) ENDOPLAZMİK
RETİKULUM (ER) STRESİ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Side Selin Su YİRMİBEŞOĞLU

Danışman : Prof. Dr. İsmail TÜRKAN

Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Doktora Programı

İzmir
2025

Side Selin Su YİRMİBEŞOĞLU tarafından doktora tezi olarak sunulan “**Model Bitki *Arabidopsis thaliana*’ da Reaktif Karbonil Türlerinin (RCS) Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi İle İlişkisinin İncelenmesi** ” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 07/05/2025 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :Prof.Dr. İsmail TÜRKAN

Raportör Üye :Doç.Dr. Barış UZİLDAY

Üye :Doç.Dr. Ademi Fahri PİRHAN

Üye :Prof.Dr. Çağlar KARAKAYA

Üye :Doç.Dr. Ruhan AŞKIN UZEL

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “**Model Bitki *Arabidopsis thaliana*’da Reaktif Karbonil Türlerinin (RCS) Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi İle İlişkisinin İncelenmesi**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

07 / 05 / 2025

Selin Su YİRMİBEŞOĞLU

ÖZET**MODEL BİTKİ *Arabidopsis thaliana*' da REAKTİF KARBONİL TÜRLERİNİN (RCS) ENDOPLAZMİK RETİKULUM (ER) STRESİ İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

YİRMİBEŞOĞLU, Side Selin Su

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof.Dr. İsmail TÜRKAN

Mayıs 2025, 294 Sayfa

Çevresel stresler hücrelerde birçok metabolik değişikliğe neden olur ve tüm bu değişiklikler protein üretimi ve katlanmasıyla yakından ilişkilidir. Hücrenin içinde endoplazmik retikulum (ER), proteinlerin üretildiği, katlandığı ve doğal formlarına dönüştürüldüğü bir merkez görevi görür. Bu nedenle, ER'de yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin birikmesi, ER stresine neden olur ve aynı zamanda reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından da düzenlenen, katlanmamış protein yanıtı (UPR) adı verilen çok spesifik bir yolu tetikler. Düşük konsantrasyonlarda ROS, bir sinyal ajanı olarak görev yapar ve programlanmış hücre ölümü (PCD), gen regülasyonu ve hormonal tepkiler gibi birçok farklı yolda sinyal molekülleri olarak görev yapan reaktif karbonil türlerinin (RCS) yardımıyla aşağı yöndeki sinyal yollarını aktive eder. Literatürde ER stresi ve ilgili sinyal yollarını araştıran pek çok çalışma bulunmasına rağmen, bitkilerde büyüme, gelişme ve stres tepkisi için reaktif elektrofil türleri olarak RCS'nin sinyal verme rolüne ilişkin yeni bir bakış açısı büyük ilgi görmektedir. Bu nedenle, bu çalışma *Arabidopsis thaliana*'da reaktif karbonil türleri (RCS) ile katlanmamış protein tepkisi (UPR) arasındaki etkileşimi araştırmayı amaçlamaktadır.

Bu amaç doğrultusunda ER stresinin RCS birikimini tetikleme yeteneği Schiff boyaması ile incelenmiştir. Schiff boyamasının sonuçları, ER stresinin neden olduğu RCS birikiminin tespit edildiğini göstermiştir. Sonrasında, ER stres

indüksiyonunun RCS temizlemenin transkripsiyonel yolları üzerindeki düzenleyici rolü, kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile incelenmiştir. Bu şekilde RCS, taranan aldehit dehidrojenazların (ALDH) ve glutatyon transferazlardan (GST) dördünün (*ALDH2C4*, *ALDH7B4*, *ALDH11A3*, *ALDH2B7*, *GSTU2*, *GSTU5*, *GSTU24* ve *GSTU25*) ekspresyonunda aşağı regülasyona, aldo keto redüktazların (AKR) ve GST'lerin ikisinin (*AKR4C8* ve *AKR4C9*, *GSTU3* ve *GSTU4*) ekspresyonunda yukarı regülasyona neden olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada ekzojen karbonil uygulamasının bitki büyümesini düzenlediği gösterilmiştir. RCS ve UPR yolu arasındaki bu ilişkiyi araştırmak için, ekzojen olarak RCS uygulanan bitkilerden UPR ile ilişkili altı genin (*BiP3*, *CNX*, *ERO1*, *UBC32*, *bZIP60U* ve *bZIP60S*) transkripsiyon seviyesi ölçülmüştür. Bu gen ifadesi analizlerinin sonucunda RCS'nin UPR ile ilişkili genler üzerinde düzenleyici bir role sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

ER stres toleransında RCS'nin etkisini aydınlatmak için, büyüme parametreleri ve UPR ile ilişkili genlerin ifadeleri, bir RCS temizleyici uygulaması varlığında ve yokluğunda ER stresinin indüksiyonu yoluyla ölçülmüştür. Mevcut sonuçlar, karnosin uygulamasının büyümedeki düşüş eğilimini azalttığını ve RCS'nin temizlenmesinin, ER stresinin büyümeye ilişkin fizyolojik parametrelerdeki olumsuz etkilerini hafiflettiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, ER stresi için RCS üretiminin gerekli olduğunu işaret etmektedir. Bir sonraki adım olarak, RCS'yi temizleyen ve ER stresi altında RCS üretiminin birikimini azaltan karnosinin, UPR ile ilişkili gen ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar RCS'nin temizlenmesinin UPR ile ilişkili genlerde değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Ayrıca, UPR ile ilişkili genlerin ve aynı zamanda solunum patlaması oksidaz homolog enzimleri (*RBOHD* ve *RBOHF*) olarak da adlandırılan iki membrana bağlı nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazın (NOX) karnosin uygulaması varlığında ekspresyonlarının zamana bağlı analizleri yapılmıştır ve RCS üretiminin UPR'yi zamana bağlı bir şekilde tetiklediği gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: reaktif karbonil türleri, katlanmamış protein yanıtı, ER stresi, karnosin, *A.thaliana*

ABSTRACT**INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN
REACTIVE CARBONYL SPECIES AND ENDOPLASMIC
RETICULUM (ER) STRESS IN MODEL PLANT *Arabidopsis thaliana***

YİRMİBEŞOĞLU, Side Selin Su

PhD in Biology

Supervisor: Prof. Dr. İsmail TÜRKAN

May 2025, 294 pages

Environmental stress elicits many metabolic changes in cells and all these alterations are closely related to protein production and folding. Inside the cell, the endoplasmic reticulum (ER) acts as a hub where proteins are produced, folded, and modified to their native form. Thus, the accumulation of misfolded or unfolded proteins in the ER results in ER stress and triggers a very specific pathway called unfolded protein response (UPR) regulated also by reactive oxygen species (ROS). At low concentrations, ROS acts as a signaling agent and activates downstream signaling pathways with the help of reactive carbonyl species (RCS), which act as signaling molecules in many different pathways such as programmed cell death (PCD), gene regulation, and hormonal responses. Although there are many studies investigating ER stress and related signaling pathways in the literature, a novel perspective about the signaling role of RCS as a reactive electrophile species for growth, development and stress response in plants is getting lots of attention. Therefore, this study aims to investigate the interaction between reactive carbonyl species (RCS) and unfolded protein response (UPR) in *Arabidopsis thaliana*.

To investigate the ability of ER stress to induce RCS accumulation, Schiff's staining was done. The results of Schiff's staining showed that ER stress-induced RCS accumulation. Then, the regulatory role of ER stress induction on the transcriptional pathways of RCS scavenging was examined by quantitative reverse transcriptase real-time PCR (qRT-PCR). In this manner, RCS cause downregulation

in the expression of screened aldehyde dehydrogenases (ALDH) and 4 of the glutathione transferases (GST) (*ALDH2C4*, *ALDH7B4*, *ALDH11A3*, *ALDH2B7*, *GSTU2*, *GSTU5*, *GSTU24* and *GSTU25*), upregulation in the expression of aldo-keto reductases (AKR) and 2 of the GSTs (*AKR4C8* and *AKR4C9*, *GSTU3* and *GSTU4*). Moreover, in this study it is shown that exogenous carbonyl application regulates plant growth. To investigate this relationship between RCS and UPR pathway, the transcription level of six UPR-related genes (*BiP3*, *CNX*, *ERO1*, *UBC32*, *bZIP60U* and *bZIP60S*) were measured from exogenously RCS applied plants. From the expression analysis, it can be concluded that RCS has a regulatory role on UPR related genes.

To elucidate RCS involvement in ER stress tolerance, growth parameters and expressions of UPR-related genes were measured by induction of ER stress with and without treatment with, an RCS scavenger. Current results showed that carnosine treatment lowered the declining trend in growth and scavenging of RCS alleviates the negative effects of ER stress in physiological parameters related to the growth, which might be considered RCS production is required for ER stress. As a next step, the effects of carnosine which scavenges RCS and decreased the accumulation of RCS production under ER stress, on UPR-related gene expression levels were investigated. Our results showed that clearance of RCS has been observed to result in changes in UPR related genes. Furthermore, time dependent analyzes of the expressions of UPR related genes and two membrane bound nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidases (NOXs) which are also named respiratory burst oxidase homolog enzymes (*RBOHD* and *RBOHF*) under carnosine treatment were performed to elucidate the transient response to RCS. It is shown that RCS production triggers UPR in a time-dependent manner.

Keywords: reactive carbonyl species, unfolded protein response, ER stress, carnosine, *A.thaliana*

ÖNSÖZ

Bitkinin metabolizmasını, büyümesini veya gelişimini etkileyen veya engelleyen her türlü olumsuz durum veya madde stres olarak kabul edilir. Sesil yapısı nedeniyle bitkilerin birçok çevresel değişiklikle karşı karşıya kaldığı ve çevresel faktörlerin bitkiler tarafından sürekli olarak taranması gerektiği bilinmektedir. Bitkilerin birçok farklı girdiyi algılayıp, metabolik süreçlerini hızla uyarlama beceresi karşısında hayranlık duymamak mümkün değildir. Hangi açıdan bakılırsa bakılsın, bitkilerin sahip olduğu bu yetenekleri anlayabilmek ve hatta bireysel yaşamamızda bu bilgileri kullanabilmenin hayatı kolaylaştıracağını düşünmekteyim.

Doğanın bize armağanı olan bitkileri bu yetenekleri açısından incelediğimizde, farklı sebeplerle biriken katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinlerin yarattığı ER stresi özelinde bakıldığında birçok farklı yolak ile ortaya çıkan sorunu çözmeye çalışmaları ve artık çözülemez noktaya geldiğinde bu kıymetli organelin bir parçasından kalan hücrenin sağlığı için vazgeçebiliyor olmaları ilham vericidir. Stres koşullarında oluşan reaktif türler incelendiğinde ise, her ne kadar tek bir tür baskın gibi görünse de aslında farklı türlerin birbirleriyle ne kadar iletişimde oldukları, aynı yolakta yol aldıklarında kendi çıkarları için nasıl rekabette oldukları, süpürücülerin yokluğunda reaktiflikleri nedeniyle hücrede yakınlarındaki tüm moleküllere saldırıp onları değiştirirlerken süpürücülerin varlığında etkisizleşmeleri takdire şayandır.

Dünya geneline bakıldığında bitki verimliliğini sınırlayan en önemli etmenlerin abiyotik stresler olduğu görülmektedir. Gelecek 20 yıl içinde hızlı bir ivme ile artacağı öngörülen iklim değişikliği ve buna bağlı küresel ısınmanın bu stres faktörlerinin etkisini arttıracığı, dolayısıyla bitki verimliliğini ciddi anlamda düşüreceği öngörülmektedir. Bu nedenle bitkilerin stres tolerans mekanizmalarının aydınlatılması büyük önem taşımaktadır.

İZMİR

07/05/2025

Side Selin Su YİRMİBEŞOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	vi
ABSTRACT	viii
ÖNSÖZ.....	x
İÇİNDEKİLER.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
TABLolar DİZİNİ.....	xxv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxviii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Model Organizma Olarak <i>Arabidopsis thaliana</i>	5
2.1.1 <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın morfolojik özellikleri ve taksonomisi	7
2.1.2 <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın dağılımı ve habitatı	9
2.1.3 <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın yaşam döngüsü.....	11
2.1.4 Model olarak <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın tarihçesi	15
2.2 Bitkilerde Redoks Sistemi.....	18
2.2.1 Bitkilerde redoks sistemleri ile düzenlenen yolak yapıları.....	21
2.2.2 Bitkilerde oluşan reaktif türler ve oluşma yolları	25
2.2.3 Bitkilerde reaktif türlerin detoksifikasyon mekanizmaları	48
2.2.4 Bitkilerde reaktif türlerin oluşma ve detoksifikasyon mekanizmalarının redoks sistemi ile ilişkisi.....	73
2.3 Bitkilerde Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi.....	77
2.3.1 Bitkilerde endoplazmik retikulum (ER) stresi	77

İÇİNDEKİLER(Devam)

Sayfa

2.3.2 Bitkilerde endoplazmik retikulum (ER) stresi ile ilişkili sinyal yolları.....	80
3. YÖNTEM VE GEREÇLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.1 Bitki Materyali, Büyüme Koşulları, ER Stresi, Ekzojen RCS ve RCS Süpürücü Uygulamaları.....	95
3.1.1 Bitki materyali.....	95
3.1.2 Tohum sterilizasyonu	95
3.1.3 Tohumların ekimi	95
3.1.4 Stres uygulamaları ve deney deseni	96
3.1.5 Ekzojen RCS uygulamaları ve deney deseni	97
3.1.6 RCS süpürücü uygulamaları ve deney deseni	99
3.2 Fizyolojik Parametreler	102
3.2.1 Kök fenotipi analizi.....	102
3.2.2 Yaş ağırlık ölçümleri	102
3.3 Biyokimyasal Parametreler	102
3.3.1 Karbonillerin Schiff reaktifi ile Boyaması	102
3.3.2 Kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT PCR).....	103
3.4 İstatistiksel Analizler	105
4. BULGULAR.....	106
4.1 ER Stresi Uygulamaları ve RCS Metabolizması İlişkisi.....	106
4.1.1 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisi	106
4.1.2 ER stresinin RCS süpürücü genlerin ifadelerine etkisi	118
4.2 Ekzojen RCS uygulamaları ve ER stresi ilişkisi	123

İÇİNDEKİLER(Devam)

Sayfa

4.2.1 Ekzojen akrolein (ACR) uygulamalarının fizyolojik etkileri	123
4.2.2 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulamalarının fizyolojik etkileri.....	127
4.2.3 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulamalarının fizyolojik etkileri	131
4.2.4 Ekzojen RCS uygulamalarının UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadelerine etkisi.....	136
4.3 RCS Süpürücü Uygulamasının UPR Yolağı ile İlişkisi	140
4.3.1 RCS süpürücü uygulamasının fizyolojik etkileri.....	140
4.3.2 RCS süpürücü uygulamasının UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadelerine etkisi.....	150
4.3.3 RCS süpürücü uygulamasının UPR yolağı ile ilişkili genler üzerindeki zamansal etkisi	153
5. TARTIŞMA	166
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	174
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	175
TEŞEKKÜR.....	255
ÖZGEÇMİŞ	257

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil

Sayfa

2.1 <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın filogenetik ağaç ile gösterimi	8
2.2 <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın dünya genelinde yayılışı	9
2.3a <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın yaşam döngüsü. <i>Arabidopsis thaliana</i> Columbia (Col) ekotipinin tohumdan (sol altta) fideye (11 gün), bitkisel büyümeye (39 gün) ve üreme büyümesine (45 gün) kadar yaşam döngüsünün farklı aşamalarındaki görüntüleri	11
2.3b <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın yaşam döngüsü. <i>Arabidopsis thaliana</i> Columbia (Col) ekotipinin çiçek yapısı.....	11
2.3c <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın yaşam döngüsü. <i>Arabidopsis thaliana</i> Columbia (Col) ekotipinin polen tanesi (taramalı elektron mikrofrafı) .	11
2.3d <i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın yaşam döngüsü. <i>Arabidopsis thaliana</i> Columbia (Col) ekotipinin olgun silikatlari (tohum kabukları; sol: kapalı; sağ: kalan birkaç parçalanmamış tohumla açık)	11
2.4 <i>Arabidopsis</i> 'in model bitki olarak geliştirilmesi ve kullanılmasıdaki önemli olaylar	18
2.5 Redoks reaksiyonlarının çalışma mekanizmasını gösteren diyagram.....	19
2.6a Hücresel RES dinamiklerinin ve bunun sonucunda ortaya çıkan bitki fizyolojik tepkilerinin şematik bir temsili. Şekil hücrelerin RES/redoks kaynaklı üç durumunu göstermektedir. (a) Uygun çevre koşullarında....	20
2.6b Hücresel RES dinamiklerinin ve bunun sonucunda ortaya çıkan bitki fizyolojik tepkilerinin şematik bir temsili. Şekil hücrelerin RES/redoks kaynaklı üç durumunu göstermektedir. (b)Olumsuz çevresel koşullarda.	20

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil

Sayfa

2.6c Hücrel RES dinamiklerinin ve bunun sonucunda ortaya çıkan bitki fizyolojik tepkilerinin şematik bir temsili (c) RES üretimi ile süpürme arasındaki dengenin korunduğu ve maksimum bitki büyüme ve gelişme potansiyelinin elde edildiği bazal RES konsantrasyonlarında.	20
2.7 Sinyal yollarına ait elementlerin şematik gösterimi.....	22
2.8 Bitki hücresinde örnek redoks yolağı elemanları	23
2.9 Moleküler oksijenin (O ₂) atomik özellikleri, temel kimyasal türleri ve sahip oldukları moleküler bağlar	27
2.10 O ₂ için Lewis yapıları ve tekli oksijen (¹ O ₂) oluşturmak üzere uyarılması.....	28
2.11a Lipid peroksidasyon mekanizmaları. (a) Çoklu doymamış yağ asitlerinin lipoksijenazlar (LOX'ler), tekli oksijen (¹ O ₂) ve radikaller tarafından oksidasyonu.....	32
2.11b Lipid peroksidasyon mekanizmaları. (b) Fotosentetik dokularda membran peroksidasyonunun baskın olan mekanizması.	32
2.11c Lipid peroksidasyon mekanizmaları. (c) Fotosentetik olmayan dokularda membran peroksidasyonunun baskın mekanizması olan radikal kataliz reaksiyonları	32
2.12 Oksilipin karbonillerin metabolizması ve reaksiyonları.....	35
2.13 <i>A. thaliana</i> 'da linolenik asitten (18:3) enzimatik RCS oluşumu	37
2.14 Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları	53
2.15 Su-su ve Asc-GSH döngüsünün mekanizması	55

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil

Sayfa

2.16 Schiff bazının ve Michael ilavesinin protein kalıntılarıyla oluşumu	57
2.17 Bitki hücresinde bilinen başlıca enzimatik RCS temizleme mekanizmaları.	60
2.18 Bitkideki abiyotik stres aracılı düzenleyici olay sırasında reaktif türlerin (ROS, RNS, RCS, RSS) birbirine bağlı ağı.....	73
2.19 ER kalite kontrol sistemi (ERQC)'ni gösteren diyagram	83
2.20 ER Stresi ve UPR yolağını gösteren diyagram	84
2.21 Endoplazmik retikulumda protein ekleme, katlama ve dislokasyon modeli.	87
2.22 Genel otofaji yolu.	91
3.1 ER stres uygulamaları için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi	96
3.2 Ekzojen RCS uygulamalarında kök fenotipi analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi.....	97
3.3 Ekzojen RCS uygulamalarında qRT-PCR analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi	98
3.4 RCS süpürücü uygulamalarında kök fenotipi analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi.....	99
3.5 RCS süpürücü uygulamalarında qRT-PCR analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi.....	100
3.6 RCS süpürücü uygulamalarında zamana bağlı qRT-PCR analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi.....	101

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri	107
4.2 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıklarını gösteren grafik.....	109
4.3 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama ana kök uzunluğunu gösteren grafik.....	111
4.4 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama toplam kök uzunluğunu gösteren grafik.....	113
4.5 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama yanal kök sayısını gösteren grafik.....	114
4.6 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama yanal kök yoğunluğunu gösteren grafik.....	116
4.7 ER stresi kaynaklı karbonil üretiminin Schiff boyaması ile gösterilmesi görüntülemeleri	117
4.8a-d RCS süpürücü genlerin ekspresyonunda ER stresin etkisi. ALDH genlerinin, Tm kaynaklı ER stresli bitkilerde göreceli transkript bolluğu açısından taranmasını gösteren grafikler.....	118

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil

Sayfa

- 4.8e-f RCS süpürücü genlerin ekspresyonunda ER stresin etkisi. AKR (E, F) genlerinin, Tm kaynaklı ER stresli bitkilerde göreceli transkript bolluğu açısından taranmasını gösteren grafikler.. 118
- 4.8g-l RCS süpürücü genlerin ekspresyonunda ER stresin etkisi. GST genlerinin, Tm kaynaklı ER stresli bitkilerde göreceli transkript bolluğu açısından taranmasını gösteren grafikler.. 118
- 4.9 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri 124
- 4.10 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıklarının ortalamasını gösteren grafik 125
- 4.11a Ekzojen Akrolein (ACR) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (a) Ana kök uzunluğunu gösteren grafik 127
- 4.11b Ekzojen Akrolein (ACR) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (b) Toplam kök uzunluğunu gösteren grafik 127
- 4.11c Ekzojen Akrolein (ACR) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (c) Yanal kök sayısını gösteren grafik 127

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil

Sayfa

- 4.11d Ekzojen Akrolein (ACR) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (d) Yanal kök yoğunluğunu gösteren grafik 127
- 4.12 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri 128
- 4.13 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren grafik 129
- 4.14a Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (a) Ana kök uzunluğunu gösteren grafik 131
- 4.14b Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik (b) Toplam kök uzunluğunu gösteren grafik 131
- 4.14c Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (c) Yanal kök sayısını gösteren grafik 131
- 4.14d Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (d) Yanal kök yoğunluğunu gösteren grafik 131

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil

Sayfa

- 4.15 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri 132
- 4.16 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren grafik..... 133
- 4.17a Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (a) Ana kök uzunluğunu gösteren grafik 135
- 4.17b Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (b) Toplam kök uzunluğunu gösteren grafik 135
- 4.17c Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. (c) Yanal kök sayısını gösteren grafik 135
- 4.17d Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik (d) Yanal kök yoğunluğunu gösteren grafik 135
- 4.18a Ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS uygulanmış ve uygulanmamış örneklerden *BiP3* geninin bağıl transkript miktarı..... 136

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil	Sayfa
4.18b Ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS uygulanmış ve uygulanmamış örneklerden <i>CNX</i> geninin bağıl transkript miktarı	136
4.18c Ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS uygulanmış ve uygulanmamış örneklerden <i>ERO1</i> geninin bağıl transkript miktarı	136
4.18d Ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS uygulanmış ve uygulanmamış örneklerden <i>UBC32</i> geninin bağıl transkript miktarı	136
4.18e Ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS uygulanmış ve uygulanmamış örneklerden <i>bZIP60U</i> geninin bağıl transkript miktarı	136
4.18f Ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS uygulanmış ve uygulanmamış örneklerden <i>bZIP60S</i> geninin bağıl transkript miktarı	136
4.19 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri	141
4.20 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren grafik.....	143
4.21 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğunu gösteren grafik.....	145

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil

Sayfa

- 4.22 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen toplam kök uzunluğunu gösteren grafik 147
- 4.23 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen yanal kök sayısını gösteren grafik 148
- 4.24 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen yanal kök yoğunluğunu gösteren grafik 150
- 4.25a RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS süpürücüsü uygulanmış ve uygulanmamış 0,1 µg/ml Tm kaynaklı ER stresi uygulanan örneklerde *BiP3* geninin bağıl transkript miktarı..... 151
- 4.25b RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS süpürücüsü uygulanmış ve uygulanmamış 0,1 µg/ml Tm kaynaklı ER stresi uygulanan örneklerde *CNX* geninin bağıl transkript miktarı..... 151
- 4.25c RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS süpürücüsü uygulanmış ve uygulanmamış 0,1 µg/ml Tm kaynaklı ER stresi uygulanan örneklerde *ERO1* geninin bağıl transkript miktarı..... 151

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil	Sayfa
4.25d RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS süpürücüsü uygulanmış ve uygulanmamış 0,1 µg/ml Tm kaynaklı ER stresi uygulanan örneklerde <i>UBC32</i> geninin bağıl transkript miktarı	151
4.25e RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS süpürücüsü uygulanmış ve uygulanmamış 0,1 µg/ml Tm kaynaklı ER stresi uygulanan örneklerde <i>bZIP60U</i> geninin bağıl transkript miktarı	151
4.25f RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS süpürücüsü uygulanmış ve uygulanmamış 0,1 µg/ml Tm kaynaklı ER stresi uygulanan örneklerde <i>bZIP60S</i> geninin bağıl transkript miktarı	151
4.26 RCS'nin UPR ile ilgili <i>BiP3</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi.	154
4.27 RCS'nin UPR ile ilgili <i>CNX</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi.	156
4.28 RCS'nin UPR ile ilgili <i>ERO1</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi	157
4.29 RCS'nin UPR ile ilgili <i>UBC32</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi	159
4.30 RCS'nin UPR ile ilgili <i>bZIP60U</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi	160
4.31 RCS'nin UPR ile ilgili <i>bZIP60S</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi.	162

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Şekil

Sayfa

4.32 RCS'nin UPR ile ilgili <i>RBOHD</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi.....	163
4.33 RCS'nin UPR ile ilgili <i>RBOHF</i> geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi.....	165



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 . Bitki hücrelerinde ROS'un özellikleri yarı ömür, difüzyon aralığı, etki mekanizması ve hücre içindeki üretim yeri.....	28
2.2. Proteomik analizlerden elde edilmiş RCS ile modifiye edilmiş veya RCS tarafından etkisiz hale getirilmiş bitki proteinlerinin listesi.....	39
2.3 Bitkilerdeki ana NO kaynakları	42
2.4. Bitkilerde RSS oluşumunda rol oynayan enzimler.....	45
2.5 ROS temizleme yolağında rol alan önemli enzimatik antioksidanlar	51
2.6 ROS temizleme yolağında rol alan önemli enzimatik olmayan antioksidanlar	52
2.7 RCS ve RCS dışındaki karbonillerin detoksifikasyon mekanizmaları	58
2.8 Enzimatik RCS temizlenmesinde görev alan enzimler	59
3.1 Bu çalışmada incelenen genlerin erişim numaraları ve qRT-PCR için kullanılan primer dizileri.....	104
4.1 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren tablo	108
4.2 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama ana kök uzunluğunu gösteren tablo	110
4.3 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama toplam kök uzunluğunu gösteren tablo.....	112

TABLOLAR DİZİNİ (Devam)

Tablo

Sayfa

- 4.4 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama yanal kök sayısını gösteren tablo 114
- 4.5 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo 115
- 4.6 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıklarının ortalamasını gösteren tablo 124
- 4.7 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo 125
- 4.8 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıklarının ortalamasını gösteren tablo 128
- 4.9 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo 129
- 4.10 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıklarının ortalamasını gösteren tablo 132

TABLÖLAR DİZİNİ (Devam)

Tablo

Sayfa

- 4.11 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo 133
- 4.12 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren tablo..... 142
- 4.13 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo . 143

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
m	mili
μ	Mikro
n	Nano
M	molar
Σ	Sigma
Δ	Delta
π	Pi
α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece

Kısaltmalar

ER	Endoplazmik retikulum
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
UPR	Katlanmamış protein yanıtı
PCD	Programlanmış hücre ölümü
qRT-PCR	Kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
ALDH	Aldehit dehidrojenaz

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

GST	Glutatyon-S- transferaz
RBOH	Solunum patlaması oksidaz homolog enzimi
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NOX	NADPH oksidaz
ERQC	ER kalite kontrol
ERAD	ER ilişkili bozunma
GSH	Glutatyonun indirgenmiş formu
GSSH	Oksitlenmiş glutatyon
RES	Reaktif elektrofıl türleri
ACR	Akrolein
HNE	4-hidroksi-(E)-2-nonenal
MDA	Malondialdehit
AFLP	Güçlendirilmiş parça uzunluğu polimorfizmi
GA	Giberellin
ABA	Absisik asit
DOG1	Çimlenme Gecikmesi 1
QTL	Niceliksel özellik lokusu
FT	Çiçeklenme lokusu T
SAM	Sürgün apikal meristemi
ICAR	Uluslararası Arabidopsis Araştırma Konferansı
RFLP	Restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi
AtDB	<i>Arabidopsis</i> Veritabanı

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

TAIR	<i>Arabidopsis</i> Bilgi Kaynağı
ZNF	Çinko parmak içeren nükleaz
TALEN	transkripsiyon aktivatörü benzeri efektör nükleazlar
CRISPR	Düzenli aralıklı kısa palindromik kümelenmiş tekrarlar
Cas9	CRISPR ile ilişkili protein 9
NTR	NADPH bağımlı tiyoredoksin redüktaz
GR	Glutasyon redüktaz
GRX	Glutaredoksin
FBPase	Fruktoz-1,6-bifosfataz
MDH	Malat dehidrojenaz
GPX	Glutasyon peroksidaz
PRX	Peroksiredoksin
GO	Glikolat oksidaz
APX	Askorbat peroksidaz
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
SOD	Süperoksit dismutaz
NPR1	Patogenezle İlgili Genlerin Ekspresörü Olmayan 1 (NPR1)
RNS	Reaktif nitrojen türleri
RSS	Reaktif kükürt türleri
$O_2^{\bullet-}$	Süperoksit radikali
$^1O_2$	Tekli oksijen
$OH^{\bullet}$	Hidroksil radikali

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
O ₂	Oksijen
PSII	Fotosistem II
XDH	Ksantin dehidrojenaz
AO	Aldehit oksidaz
CAT	Katalaz
PUFA	Çoklu doymamış yağ asidi
LOOH	Lipit peroksit
nLPO	Enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu
eLPO	Enzimatik lipid peroksidasyonu
HO ₂ •	Hidroperoksil
L•	Lipit radikali
LOO•	Lipit peroksil radikali
LC/MS/MS	Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi
LOX	Lipoksijenaz
OPDA	12-okso-fitodienoik asit
HHE	4-hidroksi-(E)-2-hekzenal
OHE	4-oxo-(E)-2-hekzenal
HPOTE	Hidroperoksooktadekatrienoik asit
HPL	Hidroperoksit liyaz
LHCII	Işık toplayıcı kompleks II
AGE	İleri glikasyon son ürünleri

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

ALE	İleri lipoksidasyon son ürünleri
NO	Nitrik oksit
NO ₃ ⁻	Nitrat
HNO ₂	Nitröz asit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
NO ⁻	Nitroksil anyonu
NO ⁺	Nitrozonyum katyonu
NOS	Nitrik oksit sentaz
GSNO	S-nitrosoglutatyon
PTM	Translasyon sonrası modifikasyon
HS•	Til radikali
H ₂ S	Hidrojen sülfid
CLSM	Eş odaklı lazer tarama mikroskobu
Asc	Askorbik asit
POD	Peroksidaz
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
PSI	fotosistem I
DHA	Dehidroaskorbat
MDA•	Monodehidroaskorbat
AER	Alkenal redüktaz
CAR	karnozin (β-alanil-L-histidin, L-CAR)
HCAR	Homokarnosin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

GGT	γ -Glutamil transpeptidaz
AOR	Alkenal oksidoredüktaz
AKR	Aldo-keto redüktaz
GAPN	Fosforile olmayan liseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz
FAD	flavin adenin dinükleotit
SA	Salisilik asit
JA	Jasmonik asit
NO ₂ -FA	Nitro-yağ asitleri
GSNOR	GSNO redüktaz
AOX	Alternatif oksidaz
SOX	Sülfid oksidaz
OASTL	Oasetilserin(tiyol)liyaz
STR	Kükürt transferazlar
SiR	Sülfid redüktaz
SOT	Sülfotransferazlar
HSP	Isı şok proteini
GAPDH	Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz
DTT	Ditiyotritol
Tm	Tunikamisin
BiP	Bağlanma proteini
PDI	Disülfür izomeraz
UGGT	UDP-glikoz:glikoprotein glukoziltransferaz

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

CNX	Kalneksin
CRT	Kalretikülin
IRE1	Inositol gerektiren enzim 1
bZIP60U	uç uca eklenmemiş (unspliced) temel lösin fermuar 60 transkripsiyon faktörü
bZIP60S	uç uca eklenmiş (spliced) temel lösin fermuar 60 transkripsiyon faktörü
UBC32	Ubikuitin konjuge edici enzim 32
ATG	Otofaji İle İlgili
TOR	rapamisin kompleksi (Target of Rapamycin)
RIDD	IRE1'e Bağımlı Bozunma
Col-0	Columbia
MS	Murashige & Skoog
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SEM	Standart hata ortalaması

1. GİRİŞ

Dünyanın hızla artan nüfusunun besin ihtiyacının karşılanması konusunda bitkisel verimin artırılması ile ilgili çalışmalar bu soruna bir çözüm olarak ortaya konmaktadır. Bitki verimliliğini sınırlayan en önemli etmenlerin özellikle gelecek 20 yıl içinde hızlı bir ivme ile artacağı öngörülen iklim değişikliği ve buna bağlı küresel ısınma ile etkisini arttıracığı tahmin edilen abiyotik stresler olduğu görülmektedir. Bitkiler sesil organizmalar olduklarından birçok çevresel değişiklikle karşı karşıya kaldığı bilinmektedir (Haskirli et al.,2021).

Bitkiler sürekli olarak çevresel faktörleri taramak ve değişen koşullarda performanslarını optimize etmek için düzenlenmiş bir biyofiziksel, biyokimyasal ve moleküler olaylar dizisine dönüştürüldüğü sinyal kaskadının başlatılmasına ihtiyaç duyarlar (Shabala et al., 2015). Bu sinyal kaskadının başlaması ile bitkiler biyotik veya abiyotik stresler gibi iç veya dış hücrel koşulların değişikliklerine hızla uyum sağlamayı başarırlar (Brandizzi, 2021). Bu noktada özellikle protein biyosentezindeki rolü ve sentezlenen proteinlerin kalite kontrolündeki rolü nedeniyle ER, bu uyumun sağlanmasında önemli bir rol üstlenmektedir (Brandizzi, 2021). ER, bir hücrenin salgı protein fabrikası olarak görev yapar ve bu proteinleri olgunlaştırmak ve hücre içi veya hücre dışı etki bölgesine taşımak için uygun şekilde katlanmak üzere bu proteinleri üretir, katlar ve değiştirir (Ozgur et al., 2014, 2015).

Tüm bunların yanı sıra ER, zararlı olgunlaşmamış proteinlerin ortadan kaldırılmasını da içeren, üretilen proteinlerin kalite kontrolünden de sorumludur (Iwata and Koizumi, 2005). Sentezlenen proteinlerin katlanması, ER kalite kontrol (ERQC) yolları tarafından kontrol edilir ve yanlış katlanmış veya olgunlaşmamış proteinler, sağlıklı hücrel ortamın korunması için ER ilişkili bozunma (ERAD) sistemi tarafından ortadan kaldırılır (Howell, 2013; Wan and Jiang, 2016). Protein biyosentezi ve sentezlenen proteinlerin kalite kontrolündeki rolü nedeniyle ER, hücrenin fizyolojisini doğrudan etkileyen biyotik veya abiyotik stresler gibi iç veya dış varyasyonlara hızlı bir şekilde uyum sağlamalıdır (Brandizzi, 2021). Salgı proteinlerinin redoks durumu veya kalsiyum seviyelerinde değişiklikler veya translasyon sonrası modifikasyon (PTM) mekanizması hataları ile sonuçlanan

ortamdaki değişiklikler, ER stresi olarak adlandırılan katlama kapasitesinin aşılması nedeniyle ER'de yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine dayalı ölümcül bir duruma neden olur (Lai et al., 2007; Howell, 2013; Ozgur et al., 2014; Brandizzi, 2021).

ER stresi, ilgili gen ekspresyonu düzenlemesi yoluyla ER homeostazisini koruyan ve ER üzerindeki yanlış katlanmış protein yükünü azaltmak için ERAD sistemini güçlendiren ve UPR adı verilen koruyucu bir yolak tarafından takip edilmektedir (Czékus et al., 2020). UPR, ER membranıyla ilişkili moleküler sensörlerin yardımıyla ER stresinin tespit edilmesiyle etkinleştirilir (Pastor-Cantizano et al., 2020). UPR'nin ER stresine verdiği birincil yanıtlar arasında protein katlanmasını desteklemek için şaperon üretimindeki artış, ER kapasitesinin arttırılması için lipid sentezindeki artış ve ER protein yüklemesini yavaşlatmak için translasyonun azaltılması yer alır (Angelos et al., 2017; Hetz et al., 2020). Bu birincil tepkiler ER stresini çözmek için yeterli olmasa bile, PCD yolağının UPR sensörleri aracılığıyla geri döndürülemez şekilde aktivasyonu bir sonraki seçenektir (Schwarz and Blower, 2016).

Oksidatif stres, ER'nin normal koşullarda proteinlerin uygun şekilde katlanması ve disülfid bağlarının oluşumuna yönelik redoks reaksiyonları için sağladığı özel ortamı doğrudan bozduğu için ER stresine neden olmaktadır (Afrin et al., 2020). Ayrıca oksidatif stresin sadece redoks metabolizmasının bozulmasıyla değil aynı zamanda bitki stres tepki mekanizmasının önemli elemanları olan ROS moleküllerinin üretimiyle de ilişkili olduğu bilinmektedir (Schröder and Kaufman, 2005; Ozgur et al., 2018; Depaepe et al., 2021). Canlılarda üretilen ROS'nin, yüksek konsantrasyonlarda DNA'ya zarar vererek, lipidlerin peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu sağlayarak hücrelere zarar veren elementler olmasına rağmen (Mittler et al., 2012), düşük konsantrasyonlarda ikincil haberci gibi sinyal molekülü olarak da görev yaptığı gösterilmiştir (Cuypers et al., 2016; Mittler, 2017). Ayrıca ROS, ROS gibi ikili bir karaktere sahip olan ve PCD, gen regülasyonu ve hormonal tepkiler gibi birçok farklı yolda sinyal molekülleri olarak görev yapan lipid peroksit bozunma ürünleri olarak tanımlanan RCS yardımıyla aşağı akış sinyal yollarını aktive eder.

Hücrede üretilen ROS, glutatyonun indirgenmiş formu (GSH) gibi antioksidanlar veya süperoksit dismutaz (SOD) ve askorbat peroksidaz (APX) gibi temizleyici enzimler tarafından temizlenir (Mittler et al., 2004; Asada, 2006). Ancak az miktarda ROS, bu süpürme mekanizmalarından kaçabilmekte ve membranlarda bol miktarda bulunan membran lipidleri gibi çevredeki molekülleri oksitleyebilmektedir (Mano, 2012). RCS üretiminin doğası göz önüne alındığında, RCS'nin lipid membranların yakınında ve ROS üretiminin yüksek olduğu organellerde, daha yüksek üretime sahip olacağı görülmektedir (Mano et al., 2019). RCS de ROS gibi ikili bir karaktere sahiptir ve büyüme, gen regülasyonu ve stoma kapanması gibi birçok farklı yolda sinyal molekülü olarak görev yapar.

RCS'ler, α,β -doymamış bağa sahip aldehitler ve ketonlar olarak tanımlanmakta ve bu durum, karbonil çift bağına konjuge bir C-C çift bağına sahip oldukları anlamına gelmektedir (Sonmez et al., 2024). RCS, reaktif elektrofil türleri olarak adlandırılan daha büyük bir molekül grubunun parçasıdır ve RCS, RES oksilipinleri olarak da tanımlanmaktadır (Mano et al., 2019). Öte yandan, RCS ROS sinyalleme sinin aşağısında hareket eder, stres sinyalleme sinde yer alır ve PCD ile patogenezin bir parçasıdır (Farmer and Mueller, 2013; Yalcinkaya et al., 2019a; Biswas and Mano, 2021). ROS gibi RCS de normal koşullar altında bile üretilir ve stres altında üretimleri artar (Alché, 2019). Akrolein (ACR) ve 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE), ROS'a tepki olarak erken dönemde arttığı tespit edilen en toksik RCS'lerdir. Ancak malondialdehit (MDA), oksidatif stresin daha sonraki aşamalarında ortaya çıkan, yaygın olarak bulunan başka bir RCS'dir ve daha düşük reaktiviteye sahiptir (Mano et al., 2019).

ROS'ta olduğu gibi lipid peroksidasyonu ile üretilen; reaktif ve yüksek elektrofilik yapıları nedeniyle, protein yapısının bozulması ve modifikasyonu yoluyla proteinlerde fonksiyon kaybına neden olan RCS, RCS detoksifikasyonu adı verilen özel kontrol mekanizmaları gerektirir (Mano et al. 2014a, b). RCS detoksifikasyon mekanizmasının ana aktörleri, aldo/keto redüktaz (AKR), aldehit dehidrojenaz (ALDH) gibi enzimler veya GSH gibi spesifik antioksidan moleküllerdir (Mano, 2012; Yalcinkaya et al., 2019b).

Bu tez çalışması model bitki *Arabidopsis thaliana*' da reaktif karbonil türlerinin (RCS) endoplazmik retikulum (ER) stresi ile ilişkisinin incelenmesini hedeflemiştir. Bu amaçla, RCS sinyallemesinin UPR yolağındaki rolünün incelenmesi adına ER stresinin RCS akümüasyonu ve RCS süpürücü enzimlerin ifadelerine etkileri, ekzojen RCS uygulanması sonucunda fizyolojik değişimler ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin değişimi, RCS süpürücü uygulaması sonucunda ER stres yanıtlarının fizyolojik etkileri ve bu uygulamanın zamana bağlı olarak UPR'yi nasıl tetikleyeceği incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Model Organizma Olarak *Arabidopsis thaliana*

Arabidopsis thaliana fare kulağı teresi olarak da bilinen, angiosperm vasküler bitkilerin çift çenekliler (ödikot) grubundaki lahana, hardal ve turp dahil olmak üzere ekonomik ve tarımsal açıdan önemli türlerle bilinen bir grup olan *Brassicaceae* familyasına ait, küçük, tek yıllık, otsu bir rozet bitkisidir (Kiefer et al., 2014). Farklı (in vitro steril kültürler, hidrofonik besi ortamları, sera vb.) ortamlarda kolaylıkla yetişebilmesi, kendi kendine tozlaşabilmesi, kısa yaşam döngüsü, minimal ve sekanslanmış genoma sahip olması, doku kültürü uygulamalarında kolayca kullanılabilmesi, geniş ekotip ve mutant (hem doğal hem de özel olarak üretilmiş) soy seçeneklerinin bulunması, genetik manipülasyonlara ve genom düzenleme yöntemleri için kullanımı kolay olması bilim insanlarının *A. thaliana* 'yı bitki çalışmalarında model bitki olarak tercih etmesinin nedenleri olarak bildirilmiştir (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000; Pyott et al., 2016; Zhao et al., 2016; Borelli et al., 2018; Krukowski et al., 2020; Fridman et al., 2023).

Arabidopsis'in, on altıncı yüzyılda Harz Dağları'nda ona *Pilosella siliquos* adını veren Johannes Thal tarafından keşfedildiği ve mevcut *Arabidopsis* adının de Candolle tarafından önerildiği bilinmektedir (Passardi et al., 2007). Keşfinden sonra 1753 yılında Linnaeus tarafından yayınlanan Species Plantarum II'de yer aldığı ve 1842'de Gustav Heynhold tarafından taksonomik sınıflandırmaya dahil edildiği ifade edilmektedir (Kramer, 2015). Bu süreçlerde bitki yapısı ve işlevi üzerine yapılan geleneksel araştırmalar, özellikle tarımsal öneme sahip mısır, domates, bezelye, pirinç, arpa bitkilerine ek olarak petunya ve aslanağzı gibi bitkilere dayanmakta ve her ne kadar bu bitkiler özelinde derin bilgiler sağlasa da ortak bitki süreçlerini anlamak için sınırlı kalmıştır (Meinke et al., 1998). Buna ek olarak bu bitkilerin çoğunun uzun nesil süreleri ve karmaşık genomlara sahip olması bitki biyolojisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, bu türlerin moleküler genetik çalışmaları için ideal model sistemler haline getirilememesine sebep olmuştur (Sivasubramanian et al., 2015). Bu durum Friedrich Laibach'ın, sitogenetik analize uygun daha az sayıda büyük kromozoma sahip bir bitkiyi tanımlama arayışına *A. thaliana* ile çözüm bulmasına kadar devam etmiştir

(Sivasubramanian et al., 2015). Friedrich Laibach, 1907'de *A. thaliana* üzerinde etkili bir sitogenetik çalışma yayınlamış, 1940'larda genetiği teşvik etmiş ve 1950'lerde *A. thaliana*'daki tür içi fenotipik varyasyonun boyutunu vurguladıktan sonra vahşi doğada sistematik olarak örnekler toplamış ilk araştırmacıdır (Sommerville and Koorneef, 2002; Koorneef and Meinke, 2010). Bunu takiben 1980'lerde *A. thaliana* model organizma olarak popülerleşmeye başlamış ve dünya genelindeki araştırmacıların genetiği güçlü moleküler biyoloji yöntemleriyle başarılı bir şekilde birleştirmesiyle hızla ivme kazanmıştır (Kramer, 2015). 2000 yılında çiçekli bir bitkinin ilk nükleer genomu olarak *Arabidopsis* referans genom dizisi yayınlanmıştır (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000; Somerville and Koorneef, 2002; Koorneef and Meinke, 2010).

Yapılan evrimsel araştırmalar *A. thaliana*'nın en yakın akrabalarından yaklaşık 5 milyon yıl, *Brassica*'dan ise yaklaşık 24 milyon yıl önce ayrıldığını göstermektedir (Koch et al., 2000). Her ne kadar bu süreç doğal mekanizmalar yoluyla ekotiplerin oluşması için yeterli zamanı kapsamakta olsa da doğal ekotiplerde doğal fenotipik varyasyonların var olduğunu ve ortaya çıktığını, birçok özellik açısından büyük farklılıklar gösterdiğini dikkate almak önemlidir (Passardi et al., 2007). Bu nedenle dünyanın dört bir yanından toplanan 750'den fazla doğal *A. thaliana* ekotipi iki ana tohum stok merkezi olan Arabidopsis Biyolojik Kaynak Merkezi (Arabidopsis Biological Resource Center- ABRC) ve Nottingham Arabidopsis Stok Merkezi (Nottingham Arabidopsis Stock Centre NASC)'nde araştırmacıların kullanımına sunulmuştur (Passardi et al., 2007). Bilim insanları bitkilerin çevreye verdiği tepkiler ve morfolojik özelliklerin evrimi gibi karmaşık genetik etkileşimleri ortaya çıkarmak için morfoloji ve gelişim (örneğin yaprak şekli, trikoblast oluşumu) ve fizyoloji (örneğin çiçeklenme zamanı, hastalık direnci) açısından oldukça değişken olan bu farklı ekotipleri kullanmaktadırlar (Passardi et al., 2007; Krukowski et al., 2020). Doğal popülasyonlardan birçok farklı ekotip toplanmış ve deneysel olarak kullanıma açık olmasına karşın, günümüzde Columbia ve Landsberg ekotipleri genetik ve moleküler araştırmalar için kabul edilen standartlar olarak karşımıza çıkmaktadır (Meinke et al., 1998). Tüm bu bilgiler ışığında, *A. thaliana* üzerinde deneylerin yürütülebilmesindeki kolaylık ve hız; bitki gelişiminin moleküler prensipleri, hücre biyolojisi, metabolizma,

fizyoloji, genetik ve epigenetiğe ilişkin bilginizde çok büyük temel ilerlemelere olanak sağlamıştır.

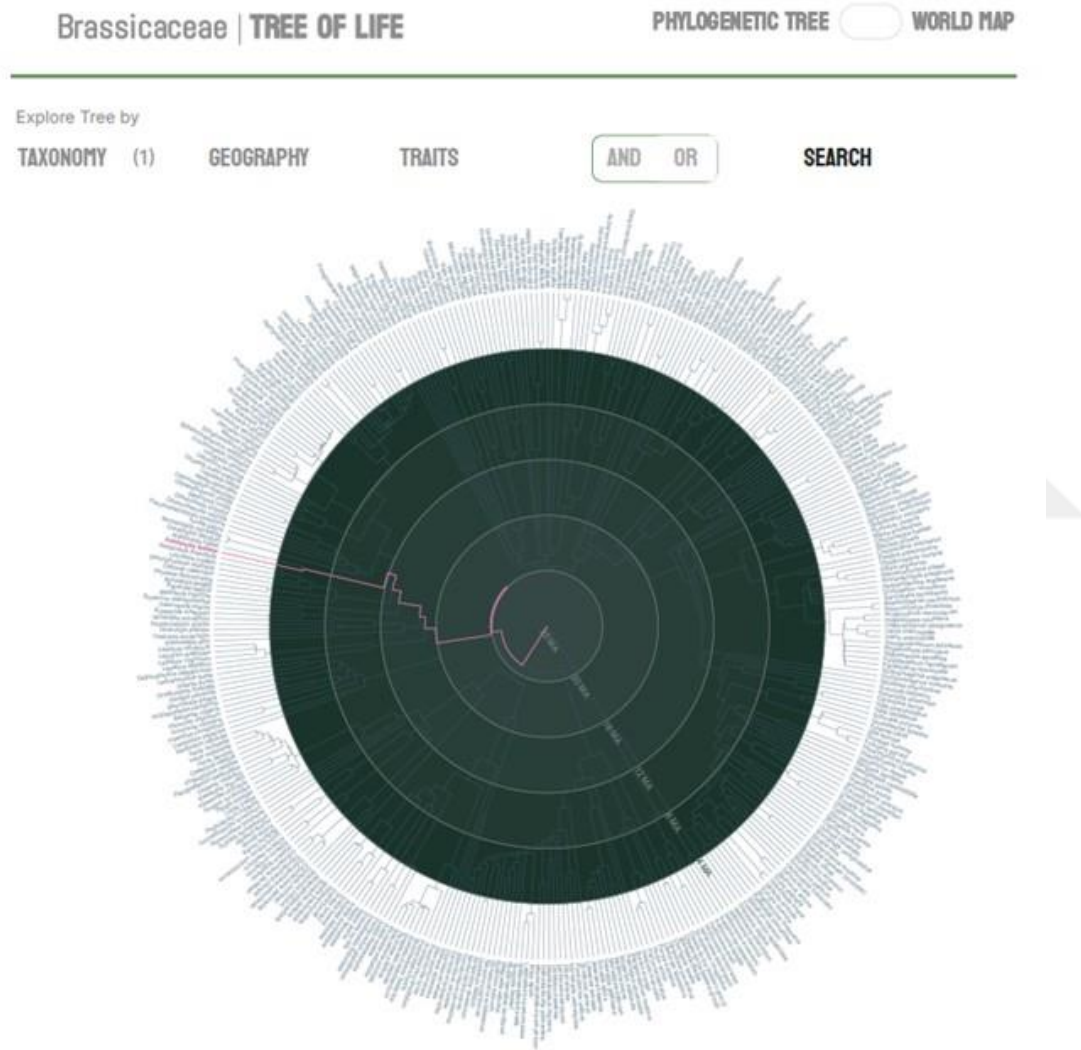
2.1.1 *Arabidopsis thaliana*'nın morfolojik özellikleri ve taksonomisi

Arabidopsis thaliana;

- yaklaşık 20-25 cm boyunda genellikle tabandan itibaren sıklıkla alt kısmı tüylü ve üst kısmı tüysüz bir veya birkaç gövdeye sahip;
- bazal yaprakları rozet yapısı gösteren ve kısa saplı;
- rozet yaprak ayası ters yumurtamsı, spatulat, yumurtamsı veya eliptik, eksen üzerinde çoğunlukla basit ve üzerinde trikomlar bulunan, kısa, dikdörtgen veya doğrusal, altta kama şeklinde, kenarları düz veya belli belirsiz dişli;
- gövdede genelde az sayıda yaprakları olan;
- gövde yaprak ayası mızrak şeklinde, doğrusal, dikdörtgensel veya eliptik olan ve tam veya nadiren az dişli kenarlara sahip;
- çiçekleri genelde 3 mm çapında, çanak yaprakları yan çift tabanda keselenmeyen, taç yaprakları beyaz, spatula şeklinde ve korimb düzenlenişinde, dört yeşil sepalden oluşan bir dış sarmal ve dört beyaz yaprak içeren iç sarmallardan, polen taşıyan altı organdan ve silikatı oluşturan merkezi bir ginekyumdan oluşan;
- ikili meyve sapına sahip; silindirik veya şeritsi, pürüzsüz, dikdörtgen şeklinde, 5-20 mm uzunluğunda silikat adı verilen meyveleri olan;
- tohumları yaklaşık 0.5 mm uzunluğunda, elipsoid, dolgun, açık kahverengi yapıya sahip;
- tek bir birincil kökün dikey olarak aşağıya doğru büyüdüğü ve daha sonra daha küçük yan kökler oluşturduğu basit yapılı köklere sahip genellikle tek yıllık otsu bir bitkidir (Meinke et al., 1998; The World Flora Online , 2024).

A. thaliana'ya taksonomik olarak baktığımızda ökaryot (Eukaryota) üst alemi; bitkiler (Plantae) alemi; yeşil bitkiler (Viridiplantae) alt alemi; Streptophyta infraalemi; kara bitkileri (Embryophyta) üst şubesi; damarlı bitkiler (Tracheophyta)

şubesi; tohumlu bitkiler (Spermatophytina) alt şubesi; çiçekli bitkiler/kapalı tohumlular (Angiospermae/Magnoliopsida) üst sınıfı; çift çenekliler (Eudicots) sınıfı; Rosanae üst takımı; hardal (Brassicales) takımı; Turpgiller (Brassicaceae) familyası; *Arabidopsis* cinsine ait *Arabidopsis thaliana* (Fare kulağı teresi) türü olarak karşımıza çıkmaktadır (Shi et al., 2013; Ruggiero et al., 2015; Schoch et al., 2020; Govaerts et al., 2021; Hendriks et al., 2023, Integrated Taxonomic Information System, 2024) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 *Arabidopsis thaliana*'nın filogenetik ağaç ile gösterimi (Brassicaceae Tree of Life çevrimiçi kaynağından oluşturulmuştur.)

2.1.2 *Arabidopsis thaliana*'nın dağılımı ve habitatu

A. thaliana'nın ana vatanının Avrupa, Orta Asya ve Afrika olduğu; antropojenik hareketlerle Amerika ve Avustralya'ya kadar yayıldığı bilinmektedir (Yim et al., 2024) (Şekil 2.2). Hoffmann (2002) türün biyocoğrafyasını ayrıntılı olarak tanımlamış ve ilkbahar ve sonbaharda çok düşük sıcaklıkların, yaz aylarında ise düşük yağışlı yüksek sıcaklıkların (ortalama ay sıcaklığı $>22^{\circ}\text{C}$) yayılış alanını sınırladığını göstermiştir (Hoffmann, 2002). Buna ek olarak, *A. thaliana*'nın genellikle tarım alanlarında, yol kenarlarında, demiryolu hatlarında, atık alanlarda ve diğer bozulmuş habitatlarda yaygın dağılım gösterdiği ve hatta deniz seviyesinden 4250 m yukarıda yaşayabildiği bilinmektedir (Al-Shehbaz and O'Kane Jr, 2002; Global Biodiversity Information Facility, 2023). *A. thaliana*'nın yaşam öyküsü özellikleri ve bozulmuş habitatlardaki varlığı, türün hızlı kolonizasyon ve yok olma döngülerine karşı savunmasız olduğunu ve yoğun bitki örtüsünde zayıf bir rakip olduğunu göstermektedir (Koornneef et al., 2004). Hoffman'ın (2002; 2005) çalışmaları, *A. thaliana* 'nın, *Brassicaceae*'nin diğer iyi araştırılmış türlerinden daha geniş bir iklim genliğine ve 68°K (Kuzey İskandinavya) ila 0° (Tanzanya ve Kenya dağları) arasında etkileyici bir enlem aralığına sahip olduğunu ve *Arabidopsis* cinsindeki diğer türlerin daha çok serin ılıman iklimlerle sınırlı olduğunu göstermiştir (Hoffmann, 2002, 2005).



Şekil 2.2 *Arabidopsis thaliana*'nın dünya genelinde yayılışı (Brassicaceae Tree of Life çevrimiçi kaynağından oluşturulmuştur.)

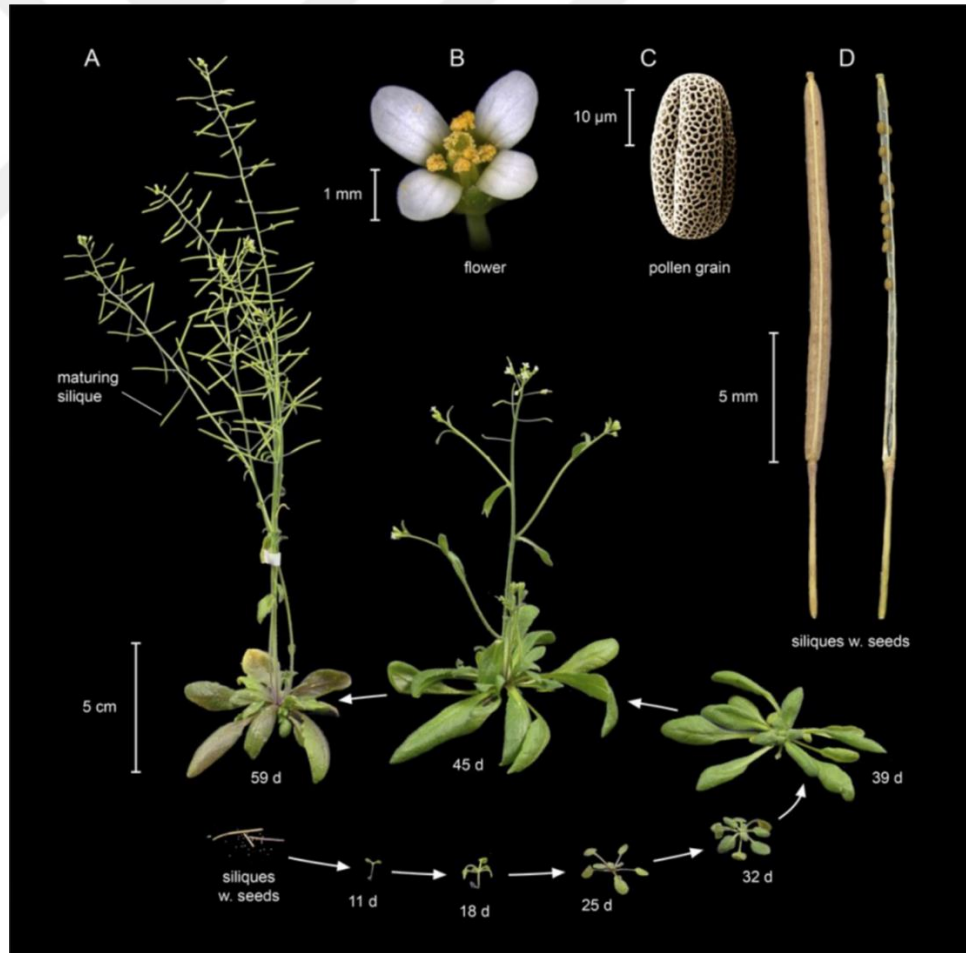
Moleküler belirteçlerle ilgili önceki çalışmalar, genetik polimorfizmler ile coğrafi konum arasında hiçbir ilişki tanımlamamıştır (Todokoro et al., 1995; Miyashita et al., 1999). Bu durum, *A. thaliana*'daki orijinal biyocoğrafik desenlerin antropojenik aktivitelerden etkilendiğini göstermektedir (Sharbel et al., 2000). Ancak yapılan yeni çalışmalar Avrasya'daki orijinal tür aralığı içerisinde filocoğrafik yapının tespit edilebilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir. *A. thaliana*'nın doğal aralığından örneklenen 142 örnekteki moleküler belirteçler üzerinde yapılan bir araştırma, muhtemelen Avrupa ve Asya'daki Pleistosen göçlerini yansıtan ve mesafeye göre istatistiksel olarak anlamlı bir izolasyon olduğunu göstermiştir (Sharbel et al., 2000). Ayrıca, insan kaynaklı aktiviteler her ne kadar *A. thaliana* 'nın biyocoğrafyasını açıkça etkilese de Akdeniz ve Asya yakınındaki buzul sığınaklarından elde edilen bilgiler *A. thaliana* 'nın Avrupa'da Pleistosen sonrası dönemde de görüldüğünü kanıtlamaktadır (Mitchell-Olds, 2001). Bu bilgiler *A. thaliana* 'nın muhtemelen buzul ve buzullararası dönemlerde Avrupa'ya geldiğini ve dolayısıyla mevcut dağılımı buzulların tekrarlanan ilerleme ve geri çekilme dönemlerinden etkilenmiş olabileceğini işaret etmektedir (Sharbel et al., 2000).

Her ne kadar küresel ölçekte iklim koşulları dağılım sınırlarını açıklamak için yeterli olduğu görüşü literatürde mevcut olsa da biyotik, iklimsel ve diğer fiziksel koşullardaki farklılıklardan kaynaklanan ıraksak seçilimin, doğal popülasyonlar arasındaki adaptif genetik çeşitliliğin korunmasına ve yerel adaptasyonun evrimine katkıda bulunduğu da bilinmektedir (Koornneef et al., 2004; Ellis and Ågren, 2024). Yapılan çalışmalar, doğal yayılış alanı boyunca mesafeye göre önemli düzeyde izolasyonun, Avrupa ve Asya'daki *A. thaliana* popülasyonlarının insanların tarımsal müdahalelerinden önce yaşadıklarını, dolayısıyla böcekler, patojenler, rakipler ve abiyotik çevresel faktörlerle ilişkili uzun bir ekolojik ve evrimsel geçmişe sahip olduklarını göstermektedir (Sharbel et al., 2000; Mitchell-Olds, 2001). Ayrıca çalışmalar Orta Asya'da *A. thaliana*'nın birkaç ekotipinin mevcut olduğunu; bunların moleküler ve fenotipik özellikler açısından heyecan verici genetik çeşitlilik kalıpları gösterdiğini ve incelenen *Arabidopsis* ekotipleri arasında farklı alt türlere ilişkin bir bulguya rastlanmadığını ifade etmektedir (Miyashita et al., 1999; Sharbel et al., 2000). Ek olarak, güçlendirilmiş parça uzunluğu polimorfizmleri (AFLP'ler) ve nükleotid varyasyonu çalışmaları, genler içinde ve

arasında mütevazı ancak önemli tarihsel rekombinasyona dair kanıtlar sunmakta, bireyler arasında ayrılan nükleotid polimorfizmlerinde tarihsel çaprazlama ve rekombinasyona ilişkin kanıtlar açıkça görülmektedir (Mitchell-Olds, 2001).

2.1.3 *Arabidopsis thaliana*'nın yaşam döngüsü

Yaygın olarak kullanılan bir model bitki olan *A. thaliana*, her canlı gibi yaşam döngüsü boyunca farklı büyüme aşamalarından geçer. Bitkinin gelişimi tohumun çimlenmesiyle başlar ve fide büyümesi, vejetatif büyüme, çiçeklenme ve tohum üretimi sırasıyla ilerler (Boyes et al., 2001; Link et al., 2003). Bu fazlar arasındaki geçiş, proliferasyon ve büyüme inhibisyonu ile ilişkili farklı gen kümeleriyle birlikte gen ekspresyon modellerindeki değişikliklerle kolaylıkla izlenebilir (Beemster et al., 2005) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 *Arabidopsis thaliana* 'nın yaşam döngüsü (a) *Arabidopsis thaliana*. Columbia (Col) ekotipinin (a) tohumdan (sol altta) fideye (11 gün), bitkisel büyüme (39 gün) ve üreme büyümesine (45 gün) kadar yaşam döngüsünün farklı aşamalarındaki görüntüleri (b)

çiçek yapısı; (c) polen tanesi (taramalı elektron mikrofrafı) ve (d) olgun silikatları (tohum kabukları; sol: kapalı; sağ: kalan birkaç parçalanmamış tohumla açık) (Krämer, 2015'ten alınmıştır.)

A. thaliana'nın yaşam döngüsü boyunca genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık etkileşimini anlamak, bitki büyüme ve gelişme süreçlerine dair değerli bilgiler sağlar (Boyes et al., 2001; Zardilis et al., 2019). Ayrıca, çevresel faktörlerin *A. thaliana*'nın büyüme ve gelişimini önemli ölçüde etkileyerek yaşam döngüsü stratejilerini ve üreme başarısını etkilediği bilinmektedir (Zardilis et al., 2019). Örneğin, *A. thaliana*'nın tüm yaşam döngüsünü mikro yerçekimi koşullarında tamamlayabilmesi dikkat çekicidir ve ekstrem ortamlara uyum sağlama yeteneğini göstermektedir (Link et al., 2003).

A. thaliana 'nın yaşam döngüsü, ışık, sıcaklık ve su mevcudiyeti gibi çevresel ipuçları ile çimlenmeyi teşvik eden giberellin (GA) benzeri hormonların dormansiye ortaya koyan absisik asit (ABA) gibi hormonları baskılamasında olduğu gibi biyokimyasal ve Çimlenme Gecikmesi 1 (Delay of germination 1- DOG1) geni gibi genetik bileşenler arasındaki karmaşık etkileşimlere yanıt olarak ortaya çıkan tohum çimlenmesiyle başlar (Kucera et al., 2005; Dekkers and Bentsink, 2015; Krämer, 2015). Bu moleküler süreçleri anlamak, bitki gelişiminin bu kritik aşamasına dair içgörüler sağlayarak genomik, fizyoloji ve moleküler genetik yaklaşımlarını entegre etmeyi içerir (Holdsworth et al., 2008).

Çimlenmenin ardından bitki, ilk gerçek yaprak setini ve kök sistemini geliştirdiği fide aşamasına girer. Bu erken büyüme sırasında bitkiler hızlı hücre çoğalması, ardından hücre genişlemesi ve olgunlaşma sergiler (De Veylder et al., 2007). Bitki olgunlaştıkça, yaprak rozetinin oluşmasıyla karakterize edilen ve değişen zamansal etkilere sahip çoklu niceliksel özellik lokuslarından (QTL'ler) etkilenen vejetatif büyüme aşamasına geçer (Meyer et al., 2021). Bu aşamada bitkinin biyokütle biriktirmeye ve enerji rezervlerini depolamaya odaklandığı bilinmektedir. Bitkisel faz değişimi olarak bilinen gençlikten yetişkin bitkisel fazlara geçiş, üreme fazı değişiminden ayrı mekanizmalar tarafından düzenlenir ve en az sekiz QTL içerdiği rapor edilmiştir (Doody et al., 2021). Bu faz değişimi, yaprak morfolojisi ve trikom üretimindeki değişikliklerle karakterizedir ve yetişkin vejetatif fazın kompakt çiçeklenme genlerinden etkilenen, rozet yaprağı uzaması ve

genişlemesi dahil olmak üzere spesifik büyüme modelleri sergilediği ifade edilmektedir (Goosey and Sharrock, 2001).

A. thaliana'da vejetatif fazdan üreme fazına geçiş, hormonların ve genetik faktörlerin karmaşık etkileşimlerini içerir. Fitohormonlar, hem olumlu hem de baskılayıcı unsurlar olarak hareket ederek bu geçişin düzenlenmesinde önemli roller oynarlar (Davis, 2009). Florigen, özellikle *Arabidopsis*'teki çiçeklenme lokusu T (FT) proteini, yapraklarda sentezlenir ve sürgün apikal meristemine (SAM) taşınır, burada gelişimsel değişiklikleri tetiklemek için diğer sinyallerle bütünleşir (Tsuji and Sato, 2024). Bu geçiş sırasında SAM, merkezi bölgedeki artan mitotik aktivite de dahil olmak üzere büyüme dinamiklerinde önemli değişikliklere uğrar (Kwiatkowska, 2008). Etilenin bitkisel büyümeden üreme büyümesine geçişi ilerlettiği, etilene duyarsız mutantların geç döllenme ve artan yaprak sayısı sergilediği de gösterilmiştir (Ogawara et al., 2003). Hormon sinyalleme ve meristem dinamikleri de dahil olmak üzere bu faz geçişinin altında yatan moleküler mekanizmaları anlamak, bitki gelişimini anlamak için çok önemlidir.

Bir sonraki aşama olan çiçeklenme, vejetatif dönemden üreme dönemine kadar gelişimsel bir dönüm noktasıdır. Bitkiler için çiçeklenmenin uyarılması, üreme stratejisi ve sınırlı kaynakların tahsisi açısından en önemli kısımdır (Komeda, 2004). Yapılan çalışmalar *A. thaliana*'da çiçeklenmenin başlamasının GA yolağı; otonom yolak, vernilizasyon yolağı ve ışığa bağımlı yolak olmak üzere dört farklı yolak tarafından kontrol edildiğini göstermektedir (Komeda, 2004). Tüm bu yolaklarda çiçeklenme süreci karmaşık genetik yolları ve çevresel etkileşimleri içerir (Blazquez et al., 1997; Su et al., 2013). Erken üreme aşamalarında, çok sayıda gen farklı şekilde eksprese edilir; G2 ve M fazı genleri özellikle zenginleşir (Hennig et al., 2004). Kuraklık gibi çevresel stres faktörleri çiçek gelişimini önemli ölçüde etkileyerek anter gelişiminde, polen canlılığında ve ovül oluşumunda kusurlara neden olabilir (Su et al., 2013).

Geleneksel olarak kendi kendine tozlaştığı düşünülen *A. thaliana*, hem kendi kendine hem de çapraz tozlaşma mekanizmaları sergiler. Çiçeklenmenin erken döneminde, çaprazlama öncelikle böcek aracılı tozlaşma yoluyla meydana gelirken, kendi kendine tozlaşma daha sonra filamentler uzadıkça mümkün hale gelir (Tan et

al., 2005). Döllenme süreci, tozlaşmadan 5-8 saat sonra meydana gelen sinerjic hücre dejenerasyonunu, yumurta polarite değişikliklerini ve karyogamiyi içerir (Faure et al., 2002). Döllenmemiş yumurtalar polen tüplerini yönlendirmek için türe özgü çekici maddeler yayar, döllenmiş yumurtalar ise kovucular salgılar (Palanivelu and Preuss, 2006).

İki kaynaşmış karpelden oluşan ginekeum, döllenmeden sonra silikatlı bir meyveye dönüşür (Ferrándiz et al., 1999). Meyve gelişiminin temel düzenleyicileri tanımlanmış olup birçoğu yaprak gelişiminde de rol oynamaktadır ve bu da karpellerin değiştirilmiş yapraklar olarak evrimsel kökenini vurgulamaktadır (Ostergaard, 2009). Bu karmaşık süreçleri anlamak, bu model bitkide meyve gelişimini ve üremeyi optimize etmek için çok önemlidir.

A. thaliana'nın tohum olgunlaşmasından sonraki kaderi karmaşık fizyolojik ve moleküler değişiklikleri içerir. Olgunlaşma sırasında tohumlar depolama rezervlerini biriktirir, kurumaya dayanıklı hale gelir ve dormansiye girer (Holdsworth et al., 2008). Embriyonik kotiledon çekirdeklerinde muhtemelen kurumaya bir adaptasyon olarak nükleer boyutta azalma ve kromatin yoğunlaşmasında artış meydana gelir (van Zanten et al., 2011). Olgunlaşmanın başlangıcı, endosperm hücreleşmesinden bağımsız olarak embriyonun gelişim aşaması tarafından belirlenir (O'Neill et al., 2019). Olgunlaşmanın ardından tohumlar, çimlenme potansiyelini etkileyen ve kuru tohumlarda bile transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası süreçleri içeren bir olgunlaşma sonrası süreçten geçer (Holdsworth et al., 2008). Bununla birlikte, uzun süreli tohum olgunlaşması ve hasat sonrası olgunlaşma, somatik embriyogenez kapasitesini olumsuz yönde etkiler; bu, embriyojenik yeterliliğin azaldığı geç tohum olgunlaşması sırasında dar bir pencere olduğunu düşündürmektedir (Wu et al., 2019). Uygun koşullar sağlandığında, dormansi serbest bırakılır ve çimlenme sırasında çekirdeklerin boyutlarını ve kromatin yoğunlaşma seviyesini yeniden kazanmasıyla büyüme yeniden başlar ve yaşam döngüsü tamamlanmış olur (van Zanten et al., 2011).

2.1.4 Model olarak *Arabidopsis thaliana*'nın tarihçesi

On altıncı yüzyılda Johannes Thal tarafından keşfedilmesine karşın, Friedrich Laibach deneysel *Arabidopsis* araştırmalarının kurucusu kabul edilmektedir (Koornneef and Meinke, 2010). Laibach yaptığı çalışma ile *A. thaliana*'nın kolay ekimi, kısa nesil süresi, kendi kendine üreme sistemi ve ilgili germplazm malzemesine kolay erişime sahip geniş bir coğrafi dağılım gibi karakterlerinin yanı sıra genetik araştırmalar için uygunluğunu ortaya koymuştur (Laibach, 1943). Bu çalışmadan sonra Klaus Napp-Zinn, Gerhard Röbbelen, Peter Langridge, George Rédei, Michel Jacobs ve Wil Feenstra gibi birçok bilim insanı *A. thaliana*'yı çalışmalarında kullanmaya başlamıştır (Somerville and Koornneef, 2002). Bu çalışmaların yapıldığı süreçte geleneksel bitki bilimi anatomi, morfoloji, fizyoloji ve biyokimyayı içeren ayrı, klasik disiplinlere bölünmüş olduğundan, moleküler biyoloji 1970'lerde büyük bir güç olarak ortaya çıktığında, *A. thaliana* ile yapılan çalışmalar bitkilerin deneyler için tercih edilen organizma olmamasına karşı güçlü bir yanıt olmuştur (Koornneef and Meinke, 2010). Fakat zaman içinde genetiğin moleküler biyoloji araçlarının gelişmesi ile tüm bu disiplinlerle geliştirdiği birliktelik, bitki biyologlarının ayrıntılı analize en uygun tek bir organizmaya dikkatlerini odaklamaları gerektiğinin kademeli olarak fark etmesini sağlamıştır (Pruitt et al., 2003). Böylece 1965 yılında Röbbelen tarafından düzenlenen çoğunluğunu Avrupalı araştırmacıların oluşturduğu 25 katılımcının katıldığı ilk Uluslararası *Arabidopsis* Sempozyumunu'ndan bu yana *Arabidopsis* araştırmacılarının sayısı 62443'e ulaşmış; 2024 yılında 34. Uluslararası *Arabidopsis* Araştırma Konferansı (ICAR 2024) düzenlenmiştir (Somerville and Koornneef, 2002; ICAR, 2024; TAIR, 2024).

Arabidopsis'in model organizma olma sürecinin, genetik bilimindeki gelişmelere paralel olarak dünya üzerindeki farklı bilim insanlarının bitkiye özgü süreçleri karakterize etmek için *Arabidopsis*'in genetik potansiyelinden yararlanmaya başladığında ivme kazandığı görülmektedir (Koornneef and Meinke, 2010). Hızlı büyümesi, küçük boyu, yüksek tohum verimi, diploid genetiği ve yüksek kendi kendine döllenme sıklığının yanı sıra Leutwiler, Meyerowitz ve Pruitt gibi bilim insanlarınca yapılan genomik çalışmalarla *Arabidopsis* genomunun küçük boyutunun moleküler genetik çağında belirgin bir avantaj olduğunun farkına

varılması bu aşamada önemli bir dönüm noktası olarak görülmektedir (Leutwiler et al., 1984; Meyerowitz and Pruitt, 1985). Chang ve Meyerowitz (1986) tarafından ilk defa bir *Arabidopsis* geninin klonlanması, bitki biyolojisine yönelik moleküler genetik yaklaşımların sonuç vermeye başladığını doğrulamıştır (Chang and Meyerowitz, 1986). Kısa süre sonra Feldmann ve Marks (1987) ‘ın ortaya koyduğu doku kültürü gerektirmeyen, *Agrobacterium* ile inkübe edilmiş olgun tohumlardan bitki yetiştirmeye ve daha sonra yeni nesil fideler arasında antibiyotik direncinin taranmasına dayanan bir yöntemi ile gen izolasyonuna uygun geniş bir yelpazedeki yerleştirme mutantlarının tanımlanmasına olanak tanıyan çok önemli bir ilerleme olarak kayda geçmiştir (Feldmann and Marks, 1987; Koornneef and Meinke, 2010). Bu gelişmeden sonra mutant çalışmaları hız kazanmış ve genom üzerinde işaretleyici olarak kullanılan tek gen mutantlarının yardımıyla *A. thaliana*’nın genetik bağlantı haritalarını çıkarmayı amaçlayan çalışmalar yoğunlaşmıştır (Koornneef and Meinke, 2010). 1980’lerde restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) gibi moleküler belirteçlerin genetik alanına giriş yapması, *Arabidopsis*’te bu tür belirteçlerin haritalarının oluşturulmasını ve bunların klasik haritaya entegre edilmesini önemli hale getirmiştir (Chang et al., 1988; Hauge et al., 1993).

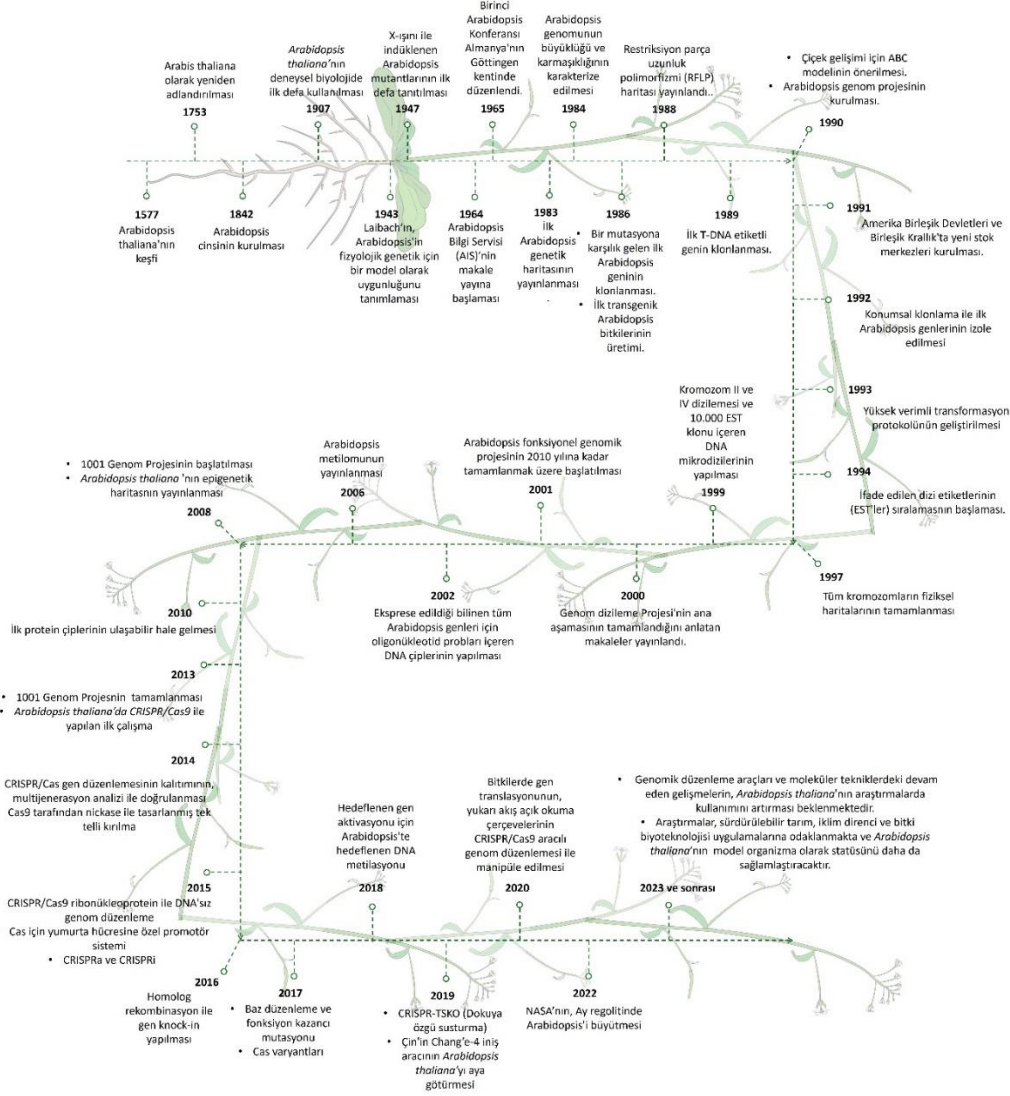
Moleküler işaretleyiciler ve gelişen haritalama tekniklerinin *A. thaliana*’da kullanılması *A. thaliana* ‘nın genom sekanslanmasının önünü açmış ve dünyanın dört bir yanından Kiyotaka Okada, Marc van Montagu, Yoshiro Shimura, Jim Peacock, Maarten Koornneef, Caroline Dean, Chris Somerville, Dick Flavell, Elliot Meyerowitz ve Howard Goodman gibi bilim insanlarının öncülüğünde sekanslama çalışmaları başlamıştır (Koornneef and Meinke, 2010). Bu bilim insanlarından oluşan komiteler, *Arabidopsis* ile ilgili araştırma yapan topluluğu organize etmede, stok merkezleri ve veritabanları oluşturmada, hâlâ geliştirilmesi gereken ortak kaynakları belirlemede, milenyumun sonuna kadar genomun dizilenmesi hedefinin ilan edilmesinde ve bu dizileme çabalarının yolunda gitmesinde önemli bir rol oynamıştır (Somerville and Koornneef, 2002). 1996 yılında grup liderlerinin katıldığı bir toplantı ile *Arabidopsis* Genom Girişimi adı verilen bir komite oluşturulmuş ve Aralık 2000’de genom dizisinin çoğunun tamamlanması ile bilimsel iş birliği ve ortak çalışmanın harika bir örneği olarak biyoloji açısından

dönüm noktası niteliğindeki bir başarı elde edilmiştir (Magnien et al., 1992; The Genome Initiative, 2000; Somerville and Koornneef, 2002).

Bu girişimin genomik ve diğer verileri kamuya açık portallarda düzenleme konusunda *Arabidopsis* Veritabanı (AtDB) (Flanders et al., 1998) ve onun halefi olan *Arabidopsis* Bilgi Kaynağı (TAIR)'nın (Huala et al., 2001), diğer daha uzmanlaşmış portallarla birlikte başlangıçta genom dizisini, fiziksel haritaları ve gerekli diğer türdeki verileri düzenleme konusunda uzun bir geçmişi olduğu bilinmektedir (Provart et al., 2016). Buna ek olarak özellikle *Arabidopsis*'in transkriptomunu belgelemeye yönelik çok uluslu bir girişim olan AtGenExpress projesinin binlerce gen ekspresyonu veri seti ürettiği bilinmektedir (Schmid et al., 2005; Kilian et al., 2007). Bu veri setlerinden elde edilen bilgilerin Biyo-Analitik Kaynak (Toufighi et al., 2005) veya Genevestigator (Zimmermann et al., 2004) gibi mikrodizileme temelli araçlarla incelenmesi, biyoinformatik ile *Arabidopsis* çalışmalarının yönünü tayin etmiştir. Gen ekspresyonu veri setlerinde benzer ekspresyon modellerine sahip genleri tanımlayan ortak ekspresyon analizi, belirli bir biyolojik yolla ilişkili genleri tanımlamak için yeni bir tür bilgisayar temelli (*in silico*) tarama olarak ortaya çıkmıştır (Usadel et al., 2009). Bunun dışında protein-protein ilişkileri, -omic verilerinin incelenmesi, yeni nesil sekanslama ile elde edilen bilgilerin işlenmesi gibi birçok işlem için farklı portallar ve araçlar geliştirilmiştir (Provart et al., 2016). Son yıllarda oluşturulan çok sayıda veri setini birleştirerek hipotez oluşturmayı daha da kolaylaştırmak amacıyla *Arabidopsis* Bilgi Portalı (Araport.org) kurulmuştur (International Arabidopsis Informatics Consortium, 2010, 2012).

Tüm bu yolculuğunun ardından *A. thaliana* çinko parmak içeren nükleazlar (ZNF'ler), transkripsiyon aktivatörü benzeri efektör nükleazlar (TALEN'ler) ve düzenli aralıklı kısa palindromik kümelenmiş tekrarlar (CRISPR)/CRISPR ile ilişkili protein 9 (Cas9) gibi genom düzenleme araçları ile sentetik biyolojide (Miki et al., 2021); manyetik alanın tarım ürünlerinde verimi artırma olasılığının incelendiği çalışmalar ile kuantum biyolojide (Pooam et al., 2020); görüntüleme tekniklerinin geliştirilmesi için karbon kuantum nokta araştırmaları ile tıp alanında (Lin et al., 2023); mikro yer çekimi ile sinyal yollarının (Yemets et al., 2024) ya da uzay radyasyonu ile gen ifadesi değişimlerini (Sultanova and Sultansoy, 2024)

inceleyen uzay araştırmalarına kadar geniş bir yelpazede model organizma olarak bilimsel yolculuğuna dünya genelinde devam etmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 *Arabidopsis*'in model bitki olarak geliştirilmesi ve kullanılmasıyla ilgili önemli olaylar (Somerville and Koornneef, 2002; Sivasubramanian et al., 2015 ve Arya et al., 2020'den oluşturulmuştur).

2.2 Bitkilerde Redoks Sistemi

Redoks reaksiyonları genel adıyla yükseltgenme-indirgeme reaksiyonları, reaksiyona katılan bir kimyasal türün oksidasyon sayısının değiştiği herhangi bir kimyasal reaksiyon olarak tanımlanmakta ve ateş, metallerin paslanması, meyvelerin kahverengileşmesi, solunum ve fotosentez gibi temel yaşam fonksiyonları gibi geniş ve çeşitli süreçlerde temel reaksiyon olarak karşımıza

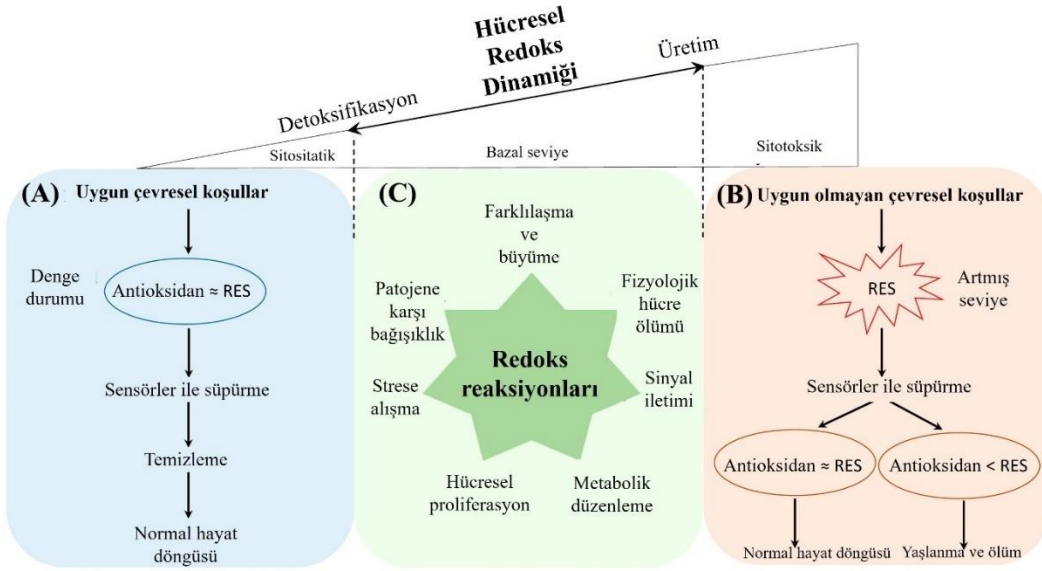
çıkmaktadır (Olson, 2024). Redoks reaksiyonu, indirgenmiş yarı ve oksitlenmiş yarı olmak üzere iki yarı reaksiyondan oluşur. Asit-baz reaksiyonlarına benzer şekilde, iki yarım reaksiyon her zaman tek bir tam reaksiyon olarak aynı anda gerçekleşir. Oksitlenme reaksiyonu elektronların kaybı ve oksidasyon sayılarının artması, indirgenmiş reaksiyon ise elektronların kabulü ve oksidasyon sayılarının azalması olarak tanımlanır (Hudlicky, 1984, 1990). Elektronları alıp başka bir türü oksitleyen kimyasal türlere oksitleyici maddeler veya oksitleyiciler denir. Oksitleyici maddeler diğer türlerden elektronları kabul eder ve indirgenir, dolayısıyla redoks reaksiyonunda elektron alıcısı olarak hareket ederler. Elektron vererek başka bir türü indirgeyen kimyasal türlere indirgeyici maddeler veya indirgeyiciler denir. İndirgeyici maddeler başka bir türe elektron vererek oksitlenirler ve böylece redoks reaksiyonunda elektron verici olarak görev yaparlar (Hudlicky, 1984, 1990) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Redoks reaksiyonlarının çalışma mekanizmasını gösteren diyagram (Bruslind, L., 2019'dan uyarlanmıştır).

İndirgeme-yükseltgeme reaksiyonunun kısaltması olan redoks reaksiyonu, canlı organizmalardaki asit-baz ve serbest radikal (Lewis reaksiyonu) reaksiyonları ile birlikte hücrelerde görülen üç temel kimyasal reaksiyondan biri olarak kabul edilmektedir (Meng et al., 2017). Hücresel reaksiyonların birçoğunda elektron transferi söz konusudur ve çoğu hücresel metabolitin bu reaksiyonlarda elektron donörü veya elektron alıcısı olarak görev yaptığı bilinmektedir. Hücre içi redoks durumunun, protein yapısını ve fonksiyonunu değiştirerek hücre bölünmesi, çoğalması ve apoptozun sinyal yolunu etkileyebildiği bilinmektedir (Herrero et al., 2008). Reaktif türlerin bitki hücrelerine zarar verme eğilimi ve gen ekspresyonunu aktive etme yetenekleri birbiriyle ilişkili görünmektedir ve dolayısıyla bu reaktif moleküllerin hücreler üzerindeki zararlı etkilerini anlamaya yönelik tüm girişimler

önem arz etmektedir (Alméras et al., 2003). Yapılan çalışmalar, reaktif türlerin hücrelere en az iki yoldan zarar verebildiğini göstermiştir. Bunlardan ilki, hücresel indirgeyici havuzları üzerindeki dolaylı etkilerdir. Özetle, reaktif türler hücreler onları detoksifiye etmeye çalışırken dokulara dolaylı olarak zarar verebilmektedir çünkü bunların eliminasyonuna giden birçok yolun indirgeyici havuzlarının tükenmesine neden olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (Mano et al., 2005; Farmer and Davoine, 2007). İkinci bir mekanizma olarak üretilen reaktif türlerin, nükleofilik atomlarla kimyasal reaktiviteleri nedeniyle hücre içeriğini doğrudan değiştirebildiği, aşırı reaktif molekül üretiminin kontrolsüz oksidatif reaksiyonlar yoluyla hücresel bileşenlerin doğal fonksiyonlarını bozduğu ve hasara yol açtığı bilinmektedir (Weber et al., 2004; Farmer and Davoine, 2007). Her ne kadar aşırı reaktif molekül üretiminin hücre hasarına yol açma olasılığının bilinmesine rağmen, daha düşük reaktif molekül seviyelerinin hücrelerin hayatta kalma genlerinin ekspresyonunu modüle edebileceğine ve aslında şiddetli stres sırasında hayatta kalmaya katkıda bulunabileceğine dair ikna edici kanıtlar sağlamaya başladığı bilinmektedir (Farmer and Davoine, 2007) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Hücresel RES dinamiklerinin ve bunun sonucunda ortaya çıkan bitki fizyolojik tepkilerinin şematik bir temsili. Şekil hücrelerin RES/redoks kaynaklı üç durumunu göstermektedir. (A) Uygun çevre koşullarında, çeşitli metabolik yolların yan ürünleri olarak üretilen RES, özel antioksidatif enzim ağının varlığıyla düşük konsantrasyonlarda verimli bir seviyede tutulur. Olumsuz çevre koşullar (örn. abiyotik ve biyotik stresler) (B), RES üretiminin artmasına veya antioksidan aktivitenin azalmasına neden olur ve ardından gelen dengesizlik, sitotoksik ROS konsantrasyonları nedeniyle yaşlanmaya ve ölüme yol açar. (C) RES üretimi ile süpürme arasındaki dengenin korunduğu ve

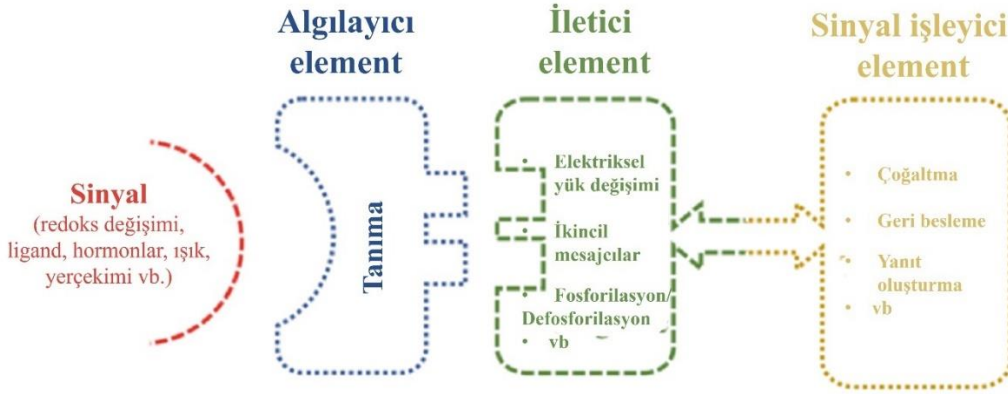
maksimum bitki büyüme ve gelişme potansiyelinin elde edildiği bazal RES konsantrasyonlarında meydana gelir. (Farooq et al., 2019'dan uyarlanmıştır).

Bitkilerin hayatları boyunca büyümelerini ve fizyolojik tepkilerini sınırlandıran çeşitli stres faktörlerine maruz kaldığı ve bu tür olumsuzluklara uyum sağlamanın strese özgü sinyal yollarının aktivasyonunu gerektirdiği bilinmektedir (Trchounian et al., 2016). Uyarlanabilir stres yanıtlarının büyük ölçüde reaktif molekül üreten ve ortadan kaldıran yolların karmaşık etkileşimi ile belirlenen hücrel redoks homeostazisine dayanmakta olduğu ve bu tür redoks homeostazisinin sürdürülmesinin bitkinin hayatta kalması için hayati öneme sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (Suzuki et al., 2012). Bitkiler ayrıca redoks homeostazisini korumak için yüksek verimli ve uyarlanabilir enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler içermektedir (De Gara et al., 2010). Redoks düzenlemesinin karmaşık ve dinamik süreçleri, kloroplastlar, mitokondri, peroksizomlar vb. dahil olmak üzere farklı hücrel bölümlerde meydana gelmektedir (Trchounian et al., 2016). Normal metabolizmada veya çevresel stres altında redoks reaksiyonlarının, hücre içi redoks dengesine meydan okuyan reaktif molekülleri mitokondri, lizozom, peroksizom, sitozol, plazma zarı ve ER gibi birçok organelde üretebilme potansiyeli bulunmaktadır (Di Meo et al., 2016). Bu reaktif türlerin doğal olarak tüm organizmalarda üretildiği ve farklı fizyolojik işlevlere hizmet ettiği, ancak aşırı birikimlerinin hücrel toksisiteye neden olduğu bilinmektedir (Garai et al., 2024). Bu nedenle normal hücrel işleyişi sağlamak için bu türlerin sentezleri ve yıkımları arasındaki dengeyi yeniden sağlamak önemlidir (Li, 2016). Bu reaktif türleri temizleyen detoksifikasyon mekanizmaları, hücrel ortamdaki reaktif türlerin seviyelerini kısıtlayarak redoks dengesini koruduklarından stresin azaltılması açısından önemli kabul edilmektedir (Huang et al., 2019).

2.2.1 Bitkilerde redoks sistemleri ile düzenlenen yolak yapıları

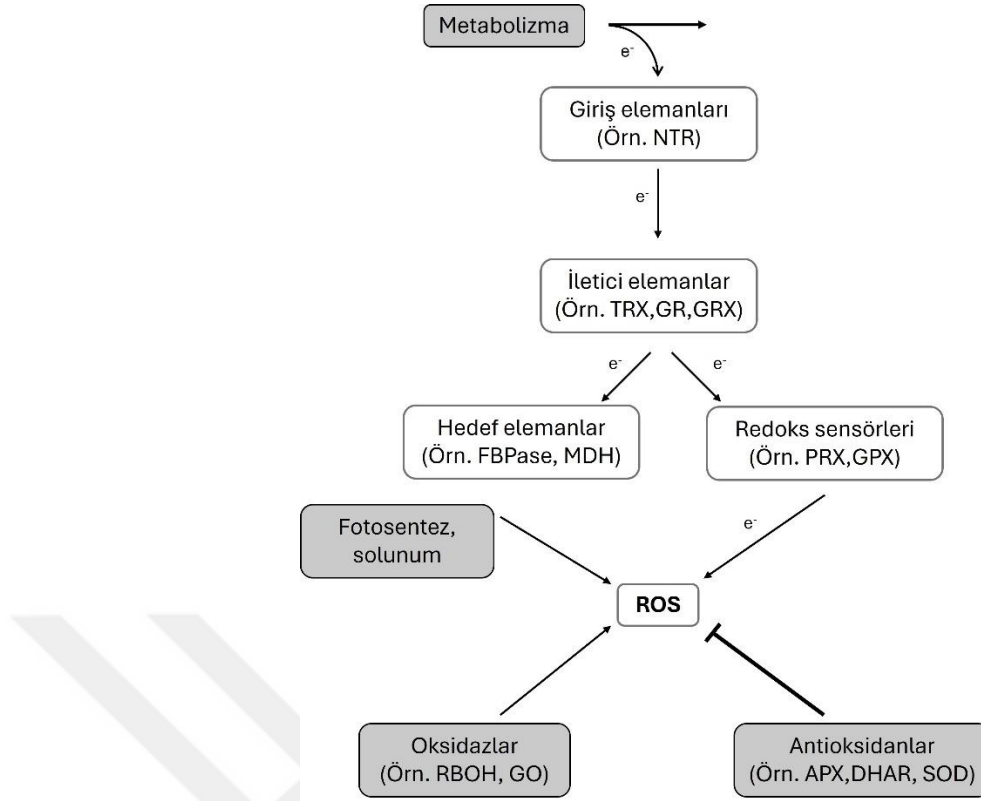
Bitkiler, sabit doğaları nedeniyle birçok çevresel değişikliklerle karşı karşıyadır ve bu yeni koşullar altında performanslarını optimize etmek için bu değişiklikleri sürekli olarak algılamaları gerekmektedir (Carrillo and Christopher, 2022). Diğer organizmalarda olduğu gibi, bitkiler de çevresel ya da içsel değişiklikleri algılamak ve bu değişikliklere uygun biyofiziksel, biyokimyasal ve moleküler olayları

düzenleyen sinyalleme zincirinin başlatılmasını sağlamak için bir "Algılayıcıya" ihtiyaç duyar (Shabala et al., 2015). Algılayıcı molekülden gelen sinyaller “İletici” modüle iletilerek sinyal yollarında sinyalin ilerlemesi sağlanır. Daha sonra ise iletilen sinyal “Sinyal işleme” modülünde işlenerek hücrel yanıt oluşturulur (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Sinyal yollarına ait elementlerin şematik gösterimi (Meng, 2020’den uyarlanmıştır.)

Bitki hücresinin redoks düzenleyici yolağının temel yapısı da bu düzene uymaktadır. Örneğin, bu yollarda metabolizma, durumuna bağlı olarak düzenleyici elektronları NADPH bağımlı tiyoredoksin redüktaz (NTR) gibi giriş elemanları aracılığıyla ağa besler. Tiyoredoksin (TRX), glutatyon redüktaz (GR), glutaredoksin (GRX) gibi redoks iletileri elektronları Fruktöz-1,6-bifosfat (FBPase), malat dehidrojenaz (MDH) gibi düzenlenmiş hedef proteinlere aktarır. Ayrıca glutatyon peroksidaz (GPX), peroksiredoksin (PRX) gibi redoks sensörleri de ROS miktarına bağlı olarak vericilerden elektronları çeker. ROS miktarı, fotosentez ve solunuma ait elektron taşıma zinciri proteinleri, RBOH ve glisolat oksidaz (GO) gibi ROS üretici sistemlerinin aktivitesi ve ROS’ların APX, dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), ve SOD gibi antioksidan sistem üyeleri tarafından yıkımı ile kontrol edilir (Dreyer and Dietz, 2018) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8 Bitki hücresinde örnek redoks yolağı elemanları (Dreyer and Dietz, 2018'dan uyarlanmıştır.)

Son araştırmalar, bitkilerdeki sinyal moleküllerine ilişkin anlayışımızı dolayısıyla redoks yollarına bakışımızı klasik bitki hormonlarının ötesine genişletmiştir. Biyoaktif peptitler, bitki büyümesi, gelişimi ve stres tepkilerinin çeşitli yönlerinde yer alan önemli sinyal molekülleri olarak ortaya çıkmıştır (Germain et al., 2006). Bir zamanlar toksik metabolik ürünler olarak kabul edilen reaktif türler, artık spesifiklikleri kimyasal kimlik ve üretim yerleri gibi faktörlere bağlı olan, çeşitli bitki süreçlerini koordine eden önemli sinyal molekülleri olarak tanınmaktadır (Gechev et al., 2006). Ek olarak, ATP'nin bitkilerde potansiyel bir sinyal ajanı olarak önerildiği ve bitki hücresi sinyallemesinde yer alan moleküllerin giderek büyüyen listesine eklendiği öne sürülmektedir (Demidchik et al., 2003). Benzer şekilde sinyal iletim mekanizmalarında kullanılan iletim elemanları da geniş bir yelpazede incelenmeye devam etmektedir. Örneğin iyon kanalları, ışık gradyanının tespiti ve gövde büyüme kontrolü gibi işlemlere katkıda bulunarak ışık iletim yolağında önemli roller oynamaktadır (Spalding, 2000). Kalsiyum iyonlarının (Ca^{2+}), sinyal iletim yollarında hem hızlı hem de yavaş hücrel tepkileri düzenleyen temel ikinci haberciler olarak görev yaptığı ve bu yolların

aynı zamanda, protein kinazlar, kalmodulin, cGMP ve cAMP gibi diğer ikinci haberciler dahil olmak üzere birçok bileşeni içerdiği bilinmektedir (Bowler and Chua, 1994; Trewavas and Malho, 1997). Tüm bu yolak boyunca yapılan elektron transferlerinin, bitkilerde sinyal işleme süreçlerini yönlendirdiği ve hücrel tepkilere yol açtığı bilinmektedir. Bu mekanizmalar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve metabolik yolların modifikasyonu gibi kritik işlevleri kapsamaktadır. Örneğin, Patogenezle İlgili Genlerin Ekspresörü Olmayan 1 (NPR1) proteinin, redoks sinyalleri tarafından disülfid bağlarının çözülmesi yoluyla monomerik hale geldiği ve monomerik NPR1'in çekirdeğe taşınarak savunma genlerinin ekspresyonunu başlattığı bilinmektedir (Tada et al., 2008). Murata ve arkadaşlarının (2015) çalışması ise elektron transferi yoluyla üretilen ROS'nin, stomatal hücrelerdeki iyon kanallarını etkileyerek kalsiyum (Ca^{2+}) dalgalanmalarına neden olduğunu ve bu dalgalanmaların, stomaların kapanmasını tetikleyerek bitkilerin su kaybını azaltmasını ve patojenlere karşı korunmasını sağladığını göstermiştir (Murata et al., 2015). Bu mekanizmalar bitkilerin çevresel değişikliklere uyum sağlamasını ve gelişim süreçlerini koordine etmesini sağlamaktadır.

Bitki hücreleri, oksidanlar ve antioksidanlar arasında hassas bir dengeyi koruyarak strese uyum sağlamak için redoks sinyal yollarını kullanır (Shigeoka and Maruta, 2014). Bu redoks sinyalleri, gen ekspresyonunun, protein fonksiyonunun düzenlenmesinde; retrograd ve sistemik sinyalleme yoluyla strese alışma yanıtlarının etkinleştirilmesinde önemli roller oynamaktadır (Suzuki et al., 2012). Bitkilerdeki sinyal iletim zincirleri, Ca^{2+} , inositol ve fosforilasyonun döllenme, salgı ve stoma hareketleri dahil olmak üzere çeşitli hücrel tepkilerde anahtar rol oynadığı biyofiziksel ve biyokimyasal bileşenleri içerdiği bilinmektedir (Wayne, 2019). Reaktif türlerin üretimi, antioksidan sistemler ve redoks sinyalleme arasındaki etkileşim, bitkilerin çevresel streslere tepki olarak metabolizmalarını ve gelişimlerini ayarlamalarına olanak tanır ve bitki stresine alışmada redoks düzenlemesinin önemini vurgular (Suzuki et al., 2012; Dietz, 2014).

2.2.2 Bitkilerde oluşan reaktif türler ve oluşma yolları

Bitkiler değişen iklim koşulları nedeniyle ışık dalgalanması, sıcaklık değişimi, su bulunabilirliği ve/veya kuraklık, topraktaki besin bozuklukları, tuzluluk ve UV radyasyonu gibi çok sayıda abiyotik strese maruz kalmaktadır (Xu et al., 2019). Bitkilerin maruz kaldığı bu streslerin bitkilerin fizyolojisini ve biyokimyasını değiştirerek moleküler düzeyde değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Zhou et al., 2021). Bitkilerde dış uyaranlara verilen yaygın hücrel tepkilerden biri, hızlı bir oranda reaktif türlerin veya kararsız serbest radikallerin üretilmesidir (Kaur et al., 2019). Ancak bu durum tarihsel olarak ROS toksik seviyeleri nedeniyle oksidatif patlama olarak adlandırılmıştır (Bolwell and Wojtaszek, 1997; Navrot et al., 2007). ROS'a ek olarak, reaktif nitrojen türleri (RNS) (Moreau et al., 2010), RCS (Mano et al., 2019a) ve reaktif kükürt türleri (RSS) (Giles et al., 2017) gibi diğer reaktif türler de üretilir ve yüksek reaktiviteleri nedeniyle benzersiz bir hücrel hasar kaynağı oldukları düşünülmektedir (Dhiman et al., 2023).

Bu reaktif türlerin aşırı üretiminin, hassas redoks homeostazisini bozarak bitki içinde daha fazla değişikliğe yol açtığı bilinmektedir. Hücre sinyallemedeki rollerinin yanı sıra ROS ve RNS'nin biyosentezi, taşınması ve temizlenmesi/detoksifikasyonunun altında yatan mekanizmalar iyi bilinmektedir ve transformasyon, CRISPR-Cas9, marker destekli yetiştirme gen ifadesi azaltma, gen susturma gibi çeşitli teknikler kullanılarak modern mahsul iyileştirme programlarında keşfedilmek için büyük potansiyele sahiptir (Zhou et al., 2021). Bunlara ek olarak RSS ve RCS son zamanlarda dikkat çekici bir ivme ile gen regülasyonu, ara metabolizmayı ve mitokondriyal fonksiyonu etkileyen önemli sinyal molekülleri olarak çalışmalarda hedeflenmiştir (Cortese-Krott et al., 2017). Benzer şekilde, H₂S gibi RSS'lerin ve akrolein gibi RCS'lerin, bitki yaşam süreçlerinde ve stres tepkilerinde önemli rolleri olduğu ve mahsul iyileştirme mühendisliği için kullanışlı adaylara dönüşebilme potansiyeline sahip oldukları gösterilmiştir (Zhou et al., 2021).

Reaktif oksijen, nitrojen, karbonil ve kükürt türlerinin (ROS, RNS, RCS ve RSS) proteinlere ve hücrel bileşenlere zararlı olduğu düşünülse de son

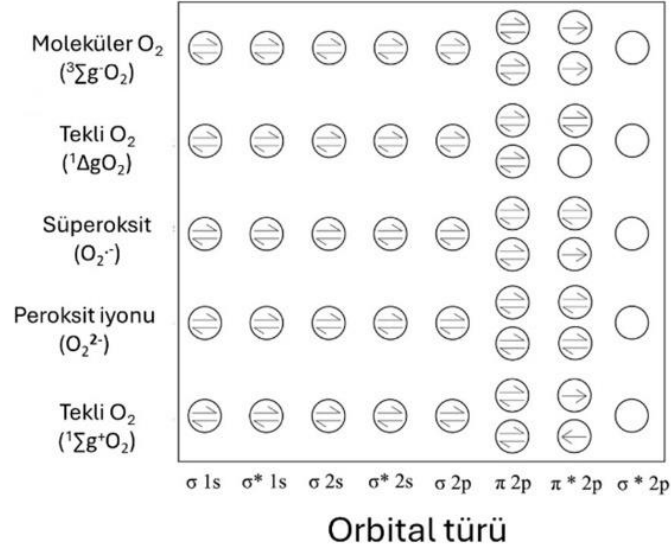
araştırmalar bu türlerin bitki hücreleri için koruyucu rol oynayabilecek potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Kaur et al., 2019). Bu türleri tespit etmek, ölçmek ve aşırı ifade etmek için floresans problemleri, biyoanaliz tabanlı yöntemler, -omik tabanlı biyofiziksel teknikler gibi çeşitli araçlar ve teknikler geliştirilmiştir (Zhou et al., 2021). Transgenik yaklaşımlar başlangıçta tek bir gene odaklansa da multigenik dönüşümün strese dayanıklı mahsuller yaratmada daha etkili olduğu kanıtlanmıştır (Wani et al., 2016). MikroRNA'ların stres yanıtlarında yer alan birden fazla geni düzenlediği ve bu sayede onları mahsulün iyileştirilmesinde önemli bir oyuncu haline getirdiği bulunmuştur (Zhou et al., 2021). Bununla birlikte, reaktif türlerin bölümlendirilmesi gibi pek çok soru antioksidomiklerde ele alınmadan kalmakta ve bu alanda gelecek vaat eden araştırmalar sunmaktadır.

2.2.2.1 Reaktif oksijen türleri (ROS) ve oluşma yolları

ROS'nin yaklaşık 2,4 milyar yıl önce oksijenli fotosentezin evrimi ile aerobik metabolizmanın bitki yaşam döngüsünün ve çevresel tepki mekanizmalarının birçok yönünü etkileyen yan ürünleri olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (Anbar, 2008). Diğer aerobik organizmalarda olduğu gibi bitkilerin de oksijenden faydalandığı ancak aynı zamanda oksitleyici ortamlarda optimal büyüme ve gelişmeleri için uygun redoks dengesini koruma zorluğuyla da karşı karşıya kaldığı bilinmektedir (Sies et al., 2017). Bitkiler ve diğer canlı organizmalar, fotosentez ve solunum gibi metabolik işlemler nedeniyle kloroplastlarda, mitokondride, peroksizomlarda ve hücrenin diğer bölgelerinde sürekli olarak ROS üretirler bu nedenle tüm canlılarda olduğu gibi bitkilerde de ROS oluşum ve temizleme mekanizmaları birlikte çalışarak redoks dengesini sağlamaktadır (Tripathy and Oelm ller, 2012).

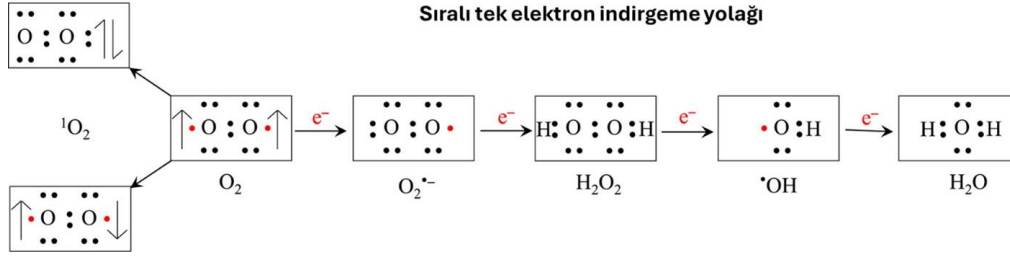
Bitkilerde elektron ya da enerji transferi sonrasında oluşan temel ROS molekülleri tekli oksijen ($^1O_2$), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'tir. ROS oluşumuna kimyasal yönden bakıldığında, moleküler temel durumdaki oksijenin (O_2) elektron dağılımının en kararlı durum olduğu görülmektedir (şekil 2.9). Ancak O_2 'nin, π^* yörüngesindeki boş alanı kaplayan aynı spin kuantum sayısına sahip olmaları koşuluyla, bir elektronu çıkararak çeşitli radikal olmayanları oksitleyebileceği bilinmektedir (Halliwell,

2006). Aynı spin kuantumunun neden olduğu spin kısıtlaması nedeniyle, eşleşmemiş elektronlar bazen tek seferde tek bir elektron olarak aktarılabilir ve dolayısıyla radikal olmayan moleküllerle hızlı bir reaksiyonu kolaylaştırma olasılığı düşüktür (Halliwell, 2006). Fakat alternatif olarak O_2 'nin radikallerle reaktivitesi çok hızlı olabilir ve farklı tipte ROS üretebilir (Eltner, 1982).



Şekil 2.9 Moleküler oksijenin (O_2) atomik özellikleri, temel kimyasal türleri ve sahip oldukları moleküler bağlar. Moleküler oksijen 16 elektron içerir ve iki eşleşmemiş elektron, moleküler oksijenin her seferinde bir elektron kabul etmesine izin veren aynı spin kuantum sayısına sahiptir (Farooq et al., 2019'dan Türkçeye uyarlanmıştır).

Bitkilerde aerobik metabolizma, herhangi bir eşleşmemiş elektron üzerindeki dönüşü tersine çevirebilen ve dolayısıyla $^1O_2$ üretebilen yeterli serbest enerjinin transferi yoluyla veya $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 veya $\cdot OH$ üretmek için moleküler O_2 'nin sıralı tek elektron indirgeme yolu sırasında yan ürünler olarak ROS üretimine neden olabilir (Halliwell, 2006) (Şekil 2.10; Tablo 2.1).



Şekil 2.10 O_2 için Lewis yapıları ve tekli oksijen ($^1O_2$) oluşturmak üzere uyarılması. O_2 'nin sıralı tek elektron indirgenmesi, süperoksit ($O_2^{\cdot -}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi ROS'u üretir (Farooq et al., 2019'dan Türkçeye uyarlanmıştır).

Tablo 2.1 . Bitki hücrelerinde ROS'un özellikleri yarı ömür, difüzyon aralığı, etki mekanizması ve hücre içindeki üretim yeri (Mittler, 2017'den Türkçeye çevrilmiştir).

ROS molekülü	Yarı ömür	Difüzyon aralığı	Etki mekanizması	Üretim yeri
Süperoksit ($O_2^{\cdot -}$)	1-4 μs	30 nm	Fe-S proteinleri ile reaksiyona girer, H_2O_2 'ye dönüşür.	Apoplast (RBOHs), Kloroplast, Mitokondri, Peroksizom, Elektron taşıma zinciri
Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	1 ns	1 nm	DNA, RNA, lipidler, proteinler gibi tüm biyomoleküller için aşırı reaktif yapıya sahiptir.	Fenton reaksiyonu (Demir ve H_2O_2 bulunan her yerde)
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	> 1 ms	>1 μm	Proteinlerin sistein ve metiyonin içeren parçaları ile reaksiyona girer. Heme proteinleri ve DNA ile reaksiyona girer	Peroksizom, Kloroplast, Mitokondri, Sitozol, Apoplast
Tekli oksijen ($^1O_2$)	1-4 μs	30 nm	Lipid ve proteinleri okside eder. Proteinlerin Triptofan, histidin, tirozin, metiyonin ve sistein yapıları ile ve DNA'nın guanin bazı ile reaksiyona girer.	Membranlar, Kloroplast, Çekirdek

Genel olarak $^1O_2$, 30 nm'lik küçük bir difüzyon aralığına sahip yaklaşık 1-4 μs yarılanma ömrüne sahip, lipidler, proteinler gibi geniş kapsamlı hücrel hedeflere zarar verebilecek ve hücre ölümünü tetikleme potansiyeline sahip bir moleküldür (Egorov et al., 1989; Davies, 2004; Skovsen et al., 2005; Triantaphylidès et al., 2008). $^1O_2$, sigma ($^1\Sigma_g O_2$) ve delta konfigürasyonunda ($^1\Delta_g O_2$) bulunabilir. Hızla bozunan iki eşleşmemiş elektron içeren serbest radikal formundaki sigma konfigürasyonu, en sık karşılaşılan ve radikal olmayan form olan delta konfigürasyonuna dönüşür (Halliwell, 2006). Işık varlığında, anten sistemindeki ve fotosistem II'nin (PSII) reaksiyon merkezindeki klorofil

pigmentleri, üçlü klorofil oluşumu yoluyla yüksek derecede reaktif $^1\text{O}_2$ üreten birincil kaynaklardır (Trchounian et al., 2016).

Moleküler O_2 'nin spin kısıtlaması nedeniyle aynı anda birden fazla elektronu kabul edememesi, sıralı tek elektron indirgeme yolunda stabil ara ürünlerin oluşmasıyla sonuçlanır (Eltner, 1982; Halliwell, 2006). $\text{O}_2^{\cdot-}$, bitki hücresinde oksidatif patlamanın başlangıcında üretilir. $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin protonlanmış formu ($\text{HO}_2^{\cdot}$) süperoksitin kendisinden daha reaktiftir, ancak fizyolojik pH'taki bitki hücrelerinde $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin çok küçük bir oranı bu formda bulunmaktadır (Bhattacharjee, 2012). Tek bir elektronun O_2 'nin π^* yörüngesine aktarılması, başka bir elektronun eklenmesiyle radikal olmayan bir iyon (peroksit iyonu, O_2^{2-}) üretebilen $\text{O}_2^{\cdot-}$ oluşumuna yol açar (Mehler, 1951; Sawyer et al., 1980). $\text{O}_2^{\cdot-}$, hücre tipine veya hücrel bölmeyle ilgili olarak doğrudan veya yaygın olarak enzim veya metal katalizli işlemler yoluyla diğer "ikincil" ROS'u oluşturmak için bir dizi reaksiyon başlatan birincil ROS olarak tanımlanır (Trchounian et al., 2016). Orta düzeyde reaktivitesi ve kısa yarı ömrü (1-4 μs) nedeniyle, $\text{O}_2^{\cdot-}$ ciddi oksidatif hasara neden olmaz, bunun yerine, SOD'ler tarafından tek değerlikli indirgeme veya dismutasyon yoluyla orta derecede reaktif H_2O_2 'ye dönüştürülür (Farooq et al., 2019). Bitkilerde $\text{O}_2^{\cdot-}$ farklı hücre bölmelerinde (kloroplastlar, peroksisomlar, apoplast, mitokondriyal elektron taşıma zinciri, plazma zarı, ER) üretilir. Bitki hücrelerindeki bir diğer önemli $\text{O}_2^{\cdot-}$ kaynağı, ROS sinyali ve stres tepkileri gibi birçok fizyolojik süreçte anahtar rol oynayan RBOH'lerdir (Jajic et al., 2015). $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin ksantin dehidrojenaz (XDH) ve aldehit oksidazın (AO) etkisiyle sitozolde üretildiği; doğal ve yapay olarak tetiklenen yaşlanma sırasında da üretiminde bir artış olduğunu bildirmiştir (Mcrae and Thompson, 1983; Pastori and delRio, 1997; Trchounian et al., 2016).

Diğer ROS üyeleriyle karşılaştırıldığında H_2O_2 'nin 1000 μs veya daha fazla olan önemli ölçüde uzun olan yarı ömrü ve eşlenmemiş elektron içermeyen konfigürasyonunun, akuaporinler aracılığıyla biyolojik zarları geçebilmesine olanak sağladığı ve bu nedenle üretim yerinden uzakta yoğun oksidatif hasara neden olduğu gösterilmiştir (Bienert et al., 2007; Henzler and Steudle, 2000). Apoplastta $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'nin, RBOH'lar, poliamin oksidazlar, pH'a bağlı peroksidazlar (POX'ler) ve bakır amin oksidazlar tarafından oluşturulduğu,

kararsız olan ve zarlara karşı geçirgen olmayan $O_2^{\cdot-}$ 'nin protonasyon ve dismutasyona uğradığı ve dolayısıyla hücre dışı H_2O_2 havuzuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Juan et al., 2021). Fotorespirasyon H_2O_2 'nin ana kaynağı olduğundan ve üretilen H_2O_2 'nin yaklaşık %70'ine katkıda bulunduğu (fotosentetik elektronların %10'unun fotorespirasyona aktığı varsayılan buğdayda incelendiği gibi), peroksizomlar hücrel oksidatif metabolizmaya belirgin bir şekilde katkıda bulunur (Noctor et al., 2002; Corpas and Barroso, 2018; Corpas et al., 2020). Ek olarak H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$, SOD aracılı veya spontan dismutasyon ve enzim katalizli iki elektron transferi yoluyla, örneğin ksantin veya GO'lar tarafından, doğrudan üretilir; ikincisi peroksizomal fotorespirasyonun bir parçasıdır (Khan et al., 2023; Mittler et al., 2022; Vogelsang and Dietz, 2022). Aynı zamanda yapılan çalışmalar bitkilerde H_2O_2 'nin düşük konsantrasyonda birçok önemli fizyolojik süreçlerde sinyal molekülü olarak rol aldığını, yüksek konsantrasyonda ise DNA ve proteinlerin oksidatif modifikasyonu yoluyla ciddi hücrel hasara neden olduğunu göstermiştir (Mittler and Berkowitz, 2001).

Ancak H_2O_2 , diğer ROS'lara oranla daha uzun yarı ömre sahip olmasına rağmen orta derecede reaktivitesi nedeniyle, tek eşleşmemiş elektrona sahip olan $\cdot OH$ gibi daha reaktif türlere dönüştükten sonra hücrel hasara neden olur (Haber and Weiss, 1934; Kehler, 2000). Özellikle H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ 'den Harber-Weiss reaksiyonu ile metal katalizi sonucu, tek bir eşleşmemiş elektrona bulunan $\cdot OH$ oluştuğu bilinmektedir (Sharma et al., 2012). En kısa yarılanma ömrüne (1 μs) rağmen, bitkilerde etkili $\cdot OH$ detoksifikasyonunun yokluğu maksimum hücrel hasara neden olabilir (Bors et al., 1979; Willson, 1979). Ayrıca son derece güçlü bir oksidan olan ve organik moleküllerle neredeyse difüzyon hızlarında reaksiyona giren, ROS türleri arasında en reaktif olan $\cdot OH$ 'nin oluşumu hem H_2O_2 'ye hem de O_2 'ye ve dolayısıyla hem SOD hem de katalaz (CAT) tarafından inhibisyona tabidir (Trchounian et al., 2016).

Hücre içinde ROS'lar birbirine kolaylıkla dönüşebilmektedir. Örneğin, O_2 'nin kademeli olarak tek değerlikli indirgenmesi $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $\cdot OH$ oluşumuna yol açarken, O_2 'ye enerji transferi $^1O_2$ oluşumuna yol açar. $O_2^{\cdot-}$, enzimatik olmayan bir şekilde veya SOD katalizli H_2O_2 reaksiyonu ile kolayca H_2O_2 'ye dönüştürülür. H_2O_2 , CAT, GPX ve APX ile H_2O 'ya dönüştürülür (Trchounian et al., 2016).

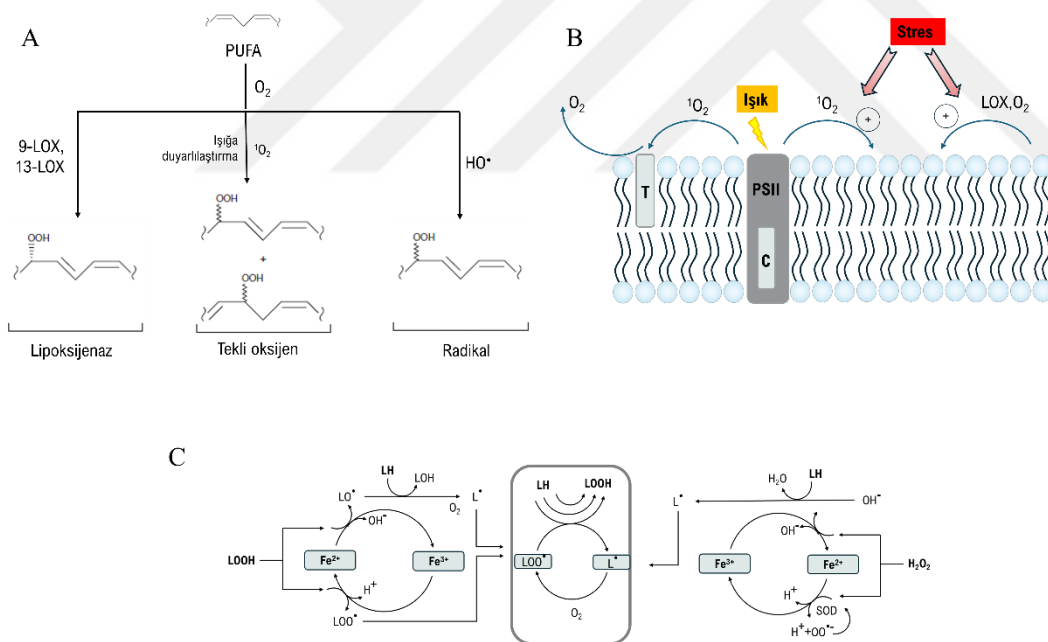
Optimal koşullar altında, ROS sürekli olarak bazal seviyede, öncelikle ışığa bağımlı süreçlerde peroksizomlarda ve kloroplastlarda ve ayrıca ışıktan bağımsız bir şekilde mitokondride üretilir (Farooq et al., 2019). Her ne kadar artan ROS üretimi proteinleri, DNA'yı ve lipitleri doğrudan oksitleyerek hücrelere zarar verebilse de çeşitli ROS'ların bu hücresel bileşenlere karşı farklı derecelerde reaktiviteleri olduğu bilinmektedir (Elstner, 1982). Genel olarak yapısal proteinler, iyon kanalları/taşıyıcılar, sinyal iletim bileşenleri, transkripsiyon faktörleri, enzimler vb. gibi proteinler, artan hücresel oksidasyon nedeniyle hasar görme olasılığı en yüksek olanlardır (Jacques et al., 2013). Bununla birlikte, amino asit kalıntılarının oksidatif modifikasyona karşı hassasiyeti önemli ölçüde farklılık gösterir; en duyarlı olanlar arasında sistein, histidin, metiyonin, tirozin ve triptofan bulunur. Bunlar arasında sistein ve metiyonin amino asitlerindeki kükürt atomunun kimyasal özellikleri, onları peptit zincirleri içindeki ana oksidasyon merkezleri haline getirir. Proteinlerin spesifik amino asitlerde ROS tarafından hedeflenen modifikasyonu özellikle önemlidir çünkü spesifik (oksidatif) sinyal yollarını başlatabilecek lokal protein konformasyonel değişikliklerine neden olur (Farooq et al., 2019).

2.2.2.2 Reaktif karbonil türleri (RCS) ve oluşma yolları

ROS üretimi, doğası gereği aerobik hücrelerdeki redoks reaksiyonlarıyla ve dolayısıyla diğer reaktif türlerin oluşumu ile yakından ilişkilidir (Halliwell and Gutteridge, 2015). Bitkilerde, hücre içi ROS seviyeleri çevresel stres, biyotik stres, fitohormonlar ve gelişimsel sinyaller tarafından değiştirilir ve ROS'taki artışlar, hücrelerin yeni koşullarda oksidatif sinyalleme ile hayatta kalmalarını sağlayacak şekilde yeniden programlanmasına veya oksidatif stres nedeniyle hücre ölümünü tetikleyen yolların aktifleşmesine neden olur (Biswas and Mano, 2021). Özellikle ROS diğer reaktif türlerin oluşumuyla yakından ilişkili olduğundan, çeşitli fizyolojik durumlarda hücre kaderini belirlemede kritik ajanlardan biri olarak kabul edilmektedir (Mittler, 2017; Waszczak et al., 2018). ROS üretim bölgeleri sıklıkla membranlarla ilişkilidir ve özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) olmak üzere yağ asitlerinin ROS tarafından lipit peroksitlere (LOOH'ler) oksitlendiği bilinmektedir (Asada, 2006). ROS'un lipit oksidasyonundaki ve LOOH'nin çeşitli karbonillere bozunmasındaki kritik rolünün, 1980'lerde yüksek sıcaklıklarda

yemeklik yağdaki bozulma mekanizmasının kapsamlı araştırılmasıyla ortaya çıkarıldığı bilinmektedir (Grosch, 1987). Lipid peroksidasyonu yoluyla karbonillerin enzimatik olmayan oluşumunun mekanizması hakkındaki mevcut bilgilerimiz bu deneylerden köken almaktadır (Halliwell and Gutteridge, 2015).

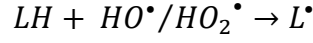
Temel olarak bakıldığında, hücrelerde RCS oluşumu enzimatik olmayan ve enzimatik lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan iki temel yolak ile ortaya çıkar (Yalcinkaya et al., 2019a; Biswas and Mano, 2021). Enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu (nLPO) radikal katalizli mekanizmalar veya ışığa duyarlılaştırıcı katalizli $^1\text{O}_2$ üretimi ve ardından lipitlere $^1\text{O}_2$ eklenmesi olarak; enzimatik lipid peroksidasyonu (eLPO) ise LOX katalizli oksijenasyon olarak adlandırılmaktadır. Tüm bu peroksidasyon reaksiyonlarının kapsamı, bu dokularda üretilen ROS'ların doğası nedeniyle, ışığı toplayan dokular ve yer altı dokuları arasında niceliksel olarak farklılık göstermektedir (Farmer and Mueller, 2013) (Şekil 2.11).



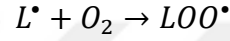
Şekil 2.11 Lipid peroksidasyon mekanizmaları. (a) Çoklu doymamış yağ asitlerinin lipoksijenazlar (LOX'ler), tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) ve radikaller tarafından oksidasyonu (b) Fotosentetik dokularda membran peroksidasyonunun baskın olan mekanizması. (c) Fotosentetik olmayan dokularda membran peroksidasyonunun baskın mekanizması olan radikal kataliz reaksiyonları (Farmer and Mueller, 2013'ten uyarlanmıştır.)

nLPO yolağı ile RCS oluşumunda ROS'un, membran lipitlerinin, özellikle de PUFA'ların yağ asidi kuyruklarıyla reaksiyona girdiğı ve LOOH oluşumuna yol

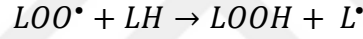
açabileceği iki durum vardır (Yalcinkaya et al., 2019a; Biswas and Mano, 2021). Radikal katalizli mekanizmalar olarak adlandırılan ilk durumda; $HO^\bullet$ ve hidroperoksil radikali ($HO_2^\bullet$), PUFA'dan bir hidrojen atomunun çıkarılmasıyla sonuçlanan radikal zincir reaksiyonlarını başlatır ve sonuç olarak bu PUFA'dan bir lipit radikali ($L^\bullet$) oluşur:



Bu $L^\bullet$ daha sonra moleküler oksijenin (O_2) eklenmesiyle bir lipit peroksil radikali ($LOO^\bullet$) oluşturur:

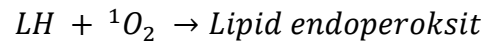


Son olarak, $LOO^\bullet$ komşu bir lipit molekülünden bir hidrojen atomunu alarak $LOOH$ 'yi ve yeni bir $L^\bullet$ oluşturur:

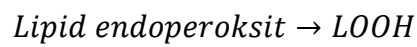


Bu oluşan yeni $L^\bullet$ denklemlerin zincirleme reaksiyonuna ve daha birçok $LOOH$ 'un oluşmasına yol açabilir. Bu nedenle bu $LOOH$ oluşumuna radikal zincir reaksiyonları denir (Chan et al., 1982).

Işığa duyarlılaştırıcı katalizli $^1O_2$ üretimi ve ardından lipitlere $^1O_2$ eklenmesi olarak bilinen ikinci nLPO yolağında ise; tekli oksijen $^1O_2$, PUFA'nın çift bağıyla etkileşime girer ve bir lipit endoperoksit oluşturur:



Bu lipit endoperoksit daha sonra henüz bilinmeyen mekanizmalarla $LOOH$ 'ye dönüştürülür, ancak ışık bunda rol oynayabilir:



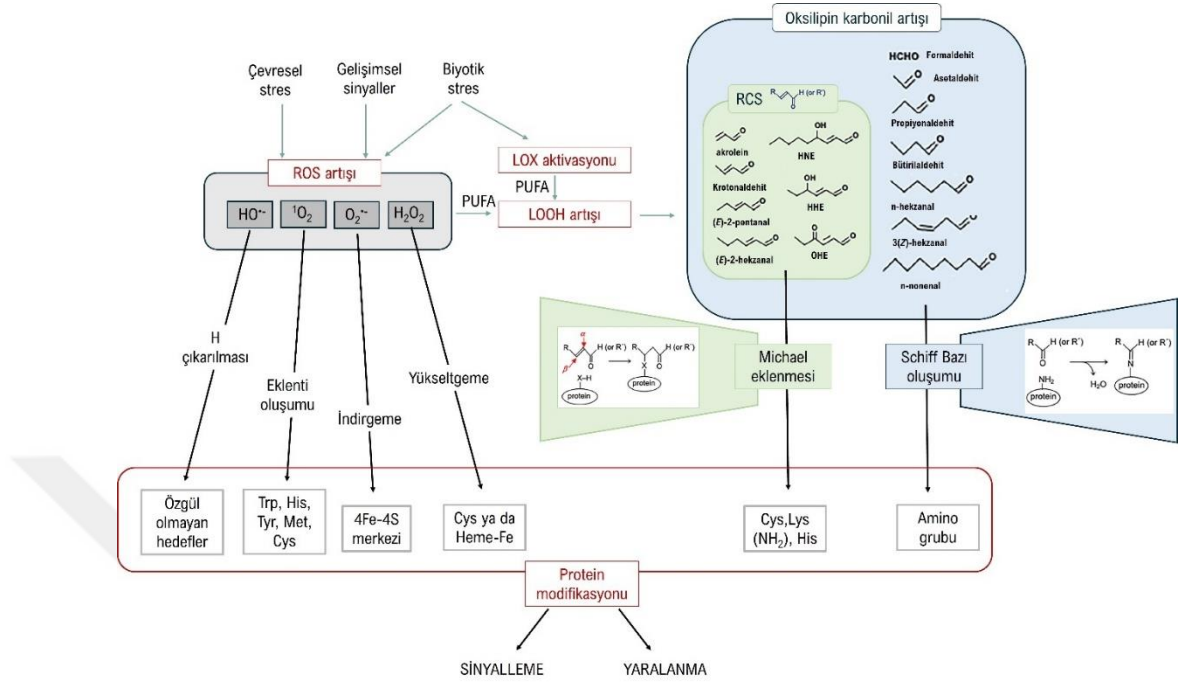
Bunun muhtemel nedeni $^1O_2$ oluşumunun fotosentezle olan yakın ilişkisidir. Sağlıklı fotosentetik bitki dokularında meydana gelen lipit peroksidasyon

reaksiyonlarının çoğu, enerjinin uyarılmış klorofilden temel durum O_2 'ye aktarılmasıyla oluşturulan, PSII'de ışık yakalamanın radikal olmayan bir elektrofilik yan ürünü olan $^1O_2$ tarafından başlatılır (Krieger-Liszkay, 2005; Halliwell, 2006; Triantaphylidès et al., 2008). Fotosentetik olmayan dokularla karşılaştırıldığında, fotosentetik dokularda yüksek $^1O_2$ oluşumu nedeniyle radikal reaksiyonların daha az baskın olduğu, fotosentetik olmayan dokularda ise radikal reaksiyonların hakim olduğu bazal nLPO'nun, yaprak plastidlerinde olduğundan daha düşük olduğu gösterilmiştir (Triantaphylidès et al., 2008).

Özetle; LOOH'ler, ROS tarafından enzimatik olmayan bir şekilde membran lipidlerinden $HO_2^{\bullet}$ radikalini oluşturmak için radikal zincir reaksiyonları ve endoperoksit oluşturmak için tekli oksijenin eklenmesi mekanizmaları ile oluşturulur. Her iki ürün de LOOH'lere dönüştürülür (Halliwell and Gutteridge, 2015). $HO_2^{\bullet}$ radikali komşu bir lipid molekülü ile reaksiyona girerek iki lipid molekülünden oluşan bir peroksit köprüsü oluşturabilir (Schaller, 2001). Bazı LOOH türlerinin yalnızca $^1O_2$ yoluyla üretildiği, ancak radikal mekanizma yoluyla üretilmediği bilinmektedir. Buna dayanarak, yoğun ışık altında $^1O_2$ 'ye bağımlı LOOH oluşumu, LOOH türlerinin Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC/MS/MS) analizi ile kanıtlanmıştır (Triantaphylidès et al., 2008).

Bu iki nLPO yolundan herhangi biriyle üretilen LOOH'ler, daha sonra hücre içinde metabolize edilir veya enzimatik olmayan bir şekilde "oksilipin karboniller" olarak adlandırılan çeşitli aldehitlere ve ketonlara ayrışır (Blée, 1998). Bu süreçte bir karbonil grubu, bir amino grubuyla bir Schiff bazı oluşturabilir ve dolayısıyla LOOH'ler potansiyel protein değiştiriciler olarak sınıflandırılmaktadırlar. Oksilipin karboniller arasında α,β -doymamış bağına sahip olanlar, β -karbonlarının yüksek elektrofiliği nedeniyle proteinler (özellikle sistein, histidin ve lizin amino asitlerinin bulunduğu bölgeler) veya nükleik asitler (özellikle guainin bazının bulunduğu bölgeler) üzerinde bir nükleofilik grupla bir Michael eklentisi oluşturabildiklerinden RCS veya oksilipin RES olarak gruplandırılırlar (Esterbauer et al., 1991; Mano, 2012; Farmer and Mueller, 2013; Mano et al., 2019). Bu kimyasal özellik, RCS'ye, ROS tarafından başlatılan sinyallere/proteinlere verilen hasara aracılık etme potansiyeli verir; bu, RCS'nin, ROS gibi, hücre içi seviyelerine

bağlı olarak organizmalarda hem "olumlu" hem de "olumsuz" etkilere neden olabileceğini ifade etmektedir (Kranter et al., 2010) (Şekil 2.12).

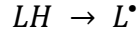


Şekil 2.12 Oksilipin karbonlarının metabolizması ve reaksiyonları. ROS ve oksilipin karbonlarının oluşumu ve bunların protein yoluyla sinyalleşmeye ve yaralanmaya neden olan eylemleri (Biswas and Mano, 2021'den uyarlanmıştır.)

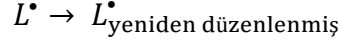
Alternatif olarak, LOOH, lipoksijenazlar (LOX'ler) ile enzimatik olarak (eLPO) üretilir ve daha sonra topluca oksilipinler olarak adlandırılan, jasmonik asit, 12-okso-fitodienoik asit (OPDA), çeşitli RCS ve RCS olmayan karbonilleri içeren bileşiklere dönüştürülür (Blée, 1998; Schaller, 2001; Matsui, 2006). Bitkilerdeki enzimatik lipid oksidasyonu ve oksilipin metabolizması, enfeksiyon ve yaralanmayla ilgili hücre tepkileri olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

eLPO yolağında, LOX'ler, hidroperoksitler ve LOOH'ler oluşturmak için bir veya daha fazla (1Z,4Z)-pentadien kısmı içeren PUFA'ları oksijenlendirir (Sonmez et al., 2024). Bitkilerde bu kısmı içeren iki ana PUFA, linoleik asit (18:2) ve linolenik asittir (18:3). Reaksiyon özellikleri dikkate alındığında LOX'ler, 9-LOX ve 13-LOX enzimlerine karşılık gelen linoleik asit üzerinde oksijenlendirdikleri karbon atomuna göre (9. veya 13. karbon) sınıflandırılmaktadır (Feussner and Wasternack, 2002; Andreou and Feussner, 2009). On sekiz karbon içeren lipidler

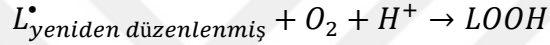
için LOX reaksiyonu, bitkilerde on birinci karbondan hidrojen atomu çıkarılmasıyla başlar:



Bunu oluşturan radikal için bir yeniden düzenleme takip eder;

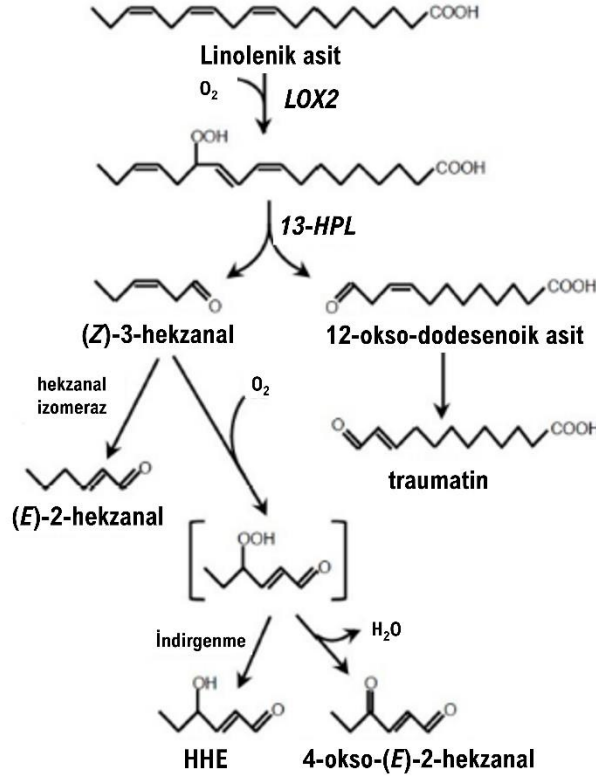


Son olarak, başlangıçtaki hidrojen çıkarma bölgesinin [+2] veya [-2] noktasında oksijen ve proton eklenmesiyle reaksiyon sona erer ve dokuzuncu veya on üçüncü karbonda -OOH oluşumuyla sonuçlanır:



LOX, çoklu doymamış bir yağ asidine O₂ eklenmesini katalize eden, hem grubu içermeyen fakat demir içeren bir enzimdir. Bitki türlerinin birden fazla LOX izoenzimi vardır; örneğin *A. thaliana*'nın, substrattaki oksijenli karbonun pozisyonuna ilişkin farklı özelliklere sahip altı LOX'u vardır (Boeglin et al., 2008; Bannenberg et al., 2009). LOOH ürünleri, bitkinin patojenlere ve otçullara karşı korunmasına katkıda bulunan çeşitli oksilipinleri oluşturmak üzere hızla metabolize edilir (Kishimoto et al., 2005; Shiojiri et al., 2006; Sugimoto et al., 2014).

A. thaliana'da, RCS'lerin enzimatik oluşumu (Z)-3-heksenal ve 12-okso-dodekadienoik asitin, LOX2 ve 13-hidroperoksit liyaz (13-HPL) reaksiyonları yoluyla linolenik asitten oluşması ile başlar (Mochizuki et al., 2016). (Z)-3-Heksenal ayrıca heksenal izomeraz ile bir RCS olan (E)-2-heksenal'e izomerleştirilir (Kunishima et al., 2016; Spyropoulou et al., 2017). (Z)-3-Heksenal potansiyel olarak oksijenasyon yoluyla diğer RCS, 4-hidroksi-(E)-2-hekzenal (HHE) ve 4-oxo-(E)-2-hekzenal (OHE)'yi üretir ancak bu süreç dahil olan enzimler hala bilinmemektedir (Gardner, 2016) (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 *A. thaliana*'da linolenik asitten (18:3) enzimatik RCS oluşumu. LOX2 ile oksijenasyon, gösterildiği gibi 13 hidroperoksooktadekatrienoik asit (13 HPOTE) üretirken, 9-LOX izozimiyle 9 HPOTE üretilir. 13 HPOTE, 13 hidroperoksit liyaz (13-HPL) tarafından bölünürken, 9 HPOTE, 9-HPL izoenzimiyle C9 aldehytleri üretir. Reaksiyon, linoleik asit (18:2) gibi farklı doymamış yağ asitleri ile başladığında, benzer bir dizi enzim reaksiyonu yoluyla diğer aldehit grupları oluşturulur. (Mano et al., 2019a'dan uyarlanmıştır.)

eLPO mekanizması detaylı incelendiğinde, LOX aktivasyonunun ilk adımının, çözünabilir LOX proteininin membran lipidleri ile ilişkilendirilmesi olduğu görülmektedir. Hücre yapısı mekanik yaralanma nedeniyle bozulduğunda Ca^{2+} iyonu, tutulan bölgelerden salınır ve LOX proteininin N-terminal alanına (PLAT alanı) bağlanır (Hammarberg et al., 2000). PLAT alanına Ca^{2+} iyonunun bağlanması yapısal yeniden düzenlenmeye neden olur, böylece LOX'un hidrofobik bir alanı hidrofobik membranlarla etkileşime girebilir (Kulkarni et al., 2002). Hücre yapısının mekanik yaralanma nedeni ile bozulmasının yanı sıra, LOX aktivitesinin abiyotik stres faktörlerinden etkilenebildiği çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin 9-LOX ve 13-LOX'un elisitör kriptogen tarafından aktive edildiği koşulda, yapraklar üzerindeki yoğun aydınlatmanın, ROS aracılı LOOH üretimini arttırdığı, LOX'e bağımlı LOOH üretimini azalttığı gösterilmiştir (Montillet et al., 2005). Başka bir çalışmada ise, kadmiyumun 13-LOX'u aktive ettiğini öne sürülmüştür (Montillet et

al., 2004). Çevresel etmenlere bağlı olarak LOX aktivitelerindeki bu tür değişikliklerin, hücrel LOOH kompozisyonunu ve dolayısıyla RCS kompozisyonunu değiştirebileceği görülmektedir.

Kloroplastlar ve mitokondri gibi ROS üreten organellerdeki membranların RCS kaynakları olması beklenmektedir. Kloroplastlarda RCS ve RCS olmayan karbonillerin yapısal oluşumu, *A. thaliana*'nın ve yabancı tipe göre yapraklarda daha düşük linolenik asit (18:3) ve daha yüksek linoleik asit (18:2) içeriğine sahip ve kloroplastta n-3 yağ asidi biyosentezinin eksikliğine neden olan *fad7fad8* mutantının yapraklarında stressiz koşullar altında akrolein, krotonaldehit ve HHE gibi RCS ve formaldehit, asetaldehit ve bütiraldehit gibi RCS olmayan karboniller için yabancı tiptekilerden önemli ölçüde daha düşük karbonil seviyeleri gözlemi ile gösterilmiştir (Mano et al., 2014a). Bu çalışma ile karbonillerin stressiz fizyolojik koşullarda bile kloroplasttaki n-3 yağ asitlerinden üretildiği sonucuna varılmıştır. Ek olarak, tütün yaprakları üzerinde güçlü aydınlatma uygulamasının, akrolein ve (E)-2-heksenal seviyelerini arttırdığı ve fotoinhibisyona neden olduğu ve RCS'nin kloroplastta üretildiğini düşündürmektedir (Mano et al., 2010).

Işığa bağlı artışlar, bu RCS ve RCS olmayan karbonillerin kloroplastlarda üretildiğini göstermektedir. Isı stresine maruz kalan *A. thaliana* yapraklarında Işık toplayıcı kompleks II (LHCII) anten proteininin akrolein, krotonaldehid ve MDA ile modifiye edildiği bulunmuştur (Yamauchi et al., 2008). Bu da tilakoid membranının bu RCS'nin kaynağı olduğunu göstermektedir. *A. thaliana* hücrelerinin kültüre edildiği durumlarda H₂O₂, menadion veya antimisin A uygulaması sonucunda, mitokondriyal matriks ve membranlardaki birçok proteinin HNE ile modifiye edildiği bulunmuştur, bu da oksidatif stres altında mitokondride RCS oluşumunun açık bir kanıtıdır (Winger et al., 2007). Tuz stresi altındaki bitkilerde ise sitozol ve peroksizomdaki proteinlerin yanı sıra kloroplast ve mitokondride de HNE modifikasyonu arttığı, bu durumun her organelin membranlarının RCS kaynağı olabileceği sonucuna işaret etmektedir (Mano et al., 2014b). Birçok apoplastik proteinin yüksek oranda RCS ile modifiye edilmiş olması plazma zarının da RCS üretimine katkıda bulunduğunu ifade etmektedir (Mano et al., 2019) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Proteomik analizlerden elde edilmiş RCS ile modifiye edilmiş veya RCS tarafından etkisiz hale getirilmiş bitki proteinlerinin listesi (Winger et al.2007; Mano et al., 2014b ve Mano et al., 2019'dan uyarlanmıştır.)

Hücredeki lokasyonu	Protein	RCS	Etkisi	Referans
Mitokondri	• GDC H-SU ve diğer lipoat enzimleri	HNE	Modifikasyon, inaktivasyon	Taylor et al., 2002
	• Alternatif oksidaz	HNE	İnaktivasyon	Winger et al., 2005
	• Süksinat dehidrojenaz α alt birimi	HNE	Modifikasyon	Winger et al., 2007
	• ATP sentaz β alt birimi			
	• Pirüvat dehidrojenaz E1 β alt birimi			
	• Uzama faktörü Tu			
Kloroplast	• Voltaj bağımlı anyon kanalı	HNE	Modifikasyon	Winger et al., 2007
	• Adenin nükleotid translokator			
	• OEC33	MDA	Modifikasyon	Yamauchi et al., 2008
	• LHCI	Akrolein	İnaktivasyon	Mano et al., 2009
	• Fosforibulokinaz			
	• Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz			
Sitozol	• Fruktöz-1,6,-bisfosfataz	HNE	Modifikasyon	Mano et al., 2014b
	• Siklofilin 20-3			
		OPDA	Modifikasyon, aktivasyon	Parl et al., 2013
Sitozol	• Triozfosfat izomeraz	HNE	Modifikasyon	Mano et al., 2014b
	• Sistin sentaz			
	• Askorbat peroksidaz			
Sitozol	• Isı şoku 70 kDa kökenli protein 3	Akrolein , HNE	Aktivasyon	Biswas and Mano, 2016
	• C1LP, C3LP			
Peroksizom	• Nitril-belirtici protein 5	HNE	Modifikasyon	Mano et al., 2014b
	• Glisin zengini RNA bağlanma proteini 7			
	• Nükleotid difosfat kinaz			
Apoplast	• Germin benzeri protein alt ailesi 3 numara 1	HNE	Modifikasyon	Mano et al., 2014b
	• Peroksidaz 34			

Yapılan tüm bu çalışmalar, ROS'tan farklı olarak RCS'nin yüksek kimyasal stabilite sergileyerek üretildikleri noktalardan uzak bölgelerde yayılmasına ve etkilerini göstermesine olanak tanıdığını göstermektedir. Bununla birlikte, güçlü elektrofilitiklikleri nedeniyle RCS, proteinler, nükleik asitler ve lipitlerdeki nükleofilik gruplarla kolayca kovalent bağlar oluşturur ve bu da hücresel yapıyı bozan ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) ve ileri lipoksidasyon son ürünlerinin (ALE'ler) oluşumuna yol açar. RCS'nin aynı zamanda, savunmayla ilişkili gen ekspresyonunun aktivasyonu ve hormonal yolların modülasyonu gibi stres yanıtlarını düzenleyen sinyal yollarında rol oynadığı bilinmektedir (Biswas and Mano, 2021). Bitkilerde ROS ve RCS arasındaki etkileşim, bu reaktif moleküllerin hem haberci hem de stres etkeni olarak görev yaptığı, sıkı bir şekilde düzenlenmiş bir ağı yansıtır. İkili rolleri, değişken çevresel koşullar altında hücresel homeostazisi ve esnekliği sağlamak için hassas kontrol mekanizmaları aracılığıyla hassas bir dengeyi korumanın önemini vurgulamaktadır.

2.2.2.3 Diğer reaktif türler ve oluşma yolları

Bitkiler, abiyotik streslere, birçok sinyal yolağının hem metabolik hem de moleküler seviyede etkileşimini ve enterferansını içeren olağanüstü derecede karmaşık ve koordineli bir şekilde yanıt verir. Bunlar arasında en yaygın görülen yanıt, ROS, RNS, RCS ve RSS dahil olmak üzere reaktif kimyasal türlerin üretilmesidir (Kaur et al., 2019). ROS ve RNS hem zarar verici hem de koruyucu etkileri nedeniyle uzun süredir bitki araştırmacılarının ilgisini çekmiş olsa da nispeten daha yeni reaktif üyeler olan RCS ve RSS'nin oynadığı benzer rolleri doğrulayan çeşitli çalışmalar artan bir ivme ile ortaya çıkmaktadır (Zhou et al., 2021). Bitki reaktif türler aynı zamanda birçok bitki metabolik işleminde düzenleyici rol oynayan sinyal molekülleri olarak da kabul edilmektedir ve bu reaktif türler bitki hücresi fonksiyonlarının neredeyse tüm yönlerinde yer almaktadır (Rai and Kaushik, 2023). Reaktif türler ve antioksidan mekanizmanın birlikte çalışması, stres koşulları altında bozulan hassas ancak kritik bir hücresel redoks dengesini koruduğu bilinmekte ve bu türlerin biyosentez, taşıma, temizleme ve genel metabolizmasının bitkinin hayatta kalması için belirleyici hale geldiği çalışmalarla gösterilmektedir (Medrano-Macías et al., 2022). Reaktif türlerin genel metabolizması, reaktif türlerin farklı hücresel bölümlerde

(mitokondri, kloroplast, vakuol, peroksizomlar, sitoplazma ve hücre zarı gibi) oluşumunu, reaktif türlerin etkileşimlerini içeren temel hücrel etkileşimlerin analiz edilmesiyle değerlendirilebilir (Zhou et al., 2021). Reaktif türler, diğer sinyal molekülleriyle sinyalleşme olayları ve bunların zarar verici etkileri sırasında etkileşime girer ve çeşitli yollarla temizleme yapar (Kohli et al., 2019).

ROS'a benzer şekilde, RNS, hem nitrik oksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO₂) gibi nitrojen içeren radikallerden hem de nitrat (NO₃⁻), nitroz asit (HNO₂), peroksinitrit (ONOO⁻), nitroksil anyonu (NO⁻), nitrosonyum katyonu (NO⁺), dinitrojen tetroksit (N₂O₄) ve dinitrojen trioksit (N₂O₃) dahil olmak üzere radikal olmayan bileşiklerden oluşur (Khan et al., 2014). Bu RNS'lerin arasında NO, hücrelerin ana RNS ürünü ve aynı zamanda diğer RNS'lerin de birincil kaynağı olarak kabul edilmektedir (Arasimowicz-Jelonek et al., 2014). NO, biyolojik sistemlerde, nispeten uzun bir yarı ömre sahip (3-5 s olduğu tahmin edilen) gaz halinde bir serbest radikaldır (Henry et al., 1997; Tuteja et al., 2004). NO, yüksek difüzyonlu (H₂O'da $4,8 \pm 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), hidrofobik özellikler sergileyen en küçük diatomik moleküllerden biridir. Böylece NO yalnızca sitoplazmada kolayca göç etmekle kalmaz, aynı zamanda çeşitli biyolojik hedeflerle geniş bir etkileşim yelpazesi uygulayarak biyomembranların lipid fazı boyunca serbestçe yayılabilir (Arasimowicz and Floryszak-Wieczorek, 2007; Kovacs and Lindermayr, 2013). NO hem oksidasyona hem de indirgenmeye son derece duyarlı olduğundan, NO'nun serbest radikal formu fizyolojik koşullar altında diğer redoks formlarına dönüştürülebilir. NO'nun tek elektronlu oksidasyonu NO⁺ oluşumuna yol açarken, NO'nun tek elektronlu indirgenmesinin ürünü nitroksil radikaldır (HNO) (Stamler, 1994). Oldukça reaktif bir tür olan NO, atmosferik oksijen varlığında NO₂[•], N₂O₃ ve N₂O₄ dahil olmak üzere hücrel aminler ve tiyollerle reaksiyona girebilen veya NO₂⁻ ve NO₃⁻ 'ye hidrolize olabilen diğer oksitleri oluşturur (Wendehenne et al., 2001). NO, O₂⁻ ile kolayca reaksiyona girerek ONOO⁻'yu oluşturur (Arasimowicz-Jelonek et al., 2014). Bitkilerde enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler de dahil olmak üzere çeşitli potansiyel NO kaynakları bulunmaktadır (Wilson et al., 2008; Mur et al., 2013; del Río et al., 2014). Ek olarak, farklı bitki türlerinden elde edilen ekstraktlarda L-arginin bağımlı nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesine ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır (Cueto et al., 1996; Jasid et al., 2006; Zhao et al., 2007) (Tablo 2.3). Bitki sistemlerinde NO'nun üretildiği hücre altı bölgeler hakkında çok

az bilgi bulunmaktadır. Peroksizomlarda NOS aktivitesinin varlığı ilk olarak bitki dokularında gösterilmiştir (del Río, 2015). Peroksizomların yanı sıra NO üretiminin açıkça gösterildiği diğer hücre organelleri mitokondri ve kloroplastlardır (Jasid et al., 2006; Gupta and Kaiser, 2010).

Tablo 2.3 Bitkilerdeki ana NO kaynakları (Corpas et al., 2009 ve del Río, 2011, 2015'ten uyarlanmıştır.)

	Kaynak	Substrat
Enzimatik olmayan	NO_2^-	Asidik pH (Askorbat)
Enzimatik olan	Nitrat redüktaz	$\text{NO}_2^- + \text{NADH}$
	NOS-benzeri aktivite	L-Arg+NOS kofaktörleri
	Peroksidaz	Hidroksiüre+ H_2O_2
	Plazma membranı	NO_2^- + indirgenmiş Cyt c
Organeller	Mitokondri	NO_2^-
	Peroksizom	L-Arg+NOS kofaktörleri
	Kloroplast	NO_2^- ve L-Arg

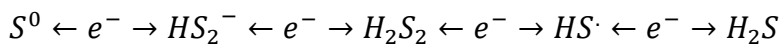
NO'nun, O_2 varlığında GSH ile bir S-nitrosilasyon reaksiyonu yoluyla reaksiyona girerek, farklı bitki türlerinde varlığı bilinen NO biyoaktivitesinin önemli bir mobil rezervuarı olan S-nitrosoglutasyonu (GSNO) oluşturabildiği gösterilmiştir (Ortega-Galisteo et al., 2012; Corpas et al., 2013a; Kubienová et al., 2014). NO ve GSNO'nun bitki dokularındaki varlığı ve ONOO⁻ üretiminin bir sonucu olarak, bitkilerde S-nitrosilasyon ve proteinlerin nitrasyonu gibi doğal ve stres koşulları altında önemli kovalent PTM'ler meydana gelebilir (Corpas et al., 2013b; Romero-Puertas et al., 2013). Öte yandan, ONOO⁻ üretimi, bitki proteinlerinde tirozin nitrasyonu üretebilir ve bitki hücrelerinde nitrozatif hasara neden olabilir, ancak bazal endojen nitrasyonun da düzenleyici bir işlevi olabilir. Bezelye bitkilerinde immün-altın etiketlemesi sonrası elektron mikroskopu ile elde edilen son sonuçlar, peroksizomlar, kloroplastlar, mitokondri ve sitozol dahil olmak üzere yaprak hücrelerinin farklı hücre altı bölümlerinde nitratlanmış proteinlerin varlığını göstermiştir (Barroso et al., 2013). Ayrıca, izole edilmiş bezelye yaprağı peroksizomlarının proteomik analizi, peroksizomal NADH'ye bağımlı hidrokspiruvat redüktazın nitrasyonun bir hedefi olduğunu ve ONOO⁻ ile gerçekleşen bu reaksiyonun, enzimde bir fonksiyon kaybına yol açtığını göstermiştir (Corpas et al., 2013c)

NO'nun yanı sıra diğer RNS'lerin ROS'lar ile birlikte, bitki sistemlerinde, özellikle oksidatif hasar ve redoks sinyali yoluyla gen transkripsiyonunu indükleyerek, ikincil habercileri aktive ederek ve sonuçta tohum çimlenmesi, meyve olgunlaşması, yaşlanma, hücre duvarı lignifikasyonu, biyotik ve abiyotik stres gibi fizyolojik süreçler dahil olmak üzere çeşitli işlevleri yerine getirdiği bilinmektedir (del Río, 2015). RNS'in, hücre içinde plazma zarı, kloroplastlar, mitokondri, peroksizomlar, ER ve hücre duvarı dahil olmak üzere çeşitli organellerde hem normal koşullarda hem de stres koşulları altında üretildiği bilinmektedir (Thiruvengadam et al., 2024). Bitkilerde, NO plazma zarına bağlı nitrit redüktaz tarafından üretilir (Gupta et al., 2011). Nitrit ve nitrat, RNS sentezi için zar taşıyıcı proteinler aracılığıyla plazma zarından taşınır (Astier et al., 2018). Plazma zarıyla ilişkili ATPazlar, çevresel strese maruz kalan bitkilerde RNS biyosentezini uyaran modüle edilmiş oksinler olarak kabul edilmektedir (Hancock and Veal, 2021). Kloroplastlarda RNS oluşumu için sitozolik nitrat redüktaz, Format Nitrit Taşıyıcıları / Nitrat Asimilasyonu İlgili bileşen 1 (FNT/NAR1.1) yoluyla kloroplastlara taşınan nitrit üretir. Daha sonra, bu nitrit nitrata indirgenir ve RNS oluşturmak için NADPH ile reaksiyona girer (Misra et al., 2014). RNS ayrıca nitrat indirgemesi indükleyen NADPH yoluyla üretilir. Kloroplastlar, nitratı ayrıca glutamat ve glutamin sentezi için kullanılan nitrit ve amonyağa indirgeyerek RNS'nin aşırı birikimini azaltır (Sahay and Gupta, 2017; Hancock and Veal, 2021). Mitokondride NO redüktaz, NO'ya daha da indirgenen nitrit oluşturur ve mitokondri içindeki kompleksler III/IV yoluyla peroksi nitrat dahil RNS üretimini uyarır (Campos et al., 2019). Peroksi nitrat, mitokondriyal Q döngüsü ile daha da azalır ve $\text{NO}^\bullet$, $\text{NO}_2^\bullet$ ve NO^- oluşumuna yol açar. Bu nedenle, yüksek oranda reaktif RNS üretimi, DNA, RNA ve proteinlerin nitrasyonunu indükler (Mao et al., 2018). Ek olarak, NO, elektronların kompleks III'e akışını düzenleyerek ROS üretimini uyarır (Saha et al., 2016). Peroksizomlarda NO, ONOO^- oluşturmak için O_2^- anyonları ile reaksiyona girer, bu da proteinlerin ve diğer moleküllerin nitrosilasyonunu daha da indükleyerek diğer reaktif nitrojen türlerinin oluşumuna yol açar (Correa-Aragunde et al., 2015; Hussain et al., 2016a). Normal fizyolojik koşullar altında hücrede farklı noktalarda üretimlerine rağmen, ROS ve RNS moleküllerinin, stres koşulları altında kontrolsüz aşırı üretilerek bitki hücresinin hayatta kalmasını engelleyen nitrooksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir (Begara-Morales et al., 2018).

ROS gibi RNS'lerin de bitkilerde abiyotik strese yanıtta sinyal molekülleri olarak önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Wilson et al., 2008; Corpas et al., 2013b; Yu et al., 2014). Benzer şekilde NO, bitkilerdeki patojen saldırılarına karşı savunma yanıtında ROS ile iş birliği içinde önemli bir araçtır (Bellin et al., 2013; Trapet et al., 2015). Genel olarak, bitkiler biyotik ve çevresel strese maruz kaldığında ROS ve RNS'nin hızlı bir şekilde aşırı üretiminin gerçekleştiği gözlemlenmiştir (del Río, 2015). NO ve ROS'un hızlı üretimine verilen yanıtlar sıklıkla belirlenmiş bir PCD sürecini aktifleştirmektedir. Bu süreçte hem NO hem de ROS önemli işlevler yerine getirir. PCD, biyotik strese uğramış bitkilerde enfekte ya da zarar gören hücrelerin temizlenmesinde ve bitkini büyüme ve gelişme evrelerinde kullanılan bir mekanizmadır (Wang et al., 2013).

Hücrelerdeki redoks dengesinin bir diğer önemli elemanı ise RSS'lerdir. RSS, düşük molekül ağırlıklı kükürt içeren moleküller olarak tanımlanmakta; ayrıca proteinlerdeki oksitlenebilir kükürtlerin de hücrede RSS görevi görebildiği bilinmektedir (Gruhlke, 2019). Daha yüksek oksidasyon durumlarında tiyol, disülfür, sülfenik asit, tiyosülfat ve tiyosülfonat gibi kükürt içeren moleküllerin kükürt radikalleri gibi davrandığı gözlemlenmiştir. Kükürt, doğada oksijen gibi, -2 ila +6 oksidasyon durumuna sahip bir kalkojendir (Zhou et al., 2021).

Hidrojen sülfid (H_2S) ve diğer RSS'nin sentezi, hücresel işlevler için gerekli olan S^{2-} ve S^{0} 'nin elde edilmesini sağlayan S metabolizmasıyla birleştirilir. Aynı zamanda indirgeme potansiyelini tüketen, S^0 , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , ve $S_2O_3^{2-}$ gibi oksitlenmiş kükürt türlerini H_2S (-0.23 V) ve GSH (-0.24 V) gibi çok yüksek indirgeme potansiyeline sahip türlere dönüştüren enerji tüketen bir süreçtir (Li and Lancaster, 2013; Fuentes-Lara et al., 2019). Sıralı bir elektron oksidasyonu yoluyla H_2S 'den S^0 'a ters oksidatif süreç, til radikali ($HS^\cdot$), hidrojen persülfid (H_2S_2), persülfid süpersülfid radikali ($HS_2^\cdot$), ve elementel kükürt (S^0) gibi RSS'nin kaynağıdır (Olson, 2020).



Tablo 2.4. Bitkilerde RSS oluşumunda rol oynayan enzimler (Corpas et al.,2019 ve Rai and Kaushik, 2023'ten uyarlanmıştır.)

Hücresel lokasyon	Enzim	Kataliz edilen reaksiyon
Kloroplast	Sülfid redüktaz	$\text{SO}_3^{2-} + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 3\text{H}_2\text{O}$
Mitokondri	D-sistein desülfidraz	$\text{D-sistein} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + \text{NH}_3 + \text{pirüvat}$
	Siyanoalanin sentaz	$\text{L-Sistein} + \text{HCN} \rightarrow \rightarrow \text{H}_2\text{S}$
Sitozol	L-sistein desülfidraz	$\text{L-sistein} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + \text{NH}_3 + \text{pirüvat}$
	Sistein sentaz 1	$\text{L-Sistein} + \text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \rightarrow \text{H}_2\text{S}$

RSS üretimindeki ilk adım, sülfoksitlerin tiyosülfınatlara biyosentetik dönüşümüdür (Jacob and Anwar, 2008; Gruhlke, 2019). Substrat varlığında, enzim yüksek derecede reaktif sülfenik asit (RSOH) ve yan ürün kompleksinin oluşumunu katalize eder. Reaksiyonun devamında kompleks, RSOH'dan ayrılır ve amonyak ve piruvat ile birleşerek tiyosülfınatın (RSOSR) oluşumunu kolaylaştırır (Gruhlke and Slusarenko, 2012).

Serbest radikal bir RSS olan til radikalleri, oksidatif stres koşulları altında meydana gelen tiyol grubunun tek elektron oksidasyonu yoluyla sentezlenir; burada S atomundan bir proton, elektron yayılmasından önce veya sonra disülfid oluşumuna yol açar (Jacob and Anwar, 2008). Til serbest radikal oluşumunun kayda değer bir örneği, til radikal ara ürünlerinin ROS/RNS ve diğer enzimatik antioksidanlar tarafından RSS radikalleri oluşturmak üzere kullanıldığı bitkilerdeki çeşitli proteinlerin glutatyonilasyonu sırasında görülür (Gruhlke, 2019). Ayrıca araştırmacılar, RSSR ve RSH arasındaki tiyol/disülfid değişiminin, RSH'nin redoks potansiyellerini, daha sonra tiyol ve R'SSR'ye dönüştürülen dört tiyol radikalinden (R'SH) RS(O)SR'yi oksitleyebilecek güçlü bir şekilde potansiyel olarak değiştirebileceğini belirtmişlerdir (Giles et al., 2017).

Tiyosülfınatlar, sülfenik asit ve disülfür (R'SSR) oluşturmak üzere tiyol (R'SH) grubunu içeren herhangi bir molekülle reaksiyona girebilen, oldukça reaktif, radikal olmayan RSS'lerdir (Giles et al., 2017). Ek olarak, disülfidler stres koşulları altında kendi başlarına oksitlenebilir veya ROS/RNS tarafından tiyosülfınatlara ve daha sonra tiyosülfonatlara (R(O)2SR) bozulabilir, böylece ROS/RNS'nin RSS biyosentezine katılımı doğrulanır (Gruhlke, 2019). Eş zamanlı olarak, sülfenik asitlerin S atomunun ROS/RNS aracılı oksidasyonu, sülfenik asit oluşumuyla sonuçlanır. Sülfenik asitin S-atomu, öncekinden daha yüksek bir

oksidasyon durumuna sahiptir ve bu, bitkilerde RSS biyosentezinin öncüleri olarak kabul edilen sülfenik asidin sülfonil radikallerine daha fazla oksidasyonuna neden olabilir (Gruhlke, 2019).

İlginç bir şekilde, sülfenik asitler aynı zamanda tiyolleri disülfidlere oksitleme potansiyeline sahiptir ve aynı zamanda kümen ve linoleatın indirgenmesini başlatabilir ve bu nedenle nihai indirgeyiciler olarak da adlandırılırlar (Giles et al., 2017). O_2^- anyonları gibi, sülfenik asitler de elektrofilik ve nötrofilik özelliklere sahiptir, dolayısıyla güçlü oksitleyici ve indirgeyici ajanlar olarak hareket ederek, kükürt içeren molekülleri indirgeyerek veya sistein ve metionin gibi hücre proteinlerinden kükürt atomlarını oksitleyerek bile RSS oluşumuna yol açar (Corpas et al., 2020). Çok sayıda çalışma, protein-tiyollerin sülfenik asit aracılı oksidasyonunun $RSOH$, $RS(O)2H$, $RS(O)3H$ ve $RSSR$ 'nin oluşumuyla sonuçlanabileceğini göstermiştir (Corpas et al., 2021). Sülfenik asitler, tiyollerle kolayca reaksiyona girerek disüfitler oluşturabilen ve tiyol içeren proteinlerin katalitik verimliliğini katlanarak artıran önemli RSS molekülleridir. Ek olarak, nitrosotiyollerin (NO donörleri) hidrolizi üzerine sülfenik asitler dahil edilir, kritik biyolojik süreçler ve sinyal iletimi modüle edilir.

RSS'nin bir sinyalleme molekülü olarak çalıştığı işlevsel mekanizma, ROS/RNS sinyallesmesininkine nispeten benzerdir; yine de ilki biyokimyasal ve moleküler düzeyde daha karmaşıktır (Jacob and Anwar, 2008). Birçok araştırmacı, ROS ve RSS 'nin, kritik metabolik fonksiyonların redoks sinyaline, algılamasına ve katalizine aracılık etmek için "kavşak" olarak sistein kalıntılarını kullandığını tespit etmiştir (Gruhlke, 2019). Son çalışmalar, RSS 'nin, tiyol ($-SH$) içeren proteinler ile etkileşime girdikten sonra bir sinyal molekülü olarak işlev gördüğünü, dolayısıyla PTM'ler yoluyla persülfidasyonu düzenlediğini doğrulamıştır. Ayrıca RSS 'nin, RNS , GSH , siyanür ve yağ asitleri ile etkileşim üzerine S-glutatifonilasyon, S-nitrozasyon, S-siyanilasyon ve S-asilasyon gibi çeşitli PTM'leri modüle edebildiği gösterilmiştir (Corpas et al., 2020). RSS 'nin bitki hücrelerindeki derin biyokimyasal etkisi, bunun GR , POX ve sülfid oksidaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerle karmaşık etkileşimini ortaya çıkarmış ve böylece bitki peroksizomlarındaki kükürt metabolizmasının anlaşılmasına aracılık etmiştir (Olson, 2020). Buna uygun olarak, bu sülfid oksidazın, CAT enzimi ile birlikte, sülfidin sülfata dönüşümünü katalize

etiği ve böylece ROS üretimine katkı sunduğu gösterilmiştir (Olson et al., 2018). RSS'nin varlığı ve başlangıcı, yakın zamanda, eş odaklı lazer tarama mikroskobu (Confocal laser scanning microscopy-CLSM) ve proteomik teknikler kullanılarak *Arabidopsis*'in kök uçlarındaki ve bekçi hücrelerindeki peroksizomlarda haritalanmıştır (Pan et al., 2018; Corpas et al., 2020).

Çok az çalışma, sitozol, kloroplast, mitokondri ve peroksizomlar gibi bitkilerin farklı hücre altı bölümlerinde RSS biyosentezinin olası enzimatik yollarını tanımlamıştır. Buna karşın D-sistein desülfhidraz, siyano alanin sentaz, sülfid redüktaz, sistein sentaz ve sistein sentaz benzeri enzimlerin, aşırı iklim şartlarına maruz kalan bitkilerde RSS sinyalini modüle ettiğini gösteren çalışmalar vardır (Corpas et al., 2020; Olson, 2020). Özellikle peroksizomlara odaklanan çalışmalar son zamanlarda hızla artmıştır. Bitki peroksizomu, RSS biyosentezi ve metabolizmasında açıkça yer alan GSH, GSNO, H₂O₂ ve sülfid oksidaz gibi çeşitli sinyal moleküllerinin bulunduğu temel organeldir (Hänsch and Mendel, 2005). Son keşifler, RSS sinyalinin, sistein sülfürün peroksidasyonuna aracılık ettiğini ve bunun sonucunda sülfenilasyon olarak bilinen bir işlem yoluyla sülfenil oluşumuna yol açtığını göstermiştir. Sülfenilasyon, RSS aracılı redoks algılama ve sinyallemeyi vurgulayabilen, dolayısıyla protein katlanmasını, histon modifikasyonunu, DNA-protein etkileşimini ve diğer düzenleyici fonksiyonları modüle edebilen bir yöntem olan persülfidasyona benzerliği ile önem arz etmektedir (Huang et al., 2019). RSS sinyallemesinin mekanizmalarından biri hem sülfenilasyonun hem de persülfidasyonun hidrojen peroksidi suya indirgeyebilmesidir, bu da protein tiyollerin restorasyonunu indükleyerek bunların diğer düşük moleküler ağırlıklı tiyollerle (TRX'ler ve GSH) etkileşimini tetikler (Olson, 2019). Persülfidlenmiş proteinler ve düşük molekül ağırlıklı tiyoller arasındaki etkileşim, RSS sinyalini başlatabilen kükürt moleküllerinin depolanması ve taşınmasında aktif olarak rol oynayan polisülfid üretimiyle sonuçlanır (Huang et al., 2019). RSS sinyali aynı zamanda persülfatlanmış proteinlerin NADPH aracılı indirgenmesi üzerine de başlatılır ve peroksizomal ROS ile etkileşime girdiğinde RSS'nin üretilmesiyle sonuçlanır (Olson et al., 2017). Bazı araştırmacılar ayrıca ROS aracılı PTM'ler yoluyla sistein persülfidlerin proteinlere dahil edilmesi ile RSS sinyallemesinin vurgulanmasını savunmuştur (Palma et al., 2020). Ayrıca, peroksit sinyallemesi genellikle RSS sinyallemesi ile ilişkilidir, ancak peroksit

sinyallemesinin POX ve tiyol proteinleri arasında bir röle görevi gördüğü varsayılmaktadır. Buna uygun olarak, ortaya çıkan reaksiyon ürünlerinin (oksidanlar), POX proteinleri ile bir kompleks oluşturduğu, böylece RSS sinyallemesinin modülasyonunda yer alan oksidan sinyalleri kategorize ettiği ifade edilmektedir (Pan et al., 2020).

2.2.3 Bitkilerde reaktif türlerin detoksifikasyon mekanizmaları

Hücre bileşenlerinin aşırı oksidasyonu ve indirgenmesi eşit derecede zararlıdır, bu nedenle redoks homeostazisinin korunması çok önemlidir (Foyer and Shigeoka, 2011). Ancak stres altındaki bitki hücrelerinde reaktif türlerin üretimi artar. Özellikle ROS oldukça reaktif doğası gereği, bitki metabolizmasına müdahale eder ve karbonhidratlar, lipitler, proteinler, DNA ve diğerleri gibi temel hücresel bileşenlere önemli hasara neden olur (Raja et al., 2017). NO, H₂S ve H₂O₂ gibi sinyal moleküllerinin artı ının antioksidan sistemi uyardığı bilinmektedir. (Fujita and Hasanuzzaman, 2022). Bu nedenle bu durum reaktif türlerin üretimi ile antioksidan aktivite arasındaki dengeyi bozarak bitkilerde oksidatif strese yol açmaktadır (Hasanuzzaman et al., 2020a). Bitkilerde antioksidan savunma sisteminin  nemi, PCD sürecini geciktirdiği için stresli ortamlardaki bitkiler için çok önemlidir. Bitkilerde aşırı üretilen reaktif türleri temizleyecek yeterli antioksidan yokluğunda, hücresel organeller faaliyetlerini düzgün bir şekilde sürdüremezler, bu da lipit peroksidasyonuna, oksidasyonun neden olduğu protein hasarına, DNA moleküllerinin ve nükleik asitlerin parçalanmasına ve çeşitli enzim inhibisyonlarına neden olur (Dumanovi  et al., 2021). Antioksidan savunma sistemi, etkili reaktif türlerin detoksifikasyonunu, membranlarda lipid peroksidasyonunun azalmasını ve oksidasyonu geciktirerek ve stres altında DNA ve nükleik asit hasarlarını kontrol ederek protein hasarının önlenmesini sa lar. Böylece genel hücresel koruma sağlanarak bitkilerin stres toleransı yetenekleri sağlanır (Fujita and Hasanuzzaman, 2022).

Tanım gereği antioksidanlar, serbest radikal reaksiyonlarını inhibe edebilen veya s nd rebilen ve hücre hasarını geciktirebilen veya önleyebilen molekülleri temsil eder ve oksitlenebilecek potansiyel substrattan daha düşük konsantrasyonlarda, oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirir veya engeller (Nimse

and Pal, 2015; Dumont and Rivoal, 2019). Bitkilerde antioksidan savunma sisteminin kapasitesinin artırılması oksidatif strese karşı temel adaptif yanıttır (Fatma et al., 2021). Bu dengeyi korumak adına, bitkiler antioksidatif aktiviteye sahip bileşikler açısından son derece zengindir. Antioksidatif koruma türden türe farklılık gösterse de varlığı her yerde mevcuttur (Wachter et al., 2005; Pulido et al., 2009, Vivancos et al., 2010a,b). Sistem temel olarak askorbik asit (Asc), GSH, α - tokoferol, fenolik bileşikler, flavonoidler, alkaloidler ve protein olmayan amino asitler ile birlikte diğer antioksidan enzimler gibi bazı düşük molekül ağırlıklı enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından korunur (Hasanuzzaman et al., 2020b). Benzer şekilde, POX, GST, SOD, GPX, CAT, DHAR, APX, monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve GR dahil olmak üzere bir dizi antioksidan enzim bu savunma sistemiyle ilişkilidir (Hasanuzzaman et al., 2018b). Diğer ksenobiyotikler ve elektrofilik bileşikler, GST ve GPX enzimleri tarafından daha az tehlikeli moleküllere dönüştürülür ve sonunda hücre dışı boşluklarda tutulur (Hasanuzzaman et al., 2021).

Antioksidanlar serbest radikallerin neden olduğu hasarlara karşı ilk savunma hattıdır ve bitki hücrelerinin optimum sağlığı için kritik öneme sahiptirler. Bitki antioksidanları, çok çeşitli mekanizmalar ve işlevler yoluyla bitki gelişimine yardımcı olmada önemli bir rol oynar (Rajput et al., 2021). Antioksidanlar, farklı sinyal iletim yollarındaki sinyal molekülleri ile bitki hormonları arasında yakın senkronizasyon içinde çalışır. Başlangıçta stres sinyali algılanır, ardından bitki stres koşullarıyla başa çıkmak için gereken fizyolojik tepkiye göre hormon sentezler. Sentezlenen hormon bitki sistemi boyunca yayılır ve gen ifadesindeki değişiklikleri modüle etmek için sinyal yolunu tetikler. Daha sonra antioksidan enzimler sentezlenir ve bitki hücresinin oksidatif stres nedeniyle üretilen yüksek düzeydeki reaktif türleri temizlemesine yardımcı olur, böylece redoks potansiyeli korunur ve bitkinin stres koşulları sırasında gelişmesine yardımcı olur (Apel and Hirt, 2004; Rajput et al., 2021).

2.2.3.1 Reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyon mekanizmaları

Bitkiler gibi aerobik organizmaların varlığı, enerji üretim sistemleri için oksijene bağlıdır. Ayrıca bitkiler fotosentez sırasında O_2 de üretirler. Moleküler

oksijen uyarılarak ROS oluşturulabilir. Bu ROS, $^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^{\bullet-}$, $^{\bullet}\text{OH}$ ve H_2O_2 'yi içerir (Mittler, 2017; Soares et al., 2019). Yan ürün olarak toksik ROS üretimi mitokondri, kloroplast, peroksizom ve apoplast gibi çeşitli hücresel bölgelerde meydana gelir (Xie et al., 2019). Normal koşullar altında, bitkilerdeki antioksidan savunma sistemi bileşenlerinin koordineli eylemiyle ROS'un üretimi ve temizlenmesi arasında bir denge vardır (Foyer and Noctor, 2005). Normal büyüme koşulları sırasında daha düşük seviyede ROS üretimi, antioksidan savunma sistemlerinde pozitif bir yanıtın indüklenmesi için önemli hücre içi ve hücreler arası sinyalleşme süreçlerinde ve hücresel çoğalma, farklılaşma veya stres adaptasyon mekanizmaları gibi biyolojik süreçlerde rol alır (Mittler, 2017).

Öte yandan, ROS üretimi ve temizleme arasındaki orantısızlık, stres koşulları altında normal hücresel fonksiyonu engelleyen oksidatif hasara yol açar; karbonhidratlar, lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllere zarar verir ve sonunda hücre ölümüne neden olur (Xie et al., 2019). Bu nedenle, ROS üretimi ile temizleme arasında, bitkinin stres koşulları altında bir savunma molekülü olarak ROS'u kullanmasına yardımcı olan sıkı bir düzenleme çok önemlidir (Huang et al., 2019). Stresli bir durum altında hücre redoks homeostazisini düzenlemek için bitkiler, enzimatik olmayan ve enzimatik bileşenlerin aşırı ROS'un algılanması ve ortadan kaldırılması/detoksifikasyonunda işlevlerini yerine getirdiği çok yönlü ve güçlü bir antioksidan savunma sistemi kullanır (Liebthal et al., 2018) (Tablo 2.5;

Tablo 2.6). Bu nedenle farklı bitkiler, antioksidan mekanizmalarının yeteneğine bağlı olarak oksidatif stresi tolere etme konusunda farklı kapasitelere sahiptir (Hasanuzzaman et al., 2020b).

Tablo 2.5 ROS temizleme yolağında rol alan önemli enzimatik antioksidanlar

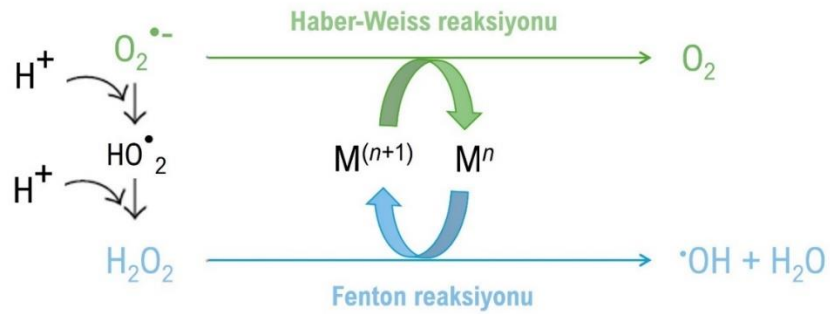
Enzimatik Antioksidanlar				
Enzim	Kısaltması (EC kodu)	Reaksiyon	Hücre içi lokasyonu	Referans
Süperoksit Dismutaz	SOD (EC 1.15.1.1)	$2 O_2^{\cdot-} + 2 H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$	Cu/Zn-SOD $\rightarrow$ Kloroplast, sitozol, mitokondri Mn-SOD $\rightarrow$ mitokondri, peroksizom Fe-SOD $\rightarrow$ Kloroplast, peroksizom mitokondri	(Wang et al., 2017)
Katalaz	CAT (EC 1.11.1.6)	$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$	Sınıf I $\rightarrow$ sitozol/mikrozom Sınıf II $\rightarrow$ vasküler doku (lignin), Sınıf III $\rightarrow$ Tohumlar/ Genç fide (yağ asitleri)	(Anjum et al., 2016)
Askorbat peroksidaz	APX (EC 1.11.1.11)	$L\text{-Asc} + 2H_2O_2 + 2 H^+ \rightarrow L\text{-Asc} + L\text{-DHA} + 2H_2O$	cAPX $\rightarrow$ sitozol; serbest mitAPX $\rightarrow$ mitokondria; serbest sAPX $\rightarrow$ Kloroplast stroma, serbest mAPX $\rightarrow$ peroksizom ve glioksizom; membrana bağlı tAPX $\rightarrow$ Kloroplast tilakoidleri, membrana bağlı	(Anjum et al., 2016)
Peroksidaz	PRX (EC 1.11.1.7)	$2 \text{ Fenolik donör} + 2H_2O_2 \rightarrow 2 \text{ Donörün fenoksil radikali} + 2H_2O$	Vakuol, sitozol ve hücre duvarı	(García-Caparrós et al., 2021)
Glutasyon redüktaz	GR (EC 1.6.4.2)	$2 GSH + NADP^+ \rightarrow GSSG + NADPPH + H^+$	GR1 $\rightarrow$ Sitozol GR2 $\rightarrow$ Mitokondri ve kloroplast	(Nahar et al., 2016)
Monodehidroaskorbat redüktaz	MDHAR (EC.1.6.5.4)	$NADH^+ + H^+ + 2 MDHA \rightarrow NAD^+ + 2 Asc$	Kloroplast, mitokondria, peroksizom ve sitozol	(Kim et al., 2016)
Dehidroaskorbat Redüktaz	DHAR (EC 1.8.5.1)	$2 GSH + DHA \rightarrow GSSG + Asc$	yeşil ve etiyole olmuş sürgünde, kök dokularında ve tohumlarda	(Dar et al., 2017)

Tablo 2.6 ROS temizleme yolağında rol alan önemli enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan Antioksidanlar				
Antioksidan molekül	Biyosentez yolağı	Görev aldığı yolak	Hücre içi lokasyonu	Referans
Askorbik asit (Asc)- Vitamin C	1) Mitokondride Smirnoff-Wheeler yolağı (D-mannoz/L-galaktoz yolağı) 2) Hücre duvarı pektinleri 3) D-mannoz'un L-guloz'a dönüştüğü yolak 4) miyo-inositolden askorbatın sentezi	Halliwell-Asada (Askorbat-glutatuyon) yolağı	Genellikle sitozolde, apoplasta çıktığında sinyal olarak algılanır.	(Akram et al., 2017)
Glutasyon (GSH)	ATP + L-glutamat + L-sistein = ADP + fosfat + γ -L-glutamil-L-sistein (glutamat-sistein ligaz (GSH1; EC 6.3.2.2,)) ATP + γ -L-glutamil-sistein + glisin = ADP + fosfat + glutasyon (Glutasyon sentaz) (GSH2; EC 6.3.2.3))	Halliwell-Asada (Askorbat-glutatuyon) yolağı	ER, kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom, vakuol ve apoplast	(Wachter et al., 2005; Preuss et al., 2014; Dorion et al., 2021; García-Caparrós et al., 2021)
Tokol (Vitamin E)	Sitozolik şikimat yolu, Plastid Metilerytritol Fosfat Yolu	Enzimatik olmayan antioksidanların kloroplast ağı	plastidler	(Fritsche et al., 2017; Mesa et al., 2023)
Karetenoids	sitoplazmik mevalonat yolu Plastid Yerleşimli Yol	β -Karoten tüm organizmalardaki fotosistemlerin çekirdeğinde bulunur ve tekli oksijeni temizler. fotokimyasal olmayan klorofil floresans söndürme (NPQ), violaksantin'in zeaksantine dönüştürülmesini içerir.	Kromoplast, kloroplast	(Nisar et al., 2015; Sun et al., 2022)
Flavonoidler	sitoplazma ve ER ile ilgili fenilpropanoid yolu flavonoid metabolonu.	Fenton reaksiyonu	mezofil hücre çekirdeği ve ROS üretim merkezleri içinde	(García-Caparrós et al., 2021)
Plastokinon (PQ) / Ubikinon (UQ)	İlk aşama, benzen kinon halkası ve prenil yan zincirinin öncülerinin biyosentezine yol açar. İkinci aşama, halka ve yan zincirin yoğunlaşmasını ve ardından modifikasyonu içerir.	PQ, oksijenli fotosentezin elektron taşıma zincirinde yer alırken, UQ yalnızca aerobik solunum zincirinde bir elektron taşıyıcısı olarak çalışır	Kloroplastlar ın tilakoidlerinde PQ Mitokondri n iç zarında UQ	(Liu and Lu, 2016)

Elektron verme veya alma kapasitesine sahip antioksidanlar π -elektronların delokalizasyonu ve rezonansı ile stabilize edilir ve bu durum Asc, fenolik bileşikler ve tokoferoller için de geçerlidir. Bununla birlikte enzimatik olmayan bu temizleyicilerin enzimatik antioksidanlara göre avantajı küçük boyutlarıdır; bu onların hücre membranlarından difüze olmalarına ve ROS'un potansiyel hedefleri olan biyolojik moleküllerin yakınında lokalize olmalarına olanak sağlar (Kohen and Nyska, 2002).

Bu moleküller ROS ile kendi kendine reaksiyona girebilir, ancak APX, SOD ve CAT gibi enzimatik antioksidanlar tarafından katalize edilen enzim aracılı reaksiyonlarda temizleme verimliliğinin daha yüksek olduğu bilinmektedir (Mhamdi, et al., 2012; Allen, 2015; Noctor et al., 2018). Düşük bağıl moleküler kütleli antioksidanlar, ROS'u hem dolaylı hem de doğrudan uzaklaştırır. Spesifik olarak dolaylı mekanizma, Haber-Weiss (Kehrer, 2000) veya Fenton reaksiyonuna katılımı engelleyen geçiş metallerinin şelasyonudur; doğrudan mekanizma ise elektronların verilmesini veya alınmasını, radikallerin temizlenmesini ve sonuç olarak biyolojik moleküllerle reaksiyonlarının önlenmesini içerir. Fenton reaksiyonu iki değerlikli demirin H_2O_2 ile üç değerlikli durumuna oksidasyonudur ve bunun sonucunda $\text{OH}^\bullet$ ve hidroksit iyonu oluşur (Di Meo and Venditti, 2020). Haber-Weiss reaksiyonu veya $\text{O}_2^{\bullet -}$ kaynaklı Fenton reaksiyonu, eser miktarda demir veya bakır varlığında H_2O_2 ve $\text{O}_2^{\bullet -}$ 'nin reaksiyonu sonucunda $\text{OH}^\bullet$ oluşmasına neden olan bir reaksiyondur (Cos, et al., 2000) (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları. (Ayala et al., 2014'ten uyarlanmıştır)

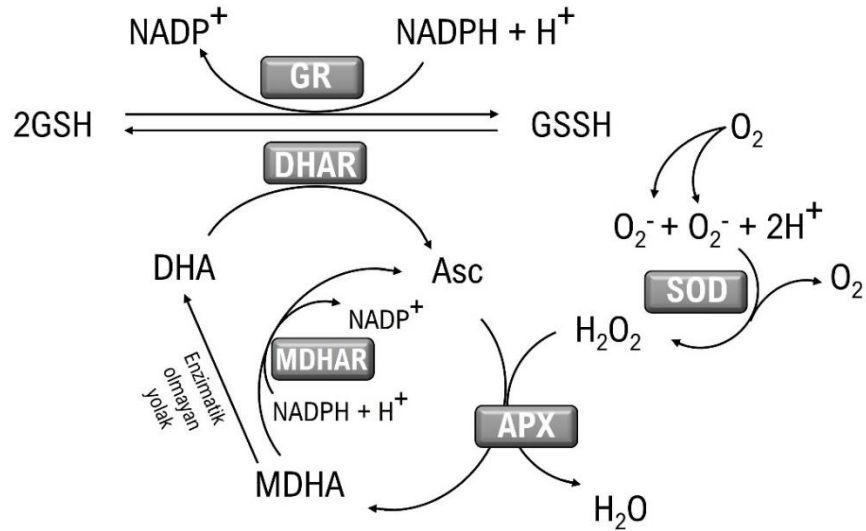
Bu birincil antioksidanlara ek olarak amino asitler, şekerler, pigmentler gibi biyomoleküllerin yanı sıra flavonoidler ve terpenler gibi ikincil metabolitler de

antioksidan aktiviteye sahiptir. Ayrıca, ikincil antioksidanlar, oksitlenmiş birincil antioksidanı yeniden oluşturma kapasitesine sahiptir; Asc oksitlenmiş α -tokoferolü ve α -tokoferol β -karoten'i yeniden üretebilir. (Dumanović et al., 2021). Ayrıca, oluşturulan her iki yağda çözünebilir radikal de Asc tarafından indirgenebilir, böylece lipid peroksidasyonuna karşı membran koruması içinde antioksidan etki gösterirler. Bu genellikle antioksidan sistemin membran bütünlüğünü korumadaki sinerjistik etkisinin bir örneğidir (Yachandra et al., 1996).

Kloroplastlarda milimolar konsantrasyonlarda bulunan bitki dokusundaki en önemli antioksidan Asc'dir ve bunu Asc'den 1000 kat daha düşük konsantrasyonda bulunan ancak aynı zamanda hayati önem taşıyan GSH takip eder. Spesifik enzim sistemleri (POX'lar), H_2O_2 ile hızlı reaksiyona girme şansı yaratır ve bunların oksitlenmiş formları, spesifik yüksek kapasiteli redüktazlar tarafından yenilenir. Çoğu durumda, bu antioksidanların tüm miktarı sitozol, kloroplast ve mitokondri içinde büyük ölçüde (%95'in üzerinde) azalır, oksitlenmiş formlar yalnızca vakuoller ve apoplastlar gibi daha az verimli redoks geri dönüşüm mekanizmalarına sahip bölmelerde birikir (Noctor et al., 2018). Bu antioksidanların ROS'u ayrı ayrı temizlemelerine rağmen, uzun süredir H_2O_2 'yi metabolize etmek ve kloroplastlarda yeterli uyarıcı enerjiyi kontrol altında tutmak için su-su (Asada, 1999) ve Asc-GSH döngüsü (Foyer and Halliwell, 1976) adı verilen döngüde iş birliği yaptıkları bilinmektedir. Buna ek olarak CAT'ların peroksizomlardaki H_2O_2 metabolizmasında ciddi rol oynadığı gösterilmiştir (Mhamdi et al., 2012).

Su-su döngüsü, Mehler reaksiyonunda fotosistem I (PSI)' in alıcı tarafında moleküler oksijenin temel durumunun $O_2^{\cdot-}$ 'ye indirgenmesiyle başlar. Fizyolojik koşullar altında $O_2^{\cdot-}$ SOD tarafından hızla suya indirgenir (Asada, 1999). Ancak $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve O_2 enzimatik olmayan yollarla da oluşturulabilir. Ortaya çıkan H_2O_2 , spesifik elektron donörü olan iki Asc molekülünü oksitleyen APX tarafından detoksifiye edilir. Eş zamanlı olarak, kendiliğinden Asc ve dehidroaskorbata (DHA) dönüşebilen ve/veya NAD(P)H'ye bağımlı MDHAR tarafından hızla Asc'ye indirgenebilen kısa ömürlü radikal monodehidroaskorbat (MDA $^{\cdot}$) oluşumu meydana gelir (Foyer and Shigeoka, 2011). MDHAR sitozolde, kloroplastlarda, peroksizomlarda, mitokondride ve plazma zarında bulunur (Noctor and Foyer, 1998). Asc'den farklı olarak DHA, antioksidatif kapasiteden yoksundur ve DHAR

tarafından GSH'den iki elektronun eklenmesiyle tekrar Asc'ye dönüştürülür (Nimse and Pal, 2015). GSH'ye bağımlı DHAR aktivitesi kloroplastlarda, mitokondride ve peroksizomlarda ifade edilir (Jimenez et al., 1997; Scheibe et al., 2005; Malik et al., 2011; Queval et al., 2011; Noctor and Foyer, 2016). GSH, NAD(P)H'den gelen elektronlar kullanılarak GR'nin etkisiyle oksitlenmiş hali olan glutatyon disülfürden (GSSG) yenilenir, böylece Asc ve GSH'nin yenilenme döngüsü kapatılır. Asc-GSH döngüsü sitozol, mitokondri, kloroplast ve peroksizomlar dahil olmak üzere çeşitli hücresel bölümlerde çalışır. APX ve SOD'un farklı izoformları stroma ve tilakoid membran içinde lokalize olurken, kloroplast GR ve DHAR stroma içinde yer almaktadır (Sharma et al., 2012). Asc-GSH döngüsünün önemine rağmen, daha yeni kanıtlar PRX'lerin kloroplastlardaki H_2O_2 düzeyinin korunmasında rol aldığını göstermektedir (Dumanović et al., 2021) (Şekil 2.15). POX ailesine ait olan PRX'ler, H_2O_2 ve organik peroksitleri azalttıkları ve kloroplastlardaki TRX ve TRX benzeri proteinlerle yaptıkları iş birliği nedeniyle ROS detoksifikasyonunda önemlidir (Dietz, 2011). PRX'ler H_2O_2 'yi azaltmak için tiyollerini kullanır. Asc-GSH döngüsü, H_2O_2 için daha yüksek özgüllüğe sahiptir ve kloroplast APX, PRX'ten daha büyük aktiviteye sahiptir, ancak PRX'ler, lipid peroksitler ve/veya RNS için spesifiktir (Foyer and Noctor, 2016).



Şekil 2.15 Su-su ve Asc-GSH döngüsünün mekanizması (Dumanović et al., 2021'den uyarlanmıştır.)

2.2.3.2 Reaktif karbonil türlerinin (RCS) detoksifikasyon mekanizmaları

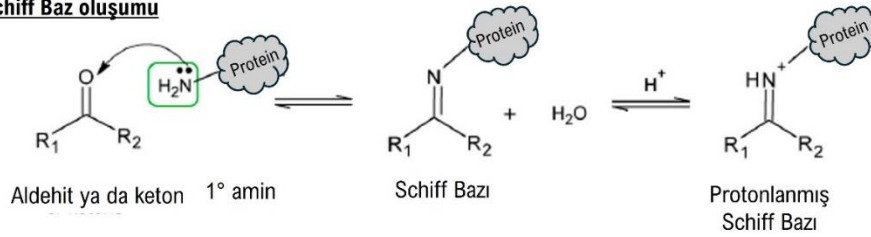
Canlı hücrelere yönelik oksidatif uyarılar, kaçınılmaz olarak çeşitli aldehitlerin ve ketonların (oksilipin karbonillerin) üretildiği LOOH oluşumuyla sonuçlanır. Oksilipin karboniller arasında, α - β -doymamış bağa sahip olanlar, yüksek elektrofiliğe ve biyolojik aktiviteye sahip oldukları için RCS olarak adlandırılır (Mano et al., 2019).

Her zaman fark edilmese de ROS'un en önemli özelliklerinden biri sıklıkla membranların yakın çevresinde, kloroplastik ve mitokondriyal elektron taşıma zincirleri ve plazma membranına bağlı RBOH'ler tarafından sürekli üretilmesidir. Bu nedenle membran lipitleri, ROS'un bazal oluşumu nedeniyle yapısal olarak sürekli oksitlenir (Mène-Saffrané et al., 2007). Ortaya çıkan LOOH'ler nispeten kararsızdır ve farklı karbon zinciri uzunluklarına ve doymamışlık derecelerine sahip birçok türde aldehit ve ketonun mevcut olduğu, oksilipinler adı verilen çeşitli bileşiklere ayrışır veya metabolize edilir. Karbonil bileşikleri, karşılık gelen alkollerden ve karboksilik asitlerden daha reaktiftir ve α - β -doymamış karboniller olan RCS'ler özellikle yüksek elektrofiliğe sahiptir ve gen düzenlemesinden sitotoksositeye kadar çeşitli işlevlerde kritik biyolojik roller oynarlar (Esterbauer et al., 1991; Farmer and Mueller, 2013). Bu reaktiviteye ek olarak, α - β -doymamış bağ nedeniyle yüksek elektrofiliğe sahip olan RCS'ler tiyol ve amino grupları gibi nükleofilik hedeflerle Michael eklentileri oluşturabilirler. HNE gibi γ -hidroksi grubunu ve 4-okso-(E)-2-nonenal gibi γ -okso- grubunu içeren RCS diğer moleküllere göre daha reaktif ve toksik yapıdadır (Lee et al., 2001; Sayre et al., 2006). HNE, tanımlanan en eski endojen RCS'lerden biridir ve güçlü toksisitesi ve biyoaktivitesi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Esterbauer et al., 1991; West and Marnett, 2006). HNE, linoleik asit gibi n-6 PUFA'nın peroksitlerinden oluşur. Bitkilerde, linolenik asit gibi n-3 PUFA'dan üretilen altı karbonlu analogu HHE kloroplastlardaki yüksek linolenik asit içeriği nedeniyle de önemlidir. RCS arasında bir üç karbonlu alkenal olan akrolein (veya 2-propenal), en yüksek derecede reaktif ve toksik bileşiktir (Esterbauer et al., 1991). Fotosentetik proteinleri etkisiz hale getirebildiği (Mano et al., 2009; Shimakawa et al., 2013) ve PCD'yi tetikleyebildiği çalışmalarla gösterilmiştir (Biswas and Mano, 2016). Ayrıca akrolein ve HNE gibi RCS'nin, ekzojen olarak uygulandığında bitki hücreleri ve organelleri üzerinde

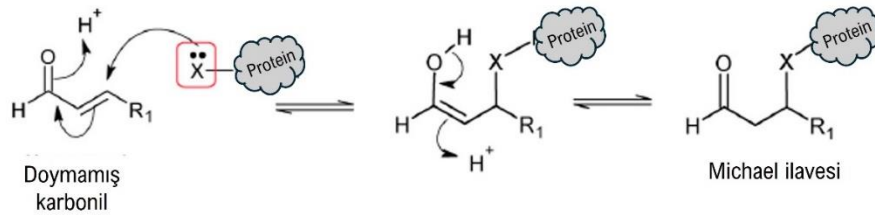
toksosite sergilediği de çalışmalarla gösterilmiştir (Millar and Leaver, 2000; Almeras et al., 2003; Mano et al., 2005; Mano et al., 2009). Doymuş karboniller ise bir Schiff bazı oluşturmak üzere amino grubuyla reaksiyona girebilirler. Döngüsel konjuge enonlar nispeten daha az reaktiftir (Esterbauer et al., 1975; Mueller and Berger, 2009). Bu nedenle, 12-okso-fitodienoik asit ve deoksi-fitoprostan J1 gibi LOOH'den türetilen siklopentenonlar, yüksek seviyelerde birikmedikçe proteinlerle etkileşime girmemektedirler. Daha ziyade, sinyalleri iletmek için spesifik hedef protein(ler) ile reaksiyona girdikleri görülmektedir (Farmer and Davoine, 2007; Mueller and Berger, 2009).

Bunlar ve diğer RCS'lerin proteinleri ve nükleik asitleri ya proteinlerin sistein, lizin ve histidin gibi nükleofil yapıdaki aminoasitleri ve guanin gibi nükleik asit bazlarına Micheal eklentisi ile ya da karbonil grubu ile amino grubu arasında bir Schiff bazının oluşması yoluyla değiştirir (Esterbauer et al., 1991; West and Marnett, 2006) (Şekil 2.16).

Schiff Baz oluşumu



Michael eklentisi oluşumu



Şekil 2.16 Schiff bazının ve Michael ilavesinin protein kalıntılarıyla oluşumu. Schiff'in baz reaksiyonları tersinirdir bir hidroliz reaksiyonu içerir. Altta, nükleofilik yoluyla Michael eklenti oluşumunu gösterir burada X grubu, bir birincil veya ikincil amini veya bir tiyolü temsil eder. Michael eklentileri ayrıca Schiff bazlarından daha kararlı olmalarına rağmen bu reaksiyonların tersine çevrilmesiyle ayrışır (Viedma-Poyatos et al., 2021'den uyarlanmıştır.)

ROS durumunda olduğu gibi RCS, düşük seviyelerde savunma ile ilgili genleri etkilemek (Mano et al., 2019a), PCD, silikatın yaşlanması (Srivastava et al., 2017), ABA sinyali yoluyla stomaların kapanması (Islam et al., 2019), yan kök

oluşumu için oksin sinyali (Biswas et al., 2019) ve β -karoten oksidasyon ürünlerinin retrograd sinyalini etkilemek (Ramel et al., 2012) gibi yollarda rol alarak sinyal molekülü görevi görür. Bu durum da RCS'nin ROS ile bir diğer ortak özelliği olan hücrede ikili bir role sahip olması yani düşük seviyelerde ve sınırlı lokasyonlarda bir sinyal molekülü görevi görmesi, ancak aşırı miktarlarda hasar vermesi özelliğini göstermektedir (Mano et al., 2019a). Bu nedenle, bitki hücreleri ROS için olduğu gibi RCS'nin de üretimi ile detoksifikasyonu arasında bir denge kurmak durumundadır. Bitki hücreleri RCS detoksifikasyonu için hem GSH (Esterbauer et al., 1991), sistein tiyol bileşikler (Esterbauer et al., 1975) gibi enzimatik olmayan mekanizmalara hem de bazı AKR, ALDH, alkenal redüktaz (AER), GST'ler gibi enzimatik temizleme mekanizmalarına sahiptir (Yalcinkaya et al., 2019b) (Tablo 2.7). Ayrıca bitkilerde çay yaprağı ve elma meyvesindeki floretin (Zhu et al., 2009), kahverengi pirinçte pelargonidin (Colzani et al., 2018) ve çay yaprağında bulunan kateşin (Sugimoto et al., 2021) gibi polifenollerin in vitro koşullarda akrolein ve HNE'yi yakalayabildiği, karnozin (β -alanil-L-histidin, L-CAR) ve homokarnosin (HCR) gibi histidin içeren dipeptitlerin memeli hücrelerinde RCS temizleyici olarak çalıştığı gösterilmiştir (Carini et al., 2003).

Tablo 2.7 RCS ve RCS dışındaki karbonillerin detoksifikasyon mekanizmaları

Bileşik sınıfı	Tipik bileşikler	Biyomoleküllerle tipik reaksiyonlar	Süpürücü molekül	Detoksifiye edici enzim
RCS	Akrolein, HNE, HHE, MDA (3-hidroksiakrolein olarak), 4-okso-(E)-2-nonenal	Tiyol-amino- ve imidazol gruplarına Michael ilavesi Amino grubu ile Schiff baz oluşumu	GSH	AER, ALDH, AKR, ALR
RCS dışındaki karboniller	metilglioksal, formaldehit	Amino grubu ile Schiff baz oluşumu	GSH	ALDH, AKR, ALR

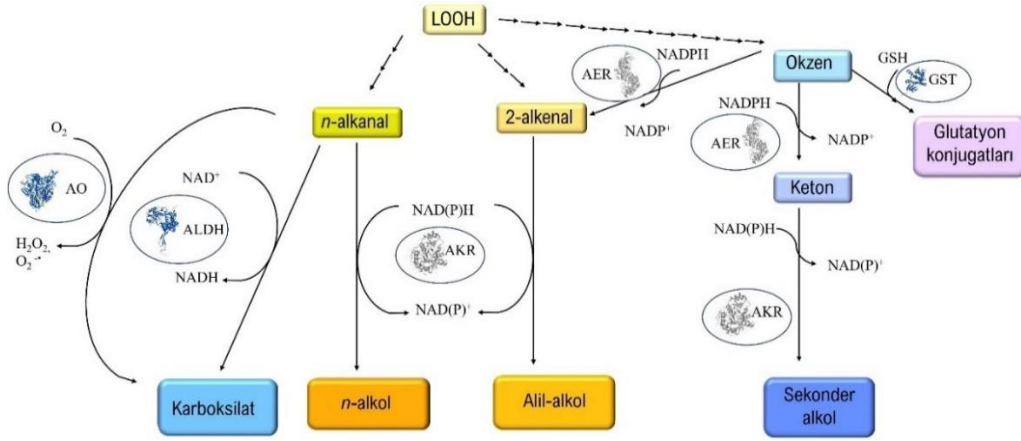
Enzimatik olmayan RCS süpürücüleri arasında sistein RCS ile en hızlı reaksiyona giren, tiyol grubu ile Michael eklentisi oluşturabilen yaygın küçük bir biyomoleküldür (Mano et al., 2019b). Hız açısından bakıldığında, GSH ikinci sıradadır ve RCS ile reaksiyona girdiğinde bir GSH konjuagatı oluşturur (Esterbauer et al., 1975). GSH ile RCS arasındaki bu reaksiyon tersine çevrilebilir özelliğe sahiptir ve reaksiyonun denge sabiti RCS'nin türüne göre değişiklik

göstermektedir (Esterbauer et al., 1975; Mano et al., 2019b). GSH-RCS konjugatları hücrelerde oluştuğunda, glutatyon konjugatlarının vakuolar bozulması yolağında γ -Glutamil transpeptidaz (GGT) aktivitesiyle GSH'nın konjugatlardan ayrıldığı bilinmektedir (Grzam et al., 2007; Ohkama-Ohsu et al., 2007). Bunun dışında tiyol, amino ve imidazol gruplarını içeren herhangi bir küçük nükleofilik bileşiğin, konsantrasyonları yeterince yüksek olduğunda RCS'yi temizleme kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir (Mano et al., 2019b). Örneğin, bitkilerde üretildiğine dair bir bilgi bulunmayan fakat insanlarda kas ve beyin dokusunda bulunan bir dipeptit olan karnosin, β -Ala'nın amino ucu ile aldehit kısmı arasındaki Schiff bazı oluşumu yoluyla bir aldehit ile reaksiyona girerek RCS'leri süpürebilir (Aldini et al., 2002; Carini et al., 2003). Bu küçük moleküllerin temizlemeye katkısı hücredeki konsantrasyonlarına göre belirlenir.

Bitkilerde RCS ve karbonillerin temizlenmesi için 2-alkenal redüktaz (AER; EC 1.3.1.74) ve Alkenal oksidoredüktaz (AOR; EC:1.3.1.); Glutatyon-S-transferaz (GST; EC 2.5.1.18), Aldo/keto redüktaz (AKR; EC 1.1.1.21), Aldehit dehidrojenaz (ALDH; EC 1.2. 1.3) ve Aldehit oksidaz (AO; EC 1.2.3.1) enzimlerinin görev aldığı altı tip enzim reaksiyonu bilinmektedir (Tablo 2.8; Şekil 2.17).

Tablo 2.8 Enzimatik RCS temizlenmesinde görev alan enzimler

Enzim	Kısaltması- EC kodu	Reaksiyon	Örnek gen	Örnek genin hücre içi lokasyonu
2- alkenal redüktaz	AER (EC 1.3.1.74)	n -alkanal + NAD(P) ⁺ $\rightarrow$ alk-2-enal + NAD(P)H + H ⁺	AT5G16970	Sitozol
NAD(P)H'ye bağımlı alkenal/one oksidoredüktaz	AOR (EC 1.3.1.102)	n -alkanal + NADP ⁺ $\rightarrow$ alk- 2-enal + NADPH + H ⁺	AT1G23740	Kloroplast
Glutatyon transferaz	GST (EC 2.5.1.18)	RX + glutatyon $\rightarrow$ HX + R-S-glutatyon	AT1G02930	Kloroplast, sitozol, mitokondri, vakuol
Aldo-Keto Redüktaz	AKR (EC 1.1.1.21)	alditol + NAD(P) ⁺ $\rightarrow$ aldoz + NAD(P)H + H ⁺	AT2G37760	Sitozol, ER
Aldehit dehidrojenaz	ALDH (EC 1.2. 1.3)	Aldehit + NAD ⁺ + H ₂ O $\rightarrow$ karboksilat + NADH + H ⁺	AT1G54100	Kloroplast
Aldehit oksidaz	AO (EC 1.2.3.1)	Aldehit + H ₂ O + O ₂ $\rightarrow$ karboksilat+ H ₂ O ₂	AT5G20960	Plastid



Şekil 2.17 Bitki hücresinde bilinen başlıca enzimatik RCS temizleme mekanizmaları (Sonmez et al., 2024 ‘ten uyarlanmıştır).

İlk reaksiyon 2-alkenal redüktaz (AER; EC 1.3.1.74) ve alkenal oksidoredüktaz (AOR; EC:1.3.1.) ile spesifik olarak katalize edilen, karbonil-konjuge C-C çift bağının $NAD(P)H$ 'ye bağımlı indirgenmesini ve karşılık gelen doymuş karbonil üretimini içerir (Mano et al., 2002; Mano et al., 2005; Yamauchi et al., 2011). Her iki enzimin de $NADPH$ 'yi $NADH$ 'ye tercih ettiği ve doymuş karbonillerle reaksiyona girmediği bilinmektedir (Mano et al., 2002; Yamauchi et al., 2011). Bu reaksiyona *Arabidopsis* özelinde bakıldığında orta zincirli dehidrojenaz/redüktaz süper ailesindeki lökotrien dehidrojenaz (LDH) dalına ait olan AtAER sitosolik bir proteindir, aynı süper ailenin başka bir dalına ait olan AOR ise kloroplastiktir (Nordling et al., 2002; Mano et al., 2005; Yamauchi et al., 2011). Ayrıca AtAER'in 3-12 karbon zinciri uzunluğundaki alifatik RCS'yi elektron alıcısı olarak tanıdığı ve daha yüksek katalitik etkinliğe sahip daha uzun zincirli RCS'yi tercih ettiği bilinmektedir (Mano et al., 2002; Mano et al., 2005). AtAER'nin bir ortologu olan ancak OPDA ve sikloheksenon gibi siklik enonlarla uyumsuz olan fenil propanal redüktazın yaptığı gibi, p-kumarilaldehit ve koniferilaldehit gibi fenilpropanallerin 7-8 çift bağının indirgenmesini katalize eder (Youn et al., 2006). *Arabidopsis* genomunda farklı substrat spesifitelerine sahip 11 AER paraloğu olduğu bulunmuştur (Mano et al., 2002). Buna ek olarak AtAER'nin tütünde aşırı ekspresyonunun, geniş bir yelpazedeki oksilipin karbonillerinde strese bağlı artışı baskıladığı ve çeşitli sonuçlar ortaya çıkardığı gösterilmiştir (Mano et al., 2005; Yin et al., 2010; Biswas and Mano, 2015). Bu etkilerin olası açıklaması, çeşitli kısa karboniller oluşturmak üzere ayrıışan uzun zincirli RCS(ler)in mevcut olması ve AER'nin bu öncü RCS'yi temizlemesi; hücrelerdeki bazal RCS ve RCS olmayan

karbonil seviyelerinin, sitozolde AER'nin aşırı ekspresyonundan etkilenmediğidir (Mano et al., 2019a). Bu, RCS olan ve olmayan karbonillerin sitozolden farklı bölmelerde üretildiğini ve hücrelerin bu seviyelerde karbonilleri tolere ettiğini, sitozolik karbonildeki artışların baskılanmasının RCS hasarını ve RCS sinyalini azalttığı ileri sürülmektedir (Mano et al., 2019a). *A. thaliana*'da AT1G23740 geni tarafından kodlanan AOR (AtAOR) substrat olarak 3-buten-2-on, 4-heksen-3-on, 1-penten-3-on, krotonaldehit ve akrolein gibi RCS'yi tanıır (Yamauchi et al., 2011). *A. thaliana*'nın AOR susturtulmuş mutanları ile yapılan çalışmalar, bu bitkilerin metilviolojen varlığında aydınlatıldığında, daha yüksek seviyede akrolein biriktirdiğini ve PSI'de yabani tipe göre daha ciddi hasara maruz kaldığını; gece boyunca önemli ölçüde daha düşük düzeyde fosfoenolpiruvat karboksilaz aktivitesi ve kloroplastlarda nişastanın düşük miktarda parçalandığını göstermiştir (Yamauchi et al., 2012; Takagi et al., 2016).

Bitkilerde enzimatik olarak RCS temizlenmesinde kullanılan ikinci yolak GST ile katalize edilen RCS'nin glutatyon eklentisinin oluşumudur. GST genel bir detoksifikasyon enzimi olarak bilinmektedir (Mano et al., 2019b). GST, detoksifikasyonun ilk adımı olarak bir konjugat oluşturmak üzere GSH'nin elektrofilik bir bileşikle bağlanmasını katalize eder ve GSH-elektrofil konjugatı daha sonra çeşitli enzim reaksiyonları yoluyla parçalanır (Grzam et al., 2007; Ohkama-ohtsu et al., 2007). Bitkilerdeki GST izozimleri en az 13 sınıfa ayrılır ve bunların en büyük üyesi Tau (U) sınıfıdır (Monticolo et al., 2017). Her izozimin farklı bir elektrofil özgülüğü vardır (Dixon et al., 2009). Ayrıca, GST izoenzimlerinin çoğu, özellikle de elektron donörü olarak GSH kullanılarak LOOH'nin karşılık gelen bir alkole indirgenmesini sağlayan GSH'ye bağımlı POX aktivitesine sahiptir (Dixon et al., 2009). Sorgum, asma, ıspanak ve *A. thaliana* gibi bitkilerde yapılan çalışmalar sadece birkaç GST izoziminin RCS'yi detoksifiye etme aktivitesine sahip olduğunu ve bu izozimlerin özellikle RCS'nin GSH ile konjugasyonunu katalize ettiğini göstermiştir (Gronwald and Plaisance, 1998; Konayashi et al., 2011; Mano et al., 2017). *A. thaliana*'nın 21 GSTU izozimine ilişkin yakın zamanda yapılan kapsamlı bir analiz, bunlardan en az 11'inin RCS'yi bir substrat olarak tanıdığını ortaya çıkarmıştır; bu da RCS'nin, GST izozimleri için başlıca fizyolojik substratlar olduğunu göstermektedir (Mano et al., 2019b). Yapılan bu çalışmada; akrolein temizleme aktivitesi *GSTU2* için 0.24 nkat/mg; *GSTU3* için

0.72 nkat/mg; *GSTU4* için 15.0 nkat/mg; *GSTU5* için 2.4 nkat/mg ve *GSTU24* için 34.2 nkat/mg olmak üzere anlamlı bir fark göstermiştir. Aynı çalışmada; HNE temizleme aktivitesi *GSTU3* için 0.94 nkat/mg ve *GSTU5* için 8.2 nkat/mg olmak üzere anlamlı bir fark göstermiştir. HHE temizleme aktivitesi için ise sadece *GSTU25* 1.41 nkat/mg olmak üzere anlamlı bir fark göstermiştir. Bu sonuçlar akrolein, HNE ve HHE'nin GSTU enzimleri tarafından substrat olarak kullanıldığını ve bu enzimlerin RCS temizleme aktivitelerinin olduğunu göstermektedir (Mano et al., 2019b).

Bitkilerin RCS detoksifikasyonunda kullandığı bir başka enzim ise monomerik formlarda mevcut olduklarında yaklaşık 320 amino asitten oluşan sitozolik proteinler olan AKR'lerdir (El-Kabbani et al., 1995; Wilson et al., 1996; El-Kabbai et al., 2005). AKR'lerin çoğunun, monosakaritler, steroidler, prostaglandinler ve polisiklik hidrokarbonlar dahil olmak üzere diğer substratları azaltmanın yanı sıra, NADPH veya nadiren kofaktör olarak NADH kullanarak aldehitleri ve ketonları ilgili alkollerine indirgeyerek etki ettiği bilinmektedir (Penning, 2004). Ayrıca AKR'lerin aldehitlerin alkollere indirgenmesini katalize ederken, yakından ilişkili bir başka enzim grubu olan ALDH'ler, aldehitlerin karşılık gelen karboksilatları oksidasyonunu katalize ettiği gösterilmiştir (Sellin et al., 1991). Bitki AKR'leri başlıca biyolojik fonksiyonlarına göre reaktif aldehit detoksifikasyonu, osmolit üretimi, ikincil metabolizma ve membran taşınması olmak üzere dört fonksiyonel grupta incelenmektedir (Sengupta et al., 2015). Bitkilerin geleneksel enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmalarının yanı sıra (Gill and Tuteja, 2010), AKR süper ailesine ait enzimlerin sitotoksik reaktif aldehitlerin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (Bartels, 2001; Yin et al., 2010; Sengupta et al., 2012). *Medicago sativa*'dan yeni bir aldoz/aldehit redüktazın (MsALR) ve *A. thaliana*'dan AKR süper ailesinin dört üyesinin (*AKR4C8*, *AKR4C9*, *AKR4C10* ve *AKR4C11*) steroidler, şekerler, ketonlar ve alifatik/aromatik aldehitler de dahil olmak üzere çok çeşitli substratları kullandığı bulunmuştur (Oberschall et al., 2000; Simpson et al., 2009). Özellikle *AKR4C8* ve *AKR4C9* için geniş bir substrat dizisinin kullanılmasının nedeni yüksek çözünürlüklü kristal yapıları incelendiğinde ortaya çıkan açık ve oldukça uyumlu bir substrat bağlama bölgesinin varlığından kaynaklanmaktadır (Simpson et al., 2009). Bu da AKR aracılı stres toleransının

ardındaki birincil mekanizmanın, hemen hemen her türlü stres koşulu sırasında üretilen, hücreye zarar veren reaktif karbonillerin detoksifikasyonu gibi görünmektedir (Sengupta et al., 2015). Yapılan çalışmalar, *AKR4C9*'un aldehitler üzerindeki detoksifikasyon kapasitesinin bitkinin abiyotik stres toleransını arttırdığını göstermiştir. Örneğin; kuraklık, tuz ve soğuk koşullar gibi abiyotik stres etkenlerinin *A. thaliana*'da *AKR4C8* ve *AKR4C9* ekspresyonunu arttırdığı; yüksek ışık uygulamasının *A. thaliana*'da *AKR4C9* ve *AKR4C8* transkript seviyelerini yükselttiği gösterilmiştir (Simpson et al., 2009; Yalcinkaya et al., 2019). Öte yandan yüksek sıcaklıkların (35 °C), *A. thaliana*'da *AKR4C8* ve *AKR4C11* ekspresyonunun azalmasına neden olduğu bulunmuştur (Saito et al., 2013). *A. thaliana* aldo-keto redüktazı *AKR4C9*'u eksprese eden transgenik arpa ile yapılan çalışma ise transgenik arpanın ve *AKR4C9* aşırı eksprese eden *A. thaliana* hatlarının daha yüksek miktarda sorbitol biriktirerek donma toleransının arttığını göstermiştir (Éva et al., 2014). Dondurma işlemlerinden sonra, *AKR4C9*'un yüksek ekspresyon oranlarına sahip transgenik bitkilerin daha fazla sağlam yaprağa sahip olduğu, transgenik olmayan bitkilerin ise düşük hayatta kalma oranlarına sahip olduğu gösterilmiştir. *A. thaliana* *AKR4C9*'unu aşırı eksprese eden transgenik arpa bitkilerinde, oksidatif stres toleransının arttığı bulunmuştur (Éva et al., 2014).

Bitkilerin RCS detoksifikasyonu için kullandığı bir diğer enzim olan ALDH'ler, çok çeşitli endojen ve ekzojen alifatik ve aromatik aldehitleri oksitleyen NAD(P)⁺'ya bağımlı enzimlerin bir protein süper ailesini temsil eder (Kirch et al., 2004). Aldehitler bir dizi temel biyokimyasal yoldaki ara maddelerdir ve karbonhidratların, vitaminlerin, steroidlerin, amino asitlerin ve lipidlerin metabolizması sırasında üretilir (Yoshida et al., 1998; Vasiliou et al., 2000). Aldehitler ayrıca tuzluluk, dehidrasyon, kuruma, soğuk ve sıcak şoku gibi metabolizmayı bozan bir dizi çevresel strese tepki olarak da üretilebilir (Barclay and McKersie, 1994; Bartels, 2001). Yaygın biyokimyasal ara ürünler olmalarına rağmen birçok aldehit, fizyolojik konsantrasyonlarda kimyasal olarak reaktif ve toksiktir (Lindahl, 1992). Aktif ALDH enzimleri, aldehitlerin karşılık gelen karboksilik asitlere oksidasyon yoluyla detoksifikasyonunda önemli bir mekanizmayı temsil eder (Lindahl, 1992; Barclay and McKersie, 1994; Vasiliou et al., 2000; Bartels, 2001). Bugüne kadar bitki enzimleri *ALDH2*, *ALDH3*, *ALDH5*, *ALDH6*, *ALDH7*, *ALDH10*, *ALDH11*, *ALDH12*, *ALDH18*, *ALDH19* ve *ALDH21*

olmak üzere 11 ALDH ailesinde temsil edilmektedir (Kirch et al., 2004). Bu ailelerden üç protein ailesi (*ALDH11*, *ALDH19* ve *ALDH21*) bitkilere ve bir tanesi (*ALDH21*) yosunlara özgüdür (Chen et al., 2002; Wood and Krayesky, 2002). Aile 2 ALDH'ler mitokondriyal veya sitozolik homotetramerik enzimlerdir ve insanlarda ve mayalarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Yoshida et al., 1998; Navarro-Aviño et al., 1999). *Arabidopsis* genomu, mitokondride biriktiği tahmin edilen ALDH'leri kodlayan iki gen (*ALDH2B7* ve *ALDH2B4*) içerir ve bu proteinler birbirleriyle %75 oranında benzerlik gösterir (Skibbe et al., 2002). Rekombinant proteinlerin in vitro aktivite analizleri, bu iki mitokondriyal ALDH'nin (mtALDH'lerin) her ikisinin de asetaldehit ve glikolaldehit'i oksitleyebildiğini, ancak L-laktaldehit'i oksitleyemediğini göstermektedir. *Arabidopsis* genomu, sitozolde biriktiği tahmin edilen ALDH'yi kodlayan tek bir gen (*ALDH2C4*) içerir. Bu protein, *ALDH2B4* ve *ALDH2B7*'ye sırasıyla %58 ve %54 özdeşlik gösterir ve asetaldehit ve glikolaldehiti oksitleyebilir (Skibbe et al., 2002). Bitkilerde çeşitli ozmotik stresle indüklenebilir ALDH genleri tanımlanmıştır ve bunlar *ALDH7*, *ALDH10*, *ALDH11* ve *ALDH12* protein ailelerinin çoğunluğunu oluştururlar (Wood & Krayesky, 2002). *Arabidopsis*'te 'turgor-duyarlı' (Guerrero et al., 1990) veya 'stres-duyarlı' ALDH'yi (Chen et al., 2002) kodlayan *ALDH7B4* adında tek bir gen vardır. *Arabidopsis* genomu, fosforile olmayan bir gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenazı (GAPN, EC 1.2.1.90) kodlayan tek bir gen olan *ALDH11A3*'ü içerir. GAPN, ototrofik ökaryotların sitozolünde çalışır ve burada fosfat translokatorü tarafından kloroplasttan dışarı aktarılan fotosentetik gliseralit-3-fosfattan biyosentetik işlemler için NADPH üretir. *ALDH11*, bitkilere özgü klasik glikolitik 'bypass' reaksiyonlarından birini katalize eder (Plaxton, 1996).

Stresle indüklenebilir ALDH proteinlerinin, stres ayarlaması ve uzun vadeli adaptasyon mekanizmaları için önemli olduğu tahmin edilmektedir. Bu hipotez, ALDH genlerini ve ALDH-nakavt hatlarını aşırı eksprese eden transgenik bitkilerin stres performansının analiz edilmesiyle araştırılmıştır (Stiti et al., 2011). *ALDH3F1*, *ALDH3II* veya *ALDH7B4* genlerini aşırı eksprese eden transgenik *Arabidopsis* bitkileri, tuz (NaCl ve/veya KCl) dehidrasyonuna ve oksidatif strese karşı daha toleranslıdır. Tuz, kuraklık veya oksidatif stresle karşı karşıya kaldıklarında yabancı tip bitkilerle karşılaştırıldığında daha yüksek çimlenme oranları ve daha düşük MDA birikimi gösterirler (Sunkar et al., 2003; Stiti et al., 2011). Transgenik

bitkilerdeki *ALDH* geni aşırı ekspresyonu fenotipleri, karşılık gelen *ALDH* T-DNA tek ve çift yerleştirme mutantlarının fizyolojik ve moleküler analizleri ile uyum içindedir; bu, genellikle dehidrasyon ve tuz stresine karşı artan duyarlılığı ortaya çıkarır ve yabancı tip bitkilerden daha yüksek MDA seviyeleri biriktirir (Sunkar et al., 2003; Kotchoni et al., 2006; Missihoun et al., 2011). *ALDH3II* veya *ALDH7B4*'ü aşırı eksprese eden transgenik *Arabidopsis* bitkilerinin strese toleranslı fenotipi, transgenik tütün bitkileri ile yapılan deneylerle de desteklenmektedir. Soya fasulyesi *ALDH7* genini ektopik olarak eksprese eden *Arabidopsis* ve tütün bitkilerinin de abiyotik strese karşı gelişmiş tolerans gösterdiğini bildirmiştir (Rodrigues et al., 2006).

Bitkilerin RCS detoksifikasyonunda kullandığı son enzim ise çeşitli aromatik ve aromatik olmayan aldehitlerin karşılık gelen karboksilik asitlere oksidasyonunu katalize eden yaygın bir sitozolik molibdo-demir-flavo enzimi olan Aldehit oksidaz (AO; EC 1.2.3.1)'dir (Garattini et al., 2003). AO proteinleri, purin katabolizması ve üreid biyosentezinde anahtar bir enzim olan XDH ile önemli derecede benzerliğin yanı sıra birçok substratı paylaştığından, evrim sırasında AO'nun, gen çoğaltılması ve neo-işlevselleştirme yoluyla XDH'den türetildiğine inanılmaktadır (Rodríguez-Trelles et al., 2003; Terao et al., 2001). Hem AO hem de XDH, yaklaşık 290 kDa'lık dimerlerdir ve her monomer, üç farklı yan gruptan oluşan bir elektron taşıma zincirini barındırır (Hille et al., 2011). Yaklaşık 20 kDa'lık NH₂-terminal alanı, [2Fe-2S] tipinde iki özdeş olmayan demir-kükürt kümesini bağlar ve kısa bir peptit dizisi ile yaklaşık 40 kDa'lık flavin adenin dinükleotit (FAD) bağlama alanına bağlanır. İkinci bir bağlayıcı bölge, FAD alanını, aktif bölgenin bir parçası olan ve substrat bağlanması ve katalizi için gerekli olan bir molibden kofaktörünün (Moco) bağlandığı proteinin C-terminalinin 85 kDa kısmı ile birleştirir (Garattini et al., 2003; Hille, 2005; Hille et al., 2014). C-terminal alanı aynı zamanda bağımsız olarak hareket eden protein monomerlerinin dimerizasyonuna da aracılık eder. AO ve XDH enzimlerini ayıran en belirgin özelliklerden biri fizyolojik elektron alıcısıyla ilgilidir. AO enzimleri, son elektron alıcısı olarak NAD⁺'nın bağlanmasından sorumlu olan FAD alanında XDH-tipik FFLGYR motifinden yoksundur (Nishino, 1989). Bu nedenle, AO enzimleri NAD⁺'yı kullanamaz ancak fizyolojik elektron alıcısı olarak yalnızca moleküler oksijeni kullanır, oysa XDH

proteinleri hem NAD^{+} 'yı hem de moleküler oksijeni indirgeyebilir (Turner et al., 1995).

A. thaliana genomunun dört AO geni içerir ve bu AO izoformları *Arabidopsis*'te büyük ölçüde karakterize edilmiştir. AO gen ailesi, homodimerler ve heterodimerler oluşturarak AO1-AO4 olmak üzere en az dört AO geninden oluşur (Akaba et al., 1999; Seo et al., 2000; Zdunek-Zastocka et al., 2004). *Arabidopsis*'te AO1'in ekspresyon modelleri dokuya spesifiktir ve ağırlıklı olarak fidelerde, köklerde ve tohumlarda eksprese edilir. (Wu et al., 2022). AO2 hipokotillerde, fidelerde, köklerde ve yaşlanan yapraklarda yüksek oranda eksprese edilir (Wu et al., 2022). AO3 esas olarak köklerin vasküler dokuları, hipokotiller ve yapraklar gibi bitkisel organlarda lokalizedir ve ayrıca koruyucu hücreler ve çevredeki hücreler içinde de az miktarda eksprese edilir (Koiwai et al., 2004; Nambara and Marion-Poll, 2005). AO4, silikatın gelişmesinde en bol miktarda eksprese edilen, silikattaki benzaldehitin oksidasyonunda yer alan ve tohum kapsüllerindeki benzoik asit (BA) havuzunun sentezine katkıda bulunan bir izoenzimdir (Ibdah et al., 2009). AO'lar arasında AO3, ABA biyosentezine olası katılımı ve normal ve stres koşulları altındaki önemi nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Örneğin, normal büyüme koşulları altında, UV-C ışınlaması üzerine ve ekzojen aldehit uygulaması sonrasında yabancı tip bitkinin yapraklarıyla karşılaştırıldığında *ao3* mutantlarında farklı aldehitlerin belirgin şekilde biriktiği görülmüştür (Nurbekova et al., 2021). Benzer şekilde, AO4'ün çeşitli aromatik ve alifatik aldehitleri oksitleyebildiği ve aldehit bağımlı bir şekilde farklı şekilde O_2^- ve H_2O_2 üretebildiği gösterilmiştir. Ek olarak, silikattaki AO4 transkript seviyeleri ve aktivitesinin H_2O_2 uygulamasıyla indüklendiği ve bu reaksiyonun sonucunda, AO4 aktivitesi tarafından üretilen ROS'un kendi kendini çoğaltabildiği, toksik aldehitlerin daha fazla detoksifikasyonunu mümkün kıldığı ve böylece *Arabidopsis* bitkilerinin silikat yaşlanmasını geciktirdiğini göstermiştir (Srivastava et al., 2017).

2.2.3.3 Diğer reaktif türlerinin detoksifikasyon mekanizmaları

RNS, çevresel yani abiyotik streslere yanıta sinyal molekülleri olarak önemli rol oynayan bir molekül ailesidir. ROS ile birlikte RNS'nin, hücresel düzeyde homeostazın korunmasına yardımcı olmak için ikincil haberciler olarak hareket

ettiği karakterize edilmiştir; ayrıca temel metabolik yolları düzenleyerek hücrel fonksiyonları da değiştirdikleri bildirilmiştir (Mandal et al., 2022). RNS'ler arasında en önemli gaz radikallerinden biri NO, patojenlere karşı bitki savunması (Romero-Puertas et al., 2004; Mur et al., 2006), abiyotik strese karşı direnç (Zhang et al., 2006), tohum uyku hali ve çimlenme (Bethke et al., 2006; Liu et al., 2007), çiçek geçişi (He et al., 2004; Simpson, 2005) ve yaprak yaşlanması (Mishina et al., 2007) gibi farklı gelişimsel süreçleri düzenleyen bir sinyal molekülü olarak karakterize edilmiştir. NO, hastalıklara direnç süreçlerini (Polverari et al., 2003) ve stresle ilişkili transkripsiyon faktörlerinin sinyallemeyle ilişkili kinazların ekspresyonunu düzenleyerek (Parani et al., 2004) salisilik asit (SA) ve jasmonik asit (JA) gibi diğer sinyal molekülleriyle etkileşimi yoluyla transkripsiyonel seviyede gen ekspresyonunun düzenleyicisi olarak görev yapar (Grün et al., 2006). ROS'a benzer şekilde, NO ve GSNO gibi RNS'ler de patojenler tarafından indüklenir. *Arabidopsis*'te lipopolisakkaritler NO üretimini aktive edebilir, bu da savunma genlerinin ekspresyonunu tetikler (Zeidler et al., 2004).

ROS gibi, RNS de çeşitli biyolojik etkileri gerçekleştirebilen daha kalıcı moleküller oluşturmak için biyolojik olarak üretilen serbest radikallerden mitokondri, kloroplast ve ayrıca peroksizomun içinde üretilir (Galatro et al., 2013). Bu üretim, NO indirgenmesi, oksidasyon, nitrasyon, nitrozasyon, nitrosilasyondan oluşan bileşik grubunun oluşmasına yol açar (Mandal et al., 2022). RNS'nin hücre davranışını değiştirdiği ana mekanizmalar S-nitrozasyon, nitrasyon ve metal nitrosilasyon yoluyla gerçekleşir (Corpas et al., 2019; Corpas et al., 2021). S-Nitrozasyon, NO ile sisteinin tiyolu (-SH) arasındaki kovalent bağlanma nedeniyle S-N=O oluşumundan oluşur. Proteinlerin bu geri dönüşümlü PTM'si NO sinyallemesi için en önemli mekanizmalardan biridir. S-N=O grubu ayrıca NO'nun donörü ve rezervuarı olarak da işlev görür. S-nitrozasyonla modifiye edilen proteinler, işlevselliklerini değiştirerek hızlı ve geri dönüşümlü hücrel proteom değişikliklerini indükler (Corpas and Palma, 2018). Nitrasyon, ONOO⁻ aracılığıyla bir nitro grubunun (-NO₂) proteinlere, yağ asitlerine veya nükleik asitlere eklenmesidir. Proteinlerde en çok çalışılan nitrasyon türü nitro-tirozin oluşumuyla sonuçlanır. Ancak sistein, triptofan ve metiyonin gibi diğer amino asitlerde de nitrasyon görülebilir. Amino asitlerin nitrasyonu, protein fonksiyonunun kazanılmasına veya kaybına, hatta bir etkinin olmamasına yol açabilir. En sık

görülen sonuç fonksiyon kaybıdır (Corpas and Palma, 2018). Metal nitrosilasyonu, NO proteinlerde bulunan geçiş metalleri ile etkileşime girdiğinde meydana gelir. ROS'a benzer şekilde, RNS, yağ asitleri veya lipid peroksi radikalleri ile reaksiyona girerek nitro-yag asitleri (NO₂-FA'lar) adı verilen reaktif lipid türlerini oluşturur. NO₂-FA'lar sinyal moleküllerini oluşturur ve stres olayları ve gelişimsel süreçler sırasında gen ekspresyonunu modüle eder (Kolbert et al., 2019; Di Fino et al., 2021).

GSNO gibi diğer RNS'ler, oksijen NO'nun glutatyon ile reaksiyonunu katalize ettiğinde oluşur. Oluşan ürün, glutatyona bağımlı formaldehit dehidrojenaz olarak bilinen sınıf III alkol dehidrojenaz olan GSNO redüktaz (GSNOR) adı verilen bir enzim yardımıyla GSSH ve amonyağa dönüştürülebilir (Gupta et al., 2011) veya Asc ve bakır gibi indirgeyicilerin varlığında NO'ya parçalanabilir (Corpas et al., 2011). S-Nitrosotiollerin ve özellikle GSNO'nun hücre içi NO rezervuarı olarak çalıştığı ve hücre içinde taşınmasına yardımcı olduğu gözlemlenmiştir. NO'nun hücrelerin içinde birikmesinin nitrosatif stresi tetiklediği bilinmektedir (Corpas et al., 2011). NO metabolizmasında yer alan nitrat ve nitritin iyonik formları, sırasıyla nitrat taşıyıcıları ve format-nitrit taşıyıcıları yoluyla sitoplazmik ve kloroplast membranı boyunca taşınarak nitrojen türlerinin birikmesine/bölünmesine yol açar (Smith et al., 2016). İlginç bir şekilde ROS, çoğunlukla mitokondri, plastidler ve sitozolde olmak üzere hücrelerin içinde biriken NO'nun temizlenmesinde rol oynayabilir. NADPH dehidrojenaz, alternatif oksidaz (AOX) ve Sitokrom C redüktaz gibi enzimler, ROS substratını kullanarak doğrudan veya dolaylı olarak RNS'nin temizlenmesine yardımcı olur (Gupta et al., 2011). AOX ayrıca mitokondride anoksik veya hipoksik koşullar altında NO üretir (Gupta et al., 2005), ancak normoksi altında AOX fazla NO'yu uzaklaştırır. Anoksik koşullar altında ve N₂ fiksasyon nodüllerinde, simbiyotik olmayan hemoglobinler mitokondri ile iş birliği yaparak anoksik ATP üreten ve NADPH seviyelerinin kontrolüne izin veren bir fitogloblin-NO döngüsü oluşturur. Ksantin oksidazlar, AO'lar ve sülfid oksidazlar gibi bazı molibdoenzimlerin de NO₂ indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir (Astier et al., 2018; Kolbert et al., 2019; Corpas et al., 2022).

RNS moleküllerinin başlıca temizleyicileri arasında tiyoller, Zn-SH grupları, demir/kükürt merkezleri, flavonoidler, fenolik asitler, GSH, Asc, [H⁺], triptofan,

melatonin, PUFA ve düşük yoğunluklu lipoprotein (Arnao and Hernández-Ruiz, 2019) yer alır. Ayrıca NO, özellikle abiyotik stres sırasında ROS temizleme sisteminin güçlendirilmesinde rol oynar (Sun et al., 2022). NO, Fenton reaksiyonunun oksidatif hasarını azaltarak O_2^- , $OH^\bullet$ ve LOOH gibi bazı reaktif molekülleri temizler (Tiwari et al., 2002). SOD biyolojik sistemde NO ile rekabet ederek NO ile $O_2^\bullet$ arasındaki reaksiyonları değiştirerek $ONOO^-$ üretimini etkiler (Beligni and Lamattina, 2002). Ayrıca $ONOO^-$, NO varlığını azaltarak fitoglobulinler tarafından temizlenebilir. Bitkilerde, $ONOO^-$ -temizleme TRX aracılı yolla meydana gelirken hayvanlarda sitokrom c oksidazın etkisini içerir (Flogel et al., 2001; Radi, 2013). Ayrıca NO, NOX'i inhibe ederek ve buğday, sorgum ve *Arabidopsis* gibi bitkilerde gözlemlendiği gibi SOD, CAT ve APX gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunu modüle ederek, ROS birikimini engeller ve homeostazisini korur (Mandal et al., 2022). GSNO ise, arpa tohumunun çimlenmesi sırasında sınıf III alkol dehidrojenazın aktivitesi ile temizlenir (Espey et al., 2002; Ma et al., 2016). GSNO adı verilen bu enzim, O_2 içeren GSH'nin S-nitrosilasyonu ile indüklenir. Ayrıca kuraklık gibi stres koşulları altında ROS ve NO arasındaki denge GSNO aktivitesini modüle eder (Wang et al., 2016). GSH, H_2O_2 'yi H_2O 'ya oksitleyerek nükleofilik temizlemeden sorumludur ve bu enzimin seviyesi, RNS nitrosilasyonundan büyük ölçüde etkilenir (Corpas et al., 2013a; Ma et al., 2016).

ROS ve RNS'nin, bitkileri patojenlere karşı koruyacak stresle ilişkili genleri uyardığı (Hussain et al., 2016b) patojenlerin öldürülmesine katkıda bulunan oksidatif patlamaları tetiklediği ve direnç sinyal yollarını güçlendirdiği (Khan et al., 2021) rapor edilmiştir. Hem biyotik hem de abiyotik streslere yanıt olarak ROS, lipid peroksidasyonunu ve protein karbonilasyonunu indüklerken RNS, lipid nitrasyonunu, protein tirozin nitrasyonunu ve protein S nitrosilasyonunu indükler, hücreler arası etkileşimlerde ve mekanizmalarda yer alan bir sinyal molekülü olarak görev yapar, bu da sonuçta nitroksidatif strese yol açar (Mullineaux et al., 2018; Smirnov and Arnaud, 2019). Çevresel strese yanıt olarak ROS ve RNS, savunmaya duyarlı genleri modüle eden, fitohormon sinyalini değiştiren ve transkripsiyon faktörleri yoluyla bitki bağışıklık savunmasını değiştiren CDPK, MAPK ve GPCR sinyalleşmesini aktive eder (Rai, 2023). Bu nedenle, hücrede RNS üretimi ile detoksifikasyonu arasında bir denge oluşturulması gerekir.

Sülfıt (SO_3^{2-}), hidrojen sülfıt (H_2S) ve tiyosülfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) dahil olmak üzere RSS, hem sinyal molekülleri hem de metabolik ara ürünler olarak işlev gören bitki hücresel süreçlerinin bir diğer ayrılmaz bileşenleridir (Alvi et al., 2023). Bununla birlikte RSS'nin aşırı birikimi, oksidatif stresi tetikleme, redoks dengesini bozma ve lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllere zarar verme potansiyeli nedeniyle hücresel homeostazis için önemli bir tehdit oluşturur (Gill and Tuteja, 2010). Bitkiler bu toksik etkileri azaltmak, kükürt homeostazisini korumak ve optimal hücresel fonksiyonu sağlamak için çok önemli olan son derece uzmanlaşmış detoksifikasyon mekanizmaları geliştirmiştir (Apel and Hirt, 2004). Son araştırmalar, stres koşullarında bitkinin hayatta kalması için biyosentezi, sinyalleme ve metabolizmasının hayati hale gelmesiyle RSS'nin abiyotik stres toleransındaki önemini vurgulamıştır (Alvi et al., 2023).

Enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden oluşan antioksidan savunma mekanizması, bitkileri reaktif türlerin neden olduğu oksidatif strese karşı korumaya yardımcı olur (Gill and Tuteja, 2010). RSS detoksifikasyonunda enzimatik yollarda Sülfıt oksidaz (SOX; EC 1.8.3.1); Oasetilserin(tiyol)liyaz (OASTL; EC 2.5.1.47); Kükürt transferazlar (STR; EC 2.8.2) ve Sülfıt redüktaz (SiR; EC 1.8.99.1) enzimleri görev yapar. SOX, bitkilerde sülfıti sülfata oksitleyen molibden içeren önemli bir enzimdir (Filiz et al., 2017). Hayvanlarda bulunan SOX'tan farklı olarak bitkilerdeki SOX, peroksizomlarda lokalizedir ve terminal elektron alıcısı olarak oksijeni kullanır ve yan ürün olarak H_2O_2 üretir (Hänsch et al., 2006). Bu peroksizomal lokalizasyon, SOX ve CAT arasındaki etkileşime izin verir ve potansiyel olarak fazla sülfıtın detoksifikasyonu ve hücrelerin sülfıtolizden korunması için bir "güvenlik valfi" görevi görür (Hänsch et al., 2006). SOX enziminin ekspresyonu çeşitli stres koşulları altında modüle edilir, özellikle yüksek ışık ve ısı stresi altında yukarı doğru düzenlenir (Filiz et al., 2017). SOX, bitkilerde kükürt ve nitrojen metabolizmasını birbirine bağlayarak redoks regülasyonunda, sinyalleşmede ve metabolizmada hayati bir rol oynar (Mendel and Schwarz, 2023). OASTL, bitki kükürt metabolizmasında anahtar bir enzimdir ve sülfıt ve Oasetilserinden sistein oluşumunu katalize eder (Youssefian et al., 2001). OASTL, sitozol, plastidler ve mitokondri dahil olmak üzere birçok hücre altı bölgede bulunur (Rolland et al., 1992; Wirtz et al., 2004). Enzim, oksidatif strese karşı bitki tepkileri için önemli olan sistein ve glutatyon biyosentezinde önemli bir rol oynar

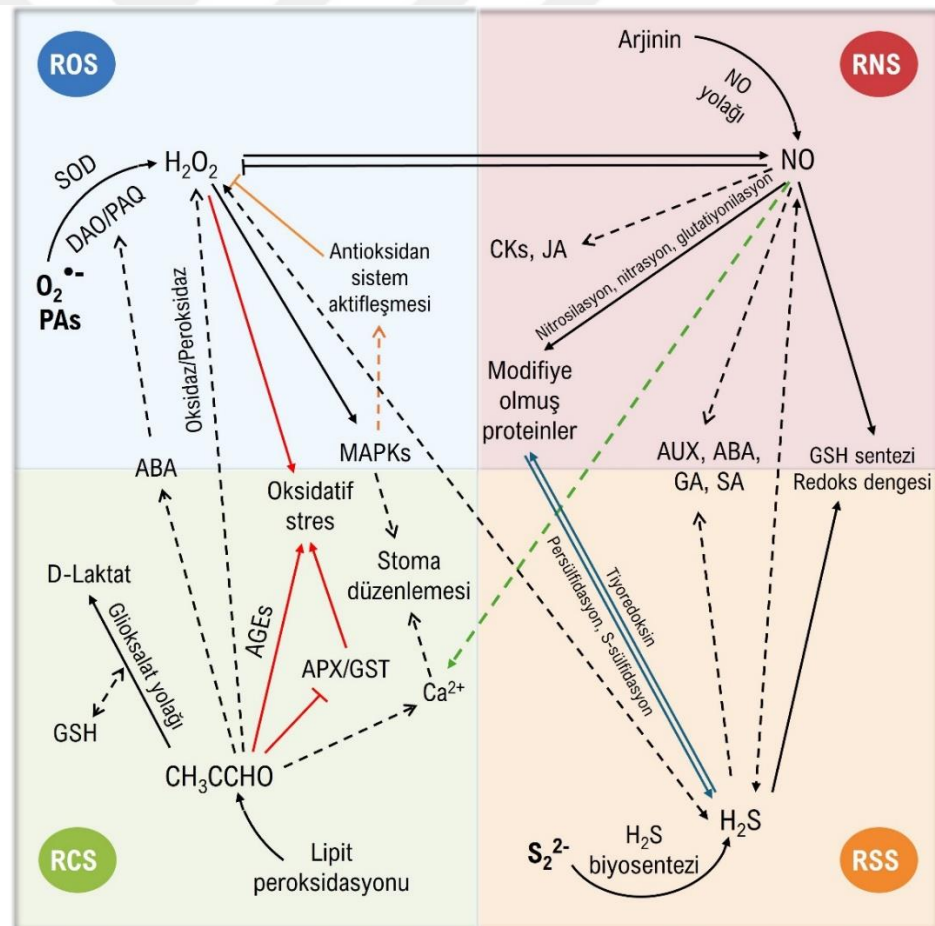
(Youssefian et al., 2001). *A. thaliana*'daki OASTL izoformları, daha önce bildirilenlere göre yüksek spesifik aktiviteler ve daha düşük substrat afiniteleri sergiler; bu da sistein sentezinde daha dinamik ve düzenleyici bir rol olduğunu düşündürür (Wirtz et al., 2004). Bu bulgular OASTL'nin bitki kükürt metabolizması ve stres tepkilerindeki önemini vurgulamaktadır. Bitkilerdeki STR'ler, kükürt metabolizmasında rol oynayan çok yönlü enzimlerdir. *A. thaliana*, substrat olarak tercihen 3-merkaptopiruvatı kullanan, yakından ilişkili en az iki STR izozimi içerir (Papenbrock and Schmidt, 2000). Bu enzimler, katalitik bir sistein kalıntısı içeren bir homoloji alanı ile karakterize edilir (Selles et al., 2019). STR'ler, molibden kofaktör biyosentezi, tRNA modifikasyonu, arsenat toleransı, sistein katabolizması ve H₂S oluşumu dahil olmak üzere çeşitli işlemlerde rol oynar (Selles et al., 2019). STR'lerin aktivitesi ve RNA seviyeleri bitki yaşıyla birlikte artar, bu da yaşlanmayla ilişkili süreçlerde rol oynadığını gösterir (Papenbrock and Schmidt, 2000). Bitkiler, STR'lere ek olarak, sülfürlü gruplarını 3'-fosfoadenosin 5'-fosfosülfattan glukozinolatlar, brassinosteroidler ve flavonoidler dahil olmak üzere çeşitli substratlara aktaran sülfotransferazlara (SOT'ler) de sahiptir (Hirschmann et al., 2014). *A. thaliana* genomu 21 SOT proteinini kodlar ve bu da bitkilerdeki kükürt ile ilgili enzimlerin çeşitliliğini vurgular (Hirschmann et al., 2014). SiR, bitki kükürt metabolizmasında çok önemli bir enzimdir ve sülfat asimilasyon yolunda sülfitin sülfite indirgenmesini katalize eder (Yarmolinsky et al., 2013). Araştırmalar SiR'nin bitkileri sülfid toksisitesine karşı korumada hayati bir rol oynadığını göstermiştir. Azaltılmış SiR ekspresyonuna sahip bitkiler, yaprak nekrozu ve klorofil ağartması olarak kendini gösteren sülfite karşı artan hassasiyet sergilerken, SiR'nin aşırı ekspresyonu sülfid toleransını artırır (Yarmolinsky et al., 2013). SiR aktivitesinin bozulması, klorofil bozulması, PS II fonksiyonunun azalması ve toksik sülfid birikimi ile karakterize edilen erken yaprak yaşlanmasına yol açabilir (Yarmolinsky et al., 2014). SiR'nin koruyucu işlevi, sülfid uygulamasına yanıt olarak hızlı yukarı regülasyonu ile desteklenir (Yarmolinsky et al., 2013). SiR'nin bitki dokularındaki hücre içi konumu daha önceki araştırmalarda kesin olarak belirlenmemiş olsa da enzimin bir elektron taşıma sisteminin parçası olarak parçacık hücre fraksiyonları ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Mayer, 1967). Bu enzimatik süreçlerin yanı sıra, enzimatik olmayan mekanizmalar, özellikle GSH ve Acs gibi antioksidanları içerenler, reaktif ara maddelerin temizlenmesinde ve hücrel bileşenlerin oksidatif hasardan korunmasında önemli bir rol oynar. Bu detoksifikasyon sistemleri kükürt

asimilasyon yollarıyla karmaşık bir şekilde bağlantılıdır ve bitkilerin dalgalanan çevresel kükürt seviyelerine uyum sağlamasına ve stresin neden olduğu RSS birikimine karşı koymasına olanak sağlamak için sıkı bir şekilde düzenlenir. Glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptit olan GSH, RSS ile doğrudan etkileşime giren önemli bir antioksidandır (Gerard-Monnier and Chaudiere, 1996). GSH, sülfiti detoksifiye eder ve RSS metabolizması sırasında üretilen ROS'ları nötralize eder, böylece proteinleri, lipitleri ve DNA'yı oksidatif hasardan korur. Ek olarak GSH, H_2O_2 'u suya indirgeyen GPX için bir kofaktör görevi görür (Kunming et al., 2004). Asc, ROS'u temizleyen ve oksidatif stresi azaltan bir diğer önemli antioksidandır. Asc-GSH döngüsüne katılır ve burada H_2O_2 'yı APX yoluyla suya indirger. Asc, RSS ile ilişkili oksidatif stresi azaltarak dolaylı olarak RSS detoksifikasyonuna katkıda bulunur (Shan et al., 2018). Sistein ve γ -glutamilsistein gibi düşük moleküler ağırlıklı tiyoller, hücre içi RSS seviyelerinin tamponlanmasında önemli bir rol oynar. Bu tiyoller RSS ile doğrudan reaksiyona girerek daha sonra metabolize edilen veya atılan stabil bileşikler oluşturabilir (Yi et al., 2010). Prolin ve polifenoller, RSS detoksifikasyonu bağlamında daha az çalışılmış olmasına rağmen, ek enzimatik olmayan koruyucular olarak görev yapar. Serbest radikalleri temizler ve oksidatif stres altında proteinleri ve zarları stabilize ederler, böylece aşırı RSS'nin neden olduğu ikincil hasarı azaltırlar (Hossain and Fujita, 2010).

Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan detoksifikasyon sistemleri sıkı bir şekilde düzenlenir ve sıklıkla birlikte hareket eder. Örneğin SOX ve CAT gibi enzimler, metabolizmalarının hem RSS hem de ROS yan ürünlerini detoksifiye etmek için sinerjistik olarak çalışır. Benzer şekilde GSH ve Asc içeren antioksidan sistemler de birbirine bağlanarak hücresel bütünlüğü koruyan dinamik bir redoks ağı oluşturur. Bu mekanizmaları anlamak, bitki stres toleransına ilişkin değerli bilgiler sağlar ve genetik ve metabolik mühendislik stratejileri yoluyla mahsulün dayanıklılığını arttırmanın yollarını açar.

2.2.4 Bitkilerde reaktif türlerin oluşma ve detoksifikasyon mekanizmalarının redoks sistemi ile ilişkisi

Reaktif türlerin üretimi ve düzenlenmesi hücre içinde çalışan karmaşık bir ağdır. Reaktif türler çekirdek elementlerine (oksijen, nitrojen, kükürt veya karbon) göre sınıflandırılrsa da aynı hedefleri veya temizleme yollarını paylaştıkları bazı metabolik kontrol noktaları vardır (Hasanuzzaman et al., 2020a). Bu nedenle, bitkinin çevresel strese dayanabilmesi için reaktif türlerin üretimini ve detoksifikasyonunu genel olarak yöneten sıkı bir düzenleyici mekanizmanın varlığına ihtiyacı vardır. Bu ağın karmaşıklığına rağmen, ROS, RNS, RCS veya RSS olsun tüm reaktif türler, üretimlerinden, birikimlerinden ve süpürmelerinden sorumlu aynı hedeflerle karşılaştıkları bazı metabolik kontrol noktalarında ayrılırlar (Zhou et al., 2022) (Şekil 2.18).



Şekil 2.18 Bitkideki abiyotik stres aracılı düzenleyici olay sırasında reaktif türlerin (ROS, RNS, RCS, RSS) birbirine bağlı ağı. Noktalı çizgiler aktivasyonu veya ortaya çıkışı gösterir. APX askorbat peroksidaz, AUX oksin, ABA absisik asit, GSH indirgenmiş

glutasyon, JA jasmonatlar, MAPK'ler mitojenle aktifleştirilen protein kinazlar, SA salisilik asit, AEG'ler ileri glikasyon son ürünleri, PA poliaminler, CH₃CCHO metilglioksal, NO nitrik oksit, H₂S hidrojen sülfür, H₂O₂ hidrojen peroksit, O₂⁻ süperoksit radikali, SOD süperoksit dismutaz, D/PAO diamin/poliamin oksidaz, CK sitokinleri, GA gibberelik asiti ifade etmektedir. (Zhou et al., 2021'den uyarlanmıştır).

Son çalışmalar, bu sinyal moleküllerinin sadece endojen olarak değil, ekzojen uygulamasının, aşırı iklim şartlarına maruz kalan bitkilerde redoks durumu, stoma hareketi, kök gelişimi ve apoptoz gibi karmaşık ağların düzenlenmesinde bütünleşik olarak yer aldığını doğrulamıştır (Fuentes-Lara et al., 2019; Shankar et al., 2021). Bununla birlikte, bu sinyal moleküllerinin etkileri öncelikle dozajlarına, hücre içi bölme, uygulama süresine ve tedavi edilen bitki hücresinde/dokusunda göreceli akışına bağlıdır (Corpas and Palma, 2020).

ROS ve RNS, diğer iki muadilinden nispeten daha fazla çalışılmış veya araştırılmış reaktif türlerdir. Önemli bir gaz iletilici olan NO, ROS ve RNS arasındaki ara bağlantıyı temsil eden abiyotik stres sırasında yüksek oranda ROS üretimi ile gelişmiş üretim gösterir (Hasanuzzaman et al., 2018c,d). Ayrıca H₂O₂'nin antioksidan aracılı uzaklaştırılması NO üretimini engellemektedir (Bright et al., 2006). H₂O₂, ABA aracılı NO üretimi için anahtardır (Zhang et al., 2007), ancak diğer taraftan ABA aracılı H₂O₂ üretimi NO'dan bağımsızdır (Qiao et al., 2014). Hem H₂O₂ hem de NO'nun, fitotoksik reaksiyonların yanı sıra sinyal iletim olaylarına da dahil olduğu varsayılmaktadır. POX'lar tarafından temizlendikten sonra, kalan küçük H₂O₂ miktarı NO ile reaksiyona girerek tehlikeli ·OH oluşumuna neden olabilir. Bu reaksiyon, NO/H₂O₂ kaynaklı sinyal iletimini ve ·OH (ROS) tarafından oksidatif hasarın oluştuğunu göstermektedir (Corpas et al., 2015). O₂⁻ ve NO arasındaki etkileşim üzerine, proteinlerin PTM'lerinde (tirozin nitrasyonu) rol oynadığı bilinen ONOO⁻ üretimi gözlenir (Liu et al., 2018; Radi, 2004). Bu kanıtlar, ROS ve RNS'nin birbirine karışmış hasar verme/sinyal verme olaylarını gösterir ve karmaşık ağ bağlantılarını kanıtlar. Buna ek olarak yapılan son çalışmalar hem NO hem de H₂S'nin, ABA sinyalleme modüle ederek tohum uyku hali ve çimlenmesini düzenlemede potansiyel olarak rol oynadığını göstermiştir (Mishra et al., 2021). *Arabidopsis*'te yapılan çalışmalar moleküler düzeyde, NO'nun tohum çimlenmesini ABA reseptörünün düzenleyici bileşeni olan pirabaktin direnci 1(PYR)/ PYR1-benzeri (PYL)/ABA Reseptörlerinin Düzenleyici Bileşenleri (RCAR), SNF1 ile ilişkili protein kinaz 2 (SnRK2) ve ABA duyarsız 5

(ABI5) proteinini aktive ederek uyguladığını, H₂S'nin ise L-sistein desülfhidraz (L-DES) proteininin ekspresyonunu modüle ederek uyardığını göstermiştir (Signorelli and Considine, 2018; Prakash et al., 2019). Ayrıca *Arabidopsis*'te yapılan son araştırmalar, H₂S sinyalinin, çekirdekte uzun hipokotil 5'in (HY5) bozulmasını uyaran yapısal fotomorfogenez 1'in (COP1) birikmesiyle sonuçlandığını göstermiştir. HY5'in artan bozulmasının, ABI5 geninin ekspresyonunun azalmasına neden olduğu ve böylece ısı stresi altında tohum çimlenmesini arttırdığı gösterilmiştir (Chen et al., 2020).

ROS ve RCS arasındaki etkileşim RNS'lere kıyasla daha karmaşıktır. RCS üyelerinin çoğu, ROS aracılı lipid peroksidasyonu sırasında oluşan doymamış aldehitler ve ketonlar sınıfına aittir ve ROS sinyalinin devamında sinyal dönüştürücüler olarak görev yapmaktadır (Mano et al., 2019a; Biswas and Mano, 2021). Öte yandan RCS'nin, enzimatik antioksidanların üretimini modüle ederek ROS birikimini indüklediği de kanıtlanmıştır. Ayrıca RCS kaynaklı ROS üretiminin aynı zamanda ABA sinyalleşmesine ve H₂O₂ oluşumuna da yol açtığı gösterilmiştir (Mano et al., 2019b; Yalcinkaya et al., 2019b). Yapılan çalışmalar, ayrıca metilglioksal gibi RCS üretiminin ROS'u aşırı biriktirdiğini ve ileri glikasyon son ürünlerinin oluşumunu tetiklediğini de ileri sürmektedir (Saito et al., 2011). Proteomik seviyede, düşük miktarlardaki RCS, proteinlerin sistein kalıntılarını tersine çevrilebilir bir şekilde değiştirerek onların düzenleyici aktivitelerine yardımcı olur. Ancak daha yüksek miktarlarda RCS, histidin ve lizin kalıntılarıyla reaksiyona girerek protein düzenlemelerinde yer alan ROS sinyallerini taklit eden stabil eklentiler oluşturabilir (Yalcinkaya et al., 2019b). RCS'nin Zn²⁺ ile etkileşime girme yeteneğinden dolayı, RCS'nin ZnSOD'ları ve diğer antioksidan enzimleri sınırlama yeteneğine sahip olduğuna dair varsayımlar vardır (Hao and Maret, 2006). RCS ve ROS'un birbirine bağımlı üretiminin yanı sıra RCS'nin oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmalarının uyarılmasındaki rolünü gösteren yeterli kanıt vardır. Özellikle RCS'nin proteinlerin sistein, lizin, histidin veya amino grupları ile direk reaksiyona girebilme kapasitesi nedeniyle ısı şok proteini (HSP), TRX, GRX, APX, gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH), DHAR, MDHAR, SOD, POX, CAT ve NOX/RBOH gibi hücrel redoks dengesi için önemli olan birçok protein RCS ile reaksiyona girebilir ve bu reaksiyon sonucunda aktivitelerinde değişimler görülebilir (Knieper et al., 2023). Karbonillenmiş

proteinlerin 20S proteazom sistemi tarafından parçalandığı, ubiquitinlenmiş proteinler için ise 26S proteazom sisteminin kullanıldığı bilinmektedir (Ben-Nissan and Sharon, 2014). Proteinlerin karbonilasyon düzeyi proteozom sisteminin kapasitesini aştığında sitotoksik agregatlar halinde birikme eğilimi gösterirler ve bu birikim birçok hücrel yolak bozulmasıyla sonuçlanır (Tola et al., 2021). Bu dengeyi otofaji yoluyla düzenlendiğini gösteren birçok çalışma vardır ve RCS birikiminin, aynı zamanda organizmadaki fazla RCS'den kurtulma işlevi görebilecek PCD'yi indüklediği bulunmuştur (Biswas and Mano, 2016, 2021).

Çoğunlukla RSS, ROS ve kükürt arasındaki reaksiyona dayalı olarak oluşmaları nedeniyle ikinci nesil reaktif türler olarak anılır. Tiyoller ve ROS arasındaki etkileşim, ayrıca bir elektron donörü olan disülfürleri oluşturan sülfenik asitlerin (R-SOH) ortaya çıkmasına neden olur (Gruhlke, 2019). Ayrıca, RS-SOH ayrıca S-sisteinilasyon ve S-glutatiyonilasyonda (PTM) yer alır ve proteinlerin stabilitesini ve optimal işleyişini etkiler (Hill and Bhatnagar, 2012). R-SOH'nin sülfonik asite dönüşümüne ayrıca ROS aracılı oksidasyonlar da aracılık edebilir (Pajares et al., 2015). Plazma zarı bazlı sodyum antiporterlerin düzenlenmesi aynı zamanda ROS ve H₂S arasındaki etkileşimle de bağlantılıdır (Li et al., 2014). H₂S'nin ayrıca enzimatik (SOD, CAT, APX) ve enzimatik olmayan (Asc, GSH) antioksidanların aktivasyonunda, ayrıca H₂O₂ temizlemede ve Asc-GSH döngüsünün korunmasında dolayısıyla da redoks oranında belirleyici roller oynadığı bilinmektedir (Hasanuzzaman et al., 2018a; Bhuyan et al., 2020).

ROS, RNS ve RSS arasındaki etkileşimler, bazı proteinlerin aktivasyon durumları durumunda açıkça görülebilir; burada protein yapısına özgü sistein kalıntıları, S-nitrosilasyon adı verilen bir işlemle NO gibi radikaller tarafından veya RSS, S-sisteinilasyon/S-glutatiyonilasyon veya ROS'un sülfenik, sülfenik ve sülfonik asitler gibi kükürt radikalleri üzerindeki birleşik etkileri, disülfid bağlarının oluşumuna neden olur. Protein yapısındaki bu değişiklikler, aktivasyon/inaktivasyon aşamalarını belirlemekte ve dolayısıyla fonksiyonlarını etkilemektedir. Ayrıca reaktif türlerin etkisi azaldığında TRX ve GRX gibi koruyucu enzimlerin etkilenen proteinlerin bir kısmını doğal hallerine döndürdüğü de gözlemlenmiştir (Lindermayr, 2018). ROS ve RSS, üretim, metabolizma ve temizleme süreçlerinde pek çok benzerliğe sahiptir ve dolayısıyla sinyal

mekanizmalarında iç içe geçmiştir (Olson and Straub, 2016). Daha önce de belirtildiği gibi, sistein gibi kükürt içeren proteinin peroksidasyonu, sisteinperoksit (sülfenil), sistein-SeOH'yi üretirken, H_2S_2 ile sülfhidrasyon, hücredeki protein aktivitesinin düzenlenmesine yol açan bir sistein persülfid üretir (Olson, 2019). Yakın zamanda yapılan bir çalışma, RNS ve ROS'un (özellikle NO ve H_2O_2), sırasıyla GA ve ABA'nın düzenlenmesi altında çimlenme promotörlerinin aktivasyonu ve inhibitörlerin devre dışı bırakılması dahil olmak üzere bir dizi sinyal tetiklemek için sinyal ortakları olarak tohum çimlenme sürecine kombinasyon halinde katıldığını ileri sürmüştür (Leung, 2019). Reaktif türler arasındaki etkileşim, büyüme, üreme aşamalarının gelişimi, yaşlanma ve hücre ölümü dahil olmak üzere bitki süreci için kritik öneme sahiptir. Bazı örnekler arasında H_2O_2 ve NO sinyal yollarıyla transkripsiyonel düzenleme, NOX, CAT, PRX IIE ve PRX IIF gibi anahtar enzimleri etkileyerek ROS metabolizmasında modifikasyona neden olan S-nitrosilasyon, NO'ya bağlı APX'in modifikasyonu yoluyla bitki abiyotik stres tepkisini etkileme sayılabilir (Lindermayr ve Durner 2015). Alüminyum (Zhou et al., 2018), kadmiyum (Li et al., 2012) ve bakır (Zhang et al., 2008) gibi metaller uygulanmış bitkilere/tohumlara H_2S 'nin ekzojen uygulanması antioksidatif enzimlerin düzenlenmesi yoluyla oksidatif strese karşı bitki savunmasını artırarak bitkileri bu metallerin zararlı etkilerinden korur.

2.3 Bitkilerde Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi

2.3.1 Bitkilerde endoplazmik retikulum (ER) stresi

Bitkilerin sesil organizmalar olduklarından birçok çevresel değişikliklerle karşı karşıya kaldığı bilinmektedir (Haskirli et al., 2021). Bitkiler sürekli olarak çevresel faktörleri taramak ve değişen koşullarda performanslarını optimize etmek için düzenlenmiş bir biyofiziksel, biyokimyasal ve moleküler olaylar dizisine dönüştürüldüğü sinyal kaskadının başlatılmasına ihtiyaç duyarlar (Shabala et al., 2015). Bu sinyal kaskadının başlaması ile bitkiler biyotik veya abiyotik stresler gibi iç veya dış hücresel koşulların değişikliklerine hızla uyum sağlamayı başarırlar (Brandizzi, 2021). Bu noktada özellikle protein biyosentezindeki rolü ve sentezlenen proteinlerin kalite kontrolündeki rolü nedeniyle, ER bu uyumun sağlanmasında önemli bir rol üstlenmektedir (Brandizzi, 2021). Çevresel stresörler

sıklıkla redoks durumunda değişikliklere, kalsiyum seviyelerinde değişikliklere ve salgı proteinlerinin translasyon sonrası modifikasyonlarında hatalara neden olur, bu da ER lümeninde yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine dayanan ölümcül bir durum olan ER stresine yol açar (Lai et al., 2007; Howell, 2013; Ozgur et al., 2014; Brandizzi, 2021). Oksidatif stres de dahil olmak üzere stres koşulları, proteinlerin sentezi ve katlanması ile doğrudan ilişkili olan hücresel metabolizmada değişiklikler yaparak ER stresine neden olan yanlış katlanmış / katlanmamış proteinlerin birikmesine yol açar ve bu da hücrelerde UPR adı verilen ve aynı zamanda ROS sinyalizasyonu ile düzenlenen çok spesifik bir yanıtı tetikler. ROS, stres koşullarına yanıt olarak daha düşük konsantrasyonlarda bir sinyal molekülü olarak önemli bir role sahiptir. Ayrıca, ROS, ROS gibi ikili bir karaktere sahip olan ve birçok farklı yolda sinyal molekülleri olarak görev yapan lipid peroksit bozunma ürünleri olan RCS yardımıyla aşağı akış sinyal yollarını aktive eder. Böylece stres durumunda olan hücrelerde reaktif moleküller arası iletişim, stres toleransını belirler.

ER, bir hücrenin salgı protein fabrikası olarak görev yapar ve bu proteinleri olgunlaştırmak ve hücre içi veya hücre dışı etki bölgesine taşımak için uygun şekilde katlanmak üzere bu proteinleri üretir, katlar ve değiştirir (Ozgur et al., 2014; Ozgur et al., 2015). Üretilen proteinlerin taşınması ve işlevi için uygun katlama önemlidir ve her canlı gibi bitkiler de protein katlama talebi ile katlama kapasitesi arasında bir denge sağlar (Deng et al., 2013). Bu denge çevresel stres gibi koşullar nedeniyle bozulduğunda, katlanmamış ve yanlış katlanmış proteinler ER'de birikerek hücrelere zarar verebilecek bir durum olan ER stresine neden olur. Tüm bunların yanı sıra ER, zararlı olgunlaşmamış proteinlerin ortadan kaldırılmasını da içeren, üretilen proteinlerin kalite kontrolünden de sorumludur (Iwata and Koizumi, 2005). Sentezlenen proteinlerin katlanması, ERQC yolları tarafından kontrol edilir ve yanlış katlanmış veya olgunlaşmamış proteinler, sağlıklı hücresel ortamın korunması için ERAD sistemi tarafından ortadan kaldırılır (Howell, 2013; Wan and Jiang, 2016). Protein biyosentezi ve sentezlenen proteinlerin kalite kontrolündeki rolü nedeniyle ER, hücrenin fizyolojisini doğrudan etkileyen biyotik veya abiyotik stresler gibi iç veya dış varyasyonlara hızlı bir şekilde uyum sağlamalıdır (Brandizzi, 2021). Salgı proteinlerinin redoks durumu, kalsiyum seviyelerinde değişiklikler veya PTM mekanizması hataları ile sonuçlanan ortamdaki

değişiklikler, ER stresi olarak adlandırılan katlama kapasitesinin aşılması nedeniyle ER'de yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine dayalı ölümcül bir duruma neden olur (Lai et al., 2007; Howell, 2013; Ozgur et al., 2014; Brandizzi, 2021).

ER stresi, ilgili gen ekspresyonu düzenlemesi yoluyla ER homeostazisini koruyan ve ER üzerindeki yanlış katlanmış protein yükünü azaltmak için ERAD sistemini güçlendiren ve UPR adı verilen koruyucu bir yolak tarafından takip edilmektedir (Czékus et al., 2020). UPR, ER membranıyla ilişkili moleküler sensörlerin yardımıyla ER stresinin tespit edilmesiyle etkinleştirilir (Pastor-Cantizano et al., 2020). UPR'nin ER stresine verdiği birincil yanıtlar arasında protein katlanmasını desteklemek için şaperon üretimindeki artış, ER kapasitesinin artırılması için lipit sentezindeki artış ve ER protein yüklemesini yavaşlatmak için translasyonun azaltılması yer alır (Walter and Ron, 2011; Angelos et al., 2017; Hetz et al., 2020). Bu birincil tepkilerin ER stresini çözmek için yeterli olmadığı durumlarda PCD yolunun UPR sensörleri aracılığıyla geri döndürülemez şekilde aktivasyonu bir sonraki seçenektir (Schwarz and Blower, 2016). Bu mekanizmalar yalnızca bitkiler için sınırlı değildir, evrimsel çeşitlilik gösteren UPR sensörleri ve ER stresle başa çıkma stratejilerinde kullanılan mekanizmalar ökaryotlar arasında da korunmuştur (Pastor-Cantizano et al., 2020). Ökaryotlar arasındaki ER stres tepkisinin korunmuş doğası nedeniyle, ROS bağımlı ER stresi mayalarda (Ahmed et al., 2019; Hijazi et al., 2020), hayvanlarda (Case et al., 2017; Hwang et al., 2020) ve bitkilerde de (Uzilday et al., 2018; Pan et al., 2019) gözlemlenir.

Yapılan çalışmalar bitki hücrelerinde ER stresinin tipik olarak sıcak, soğuk, tuz ve kuraklık gibi abiyotik streslerle ve patojen enfeksiyonu gibi biyotik streslerle tetiklenebildiğini göstermiştir (Wan and Jiang, 2016). Ayrıca ditiyotreitol (DTT) ve tunikamisin (Tm) gibi kimyasalların uygulanması gibi belirli deneysel koşullar da daha açık çalışma mekanizmalarıyla ER stresine neden olabilir. Tm, salgılanan glikoproteinlerin N-bağlı glikosilasyonuna müdahale eder ve normal katlanma sürecini engeller (Koizumi et al., 1999; Iwata and Koizumi, 2005). İndirgeyici bir ajan olarak DTT, oksitleyici ortamın bozulması yoluyla disülfid bağlarının uygun şekilde katlanmasını engeller (Braakman et al., 1992).

Oksidatif stres, ER stresinin en temel nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir çünkü ER'nin normal koşullarda proteinlerin uygun şekilde katlanmasına ve disülfid bağlarının oluşumuna yönelik redoks reaksiyonları için sağladığı özel ortamı doğrudan bozar (Afrin et al., 2019). Üstelik oksidatif stres, yalnızca redoks metabolizmasının bozulmasıyla değil aynı zamanda bitki stres tepki mekanizmasının önemli unsurları olan ROS moleküllerinin üretimiyle de ilişkilidir (Schröder and Kaufman, 2005; Ozgur et al., 2018; Depaepe et al., 2021). ROS, yüksek konsantrasyonlarda DNA'ya zarar vererek, lipidlerin peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu sağlayarak hücrelere zararlı elementler olmasına rağmen (Mittler et al., 2012), daha düşük konsantrasyonlarda ikincil haberci gibi sinyal molekülü olarak da görev yapar (Cuypers et al., 2016; Mittler, 2017). ROS'un UPR yanıtı üzerindeki sinyalleme özelliklerini ve ER stresi arasındaki etkileşime ilişkin araştırmalar mevcuttur (Ruberti et al., 2015; Nawkar et al., 2017; Beaugelin et al., 2020; So et al., 2020). ROS'un diğer reaktif türlerle yakın ilişkili olduğu ve redoks dengesinde tüm reaktif türlerin rolünün olduğu düşünüldüğünde, ER stresi ile tüm bu reaktif türlerin bir noktada ilişkili olduğu sonucuna varılabilir.

2.3.2 Bitkilerde endoplazmik retikulum (ER) stresi ile ilişkili sinyal yolları

2.3.2.1 ER kalite kontrol sistemi (ERQC)

Ökaryotik ER membran sistemi, yeni sentezlenen ve doğru şekilde katlanan, diğer organellere transfer için yüklenen salgı yoluna açılan kapı olarak önemli bir rol oynar (Wan and Jiang, 2016). Sağlıklı bir hücresel ortam sağlamak için, ER tutma ve geri alma yollarını da içeren doğal ERQC mekanizması, ER lümeninde protein üretimini ve birleştirilmesini aktif olarak denetler (Ellgaard and Helenius, 2003; Sitia and Braakman, 2003). Protein katlanması hataya açıktır ve “anormal” proteinler genetik mutasyonlar, eksik PTM veya değişen çevresel koşullar gibi farklı olayların sonucu oluşabilir (Howell, 2013; Balchin et al., 2016). Sonuç olarak, tüm ökaryotik hücreler, doğal olmayan protein konformasyonlarını tanıyan, katlamayı teşvik eden ve nihai olarak yanlış katlanmış proteinleri veya birleştirilmemiş proteinleri bozunma için hedef alan spesifik protein kalite kontrol süreçleri geliştirmiştir (Strasser, 2018). Bu mekanizmalar potansiyel olarak zararlı

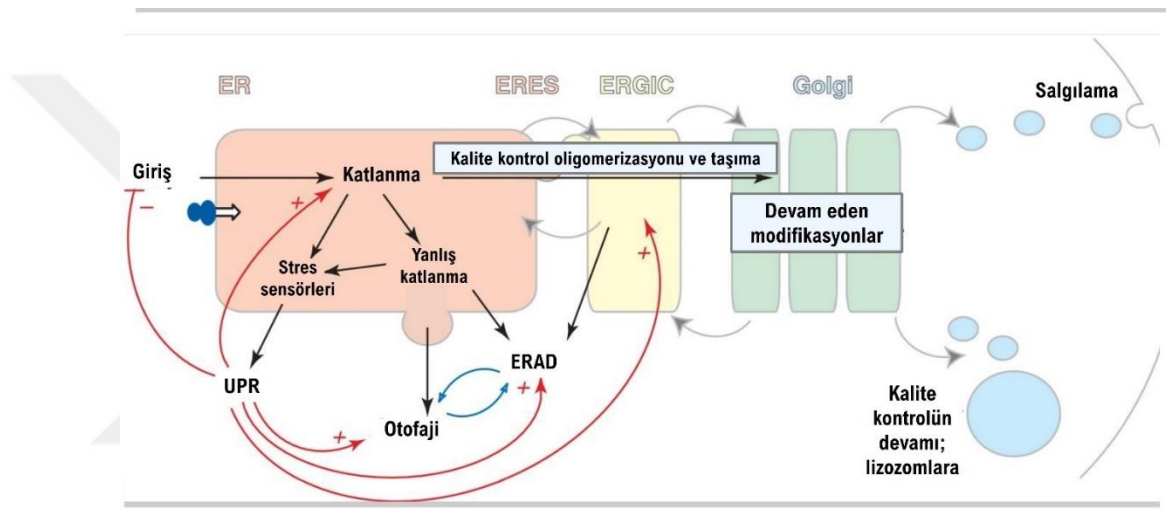
anormal proteinlerin birikmesini önler ve özellikle sesil organizmalar için çok önemli olan farklı çevre koşulları altında hücrel protein homeostazisini korur. Protein katlanmasının ve ERAD'ın yanı sıra ER çıkışının teşvik edilmesini içeren ERQC süreçleri; bozulma için fonksiyonel proteinleri seçen aşırı katı kalite kontrolünün yanı sıra potansiyel olarak zararlı işlevsel olmayan proteinlerin diğer hücrel hedeflere ulaşmasına izin veren aşırı gevşek bir sistemden kaçınmak için sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gereken olaylardır (Strasser, 2018).

Stressiz normal durumlarda, ERQC sistemi protein katlama sürecini ilk olarak yanlış katlanmış proteinleri ER'de yerleşik şaperonlar ve foldazlar tarafından aktif olarak tutmak ile kontrol eder (Wan and Jiang, 2016). Salgı yoluna hedeflenen hücrel proteinlerin çoğunluğu, henüz sentez aşamasındayken Sec61 kanalı yoluyla translokasyon yoluyla ER'ye girer. Yeni oluşan polipeptit zinciri ER lümeninde ortaya çıktığı anda, farklı şaperonlar, katlama faktörleri ve enzimler, agregasyonu bloke etmek, erken katlanmayı önlemek ve doğal bir duruma doğru katlanmaya yardımcı olmak için polipeptit ile etkileşime girer. Klasik HSP70 ailesine ait olan bağlanma proteini (BiP), ER lümenindeki ana moleküler şaperondur. BiP, translokasyon kanalından giren yeni sentezlenen proteinlere bağlanarak onları katlanmaya uygun durumda tutar. BiP'in moleküler şaperon aktivitesi ATP'ye bağımlıdır ve protein bağlama ve ATP hidroliz döngülerini içerir. Memeli hücrelerinde ve bitkilerde BiP sıklıkla diğer ısı şoku proteinlerinden, farklı şaperonlardan ve protein disülfür izomeras (PDI) ve UDP-glikoz:glikoprotein glukoziltransferaz (UGGT) gibi katlama enzimlerinden oluşan bir çoklu protein kompleksi içinde bulunur (Maunier et al., 2002; Bies et al., 2004; Nekrasov et al., 2009; Fujimori et al., 2017). Bu çoklu protein kompleksinde yanlış katlanmış glikoproteinler için katlama sensörü olan UGGT'nin varlığı, glikosile edilmiş ve glikosile edilmemiş proteinlerin, yan yana bulunan özel bir dizi ER şaperon ve enzimin yardımıyla katlanmaya tabi tutulduğunu gösterir. Memelilerin ve mayaların aksine, çiçekli bitkiler birkaç BiP proteini içerir *Arabidopsis*'te BiP1, BiP2 ve BiP3 bulunur. BiP1 ve BiP2, amino asit sekansları açısından çok benzerdir ve stresli olmayan koşullar altında her yerde eksprese edilirken, daha uzaktan ilişkili olan BiP3, esas olarak polende eksprese edilir ve ER stresi üzerine yüksek oranda indüklenir (Noh et al., 2003; Maruyama et al., 2014). BiP'ler, protein translokasyonu veya ER stres sensörü bZIP28'den ayrılarak UPR aktivasyonu gibi

ER'deki diğer işlemlerde yer alırlar (Srivastava et al., 2013). Ayrıca BiP3, model tanıma reseptörü XA21 (Park et al., 2010) gibi glikoproteinlerin biyogeneğinde rol oynar ve büyüme reseptörü Brassinosteroide Duyarsız 1'in (BRI1) yanlış katlanmış varyantlarına bağlanır.

ERQC aynı zamanda üretilen proteinlerin uygun modifikasyonlar olmadan proteinlerin ER'den çıkmasını pasif olarak önlemekten de sorumludur. N-glikosilasyon, salgı yoluna giren proteinlerin önemli bir kovalent modifikasyonudur (Apweiler et al., 1999). N-glikozilasyonun yokluğunda çeşitli mekanizmalar yanlış katlanmaya katkıda bulunur. Bağlı N-glikanlar, ER lümeninde yeni oluşan proteinlerin katlanmasını doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebilir. Doğrudan etki esas olarak lokal protein yapılarını stabilize eden ve kümelenmeyi önlemek için polipeptitin hidrofobik kısımlarını maskeleyen hacimli oligosakaritlerin hidrofilik doğasından kaynaklanır (Hanson et al., 2009). Glikosile edilmemiş proteinlerle karşılaştırıldığında glikosile edilmiş proteinlerin daha yüksek stabilitesi, daha az stabil katlanmamış durumun veya daha stabil katlanmış durumun sonucu olabilir (Shental-Bechor and Levy, 2008). Doğrudan etkilerine ek olarak, kovalent olarak bağlanan N-glikanlar, ER'de yerleşik karbonhidrat bağlayıcı proteinler kalneksin (CNX) ve kalretikülin (CRT) için tanıma sinyalleri olarak görev yapar (Helenius and Aebi, 2004). Bunun yanında proteinlerden salınan glikoprotein, ER'deki glikoproteinler için translasyon sonrası merkezi katlama sensörü olarak görev yapan ve onların kaderini belirleyen UGGT tarafından kalite kontrolüne tabi tutulur. UGGT, küçük katlanma tespitlerinin yanı sıra kalıcı yanlış katlanmayı da tanır (Rittler et al., 2005; Pearse et al., 2008; Tannous et al., 2015) ve olgunlaşan proteinler üzerindeki N-glikanları yeniden glikozile eder. Mono-glikozile edilmiş N-glikanları taşıyan doğal olmayan glikoproteinler, daha sonraki katlama girişimleri için CNX/CRT döngüsüne yeniden girebilir. Doğal konformasyonlarına ulaşan proteinler, UGGT tarafından yeniden glikozile edilmez, CNX/CRT ile yeniden etkileşime girmez ve ER'yi aşağı akış bölmelerine bırakmalarına izin verilir. Buna karşılık, terminal olarak yanlış katlanmış glikoproteinler veya uzun süre kalan katlanma ara maddeleri, CNX/CRT döngüsünden alınır ve ERAD'a yönlendirilir. ERQC sisteminin sıkı kontrolüne rağmen katlanmamış proteinlerin ER'den kaçmayı başardığı durumlarda DNA J protein ailesinin luminal bir üyesi olan ERdj3'ün BiP'nin yardımcı koruyucusu

olarak görev yaptığı ve yerli olmayan polipeptitlerle birleşerek bunları BiP'ye aktardığını ve katlanmalarını teşvik ettiği bulunmuştur (Jin et al., 2009). *Arabidopsis*'e ait ERdj3 proteinlerinin, ifadelerinde farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Örneğin, ERdj3A esas olarak polende ifade edilirken ERdj3B birçok farklı organda bulunur. ERdj3A, BiP1 ve BiP3 ile etkileşime girer ve substrat proteinlerinin BiP'nin substrat bağlama alanında tutulmasına yol açan ATP hidrolizini uyarır (Bukau et al., 2006; Ma et al., 2015). Son olarak da ERQC, tüm bu yollarda doğru katlanamayan proteinleri ERAD yolağı yardımıyla seçici olarak parçalamakla görevlidir (Wan and Jiang, 2016). (Şekil 2.19)

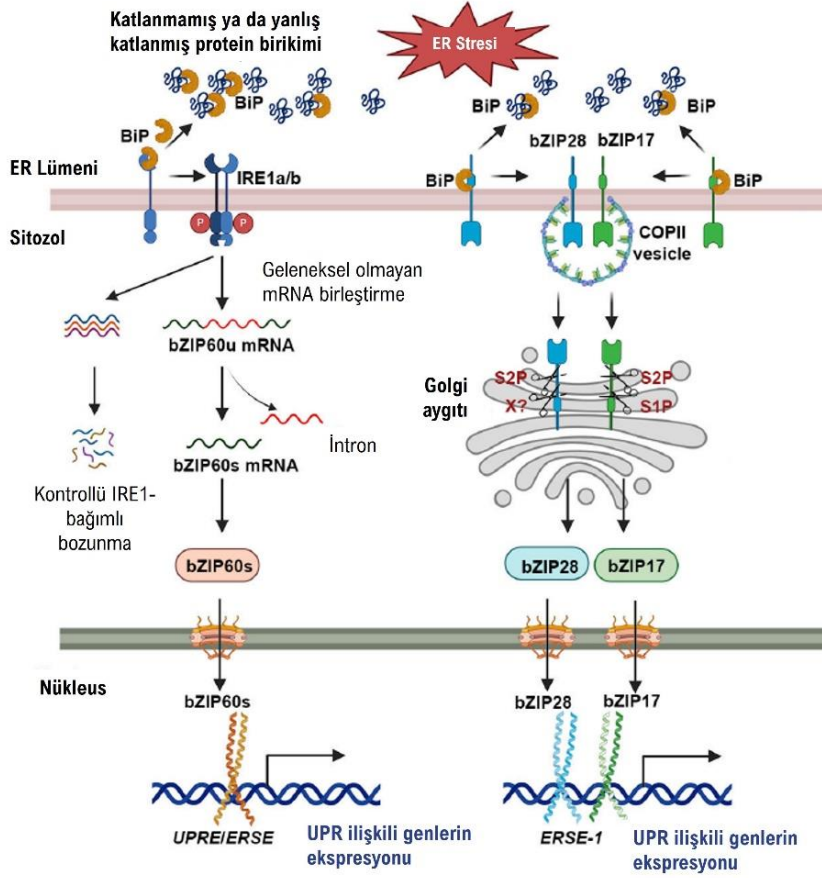


Şekil 2.19 ER kalite kontrol sistemi (ERQC)'ni gösteren diyagram (Anelli and Sitia, 2008 'den Türkçe'ye çevrilmiştir.)

2.3.2.2 Katlanmamış protein yanıtı (UPR)

Oksidatif stres ER stresinin nedensel ajanlarından biridir çünkü ER'nin normal koşullarda proteinlerin uygun şekilde katlanmasına ve disülfid bağlarının oluşumuna yönelik redoks reaksiyonları için sağladığı özel ortamı doğrudan bozar (Afrin et al., 2019). Üstelik oksidatif stres, yalnızca redoks metabolizmasının bozulmasıyla değil aynı zamanda bitki stres tepki mekanizmasının önemli unsurları olan ROS moleküllerinin üretimiyle de ilişkilidir (Schröder and Kaufman, 2005; Ozgur et al., 2018; Depaepe et al., 2021). ROS, yüksek konsantrasyonlarda DNA'ya zarar vererek, lipidlerin peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu sağlayarak hücrelere zararlı elementler olmasına rağmen (Mittler et al., 2012), daha düşük

konsantrasyonlarda ikincil haberci gibi sinyal molekölü olarak da görev yapar (Cuypers et al., 2016; Mittler, 2017). (Şekil 2.20)



Şekil 2.20 ER Stresi ve UPR yolağını gösteren diyagram (Vu et al.,2023 'ten Türkçeye çevirilmiştir.)

ROS'un UPR yanıtı üzerindeki sinyalleme özelliklerini ve ER stresi arasındaki etkileşime ilişkin araştırmalar mevcuttur (Ruberti et al., 2015; Nawkar et al., 2017; Beaugelin et al., 2020; So et al., 2020). Bununla birlikte ROS ve UPR ilişkisinin temel mekanizması bilinmektedir. Bağlanma proteini 3'ün (*BiP3*) tercihinin ökaryotlar arasında en çok korunan ER stres sensörü olan Inositol gerektiren enzim 1 (*IRE1*)'den katlanmamış proteinlere değiştirilmesi (Kimata et al., 2004) veya ER stresi altında katlanmamış proteinlerin IRE1 tarafından doğrudan algılanması UPR yolunun ilk adımıdır (Kimata et al., 2007; Karagöz et al., 2017). Bu yolda aktive edilmiş ve otofosforile edilmiş IRE1 oligomerize edilir ve bu oligomerizasyon, bitkilerde uç uca eklenmemiş (unspliced) temel lösin fermuar 60 (*bZIP60U*) adı verilen mRNA'yı kodlayan temel lösin fermuar proteini

(bZIP) transkripsiyon faktörünün uç uca eklenmesiyle sonuçlanır (Ozgur et al., 2018). Eklemeyi tamamlamak için iki bZIP60 RNA ekinin RLG1 adı verilen spesifik tRNA ligaz yoluyla birbirine bağlandığı düşünülmektedir (Nagashima et al., 2016). Transmembran alanını içermeyen eklenmiş (spliced) bZIP60 (*bZIP60S*) mRNA, UPR ile ilgili genler için çekirdekte bir transkripsiyon faktörü görevi görür (Ozgur et al., 2018). Öte yandan UPR upregülasyonu, protein disülfid izomeraz (*PDI*) ile birlikte bir PTM olarak disülfid bağı oluşumunda rol oynayan ER oksidoredüktaz 1 (*ERO1*) ekspresyonunu da etkilemektedir (Ozgur et al., 2018). Disülfür bağı oluşumu için ERO1 ve PDI reaksiyonu, oksijen tüketir ve ER lümeninde H_2O_2 üretir; bu, bir sinyal molekülü olarak hücrenin diğer bölmelerine kolayca hareket edebilir ve Ca^{2+} salınımı gibi farklı mekanizmaları tetikler (Gilroy et al., 2016; Depaepe et al., 2021). Ayrıca, ROS aracılı sinyal iletimi ile ilgili bir diğer önemli protein, apoplastta $O_2^{\cdot -}$ üretilmesinden sorumlu olan ve RBOH proteinleri olarak adlandırılan plazma membranında lokalize NOX'lardır ve fosforilasyon ve/veya sitozoldeki kalsiyum (Ca^{2+}) iyonları veya diğer bileşiklerin bağlanması ile düzenlenirler (Devireddy et al., 2021). RBOH proteinleri tarafından üretilen bu süperoksit, SOD tarafından H_2O_2 'ye dönüştürülür ve hücrede farklı sinyal yanıtlarını tetikler (Baxter et al., 2014; Tian et al., 2016).

Bahsedilen tüm bu mekanizmaların, ROS üretiminin, yeni ortaya çıkan proteinlerin PTM'lerinin yanı sıra transkripsiyonel düzeyde UPR gen ekspresyonunu etkileyebileceği gösterilmiştir. UPR'nin önemli bir bileşeni olan bZIP transkripsiyon faktörlerinden üçünün (*bZIP17*, *bZIP28* ve *bZIP60*), mümkün olan her kombinasyonda hedef DNA dizilerine bağlanan homodimerler ve heterodimerler oluşturduğu bilinmektedir (Dröge-Laser et al., 2018). Bu dimerlerin farklı etki modları, nakavt mutantlarının kombinasyonları kullanılarak analiz edilmiştir (Liu and Howell, 2010; Kim et al., 2018). Örneğin *Arabidopsis*'te bZIP28 ve bZIP60, kanonik UPR aşağı akış düzenlemesini yöneten en önde gelen kombinasyon olarak kabul edilmektedir (Iwata and Koizumi, 2012; Pastor-Cantizano et al., 2020). Bilinen ERQC bileşen genlerinin çoğunun ifadesinin, bZIP28 ve bZIP60'ın (*bzip28/60*) çift mutasyonu nedeniyle bozulduğu gözlenmiştir. *BiP3*, *CNX1* ve *ERO1* dahil olmak üzere önemli sayıda genin de çift mutantta stresle indüklenebilir ekspresyonlarını tamamen kaybettiği gösterilmiştir (Kim et al., 2018). Tek bir *bzip28* mutasyonunun, CRT2, Shepperd (SHD) ve Stoma kaynaklı

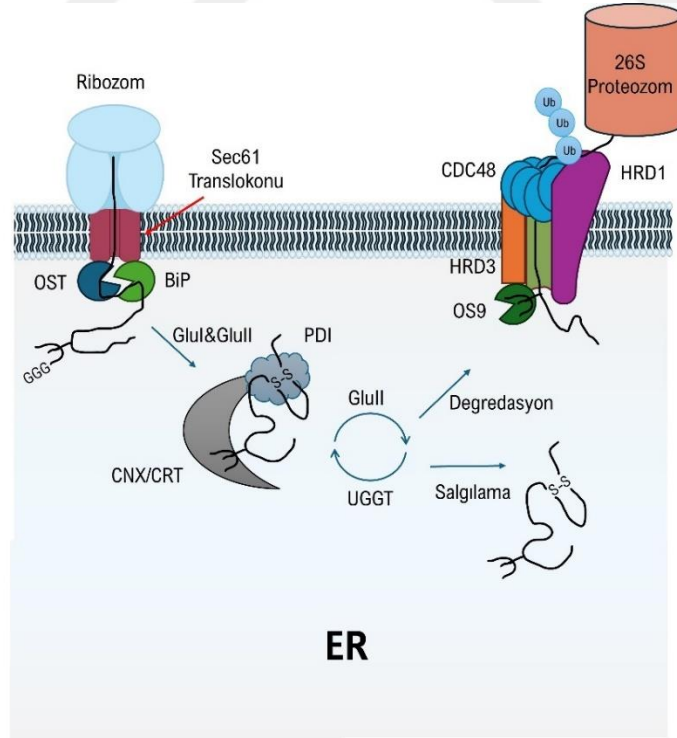
faktör 2 (SDF2)'nin strese duyarlı ekspresyonunu inhibe etmek için yeterliyken, tek *bzip60* mutasyonunun, Protein disülfid 9 (PDI9), salgıyla ilişkili Ras 1A (SAR1A) ve salgı proteini 31A (SEC31A)'nın strese duyarlı indüksiyonunu ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Iwata et al., 2008; Liu and Howel et al., 2010; Kim et al., 2018). bZIP28'in bir homologu olan bZIP17, aynı zamanda ER stresine yanıt veren bir transkripsiyonel aktivatördür (Liu et al., 2008), ancak kanonik UPR'deki rolü diğer UPR bZIP'lerinkine yardımcı gibi görünmektedir. ER stres koşulları altında, bZIP17 ve bZIP60'ın (*bzip17/60*) çift mutasyonunun neden olduğu bitkisel dokulardaki transkriptomik değişiklikler, tek *bzip60* mutasyonunun neden olduğu değişikliklerden yalnızca biraz farklıdır ve tek *bzip17* mutasyonu da yalnızca hafif değişikliklerle sonuçlanmıştır (Kim et al., 2018). Son çalışmalar, bZIP17'nin, Homeobox 7 (HB-7) ve Delta1-Pirolin-5-Karboksilat Sentaz 1 (P5CS1) (Zhou et al., 2015; Gao et al., 2022) dahil olmak üzere spesifik hedef genlerle birlikte çiçeklenme dokularında (Zhang et al., 2017 Cifuentes-Esquivel et al., 2018; Gao et al., 2022) önemli roller oynadığını ortaya çıkarmıştır. bZIP'lere ek olarak, üç apikal olmayan meristem (NAM)/Arabidopsis transkripsiyon aktivasyon faktörü (ATAF)/kalatiform kotiledon (CUC) (NAC) tipi transkripsiyon faktörünün (NAC062, NAC089 ve NAC103) bitki UPR'sinde düzenleyici rol oynadığı gösterilmiştir (Sun et al., 2013; Yang et al., 2014). Bu genlerin ekspresyonunun ER stresi tarafından indüklendiği ve *bzip60* tek mutantlarında ekspresyonları azaldığı çalışmalarla gösterilmiştir (Sun et al., 2013; Yang et al., 2014; Kim et al., 2018). Bu sonuçlar bahsi geçen NAC'lerin IRE1-bZIP60 yolunun astları olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir.

2.3.2.3 ER ile ilişkili bozulma yolu (ERAD)

ERAD, sitozolik bozunma için terminal olarak yanlış katlanmış proteinlerin gönderilmesinden ve böylece ER protein homeostazisinin korunmasından sorumlu, yüksek düzeyde korunmuş bir protein kalite kontrol sistemidir (Duan et al., 2023). ERAD, yanlış katlanmış proteinlerin tanınmasını, E3 ubiquitin ligaz kompleksine taşınmasını, ER'den sitozole retro-translokasyonu, poliubikuitinasyonu ve son olarak 26S proteazom tarafından parçalanmasını içeren korunmuş çok adımlı bir süreçtir (Vembar and Brodsky, 2008). *Arabidopsis*'te bu dört adımda yer alan proteinler, ilk adımdaki kargo adaptörleri AtOS9 ve HRD3A (Liu et al., 2009; Su et

al., 2012); üçüncü adımdaki E2 UBC32 ve E3 HRD1 ve AtRma1 (Lee et al., 2009; Stanley et al., 2011; Cui et al., 2012) ve dördüncü adımdaki AAA ATPaz CDC48 ve proteazom alt birimleri (Müller et al., 2005; Han et al., 2019) dahil olmak üzere tanımlanmıştır. Hatta bu proteinlere ek olarak *Arabidopsis*'te Etil Metansülfonat-Mutajenize Brassinosteroid-Duyarsız 1 Baskılayıcı 7 (EBS7), ERAD-Aracılı Yüzük Parmak (EMR), HRD1 İle İlişkili Protein 1 (PAWH1) ve 2 (PAWH2) gibi maya ve memeli sistemlerinde bulunmayan benzersiz ERAD proteinleri tanımlanmış, farklı ERAD adımlarındaki işlevleri ortaya konmuştur (Liu et al., 2015; Park et al., 2018; Lin et al., 2019).

ER stresi ve ERAD proteinleri, kalıcı olarak katlanmamış proteinlerin ortadan kaldırılmasına aracılık eder. Kalıcı olarak yanlış katlanmış bir proteinin N-glikanı OS9 tarafından tanındığında ve Sel1L/Hrd3 ile birleştiğinde ERAD başlatılır. Yolakta yanlış katlanmış proteinin etkili bir şekilde atılması, bir E3 ubiquitin ligazı olan HRD1'i gerektirir. Son olarak, HRD1-SEL1L/HRD3-OS9 kompleksi, yanlış katlanmış proteini ubiquitinasyon ve ardından sitozolde proteasomal bozunma yoluyla ortadan kaldırır (Fanata et al., 2013) (Şekil 2.21).



Şekil 2.21 Endoplazmik retikulumda protein ekleme, katlama ve dislokasyon modeli. (Liu and Howell, 2016'dan uyarlanmıştır.)

Genel olarak bakıldığında, N-glikosilasyona uğramış proteinlerin CNX veya CRT tarafından ayrı bir şekilde tutulduğu (Liu and Howell, 2016) ve CNX/CRT katlama kompleksine iletilen bu glikoproteinlerin, katlama döngüleri sırasında UGGT tarafından glukozile edildiği bilinmektedir (Totani et al., 2009). Bir glikoprotein, yüzeye açık hidrofobik kalıntılarla birlikte tamamen katlanmamışsa, glikoprotein UGGT ile yeniden glikozile edilir ve başka bir katlama turu için geri gönderilir (Liu and Howell, 2016). Benzer şekilde disülfür bağı oluşumu ve yeniden oluşumu, PDI'ler ve CNX/CRT aparatıyla ilişkili diğer tiyol-disülfür oksidoredüktazlar tarafından katalize edilir ve substrat proteinlerine disülfidlerin eklenmesi, ilave disülfid oluşumu turları için yeniden oksitlenmesi gereken PDI'ların azalmasına yol açar. ERO1, ER'deki disülfid bağ oluşumundan gelen elektronları sitoplazmadaki moleküler oksijene doğrudan aktararak bu oksidasyon gücünü sağlar (Onda, 2013). Belirli bir zaman sınırı içinde doğal durumlarını elde edemeyen, protein katlanmasının nafile döngüleriyle sonuçlanan proteinler, N-glikan'ın C-dalından terminal α -1,2-mannoz kalıntısını çıkaran mannosidazlarla işaretlenir (Quan et al., 2008; Clerc et al., 2009). Bu, retrotranslokasyon (dislokasyon) ve ERAD tarafından parçalanma için yanlış katlanmış proteinleri ayıklayan lektinler tarafından tanınan bir sinyaldir (Hosokawa et al., 2009). OS9'un bir homologu olan bir *Arabidopsis* lektini, AtOS9/AtYos9/EBS6, terminal α -1,6 mannozu tanıyan bir mannoz-6-fosfat reseptör homologisi (MRH) alanına sahiptir (Hosokawa et al., 2009; Yoshida and Tanaka, 2010; Hüttner et al., 2012). AtOS9, ERAD yolağına gidecek proteinleri seçmek için maya HRD3/memeli LIN-12 LIKE (SEL1L) proteininin *Arabidopsis*'teki bir homologu olan EBS5 ile iş birliği yapmaktadır (Su et al., 2012). AtSEL1A/EBS5 veya AtOS9/EBS6'nın nakavt mutantları ile yapılan çalışmalar, bu mutasyonların bitkilerin tuz stresine karşı aşırı duyarlılık kazanmasına sebep olduğunu (Hüttner et al., 2012; Liu et al., 2015), bu durumun da ERAD'ın bitkilerdeki abiyotik stres yanıtlarındaki önemli rollerine işaret ettiğini göstermiştir. ERAD sistemi, ubikuitini yolakta yer alan proteinlere, bir ubikuitin aktive edici enzim (E1), bir ubikuitin konjuge edici enzim (E2) ve bir ubikuitin-ligaz enzimi (E3) tarafından katalize edilen üç aşamalı bir işlem yoluyla bağlamaktadır. Bu enzimlerin bitkilerdeki rolleri tam olarak anlaşılmamasına rağmen, bir *Arabidopsis* E2 geni olan Ubikuitin konjuge edici 32'nin (UBC32), bilinen bir ERAD substratı olan Küf Direnci Lokusu O-12'nin (MLO-12) ubikuitinasyonunu ve proteozomal bozunmasını uyardığı bulunmuştur (Cui et al.,

2012). UBC32'nin tuz, kuraklık ve ER stresi ile indüklendiği ve *ubc32* null mutantlarının tuza ve ER stresine karşı daha toleranslı olduğu bilinmektedir (Cui et al., 2012).

2.3.2.4 ER-faji ve otofaji

Hareketsiz organizmalar olarak bitkiler besin eksikliği, sıcaklık, tuz, kuraklık, soğuk ve patojen enfeksiyonu gibi çeşitli çevresel streslere maruz kalırlar (Zhu, 2016). Bu stresler normal bitki büyümesini ve fizyolojisini ciddi şekilde etkileyebileceğinden, bitkiler olumsuz koşullara uyum sağlamalarına olanak tanıyan karmaşık bir dizi düzenleyici mekanizma geliştirmiştir (Wang et al., 2021). Özellikle önemli bir tepki mekanizması, hücre içi maddelerin homeostazisini korumak ve besin maddelerini geri dönüştürmek için hasarlı veya gereksiz proteinlerin ve organel yapılarının otofaji yoluyla bozulmasıdır (Marshall and Vierstra, 2018). Otofaji, hücrel materyali parçalamak için hücrelerde yaygın olarak kullanılan yolaktır (Wang et al., 2021). Normal koşullar altında, düşük seviyedeki yapısal otofaji aktivitesi bitki büyümesi ve gelişimi için önemlidir. Ek olarak otofaji, bitkilerin olumsuz stres koşullarına direnmesine yardımcı olmak için önemli ölçüde uyarılabilir (Wang et al., 2018). Bu nedenle otofajinin zamanlamasının ve seviyelerinin düzenlenmesi bitkinin hayatta kalması için hayati öneme sahiptir.

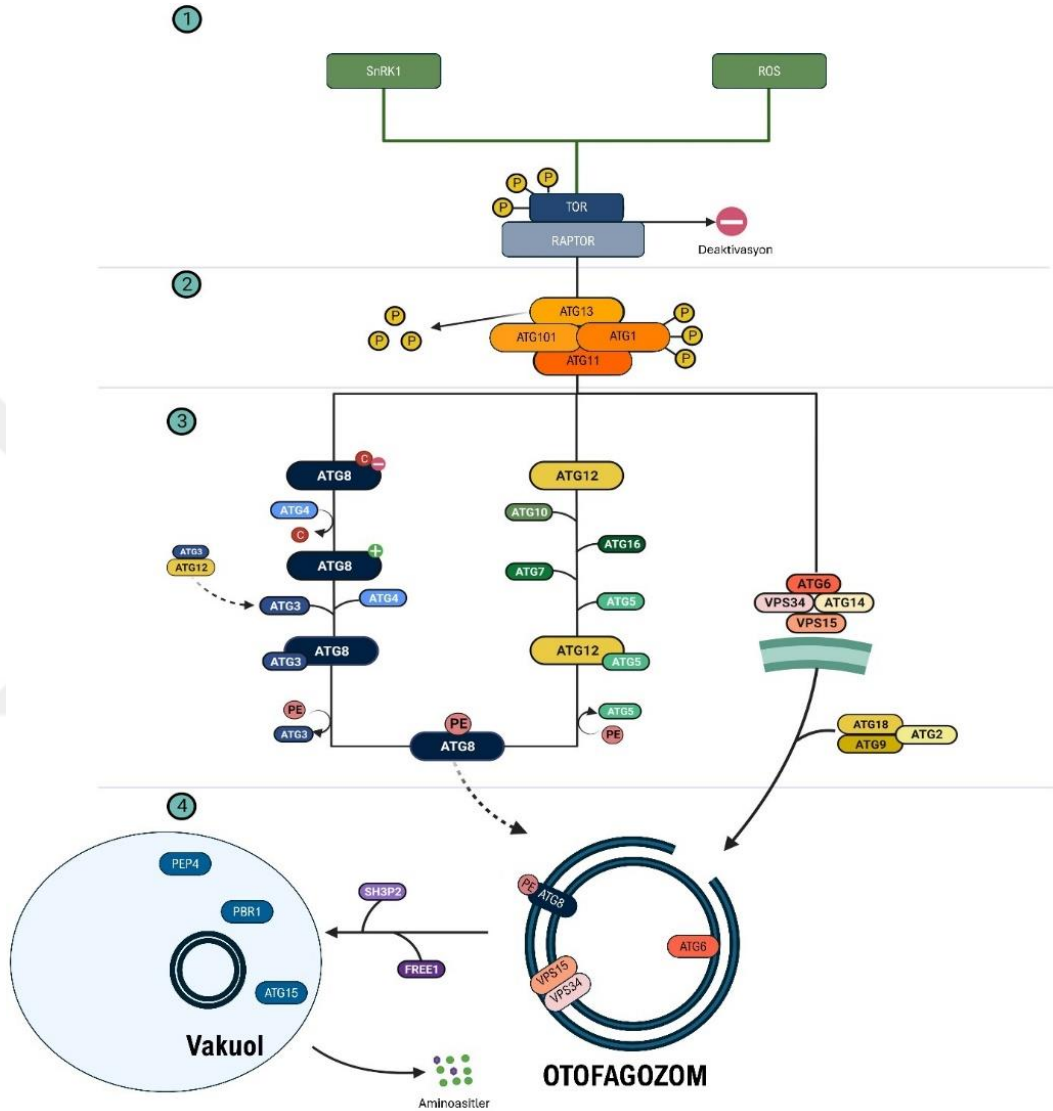
Bitki hücrelerinde otofaji üç ana türe ayrılabilir: makrotofaji, mikrotofaji ve mega-otofaji (Marshall and Vierstra, 2018; Su et al., 2020). Bu türler arasında makrotofaji otofagozomların oluşumuna yol açan, kargoyu ayıran fagofor adı verilen çift membranlı yapıların oluşumunu içerir. Bu otofagozomlar daha sonra bozulma için merkezi vakuol ile birleşir (Bassham, 2009; Yang and Bassham, 2015; Marshall and Vierstra, 2018). Öte yandan mikrotofaji, organellerin tonoplast içine doğrudan yayılmasını ve bozunma için vakuolar lümene salınan otofajik cisimciklerin oluşmasını içerir (Yang and Bassham, 2015). Bitkilerde yaygın olarak görülen mega-otofaji türü olan PCD hidrolazların vakuolden sitoplazmaya salınmasını tetikleyerek sitoplazma, organeller, plazma zarı ve hücre duvarı dahil olmak üzere çeşitli hücrel bileşenlerin bozulmasına neden olur (Su et al., 2012; Wang et al., 2021). Bu süreç yaşlanma (Liu et al., 2012) veya patojen infiltrasyonu

(Leary, et al., 2019) sırasında hücreSEL yeniden yapılanmaya katkıda bulunarak gözlemlenebilir.

Otofajinin düzenlenmesi, indüksiyon, kargo tanıma, fagofor oluşumu, fagofor membran yapısının genişlemesi ve kapanması ve ardından parçalanma için lizozomlarla otofagozom füzyonu dahil olmak üzere çok sayıda farklı aşamanın karmaşık bir koordinasyonunu içerir (Yoshimoto and Ohsumi, 2018; Su et al., 2020). Bu aşamalar, topluca Otofaji İle İlgili (ATG) genler olarak bilinen bir dizi genin uyumlu ifadesine ve işlevine dayanır. Dört ana fonksiyonel gruba ayrılan bu genlerin kodlayıcı proteinleri, otofajide kritik bir rol oynar. Örneğin ATG1/ATG13 kinaz kompleksi, otofagozom oluşumunu başlatır ve membran iletimi, vezikül çekirdeklenmesi ve fagofor genişlemesi ve kapanması gibi çeşitli işlemlere katılır. Sınıf III fosfatidilinositol 3-kinaz kompleksi özellikle otofajik süreçleri hedef alarak bunların uygun şekilde başlatılmasını ve olgunlaşmasını sağlar. Ek olarak, ATG9 kompleksi fagofor genişlemesine önemli ölçüde katkıda bulunurken, ATG8/ATG12'den oluşan ubikuitin benzeri konjugasyon sistemi fagofor genişlemesini ve olgunlaşmasını kolaylaştırır (Liu et al., 2018; Yoshimoto and Ohsumi, 2018; Su et al., 2020).

Otofaji indüksiyonu, otofajiyi olumsuz yönde düzenleyen önemli bir serin / treonin kinaz olan rapamisin kompleksinin (TOR) hedefi tarafından modüle edilir (Jung et al., 2010). TOR aktivitesi hem beslenme ipuçlarından hem de çevresel streslerden etkilenecek otofaji düzenlemesi üzerinde çeşitli etkilere yol açar (Marshall and Vierstra, 2018). Stres koşulları, SnRK1 veya ROS, TOR'u devre dışı bırakabilir (Cadena-Ramos and De-la-Peña, 2024). TOR inaktivasyonu, ATG1'in fosforilasyonunu, ATG13'ün fosforilasyonunu ve ATG1-ATG13-ATG11-ATG101 kompleksinin oluşumunu içeren otofaji aktivasyonunu tetikler. Otofagozom oluşumu, membran iletimini, vezikül çekirdeklenmesini ve fagofor genişlemesini ve kapanmasını içerir. Genişleyen fagofora lipit dağıtımı ATG9, ATG2 ve ATG18'i içerir. Eş zamanlı olarak ATG12-ATG5 konjugasyonu ve ATG8-PE lipidasyon sistemleri, otofagozom genişlemesi için çok önemlidir. Otofagozom kapanmasının ardından ATG8-PE ve PI3P, FYCO1 ve FYVE ile etkileşime girerek otofagozomun vakuole doğru hareketini teşvik eder. SNARE'ler ve SH3P2 dahil olmak üzere birçok protein kompleksi, tonoplast ile otofagozom füzyonuna katılır. Vakuolün

içinde hidrolazlar kargoyu parçalayarak küçük moleküller ve amino asitler üretir. Bu ürünler ATG22 mekanizması aracılığıyla sitoplazmaya taşınır. ATG8 inaktive edilir ve ATG4 aktivitesi ile sitoplazmaya geri taşınır (Cadena-Ramos and De-la-Peña, 2024) (Şekil 2.22).



Şekil 2.22 Genel otofaji yolu. (1) Otofaji, TOR kinaz kompleksi tarafından düzenlenir. TOR ise SnRK1 veya ROS ile regüle edilir. (2) TOR inaktivasyonu, ATG1'in fosforilasyonunu, ATG13'ün fosforilasyonunu ve ATG1-ATG13-ATG11-ATG101 kompleksinin oluşumunu içeren otofaji aktivasyonunu tetikler. (3) Otofagozom oluşumu, membran iletimini, vezikül çekirdeklenmesini ve fagofor genişlemesini ve kapanmasını içerir. Genişleyen fagofora lipit dağıtımı ATG9, ATG2 ve ATG18'i içerir. Eş zamanlı olarak ATG12-ATG5 konjugasyonu ve ATG8-PE lipidasyon sistemleri, otofagozom genişlemesi için çok önemlidir. (4) Otofagozom kapanmasının ardından ATG8-PE ve PI3P, FYCO1 ve FYVE ile etkileşime girerek otofagozomun vakuole doğru hareketini teşvik eder. SNARE'ler ve SH3P2 dahil olmak üzere birçok protein kompleksi, tonoplast ile otofagozom füzyonuna katılır. Vakuolün içinde hidrolazlar kargoyu parçalayarak küçük moleküller ve amino asitler üretir. Bu ürünler ATG22 mekanizması

aracılığıyla sitoplazmaya taşınır. ATG8 inaktive edilir ve ATG4 aktivitesi ile sitoplazmaya geri taşınır. (Cadena-Ramos and De-la-Peña, 2024'ten uyarlanmıştır).

Bitkilerdeki otofaji, temel rolünün ötesine uzanır ve ATG8 genleri ile ATG8 ile etkileşime giren motifleri içeren reseptörler arasındaki etkileşimlerin aracılık ettiği spesifik hücresel bileşenlerin seçici bozulmasını kapsar (Liu et al., 2018; Zhuang et al., 2018; Zhuang and Jiang, 2019). Özellikle otofaji, tohum ve kök gelişimi sırasında besin regülasyonu (Di Berardino et al., 2018), lipid metabolizması (Xie et al., 2020), yaşlanmayı ve PCD'yi sınırlamak için salisilik asidin negatif geri besleme regülasyonu (Yoshimoto et al., 2009) ve NOX'a bağımlı veya bağımsız yollar tarafından indüklenen oksidatif stres tepkisi sırasında hücresel materyalin geri dönüşümü (Su et al., 2020) dahil olmak üzere bitkilerdeki çeşitli fizyolojik fonksiyonları derinden etkiler. Üstelik otofaji, mitokondri, peroksizomlar, lizozomlar ve kloroplastlar gibi organelleri seçici olarak hedef alarak hasarlı organellerin, protein agregatlarının ve istilacı virüslerin parçalanmasını kolaylaştırır. Bu süreçler bitkilerde farklı gelişim aşamalarında çeşitli fizyolojik işlevlerde önemli bir rol oynar (Zhuang et al., 2018).

ER stresini çözmek ve ER homeostazisini yeniden sağlamak için seçici bir otofajik yol olan ER-faji, ER'de biriken yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinleri ortadan kaldırmak için tanımlanmıştır (Grumati et al., 2018). Benzer şekilde, otofajik kargo seçimi ile otofagozom oluşumu arasında köprü görevi gören otofaji reseptörleri olan ER-fajiye de ihtiyaç vardır (Rogov et al., 2014). Bu ER stres koşulları altında, ER-faji, katlanmamış veya yanlış katlanmış ER proteinlerini ve parçalanmak üzere vakuole iletir (Liu et al., 2012). ER-faji ayrıca, ER'de uygun protein katlanmasını önleyen DTT ve Tm dahil ER stres ajanları tarafından bitkilerde önemli ölçüde indüklenebilir (Liu et al., 2012). ER-fajisinin başlatılması, ER stres sensörünün, Inositol Gerektiren Enzim-1b'nin (IRE1b) varlığını gerektirir (Liu et al., 2012). IRE1b, RNase alanlarıyla birlikte ER faji aktivasyonu için gereklidir. Normal koşullar sırasında, ER'nin otofaji yoluyla bozulması Düzenlenmiş IRE1'e Bağımlı Bozunma (RIDD) tarafından baskılanır. Bununla birlikte, ER stresi altında RIDD bozularak otofajinin aktivasyonuna yol açar (Bao et al., 2018). Golgi antiapoptotik proteinleri GAAP1 ve GAAP3, IRE1 aktivitesini düzenleyerek ve RIDD ve otofaji yanıtlarını etkileyerek hücre hayatta kalmasında rol oynar (Guo et al., 2018; Zhu et al., 2019).

ER, otofagozom oluşumu için zarlar sağlayarak otofajide kritik bir rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda seçici otofaji için bir hedef görevi de görür (Bao and Bassham, 2020). ER homeostazisinin korunmasının, birbirine bağlı dallanan tübüllerden ve tüm sitoplazma boyunca düzleştirilmiş keselerden/tabakalardan oluşan ER yapısında dinamik değişiklikler gerektirdiği bilinmektedir (Brandizzi, 2021). Retikülonlar (RTNs), esas olarak ER eğriliğini destekleyen, yüksek oranda korunmuş bir ökaryotik protein ailesidir (Wang et al., 2021). *Arabidopsis*'te, RTN benzeri B protein 3 (RTNLB3) ve 13 (RTNLB13)'ün, ER şeklini koruyan, kök tüyü gelişimi için önemli olan, ER tübüllerinde bulunan, iyi çalışılmış bir ER membranına bağlı atlastin ilişkili GTPaz olan RHD3 ile fiziksel olarak etkileşime girdiği rapor edilmiştir. (Wang et al., 1997; Wang and Zheng, 2024). Yakın zamanda yapılan bir çalışma, RHD3'ün, *Arabidopsis* ATG8 ile fiziksel etkileşimine ve *rhb3* mutantının azaltılmış ER stres duyarlılığına ve kusurlu ER-fajisine dayalı olarak ER stresi altında seçici ER proteini bozunması için bir ER-faji reseptörü olarak işlev görebileceğini ileri sürmüştür (Sun et al., 2022). *Arabidopsis*'te bulunan sitozolik C53 proteininin, ATG8 bazlı bir proteomik çalışmayla keşfedilen, yüksek oranda korunmuş, çözünür bir ER-faji reseptörü olduğu bulunmuştur (Stephani et al., 2020). C53, ER-fajisi için önemli olduğu bilinen ufamilasyon sisteminin iki temel bileşeniyle (ufamilasyon E3 ligaz (UFL1) ve bunun substrat alım adaptörü DDRGK alanı içeren protein 1 (DDRGK1)) üçlü bir reseptör kompleksi oluşturarak ER'ye lokalize olur (Gerakis et al., 2019). Normal koşullar altında C53, başka bir ubikuitin benzeri protein olan ufamilasyon değiştirici 1 (UFM1) ile bağlanarak inaktif formunda tutulur. Bununla birlikte, bazı ER stresinin neden olduğu ribozom durması, UFM1'i UFL1 ile katalize edilen ufamilasyon yoluyla translokona ilişkili ribozoma aktarır, böylece C53'ü fagoforu dekore eden ATG8'e bağlanması için serbest bırakır ve oldukça seçici C53 aracılı ER-fajiyi aktive eder. Bu nedenle, C53'ün UFM1 ve ATG8 ile rekabetçi bağlanması, ribozomla ilişkili protein kalite kontrolünün ve seçici otofajinin koordine edilmesinde önemli bir rol oynar (Stephani et al., 2020).

Her ne kadar çeşitli UPR yolları güçlü görünse de aşırı durumlarda ER homeostazisini yeniden sağlayamayabilirler. Bu durumda bitki hücreleri son çare olarak hücre içindeki protein yüklerinin yükünü hafifletmek ve materyalleri geri dönüştürmek için ER'yi uzaklaştırmak amacıyla otofaji yapabilir (Liu, et al, 2012;

Howell, 2013). Aksi takdirde bitki hücreleri kendi kendini kurtarma çabalarından vazgeçip programlı hücre ölümüne geçebilir (Ruberti and Brandizzi, 2014; Williams et al., 2014). Liu ve arkadaşlarına göre. (2012), bitkilerde otofajinin başlamasından sonra, ER'nin bazı kısımları otofagozom tarafından yutulur, daha sonra vakuole iletilir ve burada parçalanır. Yaşlanma veya besin yoksunluğunun neden olduğu otofajinin aksine, ER stresıyla ilişkili otofajinin substratı, ER stresi altında ER dönüşümünü manipüle edebilen ER'nin kendisidir (Liu et al., 2012). Otofajinin ötesinde, PCD bitkilerde de meydana gelebilir ve bitki hücre duvarlarının hücrelerin komşu hücreler tarafından parçalanmasını engellemesine rağmen memeli hücrelerindeki apoptoza benzer (Lam, 2004; van Doorn and Woltering, 2005). Bitkilerdeki PCD'ye vakumlu hücre ölümü de denir, çünkü vakumlu işleme enzimleri (VPE'ler) sonuçta tonoplastın yırtılmasına ve vakumlu hidrolitik enzimlerin salınmasına neden olarak geri dönüşü olmayan bir yol başlatır (van Doorn et al., 2011).

Bitkilerde otofajiyle ilişkili Bcl-2 ailesi, hem BAX gibi pro-apoptotik proteinleri hem de 1-4 Bcl-2 ile farklılaştırılabilen Bcl-2 gibi antiapoptotik proteinleri içerir (Adams and Cory, 1998; Gross et al., 1999). Bunların arasında BH3, otofajinin hayatta kalma yanlısı ve ölüm yanlısı çatallanması arasındaki dengeyi yönetiyor gibi görünmektedir (Williams et al., 2014). Bununla birlikte, ER stresinin neden olduğu otofajiden PCD yoluna geçiş konusundaki anlayışımızı derinleştirmek için ER stresinin neden olduğu otofaji ve PCD üzerine gelecekteki deneylere ihtiyaç vardır. Bu noktada Biswas ve Mano (2015), H₂O₂ ile uyarılmış tütün Parlak Sarı-2 (BY-2) kültür hücrelerinde, akrolein ve HNE'nin erken aşamalarda arttığını ve PCD'ye neden olma konusunda H₂O₂ ile uyarılmış hücrelerde bulunan diğer tüm oksilipin karbonillerden daha güçlü etkiler gösterdiğini bulmuşlardır (Biswas and Mano, 2015). Bunu takip eden çalışmalarında ise akroleinin BY-2 hücrelerinde GSH havuzunun tükenmesine neden olduğu, ardından yavaş yavaş askorbat seviyesini düşürdüğü ve ROS seviyesini arttırdığı, PCD'nin tetiklenmesinde rol oynayan kaspaz-1 benzeri proteaz (C1LP) ve kaspaz-3-benzeri proteaz (C3LP)'nin aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, bitkilerde PCD'nin RCS aracılı başlatılmasının biyokimyasal mekanizmalarını ortaya koymaktadır (Biswas and Mano, 2016).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

3.1 Bitki Materyali, Büyüme Koşulları, ER Stresi, Ekzojen RCS ve RCS Süpürücü Uygulamaları

3.1.1 Bitki materyali

Çalışmamızda bitki materyali olarak *Arabidopsis thaliana* Columbia (Col-0) ekotipi kullanılmıştır. Bu bitkinin seçilme nedeni ER stresi ile RCS'nin ilişkisinin gösterileceği bu öncül çalışmada model organizma kullanmanın yolağı daha anlaşılır kılmasıdır. Tohumlar laboratuvarımızdaki stoklardan temin edilmiştir.

3.1.2 Tohum sterilizasyonu

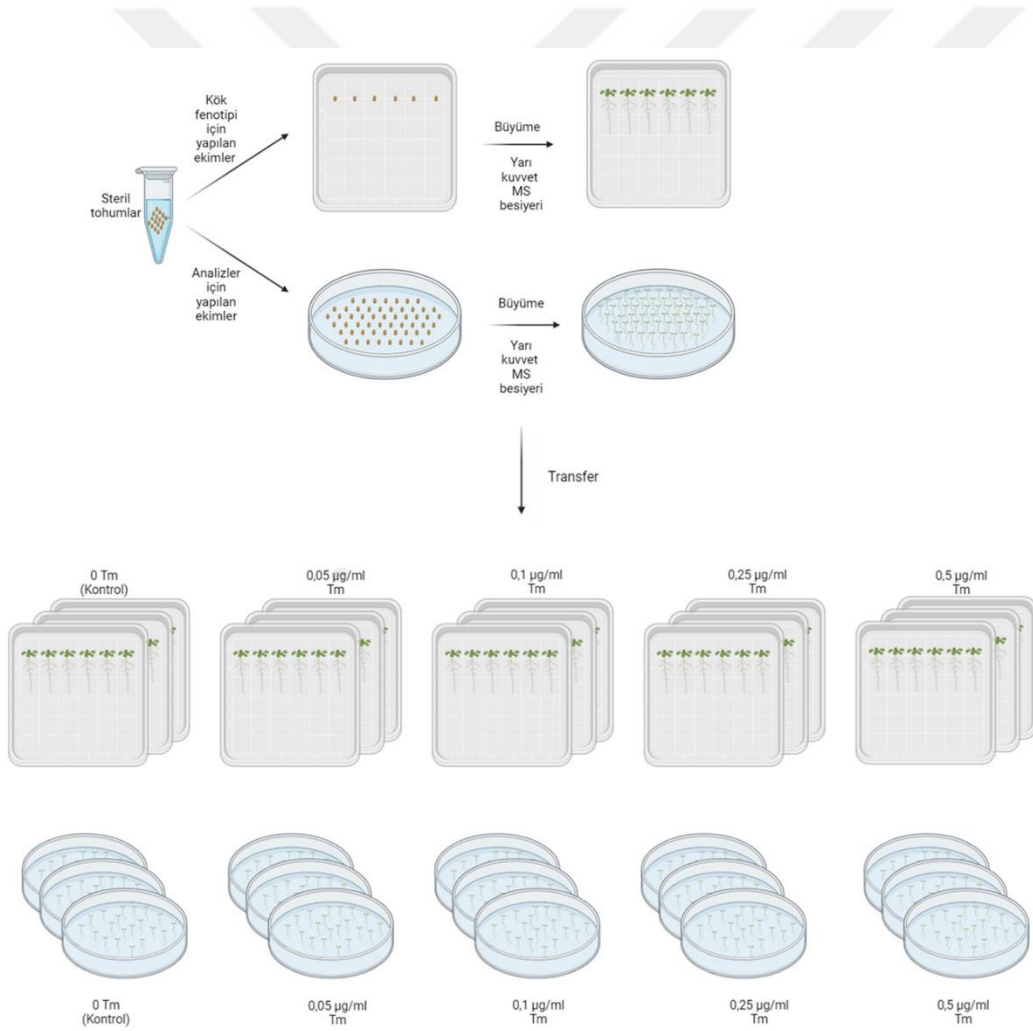
Tohumlar olası kontaminasyonu önlemek için yüzey sterilizasyonu ile sterilize edilmiştir. Tohumlar önce %70'lik etanol (EtOH)'de 1 dakika inkübe edilmiş, bunu takiben steril distile su ile 3 defa yıkanmıştır. Yıkanan tohumlar %4'lük Sodyum hipoklorit (NaClO)'te 10 dakika inkübe edilmiş ardından steril distile su ile 5 defa yıkama ile yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır.

3.1.3 Tohumların ekimi

Sterilizasyonu yapılan tohumlar çimlenme senkronizasyonu için +4°C sıcaklıkta ve karanlıkta 48 saat inkübe edilmiştir. Stratifikasyon basamağı ile deney desenindeki tüm bitkilerin senkronize bir şekilde çimlenmesi ve yaş faktörünün minimize edilmesi amaçlanmıştır. İnkübasyonun sonunda steril tohumlar aseptik koşullar altında yarı kuvvet Murashige & Skoog (MS) besiyeri yerine ekilmiş ve iklim odasında 12/12 saat aydınlık/karanlık döngüsü, 23/21°C sıcaklık, %60 bağıl nem ve 200 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunda çimlenme süresi dahil olmak üzere 6 gün büyütülmüştür.

3.1.4 Stres uygulamaları ve deney deseni

ER stresi indüklemesi için N-glikan zincir inhibitörü olan ve ER 'de katlanmamış proteinlerin ya da polipeptitlerin birikmesine neden olduğu bilinen Tm kullanılmıştır. Statifikasyondan sonra ekimi yapılarak 6 gün boyunca büyütülen bitkiler, ER stres indüklemesi için farklı miktarlarda (0.05, 0.1, 0.25 ve 0.5 $\mu\text{g/ml}$) Tm (Sigma Aldrich) içeren yarı kuvvet MS ortamına transfer edilmiştir. Transferin ardından bitkiler iklim odasında 12/12 saat aydınlık/karanlık döngüsü, 23/21 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, %60 bağıl nem ve 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunda aktarılan besi yerinde büyütülmeye devam etmiştir. Bitkiler takip eden deneylerin prosedürlerine uygun zamanlarda hasat edilerek kullanılmıştır (Şekil 3.1).

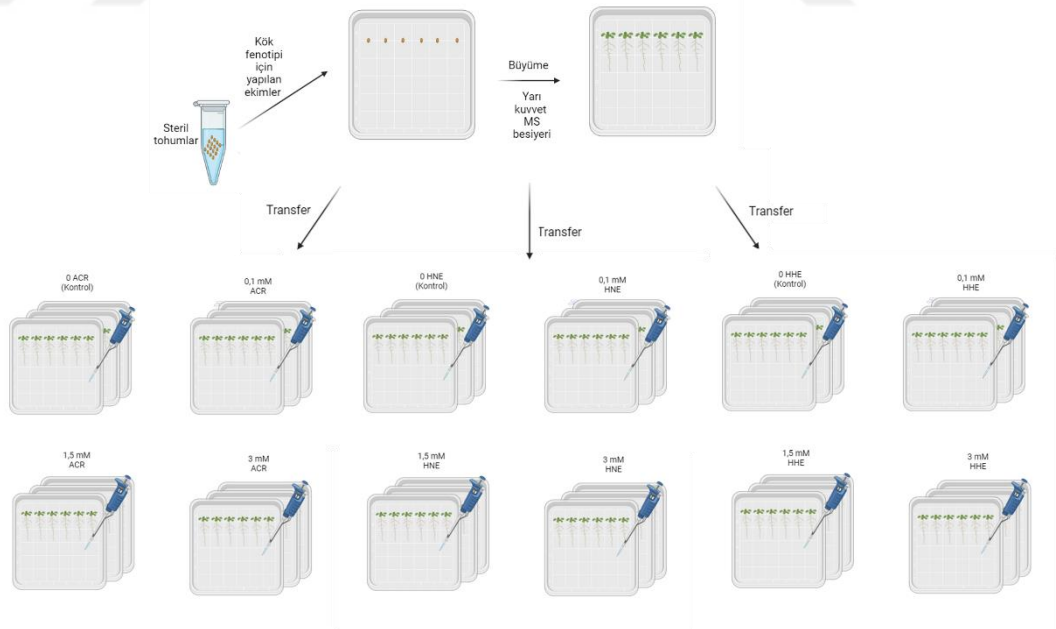


Şekil 3.1 ER stres uygulamaları için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi

3.1.5 Ekzojen RCS uygulamaları ve deney deseni

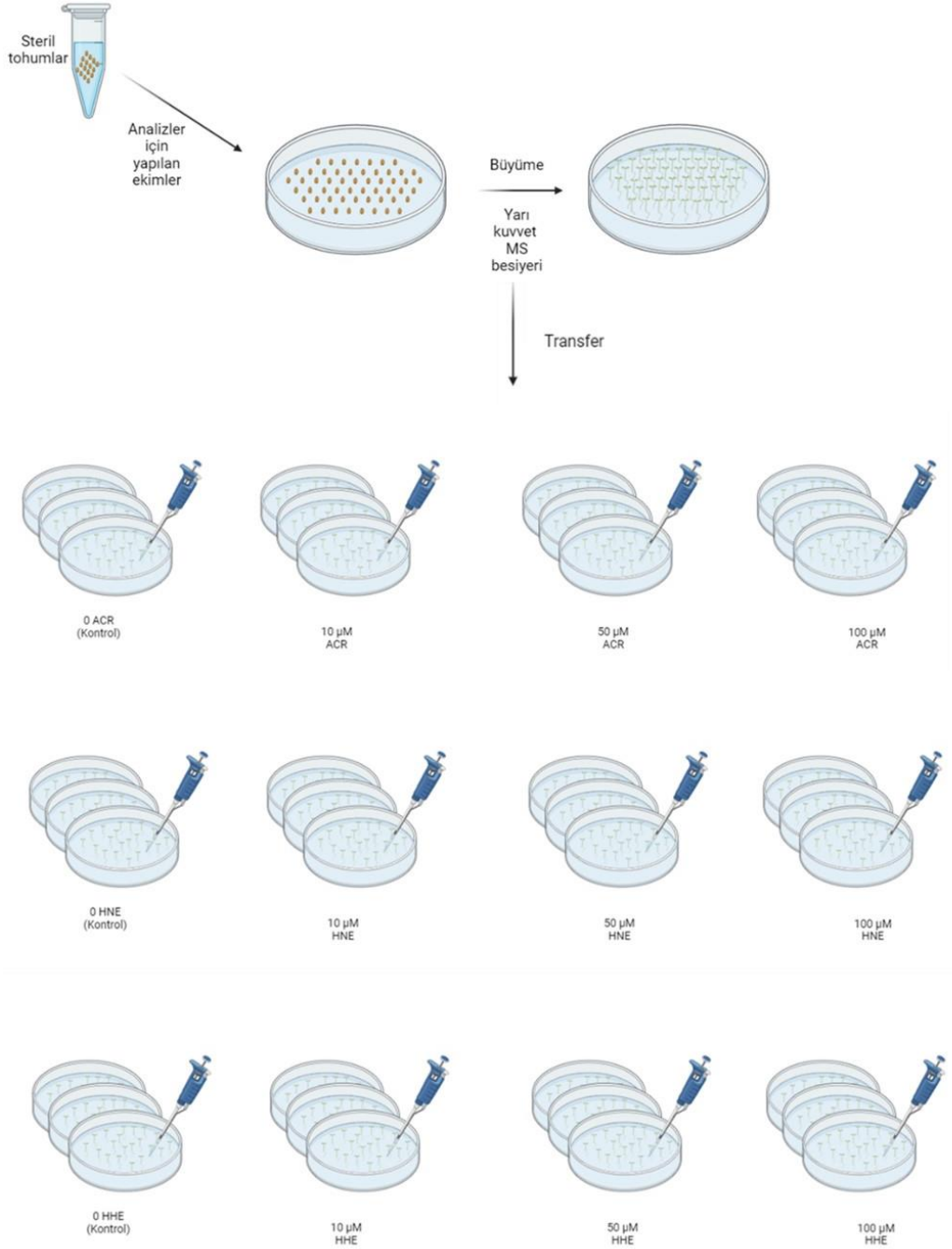
Ekzojen RCS uygulamaları için aldehit yapısına sahip ve literatürde daha önce farklı çalışmalarda RCS molekülü olarak kullanılan akrolein (ACR) (Sigma Aldrich), 4-hidroksi-2-hekzenal (HHE) (Cayman Chemicals) ve 4- hidroksi -2-nonenal (HNE) (Cayman Chemicals) reaktif karbonilleri seçilmiştir.

Ekzojen RCS uygulamalarında büyüme parametrelerinin ölçümü ve kök fenotipi analizleri için, büyütülen bitkiler her bir petride 6 bitki olacak şekilde 3 replika olarak yarı kuvvet MS besiyeri üzerine aktarılmış ve her bir köke 200 μ L olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda (0.1, 1.5 ve 3 mM) hazırlanan RCS solüsyonları aseptik koşullar altında uygulanmıştır. Uygulama yapılan bitkiler kök fenotipi analizleri için iklim odasında aynı koşullarda dikey şekilde büyütülmeye devam edilmiştir. 6 günlük büyüme sonucunda kök fenotipi analizleri yapılmak üzere tarama görüntüleri alınmış ve bitkiler hasat edilmiştir. Hasat edilen bitkilerin yaş ağırlıkları ölçülmüş ve sıvı nitrojende dondurularak analizlere kadar -80 °C'de saklanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Ekzojen RCS uygulamalarında kök fenotipi analizleri için kullanılan deney deseni şematik gösterimi

Ekzojen RCS uygulamalarında qRT PCR deneyleri için ise büyütülen bitkiler 10, 50 ve 100 μM RCS solüsyonu eklenmiş yarı kuvvet MS ortamına aktarılmış ve iklim odasında aynı koşullarda büyütülmüştür. 6 günlük büyüme sonucunda qRT-PCR deneyleri yapılmak üzere bitkiler hasat edilmiştir. Hasat edilen bitkiler sıvı nitrojende dondurulmuş ve analizlere kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır (Şekil 3.3).

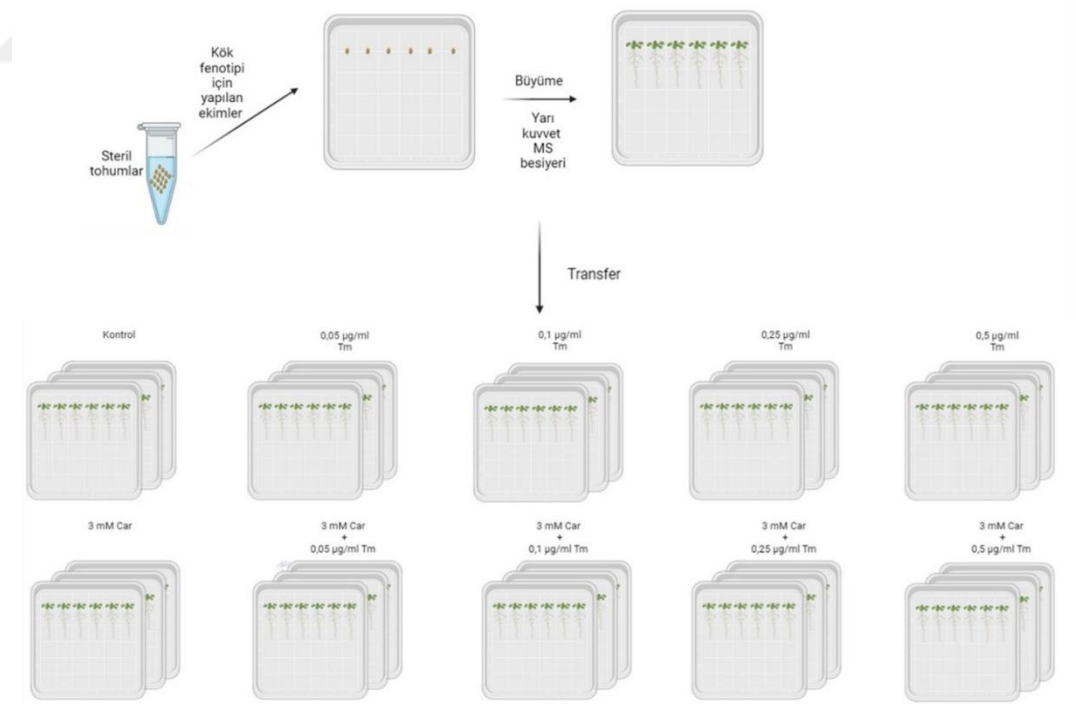


Şekil 3.3 Ekzojen RCS uygulamalarında qRT-PCR analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi

3.1.6 RCS süpürücü uygulamaları ve deney deseni

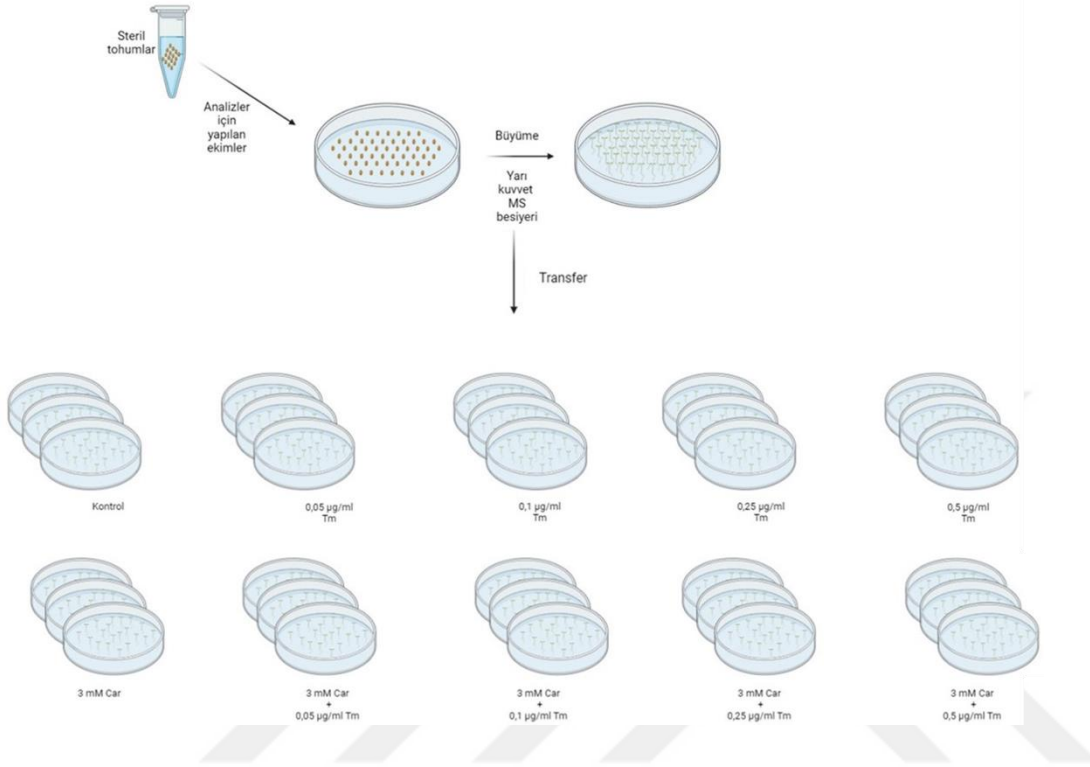
Çalışmada, RCS'lerin enzimatik olmayan yolla temizlenmesinde kullanılan ve bitkilerde metabolik olarak üretilmeyen karnozin (CAR) molekülü karbonil temizleme deneylerinde süpürücü olarak kullanılmıştır.

Karbonil temizleme denemeleri için, yetiştirilen bitkiler 3 mM CAR (CarlRoth) ile desteklenmiş veya desteklenmemiş 0.05, 0.1, 0.25 ve 0.5 µg/ml Tm içeren yarı kuvvette MS ortamına aktarılmıştır. Kök fenotipi analizleri için her bir petride 6 bitki olmak üzere 3 replika olacak şekilde kare petrilere, qRT PCR deneyleri için ise her bir petriye 20 bitki olacak şekilde yuvarlak petrilere aktarım yapılmıştır. Kök fenotipi analizleri için yapılan aktarımlar iklim odasında aynı koşullarda dikey konumda 6 günlük büyümeye bırakılmıştır. 6 günlük büyümenin ardından kök fenotipi analizleri yapılmak üzere tarama görüntüleri alınmış ve bitkiler hasat edilmiştir. Hasat edilen bitkilerin yaş ağırlıkları alınmış, sıvı nitrojenle dondurularak sonraki analizlere kadar -80 °C'de saklanmıştır (Şekil 3.4).



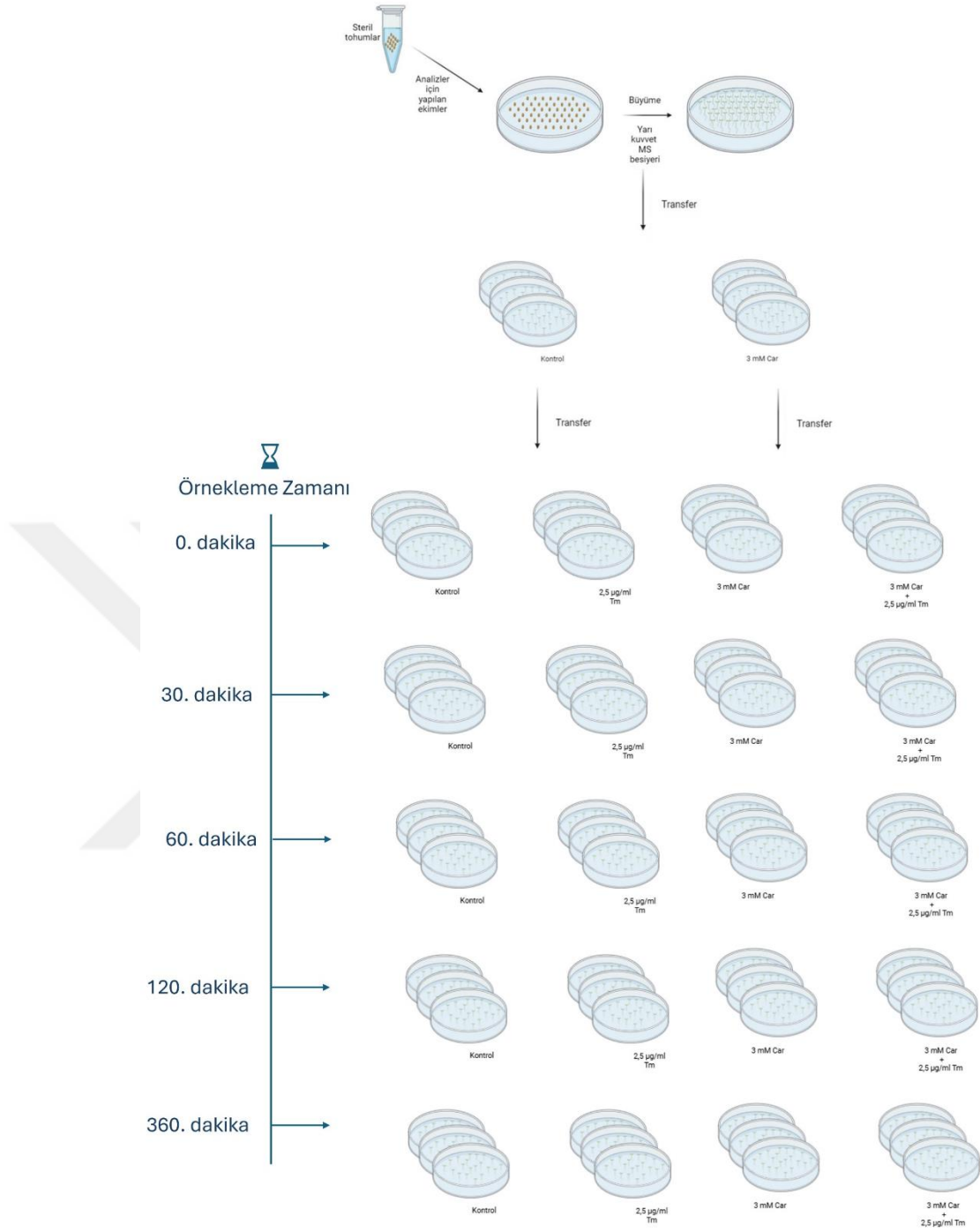
Şekil 3.4 RCS süpürücü uygulamalarında kök fenotipi analizleri için kullanılan deney deseni şematik gösterimi

qRT PCR deneyleri için ise aynı koşullarda aktarım yapılan bitkiler 6 günlük büyümenin ardından hasat edilmiştir. Hasat edilen bitkiler sıvı nitrojende dondurulmuş ve analizlere kadar -80 °C'de saklanmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 RCS süpürücü uygulamalarında qRT-PCR analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi

RCS'nin sinyal molekülü olarak UPR'yi zamana bağlı indüklemesinin incelendiği denemeler için ise sterilizasyondan sonra tohumlar yarı kuvvetteki MS ortamında 5 gün büyütüldükten sonra 3 mM CAR (CarlRoth) içeren veya içermeyen yarı kuvvetteki MS ortamına aktararak 1 gün daha büyütülmüştür. Bu ek büyümenin ardından bitkiler 2.5 µg/ml Tm içeren yarı kuvvette MS ortamına aktarılmıştır. Bu aktarımdan 0, 30, 60, 120 ve 360 dakika sonra bitkiler hasat edilmiş, hasat edilen örnekler sıvı nitrojen içerisinde dondurulmuş ve daha sonraki analizlere kadar -80 °C'de saklanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 RCS süpürücü uygulamalarında zamana bağlı qRT-PCR analizleri için kullanılan deney deseninin şematik gösterimi

3.2 Fizyolojik Parametreler

3.2.1 Kök fenotipi analizi

Ekzojen RCS uygulaması ve karbonil temizleme deneylerinde kök fenotipi analizleri için bitkilerin aktarımları yapılmış ve aynı koşullarda 6 gün boyunca dikey olarak büyütülmüştür. 6 günlük büyümenin tamamlandığı gün örnekler tarayıcı ile taranarak görüntüler alınmıştır. Alınan görüntüler ImageJ yazılımıyla analiz edilerek ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yan kök sayısı ve yan kök yoğunluğunun hesaplanmıştır.

3.2.2 Yaş ağırlık ölçümleri

Uygulamaları takiben hasatları yapılan kök fenotipi örnekleri için her bir bitkinin ağırlıkları tek tek hassas tartı ile tartılmıştır.

3.3 Biyokimyasal Parametreler

3.3.1 Karbonillerin Schiff reaktifi ile Boyaması

Karbonillerin Schiff reaktifi ile Boyaması için sterilize edilen tohumlar yarı kuvvetteki MS ortamında çimlendirilmiş ve 0.05, 0.1, 0.25 ve 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm içeren yarı kuvvetteki MS ortamına aktarılmıştır. Transferden 2, 4 ve 6 gün sonra bitkiler hasat edilmiş ve Schiff reaktifine (ChemCruz) aktarılmıştır. Schiff reaktifine aktarılan bitkiler ilk etapta vakum altında 3 dakika ve sonrasında oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası örnekler 0,05 M HCl (Tekkim Kimya) içerisinde çözölmüş %0,5 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (Merck) ile iki kez yıkanmıştır. Ağartma için yıkanmış örnekler 1:1:3 (v/v) oranında Asetik asit (Merck): Gliserol (Sigma): Etanol (Sigma) çözeltisine yerleştirilmiş ve 70°C'de 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Ağartma işleminden sonra örnekler sırasıyla 3:1 (v/v), 1:1 (v/v) ve 1:3 (v/v) oranlarına sahip Gliserol: Etanol çözeltisine alınmış ve her bir çözeltide 150 rpm'de çalışan çalkalayıcı üzerinde 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında boyanan örnekler dijital kamera (Canon) ile tüm bitki ölçeğinde görüntülenmiş ve mikroskop (Leica) ile kök uçları detaylı olarak incelenmiştir.

3.3.2 Kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT PCR)

Total RNA izolasyonu, hasat edilen örneklerden 0.1 g kullanılarak Plant Total RNA Purification Kit (Norgen Biotech) ile üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda yapılmıştır. Genomik DNA'yı uzaklaştırmak için DNase I (Fermantas) uygulaması yapılmıştır. Daha sonra Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (Roche) ile ters transkripsiyon işlemi yapılmış ve bu reaksiyonun ürünleri qRT-PCR için kalıp olarak kullanılmıştır. qRT-PCR deneylerinde Light Cycler 480 SYBR Green I Master Mix (Roche) kullanılmış ve üç replika halinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) karışımları hazırlanmıştır. StepOne Plus Sistemi (Applied Biosystems) PZR amplifikasyonu için, 95°C de 10 dakika, 95°C'de 15 saniye, 60°C'de 15 saniye ve 72°C'de 30 saniye olmak üzere 45 döngü koşullarında kullanılmıştır. qRT-PCR sonuçlarının veri analizi, StepOne Plus yazılımı ile analiz edilmiştir. Bu deneylerde referans gen olarak *A. thaliana*'nın *ACTIN8* geni (AT1G49240) kullanılmış, örneklerin ekspresyon seviyeleri, incelenen genler için bu referans değerine (1'e ayarlı) göre göreceli olarak hesaplanmıştır.

q-RT PCR deneylerinde, ER stresinin RCS süpürücü enzimlerin ifadeleri üzerindeki etkilerini incelemek için Yalçınkaya ve arkadaşlarının (2019a) oksidatif stres ile ifadelerinin değiştiğini gösterdiği RCS süpürücü enzimler olan *ALDH2C4* (AT3G48000), *ALDH2B7* (AT1G23800), *ALDH7B4* (AT1G54100), *ALDH11A3* (AT2G24270), *GSTU2* (AT2G29480), *GSTU3* (AT2G29470), *GSTU4* (AT2G29460), *GSTU5* (AT2G29450), *GSTU24* (AT1G17170), *GSTU25* (AT1G17180), *AKR4C8* (AT2G37760) ve *AKR4C9* (AT2G37770) genlerinin ifadeleri incelenmiştir. Ekzojen RCS uygulamaları ve karbonil temizleme denemelerinde UPR ile ilişkili genler olarak UPR yolağında farklı görevlerde bulunan *BiP3* (AT1G09080), *CNX* (AT5G61790), *ERO1* (AT1G72280), *bZIP60U* (AT1G42990), *bZIP60S* (AT1G42990) ve *UBC32* (AT3G17000) genlerinin ifadeleri incelenmiştir. RCS'nin zamana bağlı UPR indüksiyonunun incelenmesi için ise UPR ile ilişkili genlere ek olarak *RBOHD* (AT5G47910) ve *RBOHF* (AT1G64060) genlerinin ifadeleri incelenmiştir. Çalışmada kullanılan primerler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Bu çalışmada incelenen genlerin erişim numaraları ve qRT-PCR için kullanılan primer dizileri

	Gen	Erişim numarası		Primer dizisi
Referans	<i>Actin8</i>	AT1G49240	İleri Geri	5'-TCAGCACTTTCCAGCAGATG3-3' 5'-ATGCCTGGACCTGCTTCAT-3'
UPR yolağı ile ilişkili genler	<i>BiP3</i>	AT1G09080	İleri Geri	5'-CGAAACGTCTGATTGGAAGAA-3' 5'-GGCTTCCCATCTTTGTTTAC-3'
	<i>CNX</i>	AT5G61790	İleri Geri	5'-ATGAGACAACGGCAACTA TT-3' 5'-TTCCTGAGGACGGAGGTACT-3'
	<i>ERO1</i>	AT1G72280	İleri Geri	5'-TGGCGATGGCCTTTAGCGACT-3' 5'-GGCCAGAATGGGCAGTCACACC-3'
	<i>bZIP60U</i>	AT1G42990	İleri Geri	5'-AGTCTGCTGTGCTCTTGTGG-3' 5'-GCAACACTTTGTGTGGGACAT-3'
	<i>bZIP60S</i>	AT1G42990	İleri Geri	5'-AAGCAGGAGTCTGCTGTTGG-3' 5'-TTTGTGTGGGACATATAAGGG-3'
	<i>UBC32</i>	AT3G17000	İleri Geri	5'-CGAGGGCGGGATTTATCATGGG-3' 5'-GTTGCCAATGCTCAGGGTGGTAG-3'
	<i>RBOHD</i>	AT5G47910	İleri Geri	5'-ATTACAAGCACCAAACCAG-3' 5'-TTCTCCGACCATCTCACTA-3'
	<i>RBOHF</i>	AT1G64060	İleri Geri	5'-TCACAAATCAACGACGAGAGTT-3' 5'-CCCATCTTCATTCTTGTTCCA -3'
	<i>ALDH2C4</i>	AT3G48000	İleri Geri	5'-CTCTTGATCCGAGGACAGGC-3' 5'-TGCGGTCAAGGATTGTTGGT-3'
RCS süpürme yolağı ile ilgili genler	<i>ALDH2B7</i>	AT1G23800	İleri Geri	5'-ATGTTGTTGTGCTGGTTTCGC-3' 5'-TGCTCTGAGTCTACCTGGGG-3'
	<i>ALDH7B4</i>	AT1G54100	İleri Geri	5'-TTTGCTGTTGGTTTGAGCCG-3' 5'-CGGTGTAGTTGGAGCACCTT-3'
	<i>ALDH11A3</i>	AT2G24270	İleri Geri	5'-ATCAGCTGCATCACCGGAAA -3' 5'-TGCCCGCTGTAAGAGAATCC-3'
	<i>GSTU2</i>	AT2G29480	İleri Geri	5'-GGCGAAGAAAGAAGAGAGTGTG-3' 5'-ACTAGGGGCATGAAGCCAAC-3'
	<i>GSTU3</i>	AT2G29470	İleri Geri	5'-GCCGAGAAAGAAGAGGGTGT -3' 5'-AGTAGCAACGGGCTCTTGAC-3'
	<i>GSTU4</i>	AT2G29460	İleri Geri	5'-AGAGCCCTTTGCTTCTCCAG-3' 5'-CCCTTCTCTGCTTTTGCCAC-3'
	<i>GSTU5</i>	AT2G29450	İleri Geri	5'-TGGCAAGAGCAGACGAGAAA-3' 5'-CCGGCGACAAAGTCCAAGAA -3'
	<i>GSTU24</i>	AT1G17170	İleri Geri	5'-CTGGGCGAGTATGTTTGGA-3' 5'-GGAGAGGGTTATTGTCGGGC-3'
	<i>GSTU25</i>	AT1G17180	İleri Geri	5'-AGCGAGGTTGATTTGGGGAG-3' 5'-GACACTCGGCTTCAATGCTG-3'
	<i>AKR4C8</i>	AT2G37760	İleri Geri	5'-CAAGTTACCTTGCCTCGGT-3' 5'-ACACCACCAATCTCTTCTCGT-3'
	<i>AKR4C9</i>	AT2G37770	İleri Geri	5'-ACCTAAGTGCATACTCGCCA-3' 5'-CGCAGGACTCTTCCGAGTT-3'

3.4 İstatistiksel Analizler

Sonuçlar tekrarların ortalaması olarak ifade edilmiş ve hata çubukları olarak standart hata ortalamaları (SEM) kullanılmıştır. Tek yönlü ANOVA'da Tukey'in çoklu karşılaştırma testi GraphPad Prism yazılımı ile kullanılmıştır. Kontrol ve deney grupları arasındaki farklar en yüksekten en düşüğe sıralanmış, %95 güven aralığında anlamlı olmayan farklar çubukların üzerinde aynı büyük harfle işaretlenmiştir ($p<0.05$).



4. BULGULAR

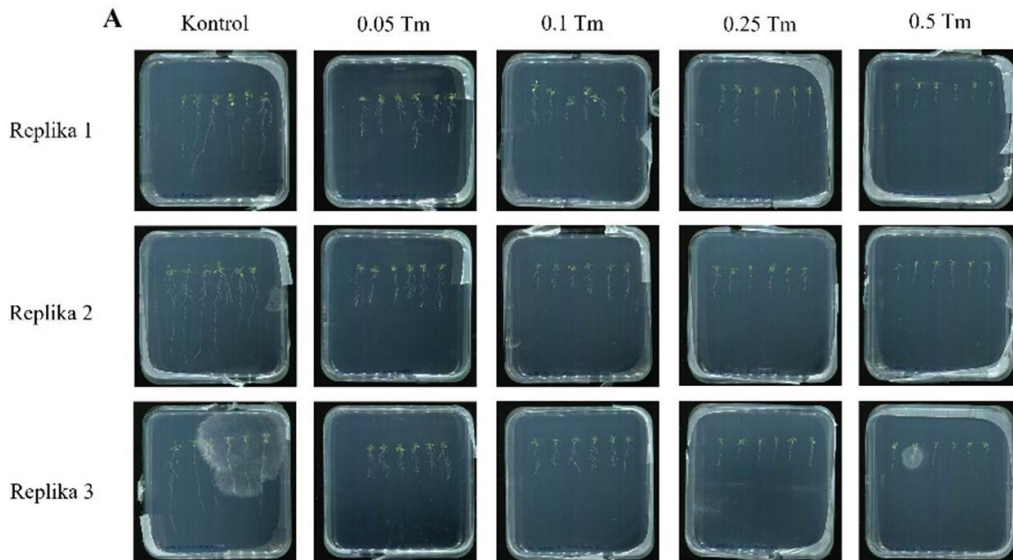
4.1 ER Stresi Uygulamaları ve RCS Metabolizması İlişkisi

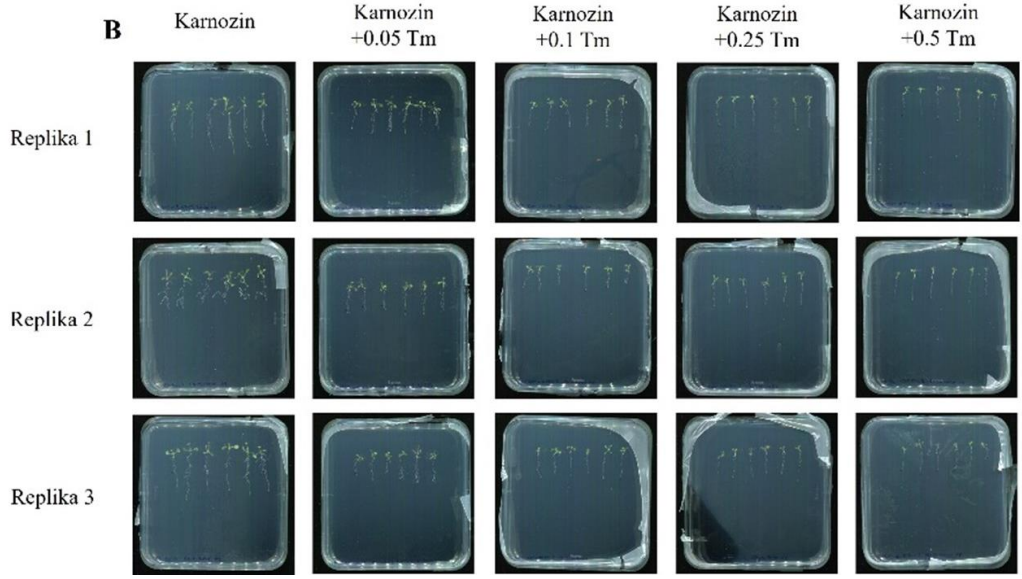
4.1.1 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisi

4.1.1.1 Fizyolojik parametreler

Bitkiler üç replika olacak şekilde yöntem kısmında belirtildiği gibi büyütülmüştür. Büyüme tamamlandıktan sonra görüntüler alınmıştır (Şekil 4.1). Görüntüler alındıktan sonra bitkiler hasat edilmiştir ve yaş ağırlıkları ölçülmüştür (Tablo 4.1 ve Şekil 4.2). Elde edilen görüntüler Image J yazılımı ile analiz edilerek ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yan kök sayısı ve yan kök yoğunluğunun hesaplanmıştır.

Şekil 4.1’de görüldüğü üzere bitkiler üçer replika şeklinde başarıyla büyütülmüş ve uygulamalar başarıyla yapılmıştır. Kontrol grubunun ve 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması yapılan grubun 3. Petrilerinde kontaminasyon görülmüş ve söz konusu petrilere hasat yapılmamıştır.





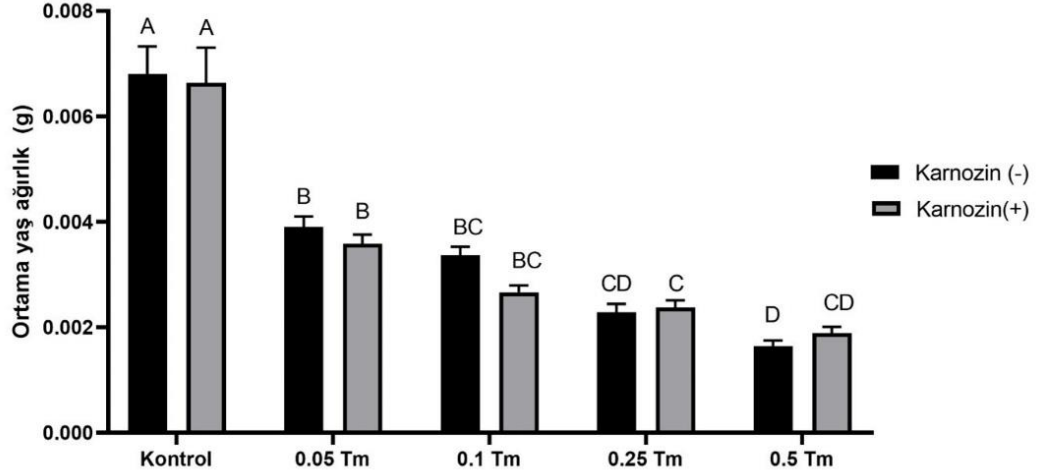
Şekil 4.1 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri

Hasat günü bitkilerin yaş ağırlıkları alınmıştır. Tablo 4.1’den görüleceği üzere Tm uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yaş ağırlıkta Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.05 µg/ml Tm uygulaması %42.7; 0.1 µg/ml Tm uygulaması %50.6; 0.25 µg/ml Tm uygulaması %66.4; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %75.8; karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde sadece karnozin uygulaması %2.5; karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması %47.3; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması %60.9; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %65.1; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %72.3 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması %46.0; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması %59.8; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %64.2; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %71.6 azalmaya sebep olmuştur.

Tablo 4.1 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM)

	Kontrol	0.05 Tm	0.1 Tm	0.25 Tm	0.5 Tm
Karnosin (-)	0,0068 $\pm$ 0,000499	0,0039 $\pm$ 0,000193	0,0034 $\pm$ 0,000156	0,0023 $\pm$ 0,000154	0,0016 $\pm$ 0,000102
Karnosin (+)	0,0066 $\pm$ 0,000644	0,0036 $\pm$ 0,000167	0,0027 $\pm$ 0,000126	0,0024 $\pm$ 0,000129	0,0019 $\pm$ 0,000118

Şekil 4.2’den görüleceği üzere uygulanan her Tm konsantrasyonu karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları ortalama yaş ağırlık için istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$). Sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunun tüm uygulama grupları ile; 0.05 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının 0.1 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla; 0.1 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının sadece kontrol ve 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması ile; 0.25 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının sadece kontrol ve 0.05 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması ile; 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının 0.25 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubunun tüm uygulama grupları ile ; karnozin varlığında 0.05 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının karnozin varlığında 0.1 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla; karnozin varlığında 0.1 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının sadece karnozin uygulaması yapılmış grup ile; karnozin varlığında 0.25 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının sadece karnozin uygulanan grup ile karnozin varlığında 0.05 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması ile; karnozin varlığında 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamasının sadece karnozin uygulanan grup ile karnozin varlığında 0.05 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$).



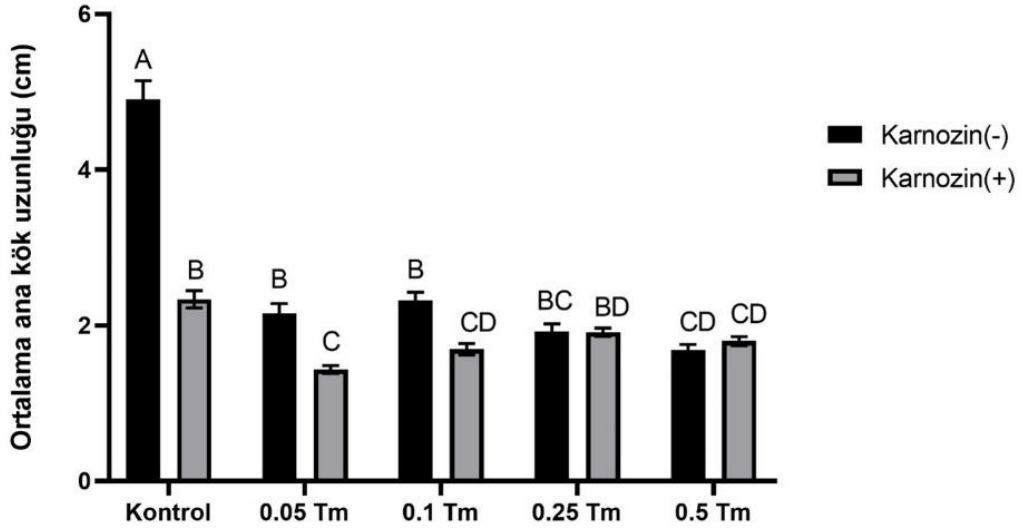
Şekil 4.2 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıklarını gösteren grafik.

Bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri Image J programı ile analiz edilmiş ve ortalama ana kök uzunluğu bulunmuştur. Tablo 4.2’den görüleceği üzere Tm uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre ana kök uzunluğunda Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.05 µg/ml Tm uygulaması %56.0; 0.1 µg/ml Tm uygulaması %52.7; 0.25 µg/ml Tm uygulaması %60.9; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %65.7; karnozin varlığında Tm uygulaması yapılan örneklerde sadece karnozin uygulaması %52.3; karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması %70.8; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması %65.4; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması %61.0; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %63.3 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece karnozin uygulanmış örneklerle kıyasla karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması %38.6; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması %27.5; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması %18.2; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %23.0 azalmaya sebep olmuştur.

Tablo 4.2 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama ana kök uzunluğunu gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM)

	Kontrol	0.05 Tm	0.1 Tm	0.25 Tm	0.5 Tm
Karnosin (-)	4.90 $\pm$ 0,2299	2.16 $\pm$ 0,1180	2.32 $\pm$ 0,1019	1.92 $\pm$ 0,0987	1.68 $\pm$ 0,0706
Karnosin (+)	2.34 $\pm$ 0,1070	1.43 $\pm$ 0,0502	1.69 $\pm$ 0,0712	1.91 $\pm$ 0,0507	1.80 $\pm$ 0,0548

Şekil 4.3'ten görüleceği üzere ortalama ana kök uzunluğu karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için 0.25 μ g/ml Tm ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması için istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); Tm uygulaması yapılmamış gruplar; 0.05 μ g/ml Tm ve 0.1 μ g/ml Tm uygulaması yapılan gruplar için istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunun tüm uygulama grupları ile; 0.05 μ g/ml Tm uygulamasının sadece kontrol ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması ile; 0.1 μ g/ml Tm uygulamasının sadece kontrol ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması ile; 0.25 μ g/ml Tm uygulamasının sadece kontrol grubu ile; 0.5 μ g/ml Tm uygulamasının 0.25 μ g/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubunun karnozin varlığında 0.25 μ g/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla; karnozin varlığında 0.05 μ g/ml Tm uygulamasının sadece karnozin uygulanan grup ve karnozin varlığında 0.25 μ g/ml Tm uygulaması ile; karnozin varlığında 0.1 μ g/ml Tm uygulamasının sadece karnozin uygulaması yapılmış grup ile; karnozin varlığında 0.25 μ g/ml Tm uygulamasının sadece karnozin uygulanan grup ve karnozin varlığında 0.05 μ g/ml Tm uygulaması ile; karnozin varlığında 0.5 μ g/ml Tm uygulamasının sadece karnozin uygulanan grup ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$).



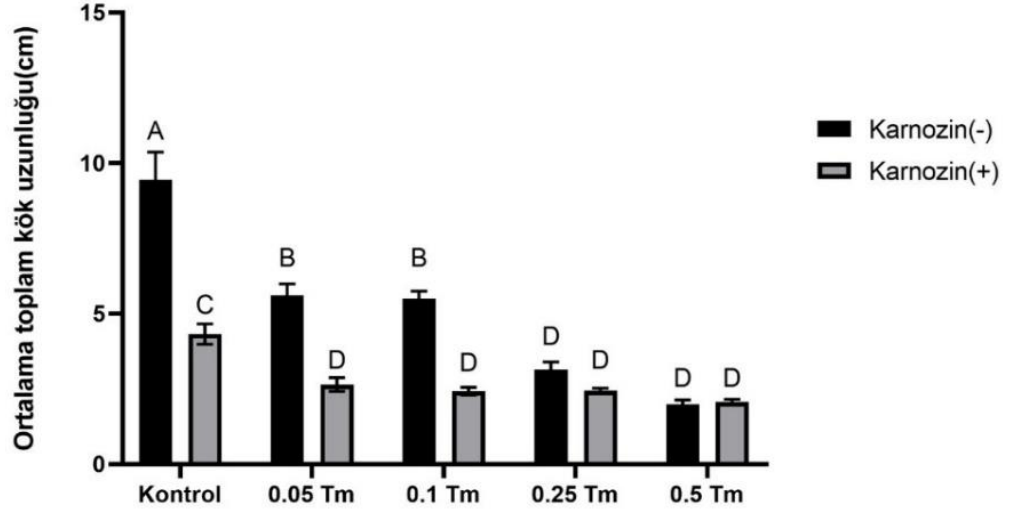
Şekil 4.3 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama ana kök uzunluğunu gösteren grafik

Bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri Image J programı ile analiz edilmiş ve ortalama toplam kök uzunluğu bulunmuştur. Tablo 4.3'ten görüleceği üzere Tm uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre toplam kök uzunluğunda Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.05 µg/ml Tm uygulaması %40.5; 0.1 µg/ml Tm uygulaması %41.7; 0.25 µg/ml Tm uygulaması %66.8; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %78.9; karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde sadece karnozin uygulaması %54.1; karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması %71.9; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması %74.2; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması %74.1; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %78.1 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması %38.7; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması %43.8; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması %43.6; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %52.2 azalmaya sebep olmuştur.

Tablo 4.3 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama toplam kök uzunluğunu gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM)

	Kontrol	0.05 Tm	0.1 Tm	0.25 Tm	0.5 Tm
Karnosin (-)	9.43 $\pm$ 0,9019	5.61 $\pm$ 0,3639	5.50 $\pm$ 0,2500	3.13 $\pm$ 0,2553	1.99 $\pm$ 0,1357
Karnosin (+)	4.33 $\pm$ 0,3248	2.65 $\pm$ 0,2230	2.43 $\pm$ 0,1217	2.44 $\pm$ 0,0881	2.07 $\pm$ 0,0847

Şekil 4.4'ten görüleceği üzere ortalama toplam kök uzunluğu açısından karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için 0.25 μ g/ml Tm ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); Tm uygulaması yapılmamış gruplar; 0.05 μ g/ml Tm ve 0.1 μ g/ml Tm uygulaması yapılan gruplar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$). Sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunun tüm uygulama grupları ile; 0.05 μ g/ml Tm uygulamasının 0.1 μ g/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalar ile; 0.1 μ g/ml Tm uygulamasının 0.05 μ g/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalar ile; 0.25 μ g/ml Tm uygulamasının 0.5 μ g/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalar ile; 0.5 μ g/ml Tm uygulamasının 0.25 μ g/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubunun tüm uygulamalarla; karnozin varlığında Tm uygulaması yapılan gruplarda tüm Tm konsantrasyonları için sadece karnozin uygulanan grup ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$).



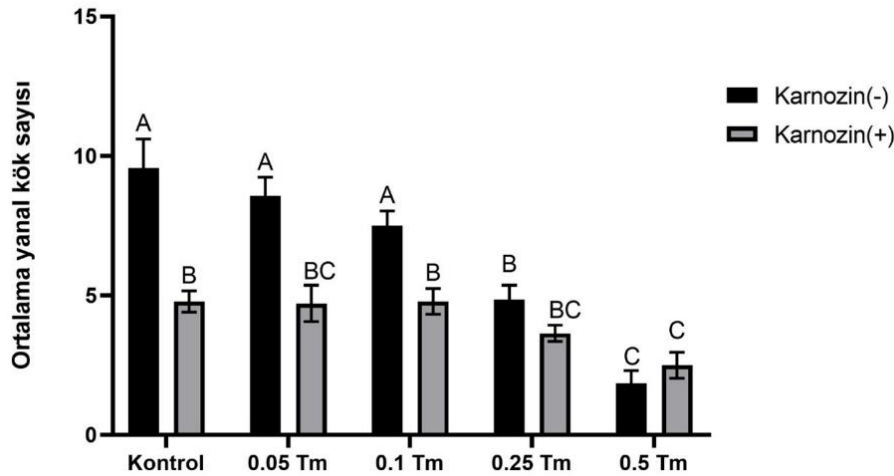
Şekil 4.4 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama toplam kök uzunluğunu gösteren grafik

Bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri Image J programı ile analiz edilmiş ve ortalama yanal kök sayısı bulunmuştur. Tablo 4.4'ten görüleceği üzere Tm uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yanal kök sayısında Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.05 µg/ml Tm uygulaması %10.4; 0.1 µg/ml Tm uygulaması %21.6; 0.25 µg/ml Tm uygulaması %49.3; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %80.7; karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde sadece karnozin uygulaması %50.0; karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması %50.7; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması %50.0; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması %61.9; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %73.9 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması %1.5; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması %23.9; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %47.8 azalmaya sebep olmuştur. Sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması toplam yanal kök sayısında herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır.

Tablo 4.4 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama yanak kök sayısını gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM)

	Kontrol	0.05 Tm	0.1 Tm	0.25 Tm	0.5 Tm
Karnosin (-)	9.57 $\pm$ 0,9985	8.57 $\pm$ 0,6446	7.50 $\pm$ 0,5126	4.86 $\pm$ 0,4934	1.85 $\pm$ 0,4465
Karnosin (+)	4.79 $\pm$ 0,3667	4.71 $\pm$ 0,6262	4.79 $\pm$ 0,4424	3.64 $\pm$ 0,2786	2.50 $\pm$ 0,4489

Şekil 4.5'ten görüleceği üzere yanak kök sayısı bakımından karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için 0.25 μ g/ml Tm ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); Tm uygulaması yapılmamış gruplar, 0.05 μ g/ml Tm ve 0.1 μ g/ml Tm uygulaması yapılan gruplar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$). Sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubu; 0.05 μ g/ml Tm ve 0.1 μ g/ml Tm uygulamasının 0.25 μ g/ml Tm ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması yapılan gruplarla; 0.25 μ g/ml Tm ve 0.5 μ g/ml Tm uygulamasının tüm uygulamalar ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grup ve karnozin varlığında 0.1 μ g/ml Tm uygulaması yapılan grup sadece karnozin varlığında 0.5 μ g/ml Tm uygulaması yapılan grup ile istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir ($p<0.05$). Diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.5 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama yanak kök sayısını gösteren grafik

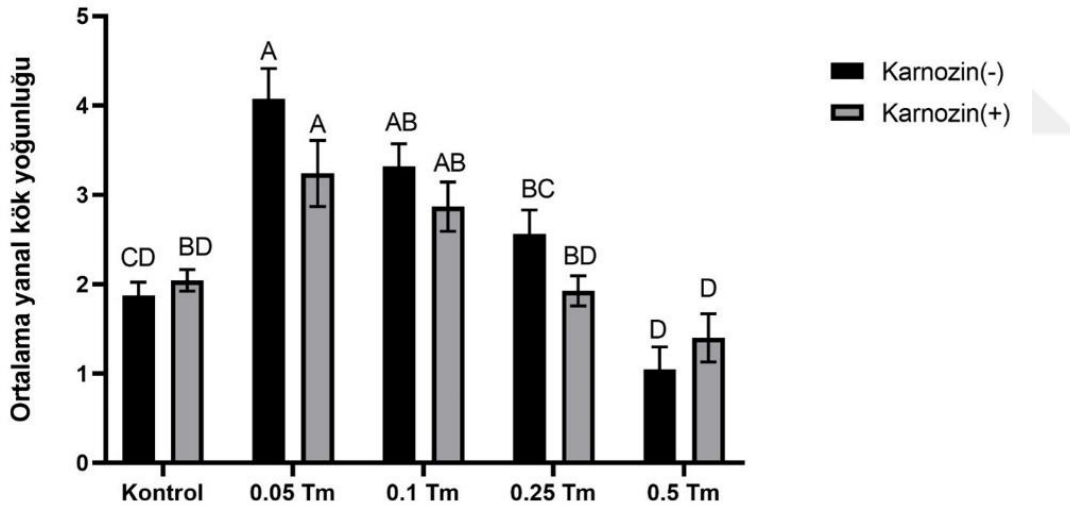
Bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri Image J programı ile analiz edilmiş ve ortalama yanıl kök yoğunluğu bulunmuştur. Tablo 4.5'ten görüleceği üzere Tm uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre 0.5 µg/ml Tm uygulaması dışında yanıl kök yoğunluğunda Tm konsantrasyonuna bağı bir şekilde artmaya neden olmuştur. 0.5 µg/ml Tm uygulaması yanıl kök yoğunluğunda azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.05 µg/ml Tm uygulaması 2.2 kat; 0.1 µg/ml Tm uygulaması 1.8 kat ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması 1.4 kat artışa neden olurken; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %44.5 azalmaya sebep olmuş; karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde sadece karnozin uygulaması 1.1 kat; karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması 1.7 kat; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması 1.5 kat artışa; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %25.4 azalmaya sebep olmuştur. Hiç uygulama yapılmayan grupla karşılaştırıldığında karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması yanıl kök yoğunluğunda değişime sebep olmamıştır. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde yanıl kök yoğunluğu açısından sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması 1.6 kat; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması 1.4 kat artışa; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulaması %5.8; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması %31.5 azalmaya sebep olmuştur.

Tablo 4.5 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden yapılan analizlerden elde edilen ortalama yanıl kök yoğunluğunu gösteren tablo (ortalama±SEM)

	Kontrol	0.05 Tm	0.1 Tm	0.25 Tm	0.5 Tm
Karnozin (-)	1.88±0,1375	4.07±0,3282	3.32±0,2471	2.56±0,2571	1.04±0,2436
Karnozin (+)	2.04±0,1156	3.24±0,3555	2.87±0,2665	1.93±0,1627	1.40±0,2603

Şekil 4.6'dan görüleceği üzere yanıl kök yoğunluğu karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için tüm konsantrasyondaki Tm uygulamaları istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$). Sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubu 0.25 µg/ml Tm ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılan gruplar hariç tüm gruplarla; 0.05 µg/ml Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.1 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla; 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.05 µg/ml Tm ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması hariç

tüm uygulamalarla; 0.25 µg/ml Tm uygulaması yapılan örneklerde kontrol ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla; 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılan örneklerde sadece kontrol hariç tüm uygulamalarla istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubunun sadece karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması ile; karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulamasının karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla; karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulamasının sadece karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulaması ile; karnozin varlığında 0.25 µg/ml Tm uygulamasının sadece karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması ile; karnozin varlığında 0.5 µg/ml Tm uygulamasının karnozin varlığında 0.05 µg/ml Tm uygulaması ve karnozin varlığında 0.1 µg/ml Tm uygulamalarıyla istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).

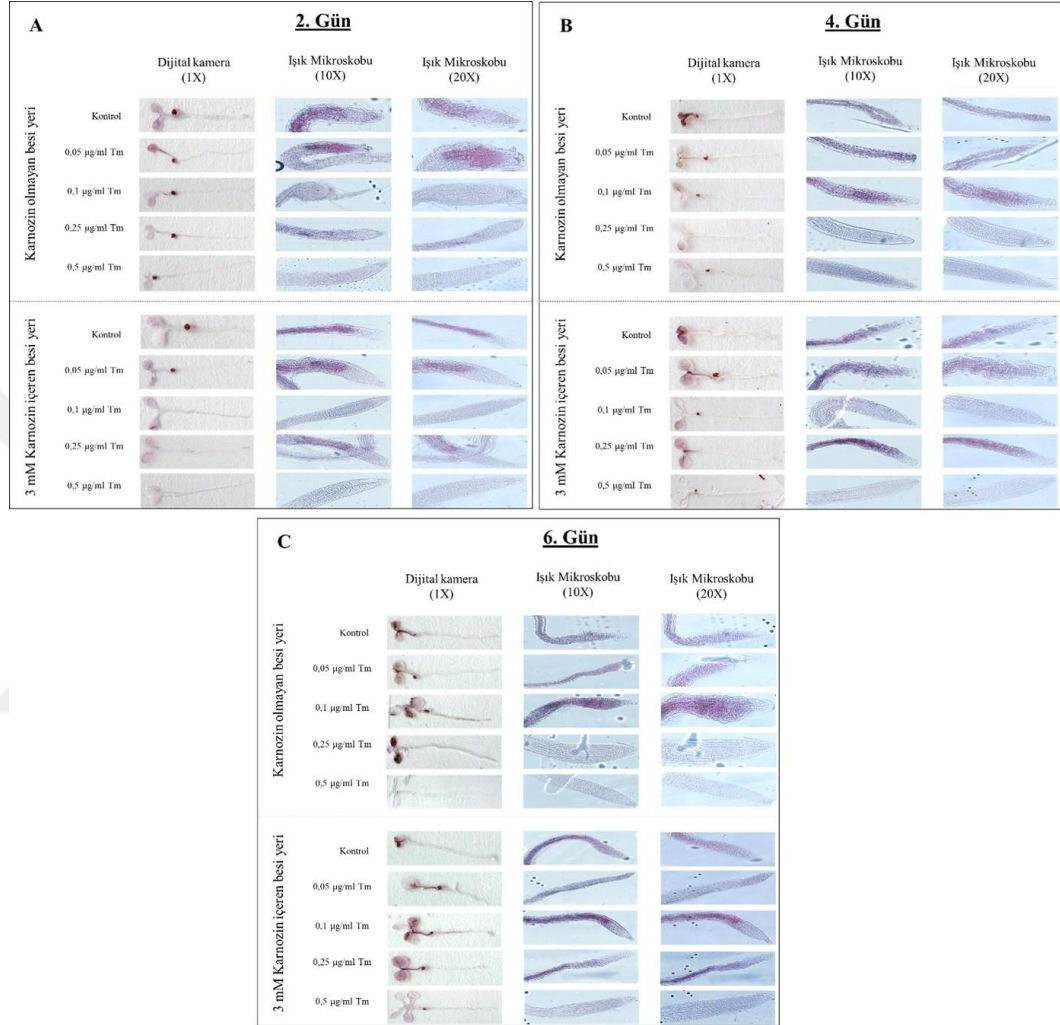


Şekil 4.6 ER stresinin RCS birikimi ile ilişkisinin incelenmesinde kullanılan bitkilerin hasat günü elde edilen görüntülerinin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen ortalama yanal kök yoğunluğunu gösteren grafik

4.1.1.2 RCS üretiminin Schiff Reaktif Boyaması ile gösterilmesi

RCS üretiminin Schiff boyaması ile gösterilmesi için bitki büyütme basamakları tekrarlanmış ve ER stresi uygulaması yapılmış örnekler iki günlük aralar ile hasat edilmiştir. Hasat edilen bitkilerde RCS üretimi yöntemde belirtilen

basamaklar takip edilerek Schiff Boyaması ile gösterilmiştir. İki gün arayla hasat edilen bitkiler Schiff reaktifi ile boyandıktan sonra dijital kamera ile görüntülenmiş, daha sonrasında ise her boyamada alınan örneklerden ışık mikroskobu ile kök uçlarında RCS üretimi gösterilmiştir (Şekil 4.7).

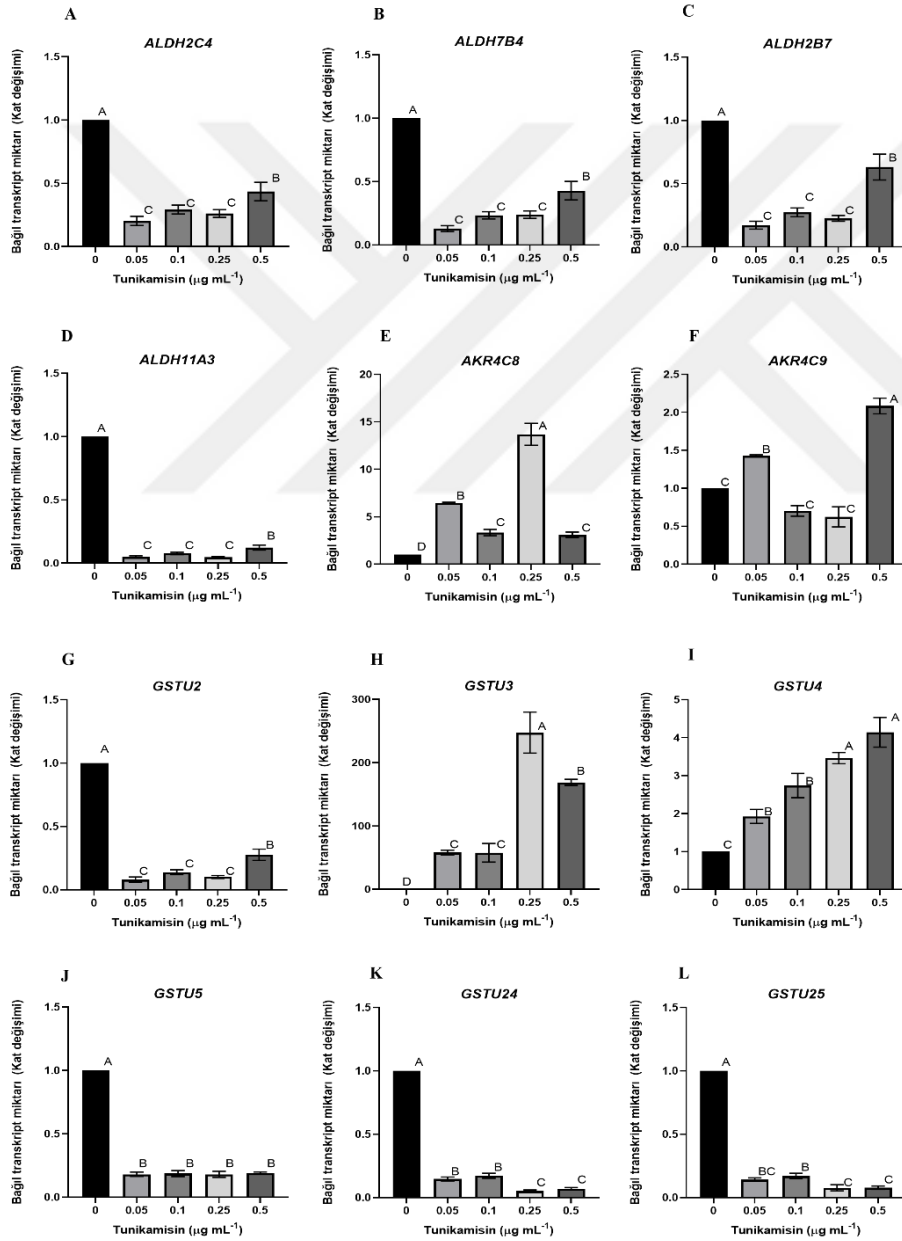


Şekil 4.7 ER stresi kaynaklı karbonil üretiminin Schiff boyaması ile gösterilmesi görüntülemeleri. Her görüntü, karnozin içeren veya içermeyen belirli Tm konsantrasyonlarından (0, 0.05, 0.1, 0.25 ve 0.5 µg/ml) hasat edilen bir örneği temsil etmektedir.

Yapılan boyamalar sonucunda karnozin içermeyen ortamda artan Tm konsantrasyonu ile RCS üretiminde artış; karnozin içeren ortamlarda ise daha az RCS üretimi görülmüştür (Şekil 4.7). Buna ek olarak, Şekil 4.7’de görüldüğü üzere inkübasyon süresi ile RCS üretim miktarı arasında pozitif bir korelasyon vardır. Bu sonuçlara göre ER stresinin RCS akümülyasyonuna sebep olduğu görülmektedir.

4.1.2 ER stresinin RCS süpürücü genlerin ifadelerine etkisi

qRT-PCR analizleri ile RCS süpürücü enzimlerin ifadelerinin ölçülmesi için hasat edilen örneklerden toplam RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yöntem kısmında belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri qRT-PCR reaksiyonu için kalıp DNA olarak Tablo 3.1’de belirtilen ileri ve geri primerler ile yöntem kısmında belirtilen koşullarda kullanılmış ve seçilen RCS süpürücü genlerin ifadeleri ölçülmüştür (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 RCS süpürücü genlerin ekspresyonunda ER stresin etkisi. ALDH (A-D), AKR (E, F) ve GST(G-L) genlerinin, Tm kaynaklı ER stresli bitkilerde göreceli transkript bolluğu

açısından taranmasını gösteren grafikler. Kontrol grubu C olarak belirtilmiştir; Uygulanan Tm konsantrasyonuna göre deney grupları 0.05 µg/ml Tm (0.05 Tm); 0.1 µg/ml Tm (0.1 Tm); 0.25 µg/ml Tm (0.25 Tm) ve 0.5 µg/ml Tm (0.5 Tm) olarak ifade edilmiştir. Grafikler ortalama $\pm$ SEM'ini göstermektedir (n=3).

Sonuçlar, *ALDH* kodlayan genlerin ifadelerinde, Tm ile indüklenmiş örneklerin hepsinde kontrole kıyasla göreceli gen ifadesinin azaldığını göstermektedir (Şekil 4.8A-D). *ALDH2C4* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *ALDH2C4* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %79.8, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %70.7, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %73.9 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %56.5 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml ve 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde bağıl *ALDH2C4* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), sadece kontrol grubu ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8A).

ALDH7B4 geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *ALDH7B4* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %87.0, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %76.6, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %76.1 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %57.1 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler 0.05 µg/ml Tm, 0.1 µg/ml ve 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde bağıl *ALDH7B4* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), sadece kontrol grubu ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8B).

ALDH2B7 geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *ALDH2B7* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %82.8, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %72.7, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %77.5 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %36.9 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml ve 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde bağıl *ALDH2B7* transkript bolluğunda istatistiksel

olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), sadece kontrol grubu ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8C).

ALDH1A3 geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *ALDH1A3* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %95.1, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %92.4, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %95.4 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %87.8 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml ve 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde bağıl *ALDH1A3* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), sadece kontrol grubu ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8D).

AKR kodlayan genlerin ifadelerinde, *ALDH* kodlayan genlerin ifadelerinin tersine artış görülmüştür. *AKR* kodlayan genlerden *AKR4C8* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla artış 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az artış 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *AKR4C8* geninin bağıl ifadesinin kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 6.4 kat, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 3.3 kat, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 13.7 kat ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 3.1 kat arttığı görülmüştür. İstatistiksel analizler 0.1 µg/ml ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde bağıl *AKR4C8* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), diğer örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0.05$) göstermiştir (Şekil 4.8E).

AKR kodlayan diğer bir gen olan *AKR4C9* geninin bağıl ifadesinde artışların yanı sıra düşüşler de gözlemlenmiştir. Bu geni için kontrole kıyasla en fazla artış 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en fazla düşüş ise 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *AKR4C9* geninin bağıl ifadesinin ise 0.1 ve 0.25 µg/ml Tm ile indüklenen örnekler için kontrole göre yaklaşık %29.8 ve %37.7 oranında azaldığı; 0.05 µg/ml ve 0.5 µg/ml Tm ile indüklenen örnekler için kontrole göre yaklaşık 1.4 kat ve 2.1 kat arttığı görülmüştür. İstatistiksel analizler kontrol grubu,

0.1 µg/ml ve 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde bağıl *AKR4C9* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), diğer örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8F).

GST kodlayan genlerde, taranan genlerden dördünde (*GSTU2*, *GST5*, *GST24* ve *GST25*) bağıl gen ifadesinin azaldığı, ikisinde ise (*GSTU3* ve *GST4*) Tm indüksiyonu ile bağıl gen ifadesinin arttığı görülmüştür (Şekil 4.8G-L).

GST kodlayan genlerde bağıl gen ifadesinin azaldığı dört genden biri olan *GSTU2* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *GSTU2* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %92.0, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %86.0, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %89.8 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %72.4 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml ve 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde bağıl *GSTU2* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), sadece kontrol grubu ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8G).

GST kodlayan genlerde bağıl gen ifadesinin azaldığı dört genden bir diğeri olan *GSTU5* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *GSTU5* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %81.9, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %81.3, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %81.9 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %80.9 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler Tm uygulanmış örneklerde bağıl *GSTU5* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0.05$), sadece kontrol grubu örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8J).

GST kodlayan genlerde bağıl gen ifadesinin azaldığı dört genden biri olan *GSTU24* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.25 µg/ml Tm

uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *GSTU24* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %85.4, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %82.8, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %94.8 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %93.0 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler kontrol grubunun tüm örnekler ile; 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örnekler birbiri hariç diğer tüm örnekler ile 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örnekler birbiri hariç diğer tüm örnekler ile bağıl *GSTU24* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8K).

GST kodlayan genlerde bağıl gen ifadesinin azaldığı dört genden sonuncusu olan *GSTU25* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla düşüş 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az düşüş 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *GSTU25* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %85.8, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %82.9, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %92.3 ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde %92.2 düşüş görülmüştür. İstatistiksel analizler kontrol grubunun tüm örnekler ile; 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örnekler sadece kontrol grubu örnekleri ile; 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örnekler 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örnekler hariç diğer tüm örnekler ile; 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örnekler birbiri ve 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örnekler hariç diğer tüm örnekler ile bağıl *GSTU25* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermemiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8L).

GST kodlayan genlerde bağıl gen ifadesinin arttığı iki genden biri olan *GSTU3* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla artış 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az artış 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *GSTU3* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 58.0 kat, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 57.5 kat, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 247.4 kat ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 168.8 kat artış görülmüştür. İstatistiksel analizler kontrol grubu, 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerin tüm örnekler ile; 0.05 µg/ml Tm ve 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örnekler birbirleri hariç diğer tüm örnekler ile bağıl

GSTU3 transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8H).

GST kodlayan genlerde bağıl gen ifadesinin arttığı genlerden bir diğeri olan *GSTU4* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla en fazla artış 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde, en az artış 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde görülmüştür. *GSTU4* geninin bağıl ifadesinde kontrole kıyasla 0.05 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 1.9 kat, 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 2.7 kat, 0.25 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 3.5 kat ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örneklerde 4.1 kat artış görülmüştür. İstatistiksel analizler kontrol grubunun tüm diğeri gruplar ile; 0.05 µg/ml Tm ve 0.1 µg/ml Tm uygulanmış örnekler birbirleri hariç diğeri tüm örnekler ile; 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml Tm uygulanmış örnekler birbirleri hariç diğeri tüm örnekler ile bağıl *GSTU4* transkript bolluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.8I).

Tüm bu sonuçlar, ROS bağımlı ER stresinin, RCS temizleme mekanizması ile negatif korelasyona sahip olduğunu, hatta RCS temizlemeyle ilgili bazı genleri aktive ettiğini göstermektedir.

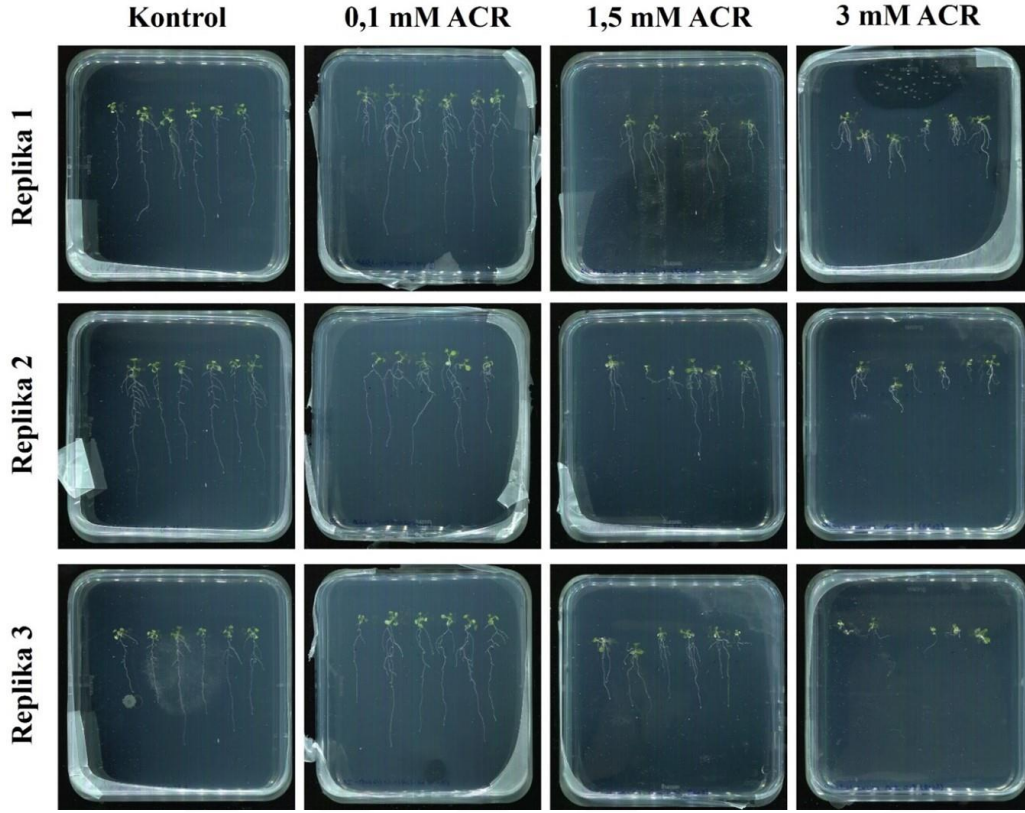
4.2 Ekzojen RCS Uygulamaları ve ER Stresi İlişkisi

Ekzojen RCS uygulamalarının fizyolojik etkilerini gözlemlemek için ilk adım olarak bitkiler üç replika olacak şekilde yöntem kısmında belirtildiği gibi büyütülmüş ve ekzojen RCS uygulamaları yapılmıştır. Büyüme tamamlandıktan sonra görüntüler alınmıştır. Görüntüler alındıktan sonra bitkiler hasat edilmiştir ve yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Elde edilen görüntüler Image J yazılımı ile analiz edilerek ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yan kök sayısı ve yan kök yoğunluğunun hesaplanmıştır.

4.2.1 Ekzojen akrolein (ACR) uygulamalarının fizyolojik etkileri

Şekil 4.9'da görüldüğü üzere bitkiler üçer replika şeklinde başarıyla büyütülmüş ve ACR uygulaması başarıyla yapılmıştır. Kontrol grubu ile

kıyaslandığında ACR uygulamasının büyüme için olumsuz etkilerinin artan konsantrasyon ile daha fazla görüldüğü gözlemlenmiştir.



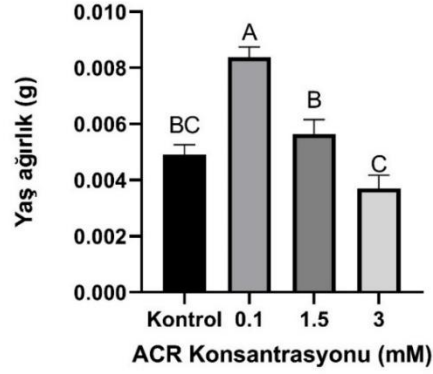
Şekil 4.9 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri

Hasat günü bitkilerin yaş ağırlıkları alınmıştır. Tablo 4.6'dan görüleceği üzere 0.1 mM ve 1.5 mM ACR uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yaş ağırlıkta sırasıyla 1.8 ve 1.2 kat artışa sebep olurken, 3 mM ACR uygulaması yaş ağırlıkta %21.4 azalmaya neden olmuştur.

Tablo 4.6 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM) (n=14)

Örnek		Yaş ağırlık (g)
ACR	Kontrol	0.0049 $\pm$ 0.000349
	0.1 mM	0.0084 $\pm$ 0.000351
	1.5 mM	0.0057 $\pm$ 0.000482
	3 mM	0.0037 $\pm$ 0.000451

Şekil 4.10'dan görüleceği üzere hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri sadece 0.1 mM ACR uygulanan örnekler ile; 0.1 mM ACR uygulanan örnekler tüm örnekler ile; 1.5 mM ve 3 mM ACR uygulanan örnekler hem kontrol örnekleri hariç tüm örneklerle hem de birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.10 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren grafik (ortalama±SEM) (n=14)

Yapılan kök fenotipi analizlerine göre elde edilen ortalama ana kök uzunlukları; ortalama toplam kök uzunlukları, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunlukları Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Bu sonuçlar, ACR uygulamasının ortalama ana kök uzunluğuna negatif bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.7 Ekzojen akrolein (ACR) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo (ortalama±SEM) (n=14)

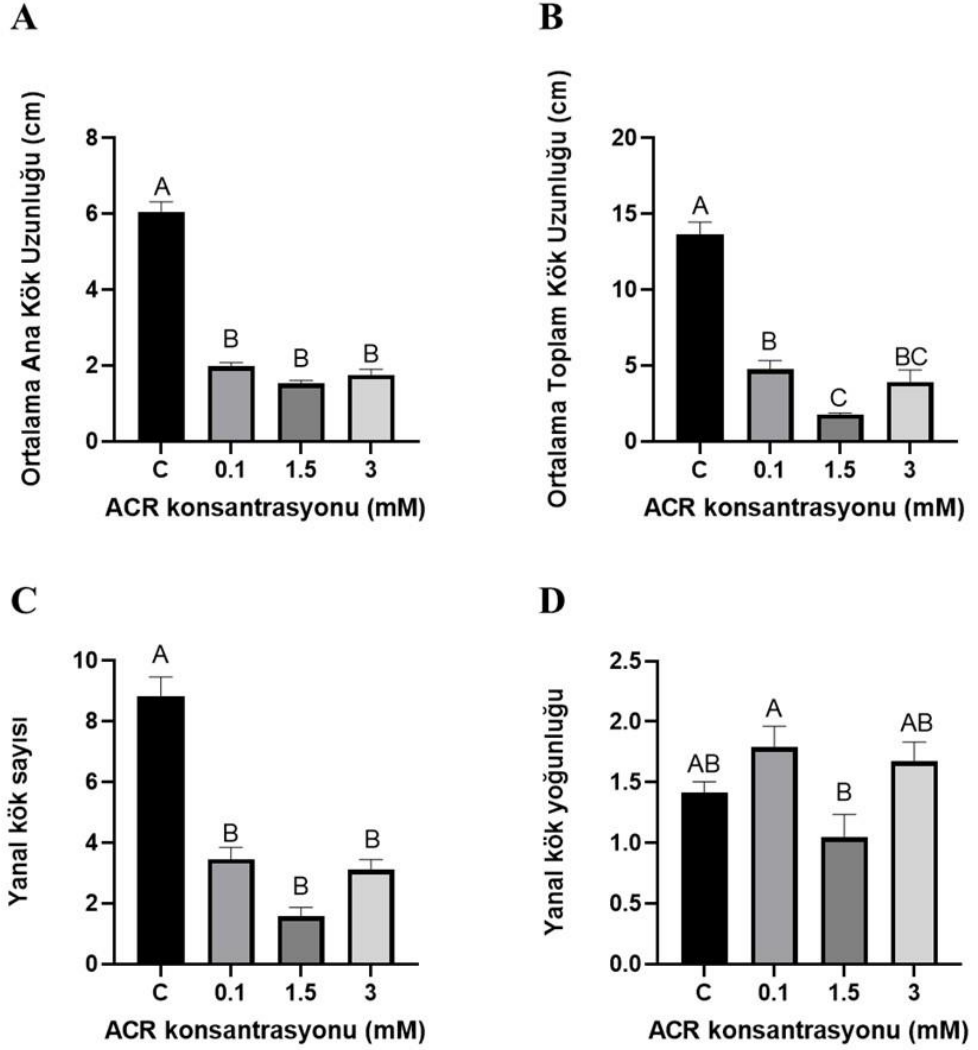
	Kontrol	ACR		
		0.1 mM	1.5 mM	3 mM
Ortalama ana kök uzunluğu (cm)	6.06±0.2455	1.97±0.0972	1.53±0.0760	1.76±0.1405
Ortalama toplam kök uzunluğu (cm)	13.67±0.7592	4.73±0.5705	1.79±0.0783	3.92±0.07614
Ortalama yanal kök sayısı	8.83±0.5990	3.45±0.3718	1.57±0.2753	3.10±0.3302
Ortalama yanal kök yoğunluğu	1.42±0.0858	1.79±0.1633	1.05±0.1738	1.67±0.1515

Ortalama ana kök uzunluğunda kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM ACR uygulanmış örneklerde %66.6; 1.5 mM ACR uygulanmış örneklerde %73.7 ve 3 mM ACR uygulanmış örneklerde %70.7 azalma görülmüştür. Şekil 4.11A'dan görüleceği üzere sadece hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterirken ($p<0.05$); ACR uygulanan örnekler birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).

Ortalama toplam kök uzunluğuna bakıldığında kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM ACR uygulanmış örneklerde %66.8; 1.5 mM ACR uygulanmış örneklerde %86.8 ve 3 mM ACR uygulanmış örneklerde %74.0 azalma görülmüştür. Şekil 4.11B'de gösterildiği gibi hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri tüm örnekler ile; 0.1 mM ve 1.5 mM ACR uygulanan örnekler ise hem 3 mM ACR uygulanmış örnekler hariç tüm örneklerle hem de birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterirken; 3 mM ACR uygulanan örnekler sadece kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).

Ortalama yanal kök sayısı açısından bakıldığında hiçbir uygulama yapılmamış kontrol gruplarına kıyasla 0.1 mM ACR uygulaması %63.4; 1.5 mM ACR uygulaması %85.0; 3 mM ACR uygulaması ise % 67.8 oranında azalmaya neden olmuştur. Şekil 4.11C'de görüleceği üzere sadece hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterirken ($p<0.05$); ACR uygulanan örnekler birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).

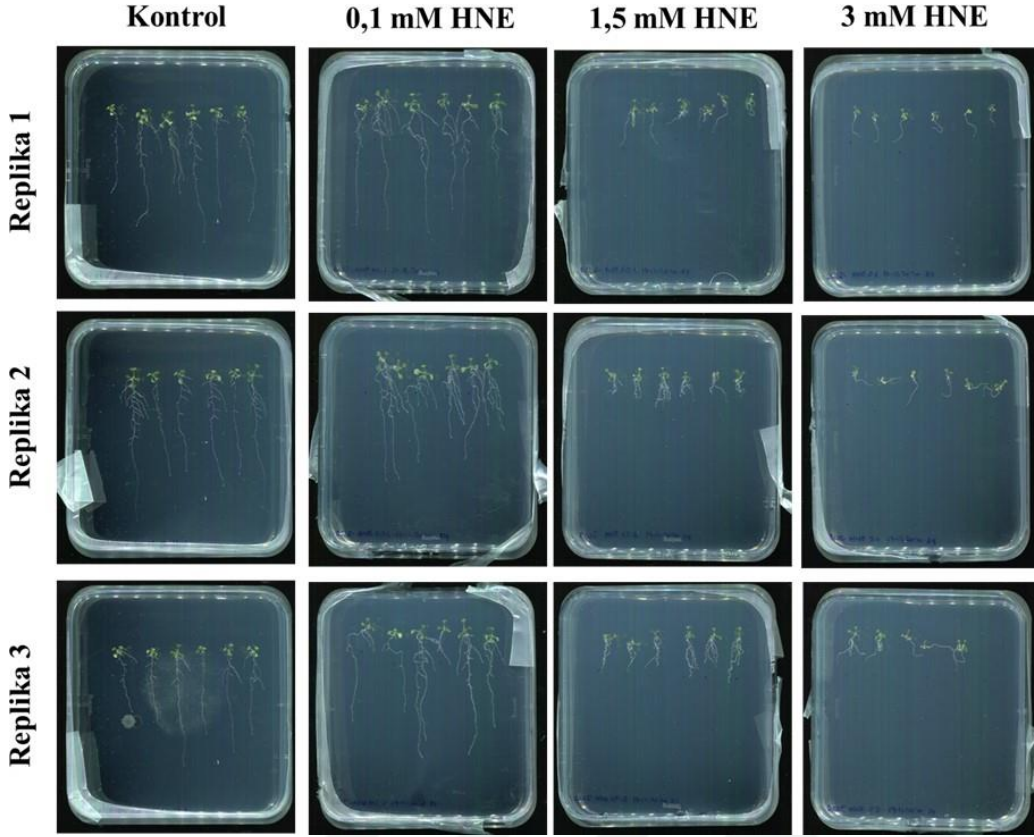
Ortalama yanal kök yoğunluğu açısından bakıldığında kontrol örneklerine kıyasla 0.1 ACR uygulaması 1.2 kat; 3 mM ACR uygulaması 1.1 kat artışa sebep olurken; 1.5 mM ACR uygulaması ise %37.5 azalışa sebep olmuştur. Şekil 4.11D'de gösterildiği üzere yanal kök yoğunluğunda sadece 0.1 mM ACR uygulaması ile 1.5 mM ACR uygulaması karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiş ($p<0.05$); diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.11 Ekzojen Akrolein (ACR) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik. Ana kök uzunluğu (A), toplam kök uzunluğu (B), yanal kök sayısı (C) ve yanal kök yoğunluğu (D) gösteren grafikler (ortalama±SEM) (n=14)

4.2.2 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulamalarının fizyolojik etkileri

Şekil 4.12’de görüldüğü üzere bitkiler üçer replika şeklinde başarıyla büyütülmüş ve HNE uygulaması başarıyla yapılmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında HNE uygulamasının büyüme için olumsuz etkilerinin artan konsantrasyon ile daha fazla görüldüğü gözlemlenmiştir.



Şekil 4.12 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri

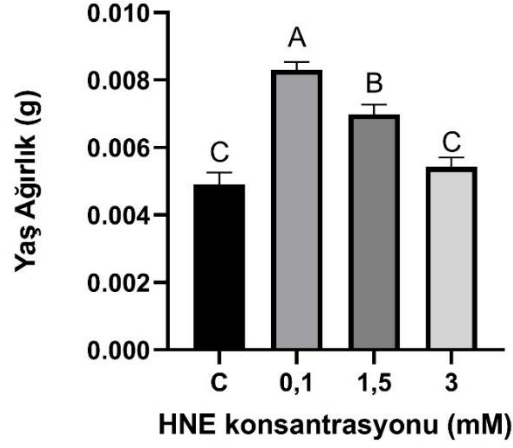
Hasat günü bitkilerin yaş ağırlıkları alınmıştır. Tablo 4.8'den görüleceği üzere HNE uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yaş ağırlıkta 0.1 mM için 1.8 kat; 1.5 mM için 1.5 kat ve 3 mM için 1.2 kat artışa neden olmuştur.

Tablo 4.8 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM) (n=14)

Örnek		Yaş ağırlık (g)
HNE	Kontrol	0.0049 $\pm$ 0.000349
	0.1 mM	0.0083 $\pm$ 0.000231
	1.5 mM	0.0070 $\pm$ 0.000277
	3 mM	0.0054 $\pm$ 0.000268

Şekil 4.13'te görüleceği üzere hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM ve 1.5 mM HNE uygulanan örnekler ile; 0.1 mM ve 1.5 mM HNE uygulanan örnekler hem tüm örnekler hem de birbirleri ile; 3 mM HNE uygulanan

örnekler kontrol örnekleri hariç tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.13 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıklarının ortalamasını gösteren grafik. (ortalama $\pm$ SEM) (n=14)

Yapılan kök fenotipi analizlerine göre elde edilen ortalama ana kök uzunlukları; ortalama toplam kök uzunlukları, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunlukları Tablo 4.9’da gösterilmiştir.

Tablo 4.9 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM) (n=14)

	Kontrol	HNE		
		0.1 mM	1.5 mM	3 mM
Ortalama ana kök uzunluğu (cm)	6.06 $\pm$ 0.2455	6.12 $\pm$ 0.2596	1.98 $\pm$ 0.0908	1.56 $\pm$ 0.0773
Ortalama toplam kök uzunluğu (cm)	13.67 $\pm$ 0.7592	13.64 $\pm$ 0.7613	4.94 $\pm$ 0.5284	1.74 $\pm$ 0.0748
Ortalama yanal kök sayısı	8.83 $\pm$ 0.5990	9.00 $\pm$ 0.6124	3.64 $\pm$ 0.4317	1.17 $\pm$ 0.1521
Ortalama yanal kök yoğunluğu	1.42 $\pm$ 0.0858	1.45 $\pm$ 0.0984	1.86 $\pm$ 0.2036	0.80 $\pm$ 0.1029

Bu sonuçlar, özellikle 1.5 mM ve 3 mM HNE uygulamasının ortalama ana kök uzunluğuna negatif bir etkisi olduğunu göstermektedir. Ortalama ana kök uzunluğunda kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM HNE uygulanmış örneklerde bir

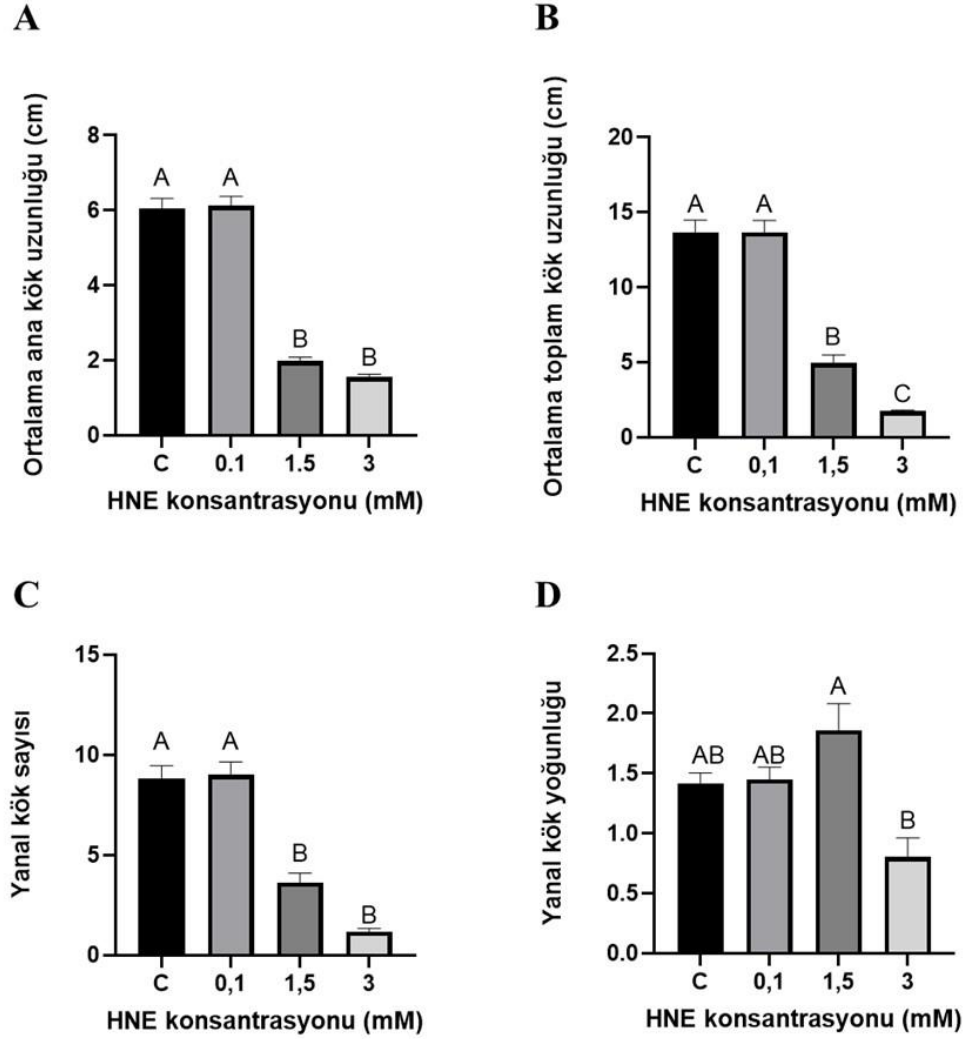
değişiklik gözlenmezken; 1.5 mM HNE uygulanmış örneklerde %66.3 ve 3 mM HNE uygulanmış örneklerde %73.5 azalma görülmüştür. Şekil 4.14A'dan görüleceği üzere hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM HNE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile; 0.1 mM HNE uygulanmış örnekler ise kontrol örnekleri hariç tüm örnekler ile; 1.5 mM HNE uygulanmış örnekler 3 mM HNE uygulanmış örnekler hariç tüm örneklerle; 3 mM HNE uygulanmış örnekler ise 1.5 mM HNE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).

Ortalama toplam kök uzunluğuna bakıldığında kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM HNE uygulanmış örneklerde bir değişiklik gözlenmezken; 1.5 mM HNE uygulanmış örneklerde %65.0 ve 3 mM HNE uygulanmış örneklerde %87.2 azalma görülmüştür. Şekil 4.14B'de gösterildiği gibi hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM HNE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile; 0.1 mM HNE uygulanmış örnekler ise kontrol örnekleri hariç tüm örnekler ile; 1.5 mM ve 3 mM HNE uygulanmış örnekler hem tüm örnekler ile hem de birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).

Ortalama yanal kök sayısı açısından hiçbir uygulama yapılmamış kontrol gruplarına kıyasla 0.1 mM HNE uygulanmış örneklerde bir değişiklik gözlenmezken; 1.5 mM HNE uygulanmış örneklerde %57.1 ve 3 mM HNE uygulanmış örneklerde %93.3 azalma görülmüştür. Şekil 4.14C'de görüleceği üzere hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM HNE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile; 0.1 mM HNE uygulanmış örnekler ise kontrol örnekleri hariç tüm örnekler ile; 1.5 mM HNE uygulanmış örnekler 3 mM HNE uygulanmış örnekler hariç tüm örneklerle; 3 mM HNE uygulanmış örnekler ise 1.5 mM HNE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).

Ortalama yanal kök yoğunluğu açısından bakıldığında kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM HNE uygulanmış örneklerde bir değişiklik gözlenmezken; 1.5 mM HNE uygulanmış örneklerde 1.38 kat artış görülmüş ve 3 mM HNE uygulanmış örneklerde %71.8 azalma görülmüştür. Şekil 4.14D'de gösterildiği üzere yanal kök yoğunluğunda sadece 1.5 mM HNE uygulaması ile 3 mM HNE uygulaması

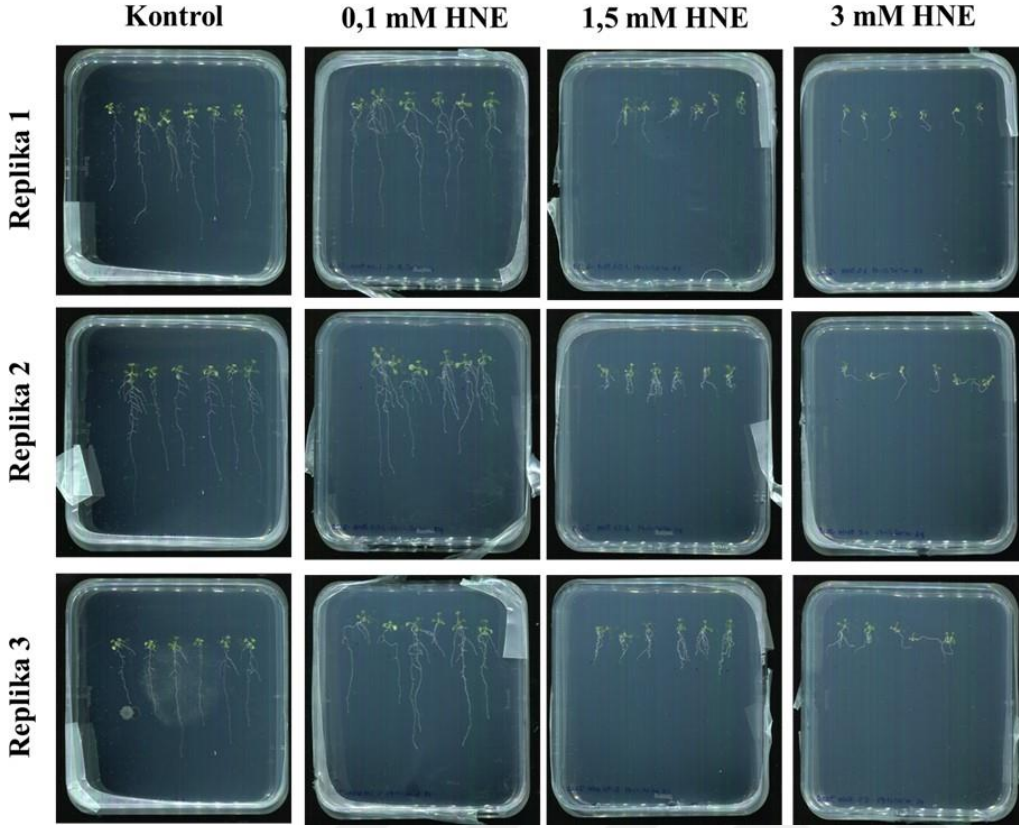
karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiş ($p<0.05$); diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.14 Ekzojen 4-hidroksi-(E)-2-nonenal (HNE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik Ana kök uzunluğu (A), toplam kök uzunluğu (B), yanal kök sayısı (C) ve yanal kök yoğunluğunu (D) gösteren grafikler (ortalama $\pm$ SEM) (n=14)

4.2.3 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulamalarının fizyolojik etkileri

Şekil 4.15'te görüldüğü üzere bitkiler üçer replika şeklinde başarıyla büyütülmüş ve HHE uygulaması başarıyla yapılmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında HHE uygulamasının büyüme için olumsuz etkilerinin artan konsantrasyon ile daha fazla görüldüğü gözlemlenmiştir.



Şekil 4.15 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri

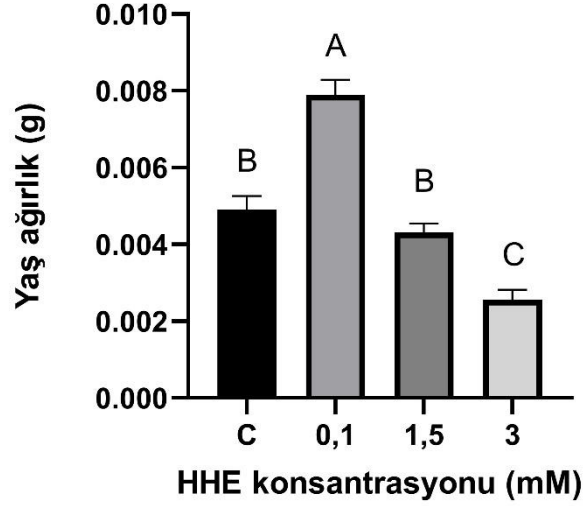
Hasat günü bitkilerin yaş ağırlıkları alınmıştır. Tablo 4.10’da görüleceği üzere HHE uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yaş ağırlıkta 0.1 mM için 1.7 kat artış; 1.5 mM için %7.6 ve 3 mM için %44.8 azalma gözlenmiştir.

Tablo 4.10 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM) (n=14)

Örnek	Yaş ağırlık (g)
Kontrol	0.0049 $\pm$ 0.000349
HHE	0.0079 $\pm$ 0.0003371
0.1 mM	0.0043 $\pm$ 0.000231
1.5 mM	0.0026 $\pm$ 0.000242
3 mM	

Şekil 4.16’da görüleceği üzere hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM ve 3 mM HHE uygulanan örnekler ile; 0.1 mM HHE uygulanan örnekler tüm örnekler ile; 1.5 mM HHE uygulanan örnekler kontrol örnekleri hariç tüm

örnekler ile; 3 mM HHE uygulanan örnekler tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.16 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren grafik. (ortalama±SEM) (n=14)

Yapılan kök fenotipi analizlerine göre elde edilen ortalama ana kök uzunlukları; ortalama toplam kök uzunlukları, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunlukları Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması ile kök fenotipi incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo (ortalama±SEM) (n=14)

	Kontrol	HHE		
		0.1 mM	1.5 mM	3 mM
Ortalama ana kök uzunluğu (cm)	6.06±0.2455	6.03±0.4609	2.51±0.2850	2.14±0.2768
Ortalama toplam kök uzunluğu (cm)	13.67±0.7592	12.84±0.6299	8.96±0.7964	6.08±0.6405
Ortalama yanal kök sayısı	8.83±0.5990	9.25±0.07917	6.25±0.5017	4.92±0.4323
Ortalama yanal kök yoğunluğu	1.42±0.0858	1.52±0.0793	2.63±0.2894	2.48±0.2723

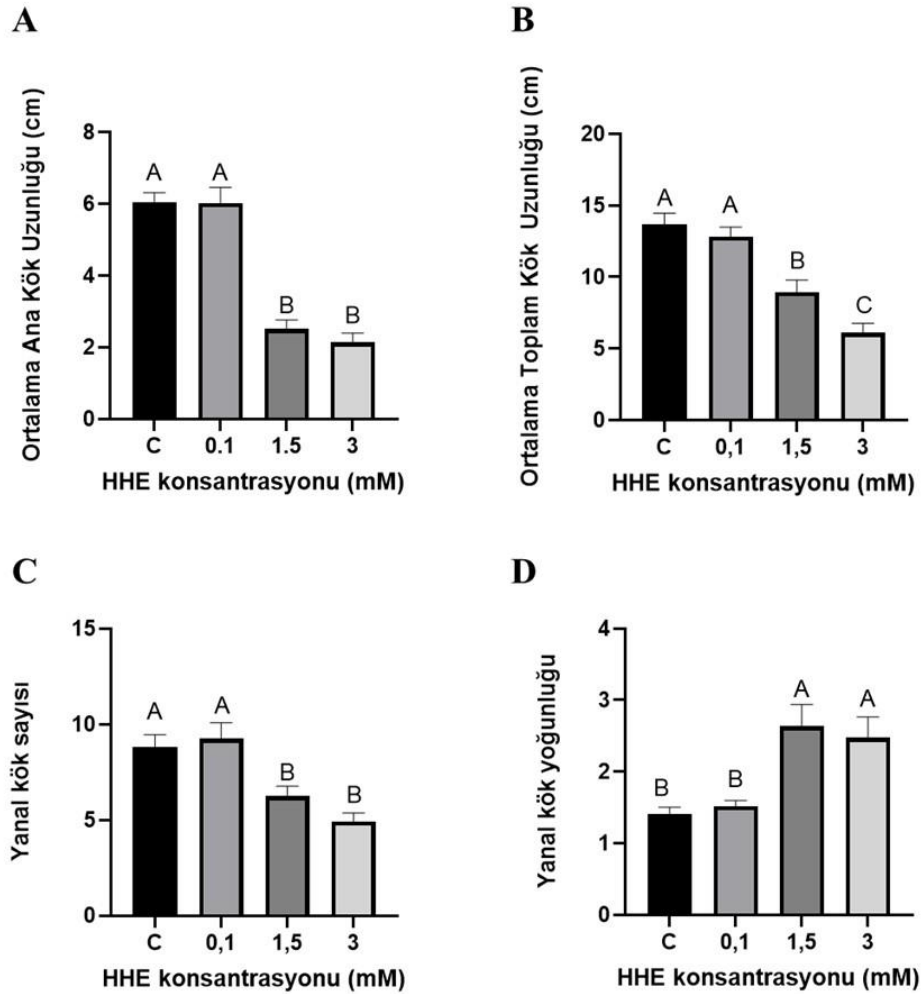
Bu sonuçlar, özellikle 1.5 mM ve 3 mM HHE uygulamasının ortalama ana kök uzunluğuna negatif bir etkisi olduğunu göstermektedir. Ortalama ana kök uzunluğunda kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM HHE uygulanmış örneklerde bir değişiklik gözlenmezken; 1.5 mM HNE uygulanmış örneklerde %57.9 ve 3 mM HHE uygulanmış örneklerde %63.2 azalma görülmüştür. Şekil 4.17A'dan görüleceği üzere hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile; 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler ise kontrol örnekleri hariç tüm örnekler ile; 1.5 mM HHE uygulanmış örnekler 3 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örneklerle; 3 mM HHE uygulanmış örnekler ise 1.5 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).

Ortalama toplam kök uzunluğuna bakıldığında kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM HHE uygulanmış örneklerde %5.5; 1.5 mM HHE uygulanmış örneklerde %36.0 ve 3 mM HHE uygulanmış örneklerde %57.0 azalma görülmüştür. Şekil 4.17B'de gösterildiği gibi hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile; 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler ise kontrol örnekleri hariç tüm örnekler ile; 1.5 mM ve 3 mM HHE uygulanmış örnekler hem kalan tüm örnekler ile hem de birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).

Ortalama yanal kök sayısı açısından hiçbir uygulama yapılmamış kontrol gruplarına kıyasla 0.1 mM HHE uygulanmış örneklerde bir değişiklik gözlenmezken; 1.5 mM HHE uygulanmış örneklerde %24.4 ve 3 mM HHE uygulanmış örneklerde %44.1 azalma görülmüştür. Şekil 4.17C'de görüleceği üzere hiçbir uygulama yapılmayan kontrol örnekleri 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile; 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler ise kontrol örnekleri hariç tüm örnekler ile; 1.5 mM HHE uygulanmış örnekler 3 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örneklerle; 3 mM HHE uygulanmış örnekler ise 1.5 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).

Ortalama yanal kök yoğunluğu açısından bakıldığında kontrol örneklerine kıyasla 0.1 mM HHE uygulanmış örneklerde 1.1 kat; 1.5 mM HHE uygulanmış

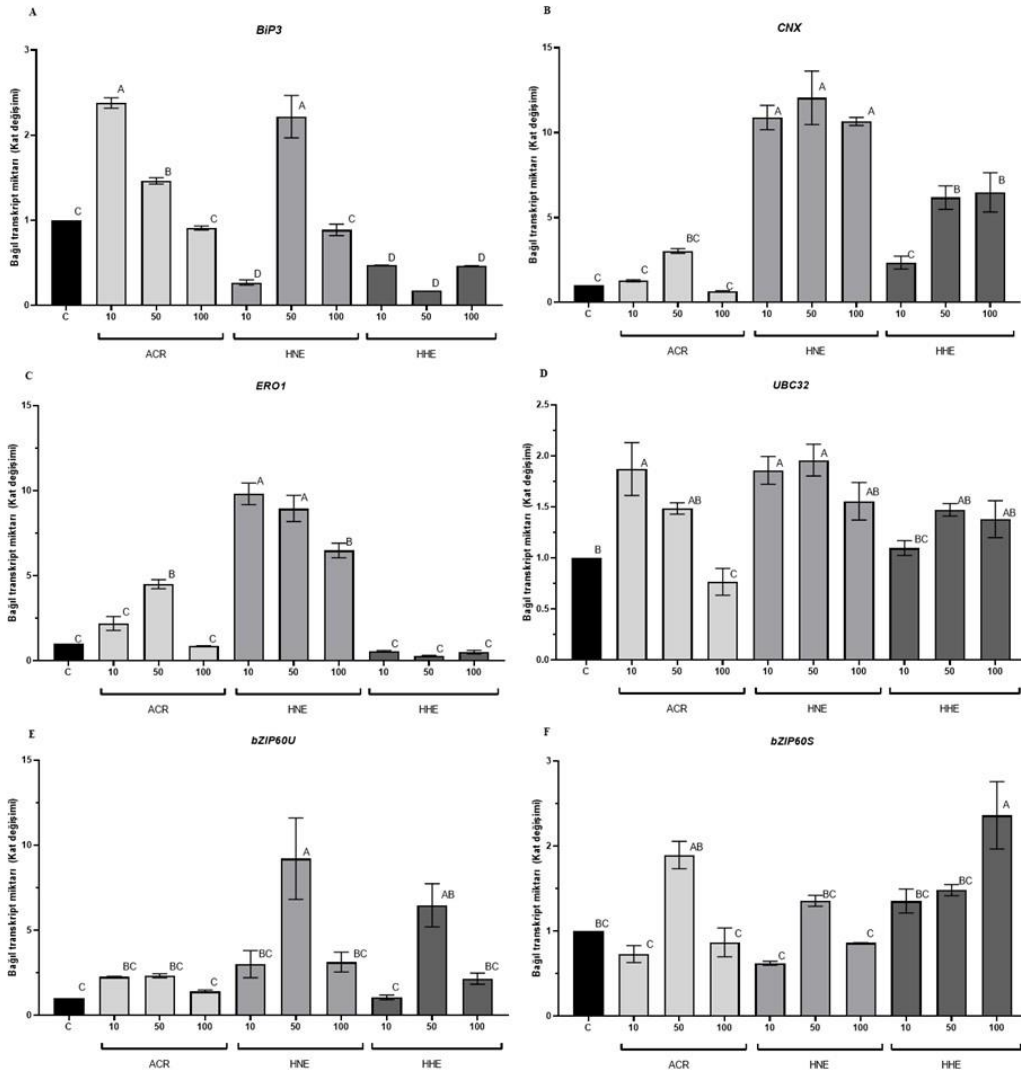
örneklerde 2.0 kat ve 3mM HHE uygulanmış 1.7 kat artış görülmüştür. Şekil 4.17D’de gösterildiği üzere yanal kök yoğunluğunda kontrol örnekleri 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile; 0.1 mM HHE uygulanmış örnekler ise kontrol örnekleri hariç tüm örnekler ile; 1.5 mM HHE uygulanmış örnekler 3 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örneklerle; 3 mM HHE uygulanmış örnekler ise 1.5 mM HHE uygulanmış örnekler hariç tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.17 Ekzojen 4-hidroksi-2-heksenal (HHE) uygulaması sonrası taramalardan elde edilen görüntülerin Image J yazılımı ile analiz edilmesi sonucu elde edilen kök fenotipi analizlerini gösteren grafik Ana kök uzunluğu (A), toplam kök uzunluğu (B), yanal kök sayısı (C) ve yanal kök yoğunluğunu (D) gösteren grafikler (ortalama±SEM) (n=14)

4.2.4 Ekzojen RCS uygulamalarının UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadelerine etkisi

qRT-PCR analizleri ile UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadelerinin ölçülmesi için hasat edilen örneklerden toplam RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yöntem kısmında belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri qRT-PCR reaksiyonu için kalıp DNA olarak Tablo 3.1’de belirtilen ileri ve geri primerler ile yöntem kısmında belirtilen koşullarda kullanılmış ve seçilen UPR ile ilişkili genlerin ifadeleri ölçülmüştür (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 Ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS uygulanmış ve uygulanmamış örneklerden *BiP3* (A), *CNX* (B), *ERO1* (C), *UBC32* (D) *bZIP60U* (E) ve *bZIP60S* (F) genlerinin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Ekzojen RCS uygulamalarında farklı konsantrasyonlarda (10; 50 ve 100 µM) akrolein (ACR), 4-hidroksi-2-heksenal (HNE) ve 4-hidroksi-2-

nonenal (HNE) kullanılmıştır. Kontrol grubu C olarak belirtilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama $\pm$ SEM olarak göstermektedir (n=3).

Bu çalışmada büyüme üzerindeki etkilerinin yanı sıra ekzojen RCS indüksiyonunun UPR ile ilişkili genler (*BiP3*, *CNX*, *ERO1*, *bZIP60U*, *bZIP60S* ve *UBC32*) üzerindeki etkileri de araştırılmıştır.

BiP3 ifadesinde, 10 μ M ACR ve 50 μ M ACR indüksiyonu sırasıyla 2.4 ve 1.5 kat ifade artışına neden olurken, 100 μ M ACR indüksiyonu %9.2 ifade azalışına neden olmuştur. 10 μ M ve 100 μ M HNE indüksiyonu sırasıyla %73.1 ve %11.3 oranında ifade azalışına neden olurken, 50 μ M HNE indüksiyonu 2.2 kat ifade artışına neden olmuştur. HNE indüksiyonu tüm konsantrasyonlarda *BiP3* ifadesinin azalmasına neden olmuştur. *BiP3* ifadesinde 10 μ M HNE indüksiyonu için %52.6; 50 μ M HNE indüksiyonu için %82.2 ve 100 μ M mM HNE indüksiyonu için %53.3 azalma gözlenmiştir. *BiP3* ekspresyonu için yapılan istatistiksel analizler kontrol grubu, 100 μ M ACR ve 100 μ M HNE uygulanan grupların kendi içlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği ($p>0.05$), fakat diğer tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiğini ortaya koymuştur ($p<0.05$). Benzer şekilde *BiP3* ifadesinde 100 μ M ACR ve 50 μ M HNE indüksiyonu birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermezken ($p>0.05$), diğer tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). 50 μ M ACR uygulanan grup tüm örnekler ile bağıl *BiP3* transkript bolluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir ($p<0.05$). 10 μ M HNE ve HNE indüksiyonu yapılan tüm konsantrasyonlar kendi içlerinde bağıl *BiP3* transkript bolluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermezken ($p>0.05$), diğer tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı fark göstermişlerdir ($p<0.05$) (Şekil 4.18A).

CNX ifadesinde ise en yüksek ACR konsantrasyonu (100 μ M) dışında, test edilen tüm RCS'lerin tüm konsantrasyonları, *CNX* ifadesinin artışına neden olmuştur. Bahsi geçen artışlar kontrol grubuna kıyasla 10 μ M ACR uygulaması için 1.3 kat, 50 μ M ACR uygulaması için 3.0 kat, 10 μ M HNE uygulaması için 10.9 kat, 50 μ M HNE uygulaması için 12.0 kat, 100 μ M HNE uygulaması için 10.7 kat, 10 μ M HNE uygulaması için 2.3 kat, 50 μ M HNE uygulaması için 6.2 kat ve 100 μ M HNE uygulaması için 6.5 kat olarak bulunmuştur. 100 μ M ACR ile indüklenen örneklerde bağıl *CNX* transkript bolluğunda %33.2 azalma gözlenmiştir. *CNX*

ekspresyonu için yapılan istatistiksel analizler kontrol grubu, 10 μ M ACR, 100 μ M ACR ve 10 μ M HHE indüksiyonu yapılan grupların HNE indüksiyonu için kullanılan tüm konsantrasyonlar ve HHE indüksiyonu için 10 μ M hariç tüm konsantrasyonlar ile istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir ($p<0.05$). 50 μ M ACR, 50 μ M HHE ve 100 μ M HHE uygulanan gruplar bağıl *CNX* transkript bolluğu açısından sadece HNE uygulanan tüm örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). HNE uygulanan tüm konsantrasyonlardaki gruplar birbirleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermezken ($p>0.05$), diğer tüm uygulama gruplarının tüm konsantrasyonları ile istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir ($p<0.05$). ACR indüksiyonunda kullanılan farklı konsantrasyonlar birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). HHE uygulanan gruplarda sadece 10 μ M HHE uygulanan grubun diğer HHE uygulama konsantrasyonları ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiğini ortaya koymuştur ($p<0.05$) (Şekil 4.18B).

ERO1 ekspresyonu, en yüksek ACR konsantrasyon (100 μ M) hariç tüm test edilen ACR konsantrasyonlarda artış göstermiştir. Bahsi geçen artışlar kontrol grubuna kıyasla 10 μ M ACR uygulaması için 2.2 kat, 50 μ M ACR uygulaması için 4.5 kat olarak bulunmuştur. 100 μ M ACR uygulaması için kontrol grubuna kıyasla %12.6 azalış gözlemlenmiştir. *ERO1* ekspresyonu tüm HNE uygulamalarında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. 10 μ M HNE uygulaması için 9.8 kat, 50 μ M HNE uygulaması için 8.9 kat, 100 μ M HNE uygulaması için 6.5 kat artış gözlemlenmiştir. Tam tersi şekilde tüm HHE uygulamaları *ERO1* ekspresyonunda azalmaya sebep olmuştur. 10 μ M HHE uygulaması için %43.8, 50 μ M HHE uygulaması için %69.7 ve 100 μ M HHE uygulaması için %48.4 azalma gözlemlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler *ERO1* ekspresyonunda 10 μ M ACR, 100 μ M ACR ve tüm konsantrasyonlardaki HHE ile indüklenen grupların ve kontrol grubunun sadece 50 μ M ACR ile indüklenen ve HNE indüksiyonu için kullanılan tüm konsantrasyonlardaki gruplar ile; 50 μ M ACR ve 100 μ M HNE ile indüklenen grupların birbirleri hariç tüm gruplar ile; 10 μ M HNE ve 50 μ M HNE ile indüklenen grupların birbirleri hariç tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). HHE indüksiyonu için kullanılan konsantrasyonlar karşılaştırıldığında *ERO1* ekspresyonunda anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.18C).

Sonuçlar, bağıl *UBC32* transkript bolluğunda 100 μM ACR indüksiyonu dışında test edilen tüm ACR, HNE ve HHE konsantrasyonlarının artışa (10 μM ACR için 1.9 kat, 50 μM ACR için 1.5 kat, 10 μM HNE için 1.9 kat, 50 μM HNE için 2.0 kat, 100 μM HNE için 1.6 kat, 10 μM HHE için 1.1 kat, 50 μM HHE için 1.5 kat, 100 μM HHE için 1.4 kat) neden olduğunu göstermiştir. 100 μM ACR indüksiyonu bağıl *UBC32* transkript bolluğunda %23.4 azalmaya sebep olmuştur. İstatistiksel analizler, kontrol grubunun yalnızca 10 μM ve 100 μM ACR, 10 μM ve 50 μM HNE indüksiyonu yapılan gruplarla; 10 μM ACR, 10 μM HNE ve 50 μM HNE indüksiyonu yapılan grupların yalnızca 100 μM ACR, ve 10 μM HHE indüksiyonu yapılan gruplar ve kontrol grubuyla; 50 μM ACR, 100 μM HNE, 50 μM HHE ve 100 μM HHE indüksiyonu yapılan grupların yalnızca 100 μM ACR indüksiyonu yapılan gruba; 100 μM ACR indüksiyonu yapılan grubun yalnızca 10 μM HHE indüksiyonu yapılan grup hariç tüm gruplarla; 10 μM HHE indüksiyonu yapılan grubun yalnızca 10 μM ACR, 10 μM ve 50 μM HNE indüksiyonu yapılan gruplarla; istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p < 0.05$) (Şekil 4.18D).

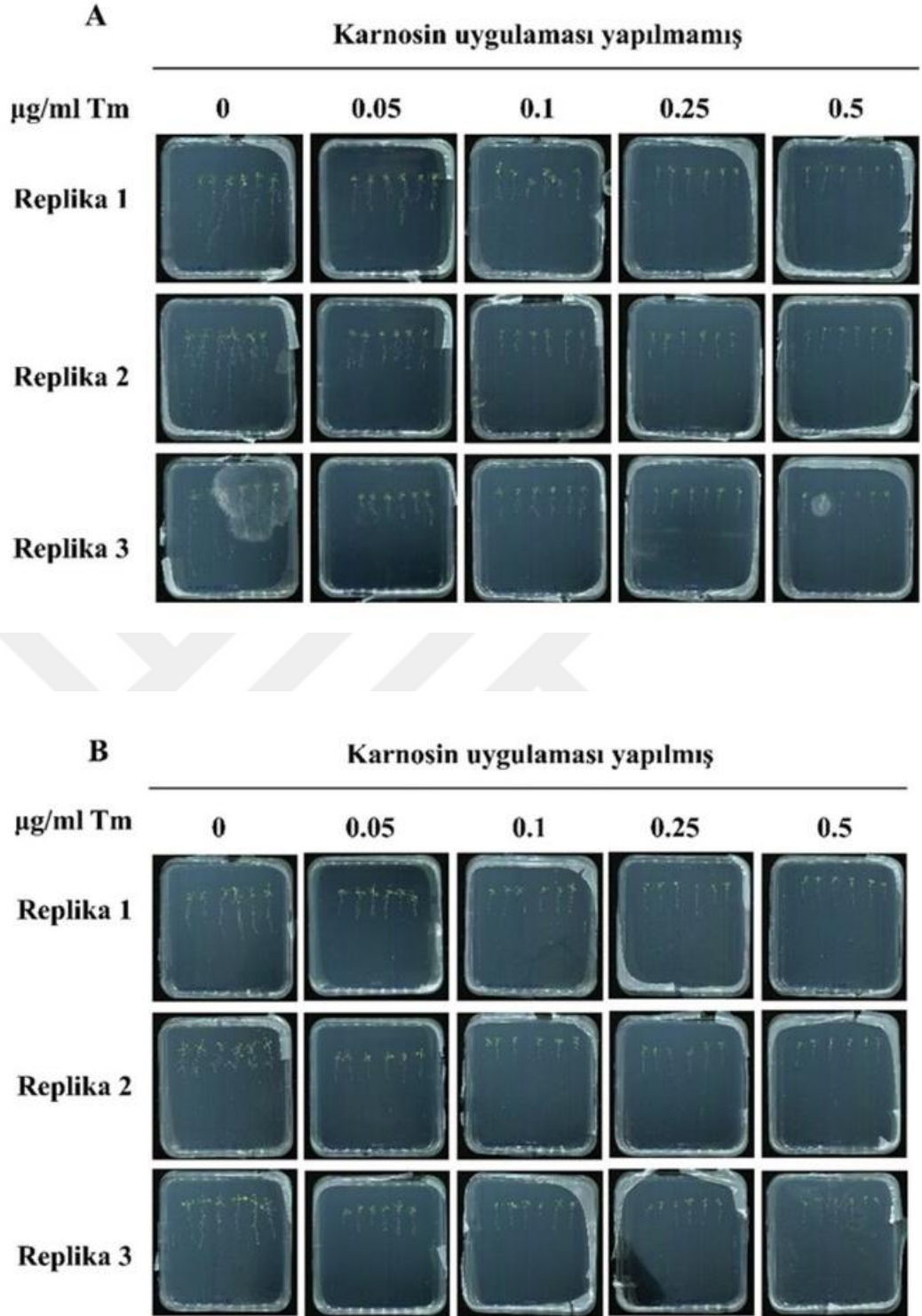
Test edilen tüm RCS'lerin tüm konsantrasyonları, *bZIP60U* ifadesinin artışına neden olmuştur. Bağıl *bZIP60U* transkript bolluğu 10 μM ve 50 μM ACR indüksiyonu ile 2.3 kat, 100 μM ACR indüksiyonu ile 1.4 kat, 10 μM HNE indüksiyonu ile 3.0 kat, 50 μM HNE indüksiyonu ile 9.2 kat, 100 μM HNE indüksiyonu ile 3.1 kat, 10 μM HHE indüksiyonu ile 1.1 kat, 50 μM HNE indüksiyonu ile 6.5 kat, 100 μM HNE indüksiyonu ile 2.2 kat artmıştır. Yapılan istatistiksel analizler 100 μM ACR indüksiyonu yapılan grubun, 10 μM HHE indüksiyonu yapılan grubun ve kontrol grubunun yalnızca 50 μM HNE ve 50 μM HHE ile indüklenen gruplarla; 10 μM ve 50 μM ACR indüksiyonu, 10 μM ve 100 μM HNE indüksiyonu ve 100 μM HHE indüksiyonu yapılan grupların yalnızca 50 μM HNE indüksiyonu yapılan gruba; 50 μM HNE indüksiyonu yapılan grubun 50 μM HHE indüksiyonu yapılan grup hariç tüm gruplarla; 50 μM HHE indüksiyonu yapılan grubun kontrol grubu, 100 μM ACR ve 10 μM HHE indüksiyonu yapılan gruplarla; 100 μM HHE indüksiyonu yapılan grubun yalnızca 50 μM HNE indüksiyonu yapılan gruba istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiğini ortaya koymuştur ($p < 0.05$) (Şekil 4.18E).

bZIP60S ekspresyonunda ACR'nin 50 μM dışındaki tüm konsantrasyonlarının düşüşe (10 μM ACR için %27.0, 100 μM ACR için %13.2) neden olduğu gözlenmiştir. 50 μM ACR ile indüksiyon, bağıl *bZIP60S* transkript bolluğunda 1.9 kat artışa neden olmuştur. 50 μM HNE indüksiyonu, bağıl *bZIP60S* transkript bolluğunda 1.4 kat artışa neden olurken, 10 μM ve 100 μM HNE indüksiyonları, bağıl *bZIP60S* transkript bolluğunda sırasıyla %37.9 ve %13.7 azalmaya neden olmuştur. Uygulanan tüm HNE konsantrasyonları, bağıl *bZIP60S* transkript bolluğunda artışa (10 μM HNE için 1.4 kat, 50 μM HNE için 1.5 kat ve 100 μM HNE için 2.4 kat) neden olmuştur. Bağıl *bZIP60S* transkript bolluğu sonuçlarının istatistiksel analizleri kontrol grubu ve 50 μM HNE, 10 μM HNE ve 50 μM HNE ile indüklenen grupların yalnızca 100 μM HNE ile indüklenen grupla; 10 μM ACR, 100 μM ACR, 10 μM HNE ve 100 μM HNE indüklenen grupların yalnızca 50 μM ACR ve 100 μM HNE ile indüklenen gruplarla; 50 μM ACR ile indüklenen grubun 10 μM ACR, 100 μM ACR, 10 μM HNE ve 100 μM HNE ile indüklenen gruplarla; 100 μM HNE ile indüklenen grubun 50 μM ACR ile indüklenen grup hariç tüm gruplarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermektedir ($p < 0.05$) (Şekil 4.18F).

4.3 RCS Süpürücü Uygulamasının UPR Yolağı ile İlişkisi

4.3.1 RCS süpürücü uygulamasının fizyolojik etkileri

Bitkiler üç replika olacak şekilde yöntem kısmında belirtildiği gibi büyütülmüştür. Büyüme tamamlandıktan sonra görüntüler alınmıştır (Şekil 4.19). Görüntüler alındıktan sonra bitkiler hasat edilmiştir ve yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Elde edilen görüntüler Image J yazılımı ile analiz edilerek ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yan kök sayısı ve yan kök yoğunluğunun hesaplanmıştır.



Şekil 4.19 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri

Şekil 4.19’da görüldüğü üzere bitkiler üçer replika şeklinde başarıyla büyütülmüş ve uygulamalar başarıyla yapılmıştır. Kontrol grubu ile

kıyaslandığında RCS süpürücü uygulamasının ER stresinin neden olduğu olumsuz etkileri fizyolojik olarak azalttığı gözlemlenmiştir.

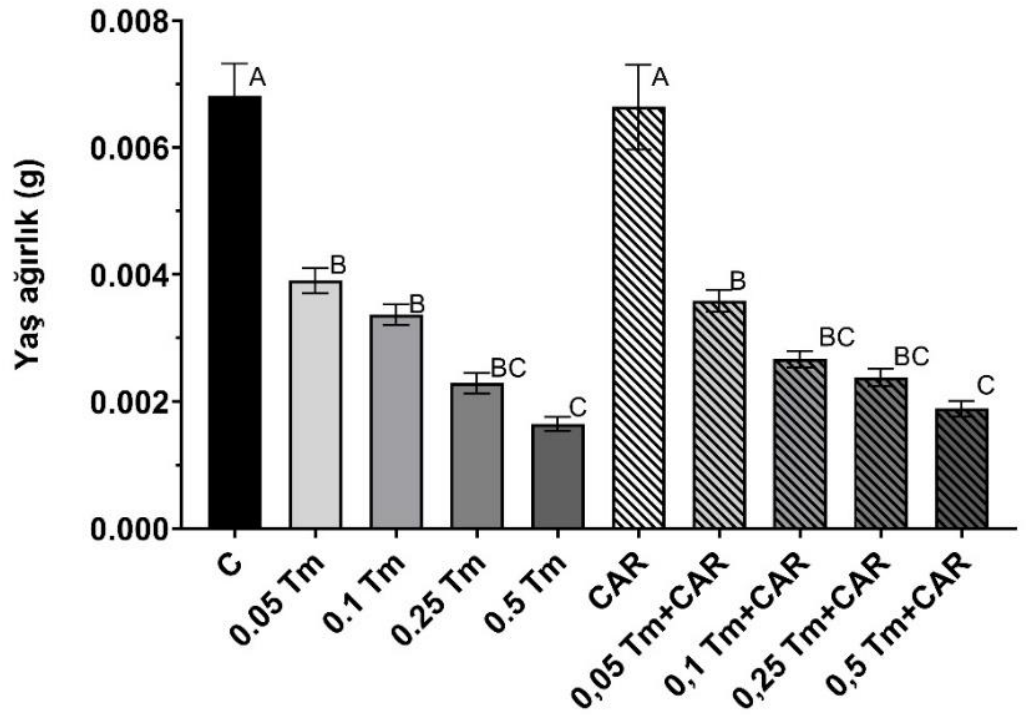
Hasat günü bitkilerin yaş ağırlıkları alınmıştır. Tablo 4.12'den görüleceği üzere Tm uygulaması hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yaş ağırlıkta Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde 0.05 µg/ml Tm uygulaması %38.0; 0.1 µg/ml Tm uygulaması %46.2; 0.25 µg/ml Tm uygulaması %63.0; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %75.8 azalmaya neden olmuştur. Yine kontrol grubuna kıyasla karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde sadece karnozin uygulaması yaş ağırlıkta bir değişime sebep olmazken; karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması %42.6; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması %58.0; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %62.2; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %69.6 azalmaya sebep olmuştur.

Tablo 4.12 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren tablo (ortalama±SEM)(n=14)

	Kontrol	0.05 Tm	0.1 Tm	0.25 Tm	0.5 Tm
Karnozin uygulanmamış	0.0068± 0.000499	0.0039± 0.000193	0.0034± 0.000156	0.0023± 0.000154	0.0016± 0.000102
Karnozin uygulanmış (+CAR)	0.0066± 0.000644	0.0036± 0.000167	0.0027± 0.000126	0.0024± 0.000129	0.0019± 0.000118

Şekil 4.20'den görüleceği üzere uygulanan her Tm konsantrasyonu karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için istatistiksel olarak bir fark göstermemiştir ($p>0.05$). Deney grupları hiçbir uygulama yapılmamış kontrol grubuna göre kıyaslandığında sadece karnozin uygulaması yapılan grup hariç tüm gruplar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunun tüm uygulama grupları ile; 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml Tm uygulamalarının sadece kontrol ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması ile; 0.25 µg/ml Tm uygulamasının sadece kontrol grubu ile; 0.5 µg/ml Tm uygulamasının ise 0.25 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Hem istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Hem karnozin

hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubunun tüm uygulama grupları ile; karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulamasının sadece karnozin uygulanan grup ve karnozin ile 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılan grupla; karnozin ile 0.1 µg/ml ve 0.25 µg/ml Tm uygulamalarının sadece karnozin uygulaması yapılmış grup ve karnozin ile 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılmış grup ile; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulamasının sadece karnozin uygulanan grup ile karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.20 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan yaş ağırlıkların ortalamasını gösteren grafik (ortalama±SEM) (n=14) Kontrol grubu C ile, Karnozin uygulanan grup CAR ile gösterilmiştir.

Bitkilerin hasat günü alınan görüntüleri Image J programı ile analiz edilmiş ve ortalama ana kök uzunluğu, ortalama toplam kök uzunluğu, yanal kök sayısı ve yanal kök yoğunluğu kök fenotipi analizleri ile bulunmuştur (Tablo 4.13).

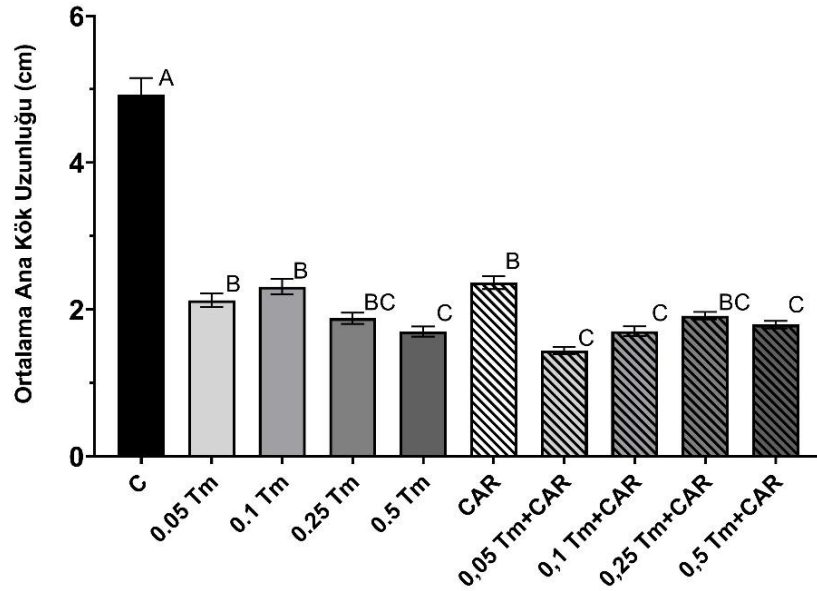
Tablo 4.13 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğu, toplam kök uzunluğu, yanal kök

sayısı ve yanal kök yoğunluğunu gösteren tablo (ortalama $\pm$ SEM)(n=14) Kontrol grubu C ile, Karnozin uygulanan grup CAR ile gösterilmiştir.

	Karnosin Uygulanmamış					Karnosin Uygulanmış (+CAR)				
	Kontrol	0.05 Tm	0.1 Tm	0.25 Tm	0.5 Tm	CAR	0.05 Tm +CAR	0.1 Tm +CAR	0.25 Tm +CAR	0.5 Tm +CAR
Ortalama ana kök uzunluğu (cm)	4.93 $\pm$ 0.2123	2.12 $\pm$ 0.0893	2.31 $\pm$ 0.1004	1.88 $\pm$ 0.00729	1.70 $\pm$ 0.0654	2.37 $\pm$ 0.0865	1.44 $\pm$ 0.0464	1.70 $\pm$ 0.0641	1.92 $\pm$ 0.0487	1.79 $\pm$ 0.0480
Ortalama toplam kök uzunluğu (cm)	9.35 $\pm$ 0.7869	5.44 $\pm$ 0.2380	5.54 $\pm$ 0.2020	3.03 $\pm$ 0.1661	1.92 $\pm$ 0.1250	4.20 $\pm$ 0.2710	2.60 $\pm$ 0.1993	2.43 $\pm$ 0.01020	2.45 $\pm$ 0.0762	2.05 $\pm$ 0.0805
Ortalama yanal kök sayısı	9.58 $\pm$ 0.8776	8.50 $\pm$ 0.5833	7.50 $\pm$ 0.4330	4.83 $\pm$ 0.4539	1.73 $\pm$ 0.4084	4.75 $\pm$ 0.3560	4.42 $\pm$ 0.4481	4.67 $\pm$ 0.4139	3.67 $\pm$ 0.2722	2.50 $\pm$ 0.4330
Ortalama yanal kök yoğunluğu	1.90 $\pm$ 0.1202	4.00 $\pm$ 0.2784	3.36 $\pm$ 0.2288	2.55 $\pm$ 0.2377	1.31 $\pm$ 0.2378	2.05 $\pm$ 0.1100	3.12 $\pm$ 0.2671	2.79 $\pm$ 0.2336	1.91 $\pm$ 0.1465	1.48 $\pm$ 0.2183

Hem Tablo 4.13'ten hem de Şekil 4.21'den görüleceği üzere hem karnozin yokluğunda hem de varlığında yapılan Tm uygulamaları hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre ana kök uzunluğunda Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde ana kök uzunluğunda 0.05 μ g/ml Tm uygulaması %56.8; 0.1 μ g/ml Tm uygulaması %53.0; 0.25 μ g/ml Tm uygulaması %61.7; 0.5 μ g/ml Tm uygulaması %69.2 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde kontrol grubuna kıyasla sadece karnozin uygulaması %51.8; karnozin ve 0.05 μ g/ml Tm uygulaması %70.6; karnozin ve 0.1 μ g/ml Tm uygulaması %65.4; karnozin ve 0.25 μ g/ml Tm uygulaması %60.7; karnozin ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması %63.2 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde ana kök uzunluğunda sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin ve 0.05 μ g/ml Tm uygulaması %38.8; karnozin ve 0.1 μ g/ml Tm uygulaması %28.0; karnozin ve 0.25 μ g/ml Tm uygulaması %18.6; karnozin ve 0.5 μ g/ml Tm uygulaması %23.8 azalmaya sebep olmuştur.

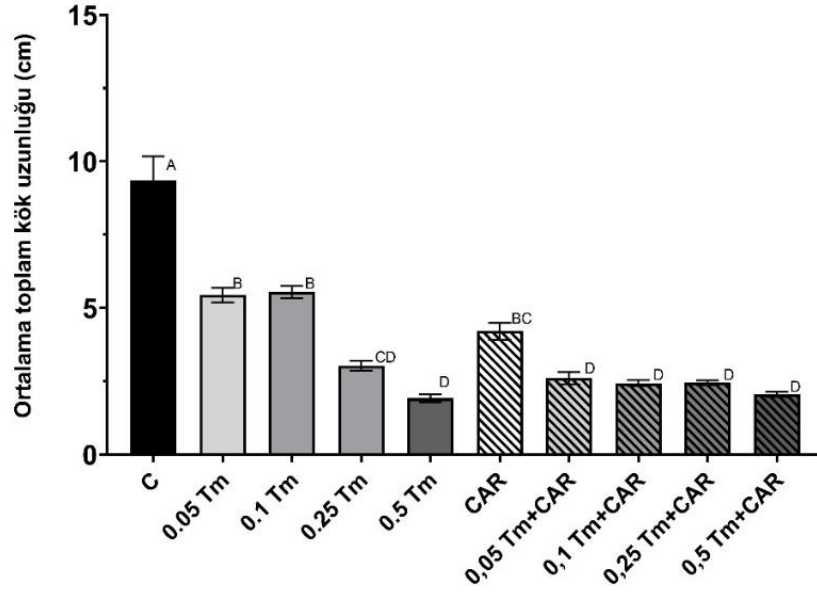
Şekil 4.21’den de görüleceği üzere ana kök uzunluğunda karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için 0.25 µg/ml Tm ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); Tm uygulaması yapılmamış gruplar; 0.05 µg/ml Tm ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan gruplar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$). Ana kök uzunluğu bakımından sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunun tüm uygulama grupları ile 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml Tm uygulamalarının sadece kontrol ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması ile; 0.25 µg/ml Tm uygulamasının sadece kontrol grubu ile; 0.5 µg/ml Tm uygulamasının ise 0.25 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Ana kök uzunluğu bakımından hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubunun karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm uygulamalarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği ($p<0.05$); karnozin ve Tm uygulanan gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği bulunmuştur ($p>0.05$).



Şekil 4.21 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen ana kök uzunluğunu gösteren grafik (ortalama±SEM)(n=14) Kontrol grubu C ile, Karnozin uygulanan grup CAR ile gösterilmiştir.

Hem Tablo 4.13'ten hem de Şekil 4.22'den görüleceği üzere hem karnozin yokluğunda hem de varlığında yapılan Tm uygulamaları hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre toplam kök uzunluğunda Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde toplam kök uzunluğunda 0.05 µg/ml Tm uygulaması %38.1; 0.1 µg/ml Tm uygulaması %36.5; 0.25 µg/ml Tm uygulaması %65.8; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %78.8 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde kontrol grubuna kıyasla sadece karnozin uygulaması %52.9; karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması %71.3; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması %72.4; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %71.7; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %76.3 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde toplam kök uzunluğunda sadece karnozin uygulanmış örneklerle kıyasla karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması %38.5; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması %41.3; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %40.3; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %50.2 azalmaya sebep olmuştur.

Şekil 4.22'den de görüleceği üzere toplam kök uzunluğunda karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için 0.25 µg/ml Tm ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); Tm uygulaması yapılmamış gruplar; 0.05 µg/ml Tm ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan gruplar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$). Toplam kök uzunluğu bakımından sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunun tüm uygulama grupları ile; 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml Tm uygulamalarının kontrol, 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml Tm uygulamaları ile; 0.25 µg/ml Tm uygulamasının 0.5 µg/ml uygulaması hariç tüm gruplar ile; 0.5 µg/ml Tm uygulamasının 0.25 µg/ml uygulaması hariç tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Toplam kök uzunluğu bakımından hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubunun diğer tüm uygulamalarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği ($p<0.05$); karnozin ve Tm uygulanan gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği bulunmuştur ($p>0.05$).

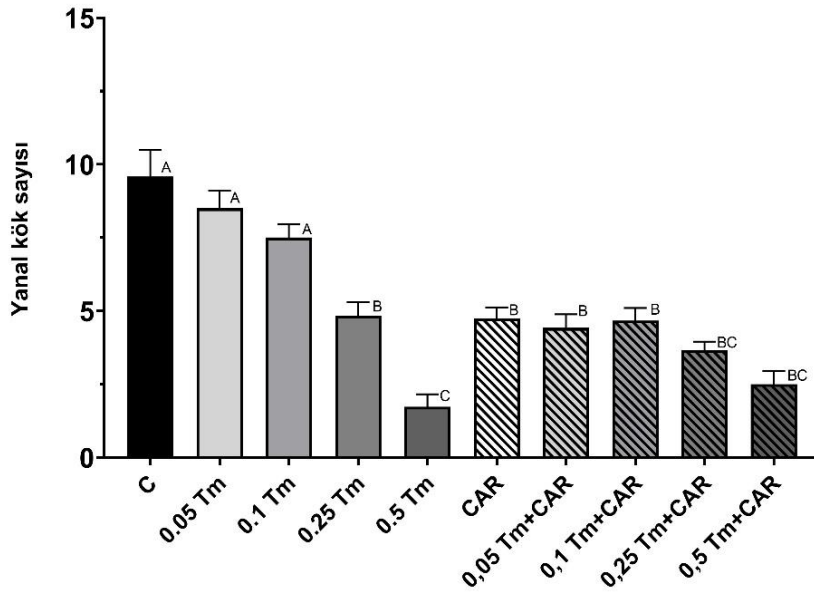


Şekil 4.22 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen toplam kök uzunluğunu gösteren grafik (ortalama±SEM)(n=14) Kontrol grubu C ile, Karnozin uygulanan grup CAR ile gösterilmiştir.

Hem Tablo 4.13'ten hem de Şekil 4.23'ten görüleceği üzere hem karnozin yokluğunda hem de varlığında yapılan Tm uygulamaları hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yanal kök sayısında Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde yanal kök sayısında 0.05 µg/ml Tm uygulaması %6.3; 0.1 µg/ml Tm uygulaması %16.4; 0.25 µg/ml Tm uygulaması %48.7; 0.5 µg/ml Tm uygulaması %86.4 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde kontrol grubuna kıyasla sadece karnozin uygulaması %48.1; karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması %52.3; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması %49.5; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %60.4; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %76.7 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde yanal kök sayısında sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması %8.1; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması %2.3; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %22.4; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %52.1 azalmaya sebep olmuştur.

Şekil 4.23'ten de görüleceği üzere yanal kök sayısında karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için 0.25 µg/ml Tm ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması istatistiksel

olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); Tm uygulaması yapılmamış gruplar; 0.05 $\mu\text{g/ml}$ Tm ve 0.1 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması yapılan gruplar istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$). Yanal kök sayısı bakımından sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubu, 0.05 $\mu\text{g/ml}$ ve 0.1 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamalarının sadece 0.25 $\mu\text{g/ml}$ ve 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamaları ile; 0.25 $\mu\text{g/ml}$ ve 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulamalarının ise tüm uygulama grupları ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Yanal kök sayısı bakımından hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

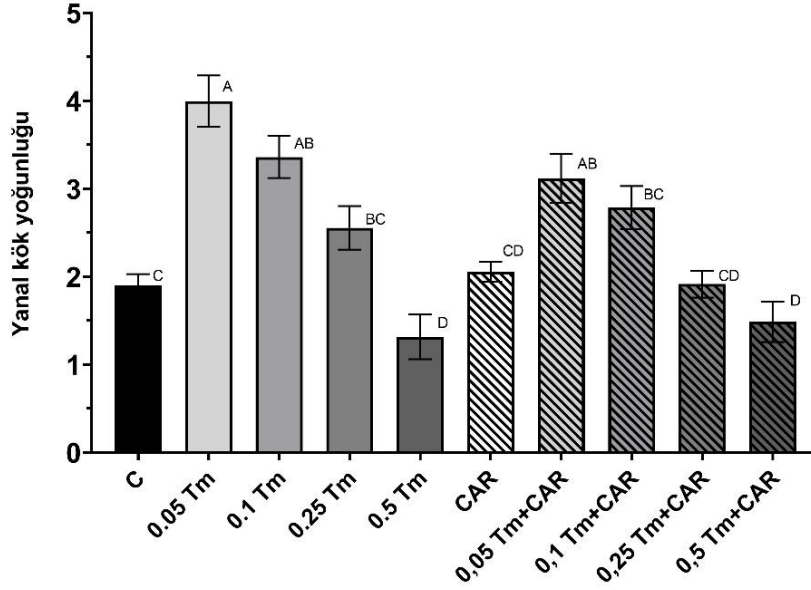


Şekil 4.23 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen yanıl kök sayısını gösteren grafik (ortalama $\pm$ SEM)(n=14) Kontrol grubu C ile, Karnozin uygulanan grup CAR ile gösterilmiştir.

Hem Tablo 4.13'ten hem de Şekil 4.24'ten görüleceği üzere hem karnozin yokluğunda hem de varlığında yapılan Tm uygulamaları hiç uygulama yapılmayan kontrol örneklerine göre yanıl kök yoğunluğunda 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması hariç Tm konsantrasyonuna bağlı bir şekilde artışa neden olmuştur. 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması karnozin varlığında da yokluğunda da yanıl kök yoğunluğunda azalışa sebep olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece Tm uygulaması yapılan örneklerde yanıl kök yoğunluğunda 0.05 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması 2.1 kat; 0.1 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması 1.8 kat; 0.25 $\mu\text{g/ml}$ Tm uygulaması %1.3 kat artışa sebep olmuştur.

Karnozin ve Tm uygulaması yapılan örneklerde kontrol grubuna kıyasla; sadece karnozin uygulaması 1.1 kat; karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması 1.6 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması 1.5 kat artışa sebep olmuştur. Kontrol grubuna kıyasla sadece 0.5 µg/ml Tm uygulaması %60.9; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %34.6 azalmaya sebep olmuştur. Karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması kontrol örneklerine kıyasla yanıl kök yoğunluğunda bir değışime sebep olmamıştır. Karnozin uygulanan grup kendi içinde değeriendirildiğinde yanıl kök yoğunluğunda sadece karnozin uygulanmış örneklere kıyasla karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması 1.5 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması 1.3 kat artışa sebep olurken; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması %8.1; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması %38.3 azalmaya sebep olmuştur.

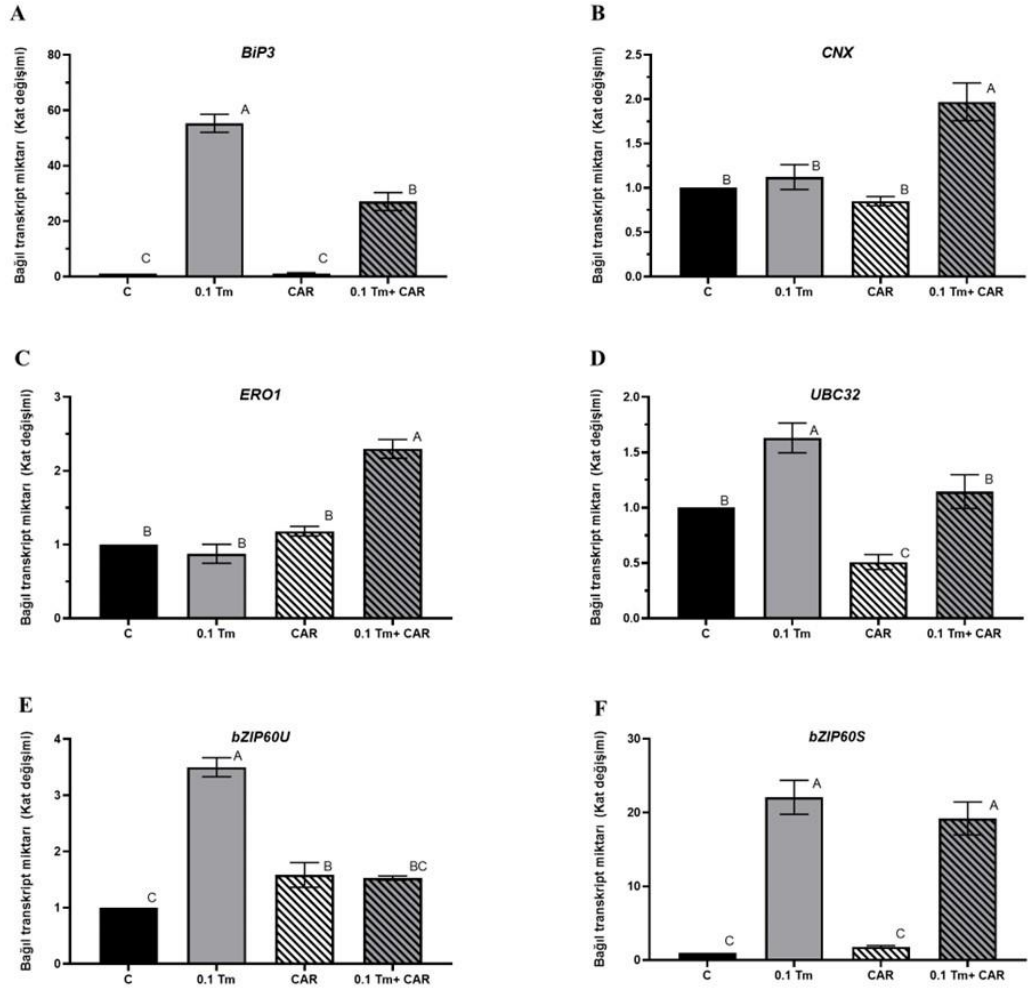
Şekil 4.24'ten de görüleceğı üzere yanıl kök yoğunluğunda karnozinin varlığı ya da yokluğu durumları için Tm uygulamaları istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemişlerdir ($p>0.05$). Yanıl kök yoğunluğu bakımından sadece Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunun 0.25 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm gruplarla; 0.05 µg/ml Tm uygulaması yapılan grubun 0.1 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm gruplarla; 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan grubun sadece kontrol grubu ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılan gruplarla; 0.25 µg/ml Tm uygulaması yapılan grubun sadece kontrol grubu ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması yapılan gruplarla; ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılan grupların tüm gruplarla istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Yanıl kök yoğunluğu bakımından hem karnozin hem de Tm uygulaması yapılan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece karnozin uygulanan grubun yalnızca karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması yapılan grup ile; karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması yapılan grubun karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması hariç tüm gruplarla; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan grubun yalnızca karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılan grup ile; karnozin ve 0.25 µg/ml Tm uygulaması yapılan grubun yalnızca karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması yapılan grup ile; karnozin ve 0.5 µg/ml Tm uygulaması yapılan grubun karnozin ve 0.05 µg/ml Tm uygulaması ve karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.24 RCS süpürücü uygulaması ile kök fenotipi ve UPR ile ilgili genlerin ifadelerinin ilişkisinin incelenmesi amacıyla büyütülen bitkilerin hasat günü alınan görüntülerinden elde edilen yanıl kök yoğunluğunu gösteren grafik (ortalama±SEM)(n=14) Kontrol grubu C ile, Karnozin uygulanan grup CAR ile gösterilmiştir.

4.3.2 RCS süpürücü uygulamasının UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadelerine etkisi

qRT-PCR analizleri ile UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadelerinin ölçülmesi için hasat edilen örneklerden toplam RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yöntem kısmında belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri qRT-PCR reaksiyonu için kalıp DNA olarak Tablo 3.1’de belirtilen ileri ve geri primerler ile yöntem kısmında belirtilen koşullarda kullanılmış ve seçilen UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadeleri ölçülmüştür (Şekil 4.25).



Şekil 4.25 RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri. RCS süpürücüsü uygulanmış ve uygulanmamış 0,1 µg/ml Tm kaynaklı ER stresi uygulanan örneklerde *BiP3* (A), *CNX* (B), *ERO1* (C), *UBC32* (D) *bZIP60U* (E) ve *bZIP60S* (F) genlerinin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir (n=3). Kontrol grubu C olarak gösterilmiş olup sadece karnozin uygulanan örnekler CAR olarak kısaltılmıştır.

Bu çalışmada büyüme üzerindeki etkilerinin yanı sıra ekzojen RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilişkili genler (*BiP3*, *CNX*, *ERO1*, *bZIP60U*, *bZIP60S* ve *UBC32*) üzerindeki etkileri de araştırılmıştır.

BIP3 ifadesinde sadece 0.1 µg/ml Tm uygulaması 55.3 kat; sadece karnozin uygulaması 1.1 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması ise 27.1 kat artışa sebep olmuştur. Kontrol grubu ile sadece karnozin uygulanan grup istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermezken ($p>0.05$); diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.25A).

CNX ifadesinde sadece 0.1 µg/ml Tm uygulaması 1.1 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması ise 2.0 kat artışa; sadece karnozin uygulaması ise %15.0 azalışa sebep olmuştur. Karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan grup diğer tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterirken ($p<0.05$); Karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması dışında kalan grupların kendi içlerinde yapılan diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.25B).

ERO1 ifadesinde sadece karnozin uygulaması 1.2 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması ise 2.3 kat artışa; sadece 0.1 µg/ml Tm uygulaması ise %12.4 azalışa sebep olmuştur. Karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan grup diğer tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterirken ($p<0.05$); Karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması dışında kalan grupların kendi içlerinde yapılan diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.25C).

UBC32 ifadesinde sadece 0.1 µg/ml Tm uygulaması 1.6 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması ise 1.1 kat artışa; sadece karnozin uygulaması ise %49.1 azalışa sebep olmuştur. Kontrol grubu ile yalnızca karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulanan grup istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermezken ($p>0.05$); diğer tüm karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.25D).

bZIP60U ifadesinde sadece 0.1 µg/ml Tm uygulaması 3.5 kat; sadece karnozin uygulaması 1.6 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması ise 1.5 kat artışa sebep olmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan grup hariç tüm uygulama grupları istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan grup kontrol grubu ve sadece karnozin uygulanan gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermezken ($p>0.05$); sadece 0.1 µg/ml Tm uygulanan grup ile yapılan karşılaştırma istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.25E).

bZIP60S ifadesinde sadece 0.1 µg/ml Tm uygulaması 22.1 kat; sadece karnozin uygulaması 1.8 kat; karnozin ve 0.1 µg/ml Tm uygulaması ise 19.2 kat artışa sebep olmuştur. Hem Tm uygulanmayan gruplar arasında hem de Tm uygulanan gruplar arasında karnozin varlığı ya da yokluğu durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$). Fakat hem karnozin varlığında hem de yokluğunda 0.1 µg/ml Tm uygulaması yapılan örnekler yapılmayanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0.05$). (Şekil 4.25F).

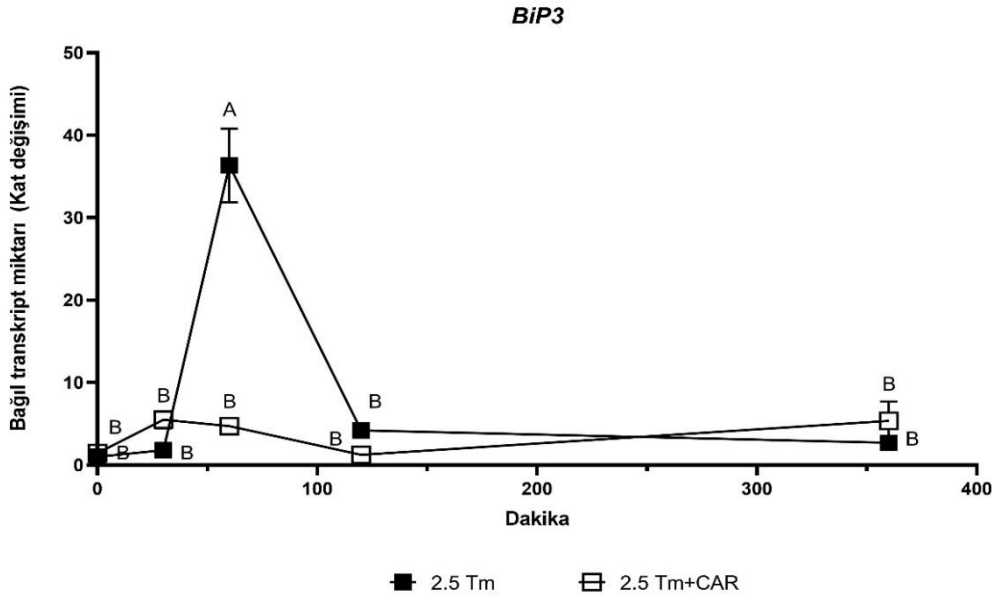
4.3.3 RCS süpürücü uygulamasının UPR yolağı ile ilişkili genler üzerindeki zamansal etkisi

qRT-PCR analizleri ile UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadelerinin ölçülmesi için hasat edilen örneklerden toplam RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yöntem kısmında belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri qRT-PCR reaksiyonu için kalıp DNA olarak Tablo 3.1’de belirtilen ileri ve geri primerler ile yöntem kısmında belirtilen koşullarda kullanılmış ve seçilen UPR yolağı ile ilişkili genlerin ifadeleri zamana bağlı olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada büyüme üzerindeki etkilerinin yanı sıra ekzojen RCS süpürücü uygulamasının UPR ile ilişkili genler (*BiP3*, *CNX*, *ERO1*, *bZIP60U*, *bZIP60S*, *UBC32*, *RBOHD* ve *RBOHF*) üzerindeki zamana bağlı etkileri de araştırılmıştır.

BiP3 ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 1.8 kat; 60 dakika örnekleri 36.4 kat; 120 dakika örnekleri 4.2 kat; 360 dakika örnekleri 2.7 kat artış göstermiştir (Şekil 4.26). Bu grupta maksimum *BiP3* ifadesi 60 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 1.5 kat; 30 dakika örnekleri 5.5 kat; 60 dakika örnekleri 4.7 kat; 120 dakika örnekleri 1.2 kat; 360 dakika örnekleri 5.4 kat artış göstermiştir. Bu grupta maksimum *BiP3* ifadesi 30 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan örnekler

zamana bağılı olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 3.8 kat; 60 dakika örnekleri 3.2 kat; 360 dakika örnekleri 3.7 kat artış; 120 dakika örnekleri %14.2 oranında azalış göstermişlerdir.

Yapılan istatistiksel analizler 60 dakika örnekleri dışında karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), yalnızca 60 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece 60 dakika örnekleri diğer tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.26).

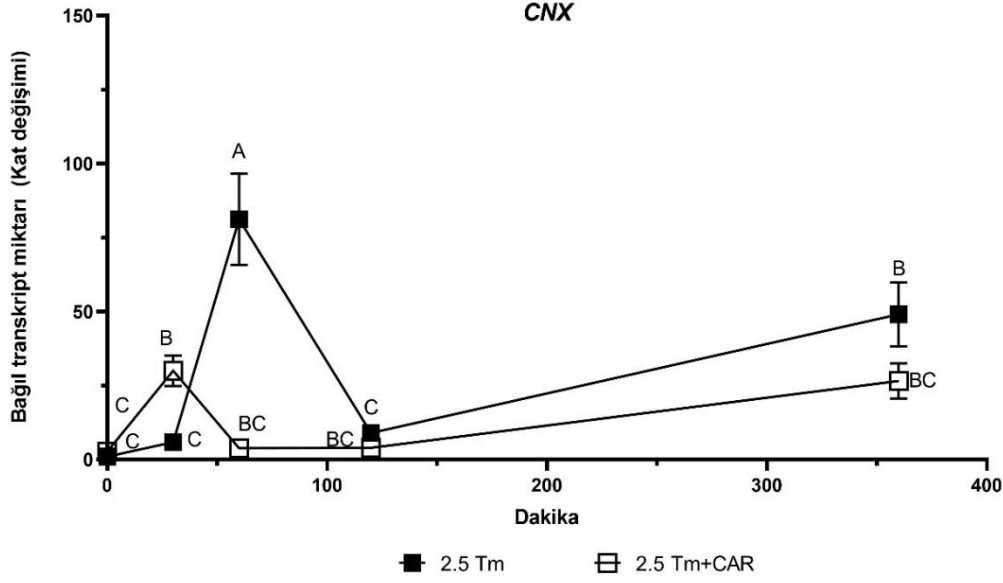


Şekil 4.26 RCS'nin UPR ile ilgili *BiP3* geni üzerinde zamana bağılı bir şekilde etkisi. 2,5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnosin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *BiP3* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir ($n=3$). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır.

CNX ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 5.9 kat; 60 dakika örnekleri 81.2 kat; 120 dakika

örnekleri 9.0 kat; 360 dakika örnekleri 49.1 kat artış göstermiştir (Şekil 4.27). Bu grupta maksimum *CNX* ifadesi 60 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 2.7 kat; 30 dakika örnekleri 30.0 kat; 60 dakika örnekleri 3.9 kat; 120 dakika örnekleri 4.0 kat; 360 dakika örnekleri 26.5 kat artış göstermiştir. Bu grupta maksimum *CNX* ifadesi 30 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan örnekler zamana bağlı olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 10.9 kat; 60 dakika ve 120 dakika örnekleri 1.4 kat; 360 dakika örnekleri 9.7 kat artış göstermişlerdir.

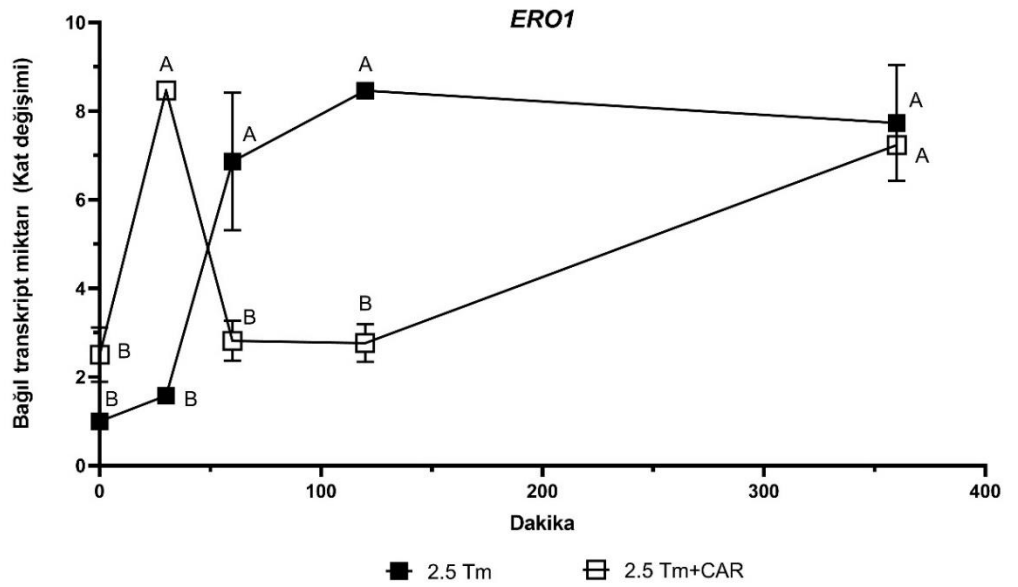
Yapılan istatistiksel analizler 60 dakika örnekleri dışında karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), yalnızca 60 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde 60 dakika ve 360 dakika örnekleri hem diğer tüm örneklerle hem de birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında 0 dakika ve 30 dakika örnekleri birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiş ($p<0.05$), diğer tüm karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.27).



Şekil 4.27 RCS'nin UPR ile ilgili *CNX* geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi. 2,5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnosin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *CNX* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir (n=3). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır

ERO1 ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 1.6 kat; 60 dakika örnekleri 6.9 kat; 120 dakika örnekleri 8.5 kat; 360 dakika örnekleri 7.7 kat artış göstermiştir (Şekil 4.28). Bu grupta maksimum *ERO1* ifadesi 120 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 2.5 kat; 30 dakika örnekleri 8.5 kat; 60 dakika ve 120 dakika örnekleri 2.8 kat; 360 dakika örnekleri 7.2 kat artış göstermiştir. Bu grupta maksimum *ERO1* ifadesi 30 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan örnekler zamana bağlı olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 3.4 kat; 60 dakika ve 120 dakika örnekleri 1.1 kat; 360 dakika örnekleri 2.9 kat artış göstermişlerdir.

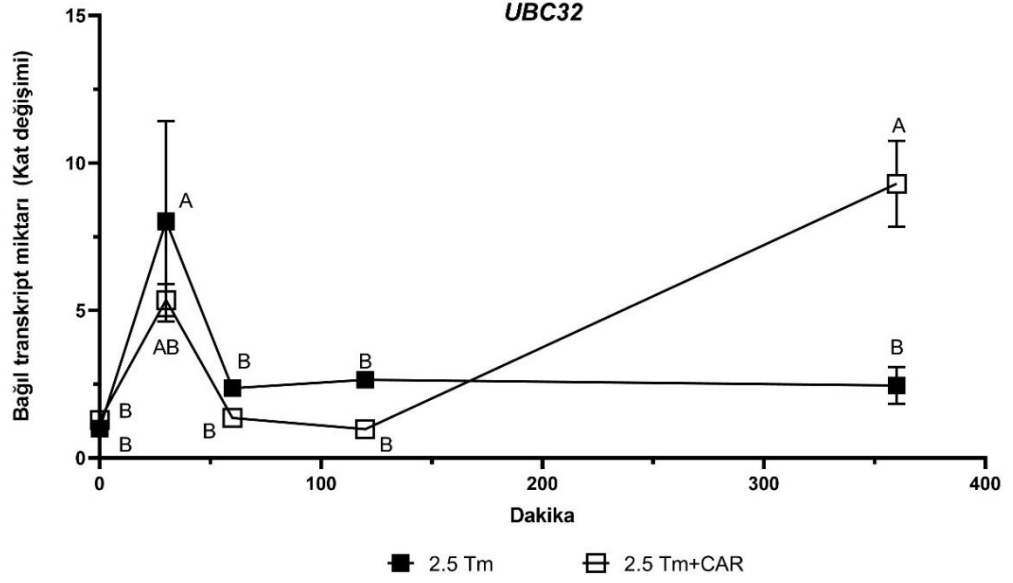
Yapılan istatistiksel analizler 0 ve 360 dakika örnekleri için karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), 30, 60 ve 120 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde 60, 120 ve 360 dakika örneklerinin birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği ($p>0.05$), fakat bu üç grubun 0 ve 30 dakika örnekleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği ($p<0.05$) görülmüştür. 0 ve 30 dakika örnekleri birbirileri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), fakat diğer gruplarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında 0, 60 ve 120 dakika örneklerinin birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği ($p>0.05$), fakat bu üç grubun 30 ve 360 dakika örnekleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği görülmüştür ($p<0.05$). 30 ve 360 dakika örnekleri birbirileri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), fakat diğer gruplarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$) Şekil 4.28



Şekil 4.28 RCS'nin UPR ile ilgili *ERO1* geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi. 2.5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnozin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *ERO1* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir ($n=3$). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır.

UBC32 ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyüme tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 8.0 kat; 60 dakika örnekleri 2.4 kat; 120 dakika örnekleri 2.7 kat; 360 dakika örnekleri 2.5 kat artış göstermiştir (Şekil 4.29). Bu grupta maksimum *UBC32* ifadesi 30 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyüme tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyüme tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 1.3 kat; 30 dakika örnekleri 5.4 kat; 60 dakika örnekleri 1.4 kat; 360 dakika örnekleri 9.3 kat artış göstermiş, 120 dakika örnekleri değişime neden olmamıştır. Bu grupta maksimum *UBC32* ifadesi 360 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyüme tabi tutulan örnekler zamana bağlı olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 4.2 kat; 60 dakika örnekleri 1.1 kat; 360 dakika örnekleri 7.2 kat artış; 120 dakika örnekleri %23.9 oranında azalış göstermişlerdir.

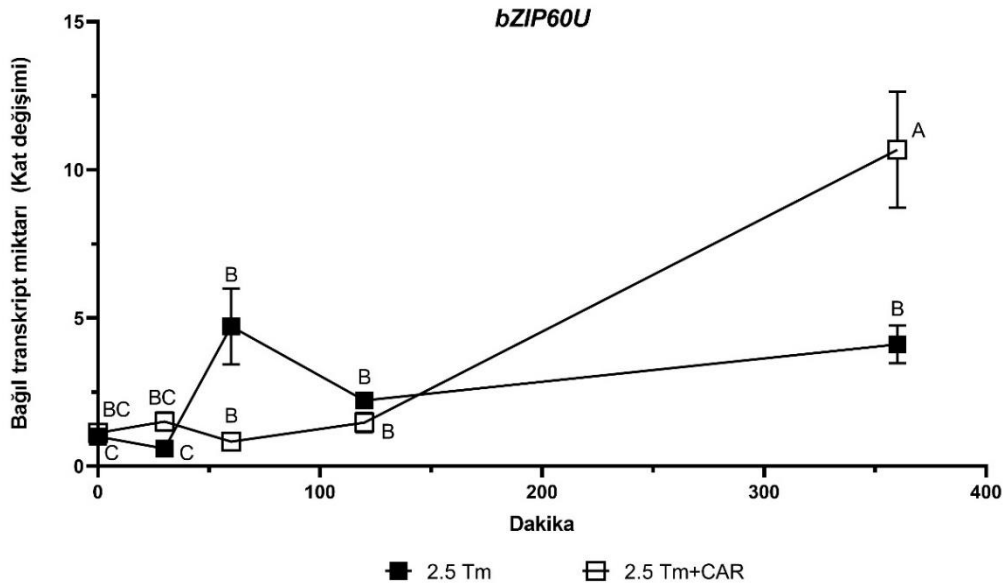
Yapılan istatistiksel analizler 360 dakika örnekleri dışında karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), yalnızca 360 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyüme tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece 30 dakika örnekleri diğer tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyüme tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında 360 dakika örnekleri 30 dakika örnekleri dışındaki tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterirken ($p<0.05$), diğer tüm karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.29).



Şekil 4.29 RCS'nin UPR ile ilgili *UBC32* geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi. 2,5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnosin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *UBC32* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir (n=3). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır.

bZIP60U ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri % 40.3 azalış; 60 dakika örnekleri 4.7 kat; 120 dakika örnekleri 2.2 kat; 360 dakika örnekleri 4.1 kat artış göstermiştir (Şekil 4.30). Bu grupta maksimum *bZIP60U* ifadesi 60 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 1.1 kat; 30 ve 120 dakika örnekleri 1.5 kat; 360 dakika örnekleri 10.7 kat artış; 60 dakika örnekleri %17.1 azalış göstermiştir. Bu grupta maksimum *bZIP60U* ifadesi 360 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan örnekler zamana bağlı olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 ve 120 dakika örnekleri 1.3 kat; 360 dakika örnekleri 9.5 kat artış; 60 dakika örnekleri %26.3 oranında azalış göstermişlerdir.

Yapılan istatistiksel analizler 60 ve 360 dakika örnekleri dışında karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), yalnızca 60 ve 360 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde 60,120 ve 360 dakika örnekleri birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermese de ($p>0.05$), her bir grup 0 ve 30 dakika örnekleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Bu grup içinde 0 ve 30 dakika örnekleri birbirleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece 360 dakika örnekleri diğer örnekler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiş ($p<0.05$), diğer tüm karşılatırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.30).

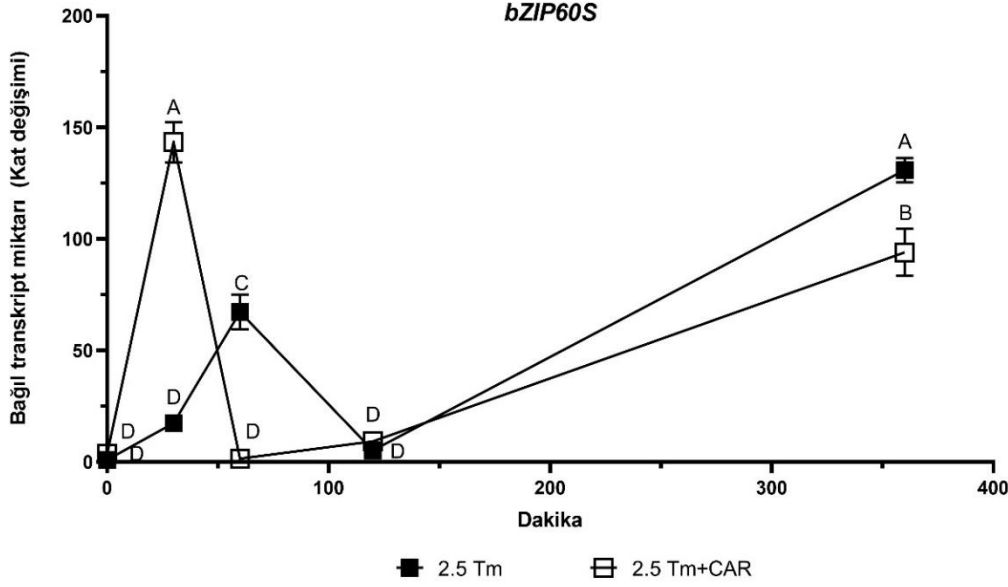


Şekil 4.30 RCS'nin UPR ile ilgili *bZIP60U* geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi. 2,5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnosin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *bZIP60U* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir ($n=3$). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır.

bZIP60S ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 17.5 kat; 60 dakika örnekleri 67.2 kat; 120

dakika örnekleri 5.2 kat; 360 dakika örnekleri 130.9 kat artış göstermiştir (Şekil 4.31). Bu grupta maksimum *bZIP60S* ifadesi 360 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 3.6 kat; 30 dakika örnekleri 143.4 kat; 60 dakika örnekleri 1.6 kat; 120 dakika örnekleri 8.3 kat; 360 dakika örnekleri 94.0 kat artış göstermiştir. Bu grupta maksimum *bZIP60S* ifadesi 30 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan örnekler zamana bağlı olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 40.0 kat; 120 dakika örnekleri 2.6 kat; 360 dakika örnekleri 26.2 kat artış; 60 dakika örnekleri %55.8 oranında azalış göstermişlerdir.

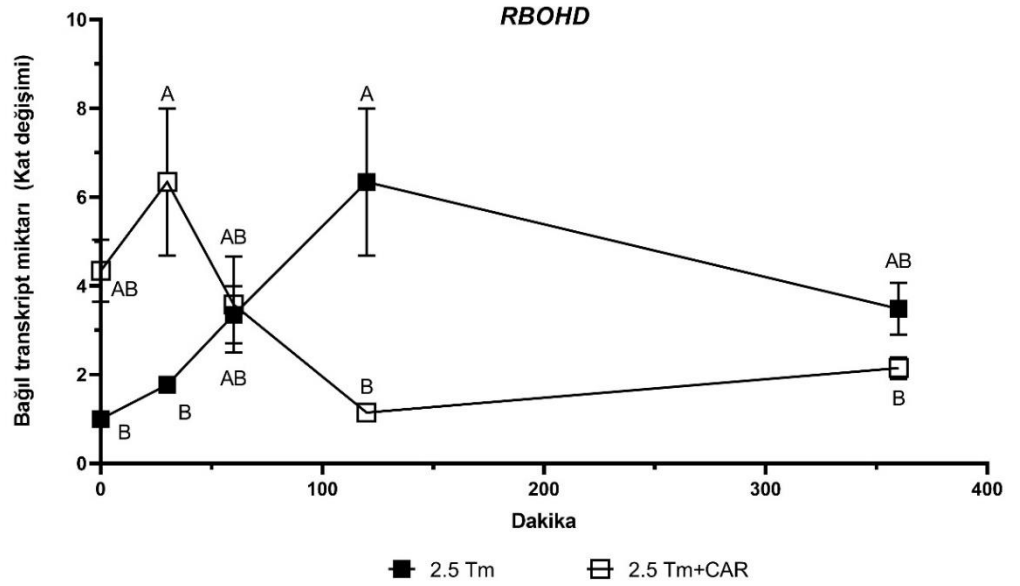
Yapılan istatistiksel analizler 0 ve 120 dakika örnekleri için karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); 30, 60 ve 360 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde 0, 30 ve 120 dakika örneklerinin birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği ($p>0.05$), fakat bu üç grubun 60 ve 360 dakika örnekleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği görülmüştür ($p<0.05$). 60 ve 360 dakika örnekleri birbirileri ile kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında 0, 60 ve 120 dakika örneklerinin birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği ($p>0.05$), fakat bu üç grubun 30 ve 360 dakika örnekleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği görülmüştür ($p<0.05$). 30 ve 360 dakika örnekleri birbirileri ile kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermişlerdir ($p<0.05$) (Şekil 4.31).



Şekil 4.31 RCS'nin UPR ile ilgili *bZIP60S* geni üzerinde zamana bağı bir şekilde etkisi. 2,5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnosin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *bZIP60S* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değışimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değışimi ± SEM olarak göstermektedir (n=3). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır.

RBOHD ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 1.8 kat; 60 dakika örnekleri 3.3 kat; 120 dakika örnekleri 6.3 kat; 360 dakika örnekleri 3.5 kat artış göstermiştir (Şekil 4.32). Bu grupta maksimum *RBOHD* ifadesi 120 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 4.3 kat; 30 dakika örnekleri 6.3 kat; 60 dakika örnekleri 3.6 kat; 120 dakika örnekleri 1.1 kat; 360 dakika örnekleri 2.2 kat artış göstermiştir. Bu grupta maksimum *RBOHD* ifadesi 30 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan örnekler zamana bağıl olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 1.5 kat artış; 60 dakika örnekleri %17.6 oranında; 120 dakika örnekleri %73.6 oranında ve 360 dakika örnekleri %50.5 oranında azalış göstermişlerdir.

Yapılan istatistiksel analizler 60 ve 360 dakika örnekleri için karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$); 0, 30 ve 60 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece 120 dakika örnekleri ile 0 ve 30 dakika örneklerinin karşılaştırıldığı koşulda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüş ($p<0.05$), diğer tüm karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece 30 dakika örnekleri ile 120 ve 360 dakika örneklerinin karşılaştırıldığı koşulda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüş ($p<0.05$), diğer tüm karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.32).

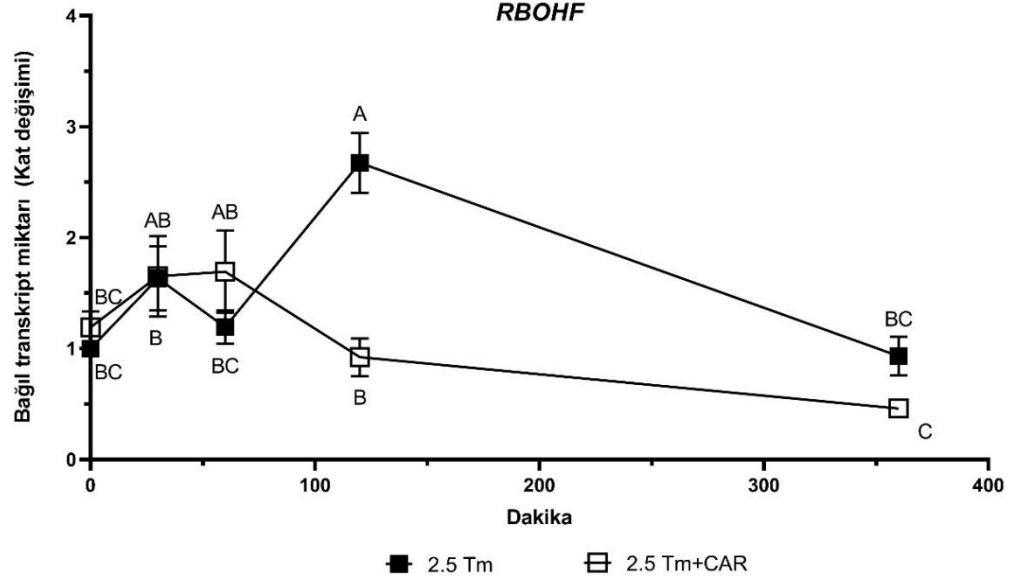


Şekil 4.32 RCS'nin UPR ile ilgili *RBOHD* geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi. 2,5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnozin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *RBOHD* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir ($n=3$). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır.

RBOHF ifadesinde karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örneklerine kıyasla 30 dakika örnekleri 1.6 kat; 60 dakika örnekleri 1.2 kat; 120

dakika örnekleri 2.7 kat artış; 360 dakika örnekleri %6.8 oranında azalış göstermiştir (Şekil 4.33). Bu grupta maksimum *RBOHF* ifadesi 120 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmadan 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen 0 dakika örneklerine kıyasla karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulduktan sonra 2.5 µg/ml Tm içeren besi yerine transfer edilen örneklerde 0 dakika örnekleri 1.2 kat; 30 ve 60 dakika örnekleri 1.7 kat artışa; 120 dakika örnekleri %7.7 oranında; 360 dakika %53.9 oranında azalış göstermiştir. Bu grupta maksimum *RBOHF* ifadesi 60 dakika örneklerinde görülmüştür. Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan örnekler zamana bağlı olarak kendi içlerinde karşılaştırıldığında 0 dakika örneklerine kıyasla 30 ve 60 dakika örnekleri 1.4 kat artış; 120 dakika örnekleri %22.6 oranında ve 360 dakika örnekleri %61.4 oranında azalış göstermişlerdir.

Yapılan istatistiksel analizler 120 dakika örnekleri dışında karnozin uygulanması yapıp yapılmaması koşullarında anlamlı bir fark göstermemiş ($p>0.05$), yalnızca 120 dakika örneklerinde karnozin uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p>0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulmayan grup kendi içinde değerlendirildiğinde sadece 120 dakika örnekleri diğer tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.05$). Karnozin içeren besi yerinde ek büyümeye tabi tutulan grup kendi içinde karşılaştırıldığında sadece 360 dakika örnekleri ile 30 ve 60 dakika örneklerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüş ($p<0.05$), diğer tüm karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.33).



Şekil 4.33 RCS'nin UPR ile ilgili *RBOHF* geni üzerinde zamana bağlı bir şekilde etkisi. 2,5 µg/ml Tm ile indüklenen ER stresli örnekler, 3 mM Karnosin içeren veya içermeyen besi yerlerine alındıktan sonra elde edilen örneklerden *RBOHF* geninin bağıl transkript miktarlarını kat değişimi olarak gösterilmiştir. Grafikler bağıl gen ifadelerini ortalama kat değişimi $\pm$ SEM olarak göstermektedir (n=3). Kontrol grubu 0. Dakikadaki 2.5 Tm grubu olarak gösterilmiş olup karnozin uygulanan örnekler 2.5 Tm +CAR olarak kısaltılmıştır

5. TARTIŞMA

Günümüzde, bitkilerde ER stresi ve UPR mekanizmalarının net bir şekilde anlaşılması için birçok çalışma yapılmakta ve ER stres algısı ve sinyal yollarına odaklanılmaktadır (Ruberti et al., 2015; Walley et al., 2015; Hossain et al., 2016). Ayrıca, ROS'un düşük seviyelerde sinyal molekülü olma özellikleri ile ilgili yeni bakış açısı, büyüme, gelişme ve stres tepkisi gibi hücresel yolları ayrıntılı olarak aydınlatmıştır (Baxter et al., 2014). Her ne kadar düşük seviyelerde ROS'ların sinyal molekülü olarak görev yaptığını gösteren birçok çalışma bulunsada ROS ilişkili hücresel yanıtların detaylıca incelenmesi ROS sinyallemesinin ve bunu takip eden lipid peroksidasyonu gibi mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu nedenle bu çalışmada RCS, ROS ve ER stres ilişkisinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bilindiği üzere disülfid bağlarının oluşumunu engelleyen indirgen madde olan DTT gibi ya da N-glikan zinciri sentezi inhibitörü olan ve ilaç olarak kullanılan Tm gibi kimyasal maddelerin katlanmamış proteinlerin ya da polipeptidlerin akümülyasyonuna neden olduğundan ER stresini tetikleyen ajanlar olarak kullanılmaktadır (Martines and Chrispeels, 2003; Iwata and Koizumi, 2005; Kamauchi et al., 2005). Ayrıca, oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonunun, RCS'nin LOOH türevi α - β -doymamış aldehytler ve hücrede keton üretimini artırabileceği de gösterilmiştir (Yalcinkaya et al., 2019b). Bu çalışmaların her ikisi de ER stresi ile tetiklenen ROS üretimi ile RCS oluşumu arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu çalışma ile elde ettiğimiz sonuçlar da ER stresinin RCS birikimine neden olduğunu göstermiştir. Literatürle uyumlu bir şekilde artan Tm konsantrasyonu ile yaş ağırlık düşmüştür (McCormack et al., 2015). Ayrıca, literatürdeki diğer çalışmalar RCS birikiminin tuz stresi altında görülen büyüme yavaşlamasını azalttığını (Sultana et al., 2024), RCS ve belirli oksilipin karbonillerin yanıl kök oluşumunu teşvik edebileceğini (Biswas et al., 2019), HNE'nin ekzojen uygulamasından sonra kök uzamasının inhibisyon uğradığını ve (Mano et al., 2005). Tm kaynaklı ER stresinin, PCD aktivasyonu nedeniyle kök büyümesini baskıladığı gösterilmiştir (Watanabe and Lam, 2008; Ozgur et al., 2014). Bu açıdan bakıldığında RCS süpürücü karnozin varlığında ve yokluğunda ER stresi uygulaması yapılan örneklerden elde edilen kök fenotipi analizleri

literatür ile uyumlu sonuçlar vermektedir. Karnozin varlığında Tm uygulanan örneklerdeki ana kök ve toplam kök uzunluğu değişimi, karnozin yokluğunda Tm uygulanan örneklerinkinden daha düşüktür. Ayrıca karnozin varlığında Tm uygulanan örneklerdeki yanıl kök sayısı, karnozin yokluğunda Tm uygulanan örneklerinkinden daha düşüktür. Hem yanıl kök sayısındaki bu artış, hem de ana kök uzunluğundaki düşüş, yanıl kök yoğunluğunda literatürle uyumlu bir örüntü ortaya koymuştur. Ayrıca yapılan Schiff Boyaması Tm konsantrasyonundaki artış ile ikinci, dördüncü ve altıncı günde karnosin bulunmayan koşullarda RCS üretiminin artmasına neden olduğı gözlemlenmiş, inkübasyon süresi ile RCS üretimi arasında pozitif bir korelasyon gözlemlenmiştir. Karnosin bulunan koşullarında ise RCS üretimi, beklendiğı gibi tüm örnekleme zamanlarında karnosin yokluğı koşullarından daha düşük olarak gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, ER stresinin hücredeki RCS birikimine neden olduğunu göstermiştir. Elde ettiğimiz tüm bu sonuçlar literatürdeki çalışmalarla uyum sergilemektedir.

Strese bağıli reaktif türlerin üretimine ek olarak stresörlerin detoksifikasyonunun, stresörlerin üretimini ve bozulmasını dengeleyerek çevresel stresi tolere etmek için önemli bir mekanizma olduğı bilinmektedir (Yalcinkaya et al., 2019a). Dolayısıyla hücrede RCS süpürücü olarak görev yapan AER, AKR, ALDH gibi enzimler, enzimatik yollarlarda RCS temizlemede anahtar role sahiptir (Yin et al., 2010; Mano, 2012). Bu nedenle de bu çalışmada RCS süpürücü enzimler bu protein ailelerinden seçilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, uygulanan Tm konsantrasyonundaki azalma, stres koşullarında *ALDH2C4*, *ALDH7B4*, *ALDH11A3* ve *ALDH2B7* ekspresyonlarında artışlara neden olmasına rağmen stres uygulanan örneklerdeki transkript seviyeleri, stres uygulanmayan örneklere göre daha düşük bulunmuştur. Taranan *ALDH* genleri arasında bulunan *ALDH2C4* geni ile yapılan çalışmalar, her stres durumunun köklerde yüksek *ALDH2C4* ifadesine neden olduğunu, ancak yalnızca ozmotik ve tuz stresinin *A. thaliana*'nın sürgünlerinde *ALH2C4* ifadesini indüklediğini göstermiştir (Kilian et al., 2007). *A. thaliana* kök ve sürgünlerinde ozmotik ve tuz stresinin *ALDH2B7* ve *ALDH7B4* ifadelerini arttırdığı gösterilmiştir (Kilian et al., 2007). Köklerdeki *ALDH11A3* geni ifadesi ozmotik, tuz ve uzun süreli oksidatif stres koşullarında artarken, sürgünlerde bu genin ifadesi değişmeme veya azalma eğilimi gösterir (Yalcinkaya et al., 2019a). Bu çalışmada, test edilen AKR kodlayan genler (*AKR4C8* ve *AKR4C9*) arasında

AKR4C8 ve *AKR4C9* genlerinin ifadesinde artış gözlemlenmiştir. Literatürdeki çalışmalar kuraklık, tuz, soğuk, yüksek ışık gibi abiyotik stres faktörlerinin varlığında *AKR4C8* ve *AKR4C9* genlerin ifadelerinin arttığını göstermiştir. (Simpson et al., 2009). Ancak tüm stresörler *AKR4C8* ve *AKR4C9* genlerinin ifadelerinde artışa neden olmamaktadır. Örneğin yüksek ısının bu genlerin ifadesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Saito et al., 2013). Bu çalışmada, ER stresi altında taranan GST genlerinden 4'ünün (*GSTU2*, *GSTU5*, *GSTU24* ve *GSTU25*) ifadesinde azalma, 2'sinin (*GSTU3* ve *GSTU4*) ifadesinde artış gözlenmiştir. Çalışmalar, *A. thaliana* köklerindeki *GSTU2*, *GSTU3*, *GSTU4*, *GSTU5*, *GSTU25* ve *GSTU24* genlerinin ifadesinin ozmotik ve tuz koşulları gibi çeşitli streslerle yukarı doğru düzenlendiğini, gen ifadesi düzenlemesinin ise sürgünlerdeki stres koşulunun süresine dayandığını göstermiştir. (Yalcinkaya et al., 2019a). Bu çalışmalar ışığında sonuçlarımız, literatürle uyumlu bir şekilde ER stresinin RCS süpürücü mekanizma ile negatif korelasyona sahip olduğunu, hatta RCS temizleyici ile ilgili bazı genleri aktive ettiğini göstermektedir. Bu, RCS detoksifikasyonunun, Tm kaynaklı ER stresi sırasında hücrel redoks dengesinde önemli bir unsur olabileceğini ve daha uzun yarı ömürlü RCS'nin reaktif doğasının, stres sinyallemede bir sinyal olarak hizmet edebileceğini göstermektedir. Önemli metabolik yollardaki rolleri nedeniyle tüm bu genlerin ekspresyon profilleri, RCS'nin temizleme yoluyla olumsuz etkilerinin azaltılmasının yanı sıra, önemli rol oynadıkları yoldaki metabolik aktivitenin arttırılması açısından da önemlidir. Bu, RCS temizleyici enzimlerin ifadelerindeki azalmalar hücrede yüksek miktarda RCS ile sonuçlandığı ve bu bileşiklerin tüm bu metabolik düzenlemeler için bir sinyal molekülü olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Ekzojen RCS uygulamasının büyüme ile ilgili yollarda etkili ve aynı zamanda stres tepkisi ile de yakın bağlantısı olduğu, RCS'nin ROS uyarısını taklit etmesi ve yüksek RCS seviyesinin, ER lümeninde uygun olmayan katlanmış proteinlerin ağır yükü nedeniyle UPR yolunun aktivasyonu ile sonuçlanan uygun protein katlanmasını etkilediği bilinmektedir (Uchida, 2003; Petersen and Doorn, 2004; Yalcinkaya et al., 2019a). Bu çalışmada, bahsi geçen ilişkiyi ele almak için ekzojen RCS kaynaklı örneklerden UPR ile ilgili genlerin ekspresyonu ölçülmüştür. UPR ile ilişkili olarak seçilen hedeflerden biri olan *BiP3*, ısı şoku proteini 70 (HSP70) ailesinin bir üyesidir ve *bZIP60* aktivitesine bağlı bir UPR işaretleyici gen

olarak kullanılan sentezlenmiş protein agregasyonunun inhibisyonundan sorumludur (Ozgur et al., 2018). Bu çalışmada ekzojen RCS uygulaması sonucunda elde edilen veriler *BiP3* transkripsiyon bolluğu açısından değerlendirildiğinde ACR ve HHE'nin, HNE'den daha düşük konsantrasyonlarda UPR algılama mekanizmalarını tetiklediğini göstermektedir. Bu çalışmada incelenen bir diğer protein ise lektin benzeri şaperonlardan biri olan *CNX*'tir ve özellikle glikoproteinler üzerinde protein katlanmasında rolü vardır (Ozgur, et al., 2015). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, glikosile edilmiş proteinler üzerinde en yüksek etkinin HNE indüksiyonundan kaynaklandığını, en düşük etkinin ise glikosile proteinler üzerinde ACR'nin neden olduğunu göstermektedir. UPR ile ilişkili incelenen bir diğer protein ise *CNX*'in yanı sıra, PDI oksidasyonu ile disülfit bağı oluşumunu katalize ederek oksidatif protein katlanması üzerinde düzenleyici bir role sahip olan *ERO1* 'dir (Pollard et al., 1998; Dixon et al., 2003; Onda et al., 2009). *ERO1* transkript bolluğu dikkate alındığında, elde ettiğimiz sonuçlar HNE'nin en güçlü redoks durumunu bozan ajan olduğunu ve diğer RCS'lerin ER'yi redoks dengesizliğinden farklı bir şekilde etkilediğini göstermiştir. Çalışmada, ERAD sisteminin bir üyesi olan ve ubikuitin konjuge edici bir enzim olarak brassinosteroid (BR) aracılı tuz tepkisinde ve ER lümen homeostazisinde rol oynayan *UBC32*'nin göreceli transkript bolluğu da incelenmiştir (Liu et al., 2011; Cui et al., 2012). Bu çalışmada, ACR ve HNE indüksiyonunun, konsantrasyon gradyanı boyunca *UBC32* ekspresyonunun azalmasına neden olduğu, HHE indüksiyonunun ise, konsantrasyon gradyanı boyunca *UBC32* ekspresyonunun artmasına neden olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar HHE'nin ERAD mekanizmasını etkilediğini, ACR ve HNE'nin ise ERAD dışındaki mekanizmalar üzerinde de etkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada taranan bir diğer protein ise bir transkripsiyon faktörü olan ve ER stresi ile ilişkili genleri aktive eden *bZIP60*'tır (Iwata and Koizumi, 2005). Bu mekanizmada, *bZIP60U* kodlu mRNA'nın transmembran alanı bölünür ve tRNA ligaz yardımıyla birleştirme işlemi sonlandırılır. *bZIP60S* adı verilen son ürün bir transkripsiyon faktörü görevi görürken, eklenmemiş versiyonu ER membranına sabitlenir (Ozgur et al., 2018). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar *bZIP60U* ifadesinde HNE ve HHE indüksiyonunun ACR indüksiyonundan daha etkili olduğunu; *bZIP60S* ifadesinde ise HHE ve ACR indüksiyonunun HNE indüksiyonundan daha etkili olduğunu göstermiştir. Özetlemek gerekirse, sonuçlarımız UPR'nin algılama, iletim ve yanıt mekanizmalarını düzenleyebilen

ekzojen RCS uygulamasının RCS molekülüne ve konsantrasyonuna bağlı olduğu sonucunu işaret etmektedir.

Bitki hücrelerinde üretilen RCS ve ROS gibi reaktif moleküllerin konsantrasyonları, temizleme veya detoksifikasyon mekanizmaları adı verilen birden fazla yolla kontrol edilmektedir ve bitki hücrelerinde enzimatik ve enzimatik olmayan olarak adlandırılan iki ana temizleme mekanizması türü vardır (Yalcinkaya et al., 2019a) Enzimlerin yanı sıra küçük nükleofilik bileşikler içeren tiyol, amino ve imidazol grupları da yeterli yüksek konsantrasyonu karşılamaları durumunda RCS temizleme mekanizmalarına katkıda bulunma yeteneğine sahiptir (Mano et al., 2019a). Bu moleküllerden biri de β -alanil grubunun amino ucu üzerinden aldehit ile reaksiyona giren karnosindir. Karnosin normalde hayvansal kaslarda ve beyinde bulunmasına rağmen bitkilerde karnosinin varlığına dair hiçbir kanıt yoktur (Mano et al., 2019a). Bu nedenle bu çalışmada ER stresi için RCS üretim gereksinimi ve UPR mekanizması üzerindeki zamana bağlı etkileri ile ilgili araştırmalarda ekzojen karnozin uygulaması kullanılmıştır. Literatürdeki çalışmalar, *A. thaliana* tohumlarının tuz stresi altında düşen çimlenme hızının RCS süpürücü eklenen koşullarda eski haline döndüğünü; tuz stresi ile ortaya çıkan RCS ve protein karbonilasyonundaki artışların RCS süpürücü uygulaması ile ROS seviyesi etkilenmeden bastırıldığını; ACR, HNE ve krotonaldehit, (E)-2-pentenal seviyelerinin çimlenmenin gecikmesi ve büyüme inhibisyonu ile pozitif korelasyon gösterdiğini ortaya koymaktadır (Sultana et al., 2022). Bu açıdan bakıldığında, çalışmamızda RCS süpürücüsü varlığında ve yokluğunda ER stresi indüklemesi ile elde ettiğimiz fizyolojik verilerin literatürle tutarlı olduğu ve RCS üretiminin test edilen tüm büyüme parametrelerindeki değişim miktarını azalttığı, ROS'a bağlı ER stres oluşumu için RCS üretiminin gerekli olduğu sonucuna varılmaktadır.

RCS üretiminin UPR mekanizması üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla UPR ile ilişkili gen ekspresyon seviyeleri araştırılmıştır. Bu çalışmada, karnosin uygulamasının Tm indüksiyonu sonucu ortaya çıkan göreceli *BiP3*, *UBC32* ve *bZIP60U* transkript bolluğunu azalttığı, göreceli *CNX*, *ERO1* ve *bZIP60S* transkript bolluğunu arttırdığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, RCS moleküllerinin uzaklaştırılmasının stres algılama mekanizmasını tetiklediğini, disülfit bağ

mekanizmasını bozulmasına neden olacağını ve spesifik gen ekspresyonunu düzenlemek için tercih edildiğini göstermektedir.

Daha derin analiz için, zamana bağlı bir şekilde hasat edilen karnosin uygulanmış ve uygulanmamış ve Tm ile indüklenmiş bitkilerden göreceli *BIP3*, *CNX*, *bZIP60U*, *bZIP60S*, *ERO1*, *UBC32*, *RBOHD* ve *RBOHF* transkript seviyeleri ölçülmüştür. Tm indüksiyonundan 60 dakika sonra hem karnosin uygulanmış hem de uygulanmamış koşullar için *BiP3* ekspresyonunun artmaya başladığı ve 360 dakikaya kadar artmaya devam ettiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar RCS üretiminin UPR'nin sinyalleşme mekanizmasını yaklaşık 60 dakikada etkilediğini göstermektedir. *CNX* ekspresyonu karnosin uygulanmış ve uygulanmamış her iki durumda da 120 dakika sonra artmış ancak kontrol grubundaki artış karnosin uygulanmış gruba göre daha yüksek ve hızlı olarak gözlemlenmiştir. Bu durum RCS üretiminin glikosile proteinleri etkilediğini ve UPR'nin RCS üretimine yanıt verebilmesi için en az 120 dakikaya ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Karnosin uygulaması *ERO1* ekspresyonunda dalgalanmalara neden olmuş, hatta karnosin uygulaması yapılmadığında *ERO1* ekspresyonu zaman açısından sigmoidal örüntü göstermiştir. Karnosin uygulaması yapılan örneklerde *ERO1* ekspresyonu 30. dakikada maksimuma ulaşmış ve uygulamadan sonraki 60. dakikada minimuma ulaşmıştır ve ardından tekrar artış görülmüştür. Ancak bu artış, karnosin uygulanmamış örneklerdeki *ERO1* ifadesinden daha düşük olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, karnosin uygulamasının PTM mekanizmalarını etkilediğini göstermiştir. Ayrıca RCS'nin ERAD ilişkisinin zamana bağlı olarak aydınlatılması amacıyla *UBC32* ifade profili taranmıştır. *UBC32* ekspresyonu, karnosin uygulanmamış örneklerde 60 dakika sonra maksimuma ulaşmış ve sonrasında azalma eğilimi göstermiştir; oysa *UBC32* ekspresyonu, karnosin uygulaması yapılan örneklerde 30 dakika sonra zirveye ulaşmış, 60 dakika sonra minimuma ulaşmış ve ardından artma eğilimi görülmüştür. Bu sonuçlar, karnosin uygulamasının ubiquitin konjuge edici enzim (*UBC32*) ekspresyonunu artırarak uzun vadede ERAD yolunu tetiklediğini işaret etmektedir. *bZIP60U*'nun ekspresyonu, karnosin uygulanmadığında 30 dakikada artmaya başlayıp zamana bağlı olarak artış gösterirken, karnosin uygulaması yapıldığında 60 dakikada düşüş gösterse de karnosin uygulanmayan örneklere kıyasla daha yüksek seviyelere ulaşmıştır. Bunların yanı sıra *bZIP60S* ekspresyonları her iki durum için de 120. dakikaya

kadar benzer şekilde artmış, daha sonra azalmaya başlamıştır. Karnosin uygulanmış örneklerdeki azalma, karnosin uygulaması yapılmamış örneklerle göre daha yumuşak ve daha az olacak şekilde gözlemlenmiştir. Tüm bu sonuçlar, RCS üretiminin, *bZIP60* kodlu mRNA'nın 60 dakikada *bZIP60S* transkripsiyon faktörünü oluşturmak üzere eklenmesini destekleyerek UPR mekanizmasının dönüştürücü elemanını tetiklediğini işaret etmektedir. Bir sinyal molekülü olarak ROS, hormonal yanıtların yanı sıra çeşitli stres yanıtlarında ve genellikle *RBOH* enzimleri (Suzuki et al., 2011; Chen and Yang, 2019) olarak da adlandırılan membrana bağlı NOX'larla ilişkili ROS sinyal mekanizmasında görev yapar. Bu enzimler, Ca^{2+} iyonlarının EF alanlarından en az birine, üretilen $O_2^{\cdot-}$ 'nin Ca^{2+} kanallarını tetiklediği pozitif bir geri besleme döngüsüyle bağlanmasıyla $O_2^{\cdot-}$ üretimini katalize eder (Takeda et al., 2008; Oda et al., 2010). Çalışmalar, *RBOH* enzimlerinin stoma açılmasının düzenlenmesinden sorumlu olduğunu göstermiştir (Roelfsema and Hedrich, 2005; Munemasa et al., 2015; Singh et al., 2017). ROS'un yanı sıra, çalışmalar stoma kapanmasının ekzojen RCS uygulamasıyla indüklendiğini ve RCS'nin uzaklaştırılmasından sonra inhibe edildiğini, burada RCS'nin etkisinin Ca^{2+} geçirgen katyon kanallarının aktivasyonu ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermiştir (Islam et al., 2019). Bu çalışmada, RCS üretiminin *RBOHD* ve *RBOHF* genlerinin ekspresyonu üzerindeki etkileri, Tm indüksiyonundan önce karnosin uygulanmış ve uygulanmamış örneklerde zamana bağlı olarak araştırılmıştır. Sonuçlarımıza göre, *RBOHD* ekspresyonu 30. dakikada maksimuma ve 60. dakikada minimuma ulaşmış ve hem karnosin uygulanmış hem de uygulanmamış koşullar için artma eğiliminde olmuştur. Ancak karnosin uygulanmamış örneklerdeki artış, 360 dakikada uygulanmış örneklerden daha yüksek seviyelere ulaşmıştır. Öte yandan, *RBOHF* ekspresyonunda karnosin uygulanmış örnekler 30 dakikada maksimuma ulaşmış, ardından azalma eğilimi göstermiş, uygulanmamış örnekler ise 120 dakikada maksimuma ulaşmış ve ardından düşüş gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar RCS üretiminin *RBOHD* ve *RBOHF* gen ekspresyonu üzerindeki ROS etkisinden daha uzun bir süre olan en az 30 dakikada gösterdiğini göstermektedir (Ozgur et al., 2014).

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, RCS birikiminin ER stresi tarafından indüklendiğini, dolayısıyla RCS temizleyici enzimi kodlayan genlerin ER stres mekanizması tarafından düzenlendiğini göstermektedir. Ayrıca bu çalışma

ile RCS'nin ekzojen uygulamasının UPR ile ilişkili gen ifadelerinin yanı sıra büyüme üzerinde de düzenlemeye neden olduğu gösterilmiştir. Son olarak hücrede RCS üretiminin UPR gibi stres tepkileri üzerindeki etkinliği için gereken süre gösterilmiştir. Bu sonuçlar, ER stresinin neden olduğu ROS üretiminin RCS sinyali üzerindeki etkilerini açıklığa kavuşturmaya yardımcı olacaktır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde ettiğimiz sonuçlara ait analizler, ER stresinin RCS birikimini indüklediğini ve oluşan RCS profilini etkilediğini göstermektedir. Ayrıca ER stresinin, *ALDH*, *AKR* ve *GSTU* gibi RCS temizlemeyle ilgili genlerin ekspresyonunu düzenlediğini gösteren sonuçlar, ER stresine ait yolaklarda bulunan proteinlerin RCS metabolizmasında düzenleyici olabileceğine işaret etmektedir. Ekzojen olarak uygulanan RCS'nin büyümede azalma ve fizyolojik parametrelerde bozulmaya sebep olduğu görülmüş ve UPR ile ilgili genleri indüklediği bulunmuştur. RCS süpürücüsü uygulamaları sonucunda ER stres yolaklarının verimli çalışabilmesi ve UPR'nin indüklenebilmesi için RCS'nin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. Bu koşullarda UPR ile ilişkili genler zamana bağlı olarak incelendiğinde RCS'nin ER homeostasisi üzerindeki etkilerinin farklı yolakları farklı zamanlarda etkilediği bulunmuştur.

Bu çalışmadan elde ettiğimiz bilgilerin reaktif türler ve ER stresi ile ilgili çok fazla çalışmaya ilham olma potansiyeli bulunmaktadır. Örneğin, RCS'nin sinyal molekülü olarak diğer organellerdeki görevlerinin aydınlatılması, ROS detoksifikasyonunda görev alan enzimlerin RCS ile ilişkisi, RCS moleküllerinin UPR yolağındaki proteinlere yaptığı modifikasyonların incelenmesi gibi birçok farklı alanda yapılabilecek çalışmalar mevcuttur. Doğası gereği kümülatif olarak ilerleyen bilim, çalışmamızda ortaya koyduğumuz sonuçları nitelikli ve istekli genç bilim insanlarının çalışmalarıyla ileriye taşıyacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adams, J. M., and Cory, S.,** 1998, The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. *Science*, 281(5381), 1322-1326. doi:DOI 10.1126/science.281.5381.1322
- Afrin T., Diwan, D., Sahawneh, K., and Pajerowska-Mukhtar, K.,** 2020, Multilevel regulation of endoplasmic reticulum stress responses in plants: where old roads and new paths meet. *J Exp Bot*, 71(5), 1659-1667. doi:10.1093/jxb/erz487
- Ahmed, K., Carter. D. E., and Lajoie, P.,** 2019, Hyperactive TORC1 sensitizes yeast cells to endoplasmic reticulum stress by compromising cell wall integrity. *FEBS Letters*, 593(15), 1957-1973. Doi:<https://doi.org/10.1002/1873-3468.13463>
- Akaba, S., Seo, M., Dohmae, N., Takio, K., Sekimoto, H., Kamiya, Y., Furuya, N., Romano, T. And Koshiba, T.,** 1999, Production of homo- and heterodimeric isozymes from two aldehyde oxidase genes of *Arabidopsis thaliana*. *The journal of biochemistry*, 126(2), 395-401.
- Akram, N. A., Shafiq, F., and Ashraf, M.,** 2017, Ascorbic Acid-A Potential Oxidant Scavenger and Its Role in Plant Development and Abiotic Stress Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.00613
- Alché, J. D.,** 2019, A concise appraisal of lipid oxidation and lipoxidation in higher plants. *Redox Biol*, 23, 101136. doi: 10.1016/j.redox.2019.101136
- Aldini, G., Carini, M., Beretta, G., Bradamante, S., and Facino, R. M.,** 2002, Carnosine is a quencher of 4-hydroxy-nonenal: through what mechanism of reaction? *Biochemical and biophysical research communications*, 298(5), 699-706.
- Allen, J. F.,** 2015, Why chloroplasts and mitochondria retain their own genomes and genetic systems: colocation for redox regulation of gene expression. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 112 (33), 10231-10238.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Alméras, E., Stolz, S., Vollenwieder, S., Reymond, P., Mène-Saffrané, L., and Farmer, E. E.,** 2003, Reactive electrophile species activate defense gene expression in. *Plant Journal*, 34(2), 202-216. doi:DOI 10.1046/j.1365-313X.2003.01718.x
- Al-Shehbaz, I. A., and O'Kane Jr, S. L.,** 2002, Taxonomy and phylogeny of *Arabidopsis* (Brassicaceae). *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologist*, 1.
- Alvi, A. F., Iqbal, N., Albaqami, M., and Khan, N. A.,** 2023, The emerging key role of reactive sulfur species in abiotic stress tolerance in plants. *Physiologia Plantarum*, 175(3), e13945.
- Anbar, A. D.,** 2008, Elements and evolution. *Science*, 322(5907), 1481-1483.
- Andreou, A., and Feussner, I.,** 2009, Lipoxygenases- structure and reaction mechanism. *Phytochemistry*, 70(13-14), 1504-1510.
- Anelli, T., and Sitia, R.,** 2008, Protein quality control in the early secretory pathway. *The EMBO journal*, 27(2), 315-327
- Angelos, E., Ruberti, C., Kim, S. J., and Brandizzi, F.,** 2017, Maintaining the factory: the roles of the unfolded protein response in cellular homeostatis in plants. *Plant J*, 90(4), 671-682 doi: 10.1111/tpj.13449
- Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., Mohamed, A. A., Thangavel, P., Devi, G. D., Vasudhevan, P., Sofo, A., Khan, N. A., Misra, A. N., Lukatkin, A. S., Singh, H.P., Pereira, E. and Tuteja N.,** 2016, Catalase and ascorbate peroxidase—representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. *Environmental science and pollution research*, 23, 19002-19029.
- Apel, K., and Hirt, H.,** 2004, Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55(1), 373-399. 2004,

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Apweiler, R., Hermjakob, H., and Sharon, N.,** 1999, On the frequency of protein glycosylation, as deduced from analysis of the SWISS-PROT database. Dedicated to Prof. Akira Kobata and Prof. Harry Schachter on the occasion of their 65th birthdays. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1473(1), 4-8. doi:[https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(99\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(99)00165-8)
- Arasimowicz, M., and Floryszak-Wieczorek, J.,** 2007, Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses. *Plant science*, 172(5), 876-887
- Arasimowicz-Jelonek, M., Floryszak-Wieczorek, J., Abramowski, D., and Izbińska, K.,** 2014, Nitric oxide and reactive nitrogen species. *Nitric oxide in plants: Metabolism and role in stress physiology*, 165-184.
- Arnao, M. B., and Hernandez-Ruiz, J.,** 2019, Melatonin and reactive oxygen and nitrogen species: a model for the plant redox network. *Melatonin Research*, 2(3), 152-168.
- Arya, S. S., Mahto, B. K., Ramkumar, T. R., and Lenka, S. K.,** 2020, Sharpening gene editing toolbox in Arabidopsis for plants. *Journal of plant biochemistry and biotechnology*, 29, 769-784.
- Asada, K.,** 1999, The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of plant biology*, 50(1), 601-639.
- Asada, K.,** 2006, Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. *Plant Physiology*, 141(2), 391-396. Doi: 10.1104/pp.106.082040
- Astier, J., Gross, I., and Durner, J.,** 2018, Nitric oxide production in plants: an update. *Journal of Experimental Botany*, 69(14), 3401-3411.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Ayala, A., Munoz, M. F., and Argüelles, S.,** 2014, Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014(1), 360438.
- Balchin, D., Hayer-Hartl, M., and Hartl, F. U.,** 2016, In vivo aspects of protein folding and quality control. *Science*, 353(6294). doi:10.1126/science.aac4354
- Bannenberg, G., Martínez, M., Hamberg, M., and Castresana, C.,** 2009, Diversity of the enzymatic activity in the lipoxygenase gene family of *Arabidopsis thaliana*. *Lipids*, 44, 85-95.
- Bao, Y., Pu, Y. T., Yu, X., Gregory, B. D., Srivastava, R., Howell, S. H., and Bassham, D. C.,** 2018, IRE1B degrades RNAs encoding proteins that interfere with the induction of autophagy by ER stress in. *Autophagy*, 14(9), 1562-1573. doi:10.1080/15548627.2018.1462426
- Bao, Y., and Bassham, D. C.,** 2020, ER-Phagy and Its Role in ER Homeostasis in Plants. *Plants-Basel*, 9(12). doi:10.3390/plants9121771
- Barclay, K. D., and McKersie, B. D.,** 1994, Peroxidation reactions in plant membranes: effects of free fatty acids. *Lipids*, 29, 877-882.
- Barroso, J. B., Valderrama, R., and Corpas, F. J.,** 2013, Immunolocalization of S-nitrosoglutathione, S-nitrosoglutathione reductase and tyrosine nitration in pea leaf organelles. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(8), 2635-2640. doi:10.1007/s11738-013-1291-0
- Bartels, D.,** 2001, Targeting detoxification pathways: an efficient approach to obtain plants with multiple stress tolerance? *Trends in plant science*, 6(7), 284-286.
- Bassham, D. C.,** 2009, Function and regulation of macroautophagy in plants. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*, 1793(9), 1397-1403. doi:10.1016/j.bbamcr.2009.01.001

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Baxter, A., Mittler, R., and Suzuki, N.**, 2014, ROS as key players in plant stress signalling. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1229-1240. doi:10.1093/jxb/ert375
- Beaugelin, I., Chevalier, A., D'Alessandro, S., Ksas, B., and Havaux, M.**, 2020, Endoplasmic reticulum-mediated unfolded protein response is an integral part of singlet oxygen signalling in plants. *The Plant Journal*, 102(6), 1266-1280. doi:<https://doi.org/10.1111/tpj.14700>
- Beemster, G. T. S., De Veylder, L., Vercruysse, S., West, G., Rombaut, D., Van Hummelen, P., Galichet, A., Gruissem, W., Inzé, D., Vuylsteke, M.**, 2005, Genome-wide analysis of gene expression profiles associated with cell cycle transitions in growing organs of Arabidopsis. *Plant Physiology*, 138(2), 734-743. doi:10.1104/pp.104.053884
- Begara-Morales, J. C., Chaki, M., Valderrama, R., Sánchez-Calvo, B., Mata-Pérez, C., Padilla, M. N., Corpas, F. J. and Barroso, J. B.**, 2018, Nitric oxide buffering and conditional nitric oxide release in stress response. *Journal of experimental botany*, 69(14), 3425-3438.
- Beligni, M., and Lamattina, L.**, 2002, Nitric oxide interferes with plant photo-oxidative stress by detoxifying reactive oxygen species. *Plant, Cell & Environment*, 25(6), 737-748.
- Bellin, D., Asai, S., Delledonne, M., and Yoshioka, H.**, 2013, Nitric oxide as a mediator for defense responses. *Molecular plant-microbe interactions*, 26(3), 271-277.
- Ben-Nissan, G., and Sharon, M.**, 2014, Regulating the 20S Proteasome Ubiquitin-Independent Degradation Pathway. *Biomolecules*, 4(3), 862-884. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2218-273X/4/3/862>
- Bethke, P. C., Libourel, I. G., and Jones, R. L.**, 2006, Nitric oxide reduces seed dormancy in Arabidopsis. *Journal of experimental botany*, 57(3), 517-526.
- Bhattacharjee, S.**, 2012, The language of reactive oxygen species signaling in plants. *Journal of Botany*, 2012(1), 985298.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Bhuyan, M. B., Hasanuzzaman, M., Parvin, K., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., Nahar, K., and Fujita, M.,** 2020, Nitric oxide and hydrogen sulfide: two intimate collaborators regulating plant defense against abiotic stress. *Plant Growth Regulation*, 90, 409-424.
- Bienert, G. P., Møller, A. L. B., Kristiansen, K. A., Schulz, A., Møller, I. M., Schjoerring, J. K., and Jahn, T. P. ,** 2007, Specific Aquaporins Facilitate the Diffusion of Hydrogen Peroxide across Membranes*. *Journal of Biological Chemistry*, 282(2), 1183-1192. doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.M603761200>
- Bies, C., Blum, R., Dudek, J., Nastainczyk, W., Oberhauser, S., Jung, M., and Zimmermann, R.,** 2004, Characterization of pancreatic ERj3p, ahomolog of yeast DnaJ-like protein Scj1p. *Biological Chemistry*, 385(5), 389-395. doi:[doi:10.1515/BC.2004.043](https://doi.org/10.1515/BC.2004.043)
- Biswas, M. S., and Mano, J.,** 2015, Lipid Peroxide-Derived Short-Chain Carbonyls Mediate Hydrogen Peroxide-Induced and Salt-Induced Programmed Cell Death in Plants. *Plant physiology*, 168(3), 885-+. doi:[10.1104/pp.115.256834](https://doi.org/10.1104/pp.115.256834)
- Biswas, M. S., and Mano, J.,** 2016, Reactive carbonyl species activate caspase-3-like protease to initiate programmed cell death in plants. *Plant and Cell Physiology*, 57(7), 1432-1442.
- Biswas, M. S., Fukaki, H., Mori, I. C., Nakahara, K., and Mano, J.,** 2019, Reactive oxygen species and reactive carbonyl species constitute a feed-forward loop in auxin signaling for lateral root formation. *The Plant Journal*, 100(3), 536-548.
- Biswas, M. S., and Mano, J.,** 2021, Lipid Peroxide-Derived Reactive Carbonyl Species as Mediators of Oxidative Stress and Signaling. *Frontiers in Plant Science*, 12. doi:[10.3389/fpls.2021.720867](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.720867)
- Blazquez, M. A., Soowal, L. N., Lee, I., and Weigel, D.,** 1997, LEAFY expression and flower initiation in Arabidopsis. *Development*, 124(19), 3835-3844

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Blée, E.**, 1998, Phytooxylipins and plant defense reactions. *Progress in Lipid Research*, 37(1), 33-72. doi:Doi 10.1016/S0163-7827(98)00004-6
- Boeglin, W. E., Itoh, A., Zheng, Y. X., Coffa, G., Howe, G. A., and Brash, A. R.**, 2008, Investigation of Substrate Binding and Product Stereochemistry Issues in Two Linoleate 9-Lipoxygenases. *Lipids*, 43(11), 979-987. doi:10.1007/s11745-008-3230-1
- Bolwell, G. P., & Wojtaszek, P.**, 1997, Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence—a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 51(6), 347-366.
- Borrelli, V. M. G., Brambilla, V., Rogowsky, P., Marocco, A., and Lanubile, A.**, 2018, The Enhancement of Plant Disease Resistance Using CRISPR/Cas9 Technology, *Frontiers in Plant Science*, 9, 1245 p., doi:10.3389/fpls.2018.01245
- Bors, W., Michel, C., and Saran, M.**, 1979, On the Nature of Biochemically Generated Hydroxyl Radicals Studies using the Bleaching of p-Nitrosodimethylaniline as a Direct Assay Method. *European Journal of Biochemistry*, 95(3), 621-627. doi:https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1979.tb13003.x
- Bowler, C., and Chua, N. H.**, 1994, Emerging Themes of Plant Signal-Transduction. *Plant Cell*, 6(11), 1529-1541. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:A1994PV36600004
- Boyce, D. C., Zayed, A. M., Ascenzi, R., McCaskill, A. J., Hoffman, N. E., Davis, K. R., and Görlach, J.**, 2001, Growth stage-based phenotypic analysis of arabidopsis:: A model for high throughput functional genomics in plants. *Plant Cell*, 13(7), 1499-1510. doi:DOI 10.1105/tpc.13.7.1499
- Braakman, I., Helenius, J., and Helenius, A.**, 1992, Manipulating Disulfide Bond Formation and Protein Folding in the Endoplasmic-Reticulum. *Embo Journal*, 11(5), 1717-1722. doi:DOI 10.1002/j.1460-2075.1992.tb05223.x

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Brandizzi, F.**, 2021, Maintaining the structural and functional homeostasis of the plant endoplasmic reticulum. *Developmental Cell*, 56(7), 919-932. doi:10.1016/j.devcel.2021.02.008
- Brassicaceae Tree of Life** <https://brassitol.vercel.app/> (Erişim tarihi: 17 Aralık 2024)
- Bright, J., Desikan, R., Hancock, J. T., Weir, I. S., and Neill, S. J.**, 2006, ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H₂O₂ synthesis. *The Plant Journal*, 45(1), 113-122.
- Bruslind, L.**, 2019, *Energetics & Redox Reactions*. General Microbiology. <https://open.oregonstate.edu/generalmicrobiology/chapter/energetics-redox-reactions/> (Erişim tarihi: 17 Aralık 2024)
- Bukau, B., Weissman, J., and Horwich, A.**, 2006, Molecular Chaperones and Protein Quality Control. *Cell*, 125(3), 443-451. doi:10.1016/j.cell.2006.04.014
- Cadena-Ramos, A. I., and De-la-Peña, C.**, 2024, Picky eaters: selective autophagy in plant cells. *Plant Journal*, 117(2), 364-384. doi:10.1111/tpj.16508
- Campos, F. V., Oliveira, J. A., Pereira, M. G., and Farnese, F. S.**, 2019, Nitric oxide and phytohormone interactions in the response of *Lactuca sativa* to salinity stress. *Planta*, 250, 1475-1489.
- Carini, M., Aldini, G., Beretta, G., Arlandini, E., and Facino, R. M.**, 2003, Acrolein-sequestering ability of endogenous dipeptides: characterization of carnosine and homocarnosine/acrolein adducts by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of mass spectrometry*, 38(9), 996-1006.
- Carrillo, R., and Christopher, D. A.**, 2022, Development of a GFP biosensor reporter for the unfolded protein response-signaling pathway in plants: incorporation of the bZIP60 intron into the GFP gene. *Plant Signaling & Behavior*, 17(1). doi:ARTN e2098645 10.1080/15592324.2022.2098645

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Case, A. J., Tian, J., and Zimmerman, M. C.**, 2017, Increased mitochondrial superoxide in the brain, but not periphery, sensitizes mice to angiotensin II-mediated hypertension. *Redox Biology*, 11, 82-90. doi:<https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.11.011>
- Chan, H. W. S., Coxon, D. T., Peers, K. E., and Price, K. R.**, 1982, Oxidative Reactions of Unsaturated Lipids. *Food Chemistry*, 9(1-2), 21-34. doi:Doi 10.1016/0308-8146(82)90066-8
- Chang, C., and Meyerowitz, E. M.**, 1986, Molecular cloning and DNA sequence of the Arabidopsis thaliana alcohol dehydrogenase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(5), 1408-1412.
- Chang, C., Bowman, J. L., DeJohn, A. W., Lander, E. S., and Meyerowitz, E. M.**, 1988, Restriction fragment length polymorphism linkage map for Arabidopsis thaliana. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(18), 6856-6860.
- Chen, X., Zeng, Q., and Wood, A. J.**, 2002, The stress-responsive *Tortula ruralis* gene ALDH21A1 describes a novel eukaryotic aldehyde dehydrogenase protein family. *Journal of Plant Physiology*, 159(7), 677-684.
- Chen, Q., and Yang, G.**, 2019, Signal Function Studies of ROS, Especially RBOH-Dependent ROS, in Plant Growth, Development and Environmental Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 157 - 171.
- Chen, S., Jia, H., Wang, X., Shi, C., Wang, X., Ma, P., Wang, J., Ren, M. and Li, J.**, 2020, Hydrogen sulfide positively regulates abscisic acid signaling through persulfidation of SnRK2. 6 in guard cells. *Molecular Plant*, 13(5), 732-744.
- Cifuentes-Esquivel, N., Celiz-Balboa, J., Henriquez-Valencia, C., Mitina, I., Arraño-Salinas, P., Moreno, A. A., Meneses, C., Blanco-Herrera, F. and Orellana, A.**, 2018, bZIP17 regulates the expression of genes related to seed storage and germination, reducing seed susceptibility to osmotic stress. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(8), 6857-6868. doi:10.1002/jcb.26882

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Clerc, S., Hirsch, C., Oggier, D. M., Deprez, P., Jakob, C., Sommer, T., and Aebi, M.,** 2009, Htm1 protein generates the N-glycan signal for glycoprotein degradation in the endoplasmic reticulum. *Journal of Cell Biology*, 184(1), 159-172. doi:10.1083/jcb.200809198
- Colzani, M., Regazzoni, L., Criscuolo, A., Baron, G., Carini, M., Vistoli, G., Lee, Y. -M., Han, S.-I., Aldini, G. and Yeum, K.-J.,** 2018, Isotopic labelling for the characterisation of HNE-sequestering agents in plant-based extracts and its application for the identification of anthocyanidins in black rice with giant embryo. *Free Radical Research*, 52(8), 896-906.
- Corpas, F. J., Palma, J. M., del Río, L. A., and Barroso, J. B.,** 2009, Evidence supporting the existence of L-arginine-dependent nitric oxide synthase activity in plants. *New Phytologist*, 184(1), 9-14. doi:DOI 10.1111/j.1469-8137.2009.02989.x
- Corpas, F. J., Leterrier, M., Valderrama, R., Airaki, M., Chaki, M., Palma, J. M., and Barroso, J. B.,** 2011, Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress. *Plant Science*, 181(5), 604-611.
- Corpas, F. J., Alché, J. D., and Barroso, J. B.,** 2013a, Current overview of S-nitrosoglutathione (GSNO) in higher plants. *Frontiers in plant science*, 4. doi:10.3389/fpls.2013.00126
- Corpas, F. J., Palma, J. M., Del Río, L. A., and Barroso, J. B.,** 2013b, Protein tyrosine nitration in higher plants grown under natural and stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 4, 29.
- Corpas, F. J., Leterrier, M., Begara-Morales, J. C., Valderrama, R., Chaki, M., López-Jaramillo, J., Luque, F., Palma, J. M., Padilla, M. N., Sánchez-Calvo, B., Mata-Pérez, C. and Barroso, J. B.,** 2013c, Inhibition of peroxisomal hydroxypyruvate reductase (HPR1) by tyrosine nitration. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, 1830(11), 4981-4989. doi:10.1016/j.bbagen.2013.07.002

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Corpas, F. J., Gupta, D. K., and Palma, J. M.,** 2015, Production sites of reactive oxygen species (ROS) in organelles from plant cells. *Reactive oxygen species and oxidative damage in plants under stress*, 1-22.
- Corpas, F. J., and Barroso, J. B.,** 2018, Peroxisomal plant metabolism—An update on nitric oxide, Ca²⁺ and the NADPH recycling network. *Journal of Cell Science*, 131(2). doi:ARTN jcs202978 10.1242/jcs.202978
- Corpas, F. J., and Palma, J. M.,** 2018, Assessing nitric oxide (NO) in higher plants: an outline. *Nitrogen*, 1(1), 12-20.
- Corpas, F. J., Barroso, J. B., González-Gordo, S., Muñoz-Vargas, M. A., and Palma, J. M.,** 2019, Hydrogen sulfide: A novel component in Arabidopsis peroxisomes which triggers catalase inhibition. *Journal of integrative plant biology*, 61(7), 871-883.
- Corpas, F. J., González-Gordo, S., and Palma, J. M.,** 2020, Plant Peroxisomes: A Factory of Reactive Species. *Frontiers in Plant Science*, 11. doi:ARTN 853 10.3389/fpls.2020.00853
- Corpas, F. J., and Palma, J. M.,** 2020, H₂S signaling in plants and applications in agriculture. *Journal of advanced research*, 24, 131-137.
- Corpas, F. J., González-Gordo, S., and Palma, J. M.,** 2021a, Nitric oxide and hydrogen sulfide modulate the NADPH-generating enzymatic system in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, 72(3), 830-847. doi:10.1093/jxb/eraa440
- Corpas, F. J., González-Gordo, S., and Palma, J. M.,** 2021b, Protein nitration: A connecting bridge between nitric oxide (NO) and plant stress. *Plant Stress*, 2, 100026.
- Corpas, F. J., González-Gordo, S., and Palma, J. M.,** 2022, NO source in higher plants: present and future of an unresolved question. *Trends in Plant Science*, 27(2), 116-119.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Correa-Aragunde, N., Foresi, N., and Lamattina, L.,** 2015, Nitric oxide is a ubiquitous signal for maintaining redox balance in plant cells: regulation of ascorbate peroxidase as a case study. *Journal of experimental botany*, 66(10), 2913-2921.
- Cortese-Krott, M. M., Koning, A., Kuhnle, G. G., Nagy, P., Bianco, C. L., Pasch, A., Wink, D. A., Fukuto, J. M., Jackson, A. A., van Goor, H., Olson, K. R and Feelish, M.,** 2017, The reactive species interactome: evolutionary emergence, biological significance, and opportunities for redox metabolomics and personalized medicine. *Antioxidants & redox signaling*, 27(10), 684-712.
- Cos, P., Calomme, M., Pieters, L., Vlietinck, A., and Berghe, D. V. ,** 2000, Structure-activity relationship of flavonoids as antioxidant and pro-oxidant compounds. *Studies in natural products chemistry*, 22, 307-341.
- Cueto, M., Hernández-Perera, O., Martín, R., Bentura, M. L., Rodrigo, J., Lamas, S., and Golvano, M. P.,** 1996, Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus*. *FEBS letters*, 398(2-3), 159-164.
- Cui, F., Liu, L., Zhao, Q., Zhang, Z., Li, Q., Lin, B., Wu, Y., Tang, S. T., and Xie, Q.,** 2012, Arabidopsis Ubiquitin Conjugase UBC32 Is an ERAD Component That Functions in Brassinosteroid-Mediated Salt Stress Tolerance *The Plant Cell*, 24(1), 233-244. doi:10.1105/tpc.111.093062
- Cuypers, A., Hendrix, S., Amaral dos Reis, R., De Smet, S., Deckers, J., Gielen, H., Josefczak, M., Loix, C., Vercampt, H., Vangronsveld, J. and Keunen, E.,** 2016, Hydrogen Peroxide, Signaling in Disguise during Metal Phytotoxicity. *Frontiers in Plant Science*, 7. doi:10.3389/fpls.2016.00470
- Czékus, Z., Csíkos, O., Ördög, A., Tari, I., and Poór, P.,** 2020, Effects of Jasmonic Acid in ER Stress and Unfolded Protein Response in Tomato Plants. *Biomolecules*, 10(7). doi:10.3390/biom10071031

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Dar, M. I., Naikoo, M. I., Khan, F. A., Rehman, F., Green, I. D., Naushin, F., and Ansari, A. A.,** 2017, An introduction to reactive oxygen species metabolism under changing climate in plants. *Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress*, 25-52.
- Davies, M. J.,** 2004, Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 3(1), 17-25. doi:10.1039/b307576c
- Davis, S. J.,** 2009, Integrating hormones into the floral-transition pathway of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Environment*, 32(9), 1201-1210. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.01968.x
- De Gara, L., Locato, V., Dipierro, S., and de Pinto, M. C.,** 2010, Redox homeostasis in plants. The challenge of living with endogenous oxygen production. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 173, S13-S19. doi:10.1016/j.resp.2010.02.007
- De Veylder, L., Beeckman, T., and Inzé, D.,** 2007, The ins and outs of the plant cell cycle. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(8), 655-665. doi:10.1038/nrm2227
- Dekkers, B. J. W., and Bentsink, L.,** 2015, Regulation of seed dormancy by abscisic acid and. *Seed Science Research*, 25(2), 82-98. doi:10.1017/S0960258514000415
- del Río, L. A.,** 2011, Peroxisomes as a cellular source of reactive nitrogen species signal molecules. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 506(1), 1-11. doi:10.1016/j.abb.2010.10.022
- del Río, L. A.,** 2015, ROS and RNS in plant physiology: an overview. *Journal of Experimental Botany*, 66(10), 2827-2837.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- del Río, L. A., Corpas, F. J., Barroso, J. B., López-Huertas, E., & Palma, J. M.,** 2014, Function of peroxisomes as a cellular source of nitric oxide and other reactive nitrogen species. *Nitric oxide in plants: metabolism and role in stress physiology*, 33-55.
- Demidchik, V., Nichols, C., Oliynyk, M., Dark, A., Glover, B. J., and Davies, J. M.,** 2003, Is ATP a signaling agent in plants? *Plant Physiology*, 133(2), 456-461.
- Deng, Y., Srivastava, R., and Howell, S. H.,** 2013, Endoplasmic reticulum (ER) stress response and its physiological roles in plants. *International journal of molecular sciences*, 14(4), 8188-8212.
- Depaepe, T., Hendrix, S., Janse van Rensburg, H. C., Van den Ende, W., Cuypers, A., and Van Der Straeten, D.,** 2021, At the Crossroads of Survival and Death: The Reactive Oxygen Species-Ethylene-Sugar Triad and the Unfolded Protein Response. *Trends Plant Sci*, 26(4), 338-351. doi:10.1016/j.tplants.2020.12.007
- Devireddy, A. R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y., and Mittler, R.,** 2021, Integration of reactive oxygen species and hormone signaling during abiotic stress. *The Plant Journal*, 105(2), 459-476. doi:https://doi.org/10.1111/tpj.15010
- Dhiman, S., Ibrahim, M., Khanna, K., Bhardwaj, T., Devi, K., Sharma, I., Arora, U., Mir, B. A. and Bhardwaj, R.,** 2023, Cross-talk between ROS, RNS, RCS, and RSS in plants under abiotic stresses. In *Nitric Oxide in Developing Plant Stress Resilience* (pp. 305-326): Elsevier.
- Di Berardino, J., Marmagne, A., Berger, A., Yoshimoto, K., Cueff, G., Chardon, F., Masclaux-Daubresse, C. and Reisdorf-Cren, M.,** 2018, Autophagy controls resource allocation and protein storage accumulation in Arabidopsis seeds. *Journal of Experimental Botany*, 69(6), 1403-1414. doi:10.1093/jxb/ery012

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Di Fino, L., Arruebarrena Di Palma, A., Perk, E. A., García-Mata, C., Schopfer, F. J., and Laxalt, A. M.,** 2021, Nitro-fatty acids: electrophilic signaling molecules in plant physiology. *Planta*, 254, 1-10.
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., and Victor, V. M.,** 2016, Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. doi:Artn 1245049 10.1155/2016/1245049
- Di Meo, S., and Venditti, P.,** 2020, Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020(1), 9829176.
- Dietz, K.-J.,** 2011, Peroxiredoxins in plants and cyanobacteria. *Antioxidants & redox signaling*, 15(4), 1129-1159.
- Dietz, K. J.,** 2014, Redox Regulation of Transcription Factors in Plant Stress Acclimation and Development. *Antioxidants & Redox Signaling*, 21(9), 1356-1372. doi:10.1089/ars.2013.5672
- Dixon, D. P., Hawkins, T., Hussey, P. J., and Edwards, R.,** 2009, Enzyme activities and subcellular localization of members of the Arabidopsis glutathione transferase superfamily. *Journal of experimental botany*, 60(4), 1207-1218.
- Dixon, D. P., Van Lith, M., Edwards, R., and Benham, A.,** 2003, Cloning and initial characterization of the Arabidopsis thaliana endoplasmic reticulum oxidoreductins. *Antioxid Redox Signal*, 5(4), 389-396. doi:10.1089/152308603768295122
- Doody, E., Zha, Y., He, J., and Poethig, S.,** 2021, QTL analysis of vegetative phase change in natural accessions of Arabidopsis thaliana. *bioRxiv*, 2021.2010. 2027.465806.
- Dorion, S., Ouellet, J. C., and Rivoal, J.,** 2021, Glutathione Metabolism in Plants under Stress: Beyond Reactive Oxygen Species Detoxification. *Metabolites*, 11(9). doi:10.3390/metabo11090641

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Dreyer, A., and Dietz, K. J.**, 2018, Reactive Oxygen Species and the Redox-Regulatory Network in Cold Stress Acclimation. *Antioxidants*, 7(11). doi:ARTN 16910.3390/antiox7110169
- Dröge-Laser, W., Snoek, B. L., Snel, B., and Weiste, C.**, 2018, The Arabidopsis BZIP Transcription Factor Family—An Update. *Current Opinion in Plant Biology*, 45, 36-49. doi:10.1016/j.pbi.2018.05.001
- Duan, Z. H., Chen, K., Yang, T., You, R. H., Chen, B. Z., Li, J. M., and Liu, L. C.**, 2023, Mechanisms of Endoplasmic Reticulum Protein Homeostasis in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(24). doi:10.3390/ijms242417599
- Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., and Jaćević, V.**, 2021, The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. *Frontiers in plant science*, 11, 552969.
- Dumont, S., and Rivoal, J.**, 2019, Consequences of Oxidative Stress on Plant Glycolytic and Respiratory Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10. doi:10.3389/fpls.2019.00166
- Egorov, S. Y., Kamalov, V. F., Koroteev, N. I., Krasnovsky, A. A., Toleutaev, B. N., and Zinukov, S. V.**, 1989, Rise and decay kinetics of photosensitized singlet oxygen luminescence in water. Measurements with nanosecond time-correlated single photon counting technique. *Chemical Physics Letters*, 163(4), 421-424. doi:https://doi.org/10.1016/0009-2614(89)85161-9
- El-Kabbani, O., Judge, K., Ginell, S. L., Myles, D. A., DeLucas, L. J., and Flynn, T. G.**, 1995, Structure of porcine aldehyde reductase holoenzyme. *nature structural biology*, 2(8), 687-692.
- El-Kabbani, O., Carbone, V., Darmanin, C., Oka, M., Mitschler, A., Podjarny, A., Schulze-Briese, C. and Chung, R. P.-T.**, 2005, Structure of aldehyde reductase holoenzyme in complex with the potent aldose reductase inhibitor fidarestat: implications for inhibitor binding and selectivity. *Journal of medicinal chemistry*, 48(17), 5536-5542.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Ellgaard, L., and Helenius, A.,** 2003, Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(3), 181-191. doi:10.1038/nrm1052
- Ellis, T. J., and Ågren, J.,** 2024, Adaptation to soil type contributes little to local adaptation in an Italian and a Swedish ecotype of *Arabidopsis thaliana* on contrasting soils. *Biology Letters*, 20(9), 20240236.
- Elstner, E. F.,** 1982, Oxygen Activation and Oxygen Toxicity. *Annual Review of Plant Biology*, 33(Volume 33, 1982), 73-96. doi:https://doi.org/10.1146/annurev.pp.33.060182.000445
- Espey, M. G., Thomas, D. D., Miranda, K. M., and Wink, D. A.,** 2002, Focusing of nitric oxide mediated nitrosation and oxidative nitrosylation as a consequence of reaction with superoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(17), 11127-11132.
- Esterbauer, H., Zöllner, H., & Scholz, N.,** 1975, Reaction of glutathione with conjugated carbonyls. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 30(7-8), 466-473.
- Esterbauer, H., Schaur, R. J., and Zollner, H.,** 1991, Chemistry and Biochemistry of 4-Hydroxynonenal, Malonaldehyde and Related Aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), 81-128. doi:10.1016/0891-5849(91)90192-6
- Éva, C., Zelenyánszki, H., Tömösközi-Farkas, R., and Tamás, L.,** 2014, Transgenic barley expressing the *Arabidopsis* AKR4C9 aldo-keto reductase enzyme exhibits enhanced freezing tolerance and regenerative capacity. *South African Journal of Botany*, 93, 179-184.
- Fanata, W. I. D., Lee, S. Y., and Lee, K. O.,** 2013, The unfolded protein response in plants: A fundamental adaptive cellular response to internal and external stresses. *Journal of Proteomics*, 93, 356-368. doi:10.1016/j.jprot.2013.04.023
- Farmer, E. E., and Davoine, C.,** 2007, Reactive electrophile species. *Current opinion in plant biology*, 10(4), 380-386.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Farmer, E. E., and Mueller, M. J.**, 2013, ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 64, 429-450. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120132
- Farooq, M. A., Niazi, A. K., Akhtar, J., Saifullah, Farooq, M., Souri, Z., Karimi, N., and Rengel, Z.**, 2019, Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, 353-369. doi:10.1016/j.plaphy.2019.04.039
- Fatma, M., Iqbal, N., Sehar, Z., Alyemeni, M. N., Kaushik, P., Khan, N. A., and Ahmad, P.**, 2021, Methyl Jasmonate Protects the PS II System by Maintaining the Stability of Chloroplast D1 Protein and Accelerating Enzymatic Antioxidants in Heat-Stressed Wheat Plants. *Antioxidants*, 10(8). doi:10.3390/antiox10081216
- Faure, J. E., Rotman, N., Fortuné, P., and Dumas, C.**, 2002, Fertilization in *Arabidopsis thaliana* wild type: developmental stages and time course. *Plant Journal*, 30(4), 481-488. doi:DOI 10.1046/j.1365-313X.2002.01305.x
- Feldmann, K. A., and David Marks, M.**, 1987, *Agrobacterium*-mediated transformation of germinating seeds of *Arabidopsis thaliana*: a non-tissue culture approach. *Molecular and General Genetics MGG*, 208, 1-9.
- Ferrándiz, C., Pelaz, S., and Yanofsky, M. F.**, 1999, Control of carpel and fruit development in *arabidopsis*. *Annual Review of Biochemistry*, 68, 321-354. doi:DOI 10.1146/annurev.biochem.68.1.321
- Feussner, I., and Wasternack, C.**, 2002, The lipoxygenase pathway. *Annual review of plant biology*, 53(1), 275-297.
- Filiz, E., Vatansever, R., and Ozyigit, I. I.**, 2017, Insights into a key sulfite scavenger enzyme sulfite oxidase (SOX) gene in plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 385-395.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Flanders, D. J., Weng, S., Petel, F. X., and Cherry, J. M.,** 1998, AtDB, the Arabidopsis thaliana database, and graphical-web-display of progress by the Arabidopsis Genome Initiative. *Nucleic Acids Research*, 26(1), 80-84.
- Flogel, U., Merx, M., Godecke, A., Decking, U., and Schrader, J.,** 2001, Myoglobin: A scavenger of bioactive NO (vol 98, pg 735, 2001). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(7), 4276-4276.
- Foyer, C. H., and Halliwell, B.,** 1976, The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133, 21-25.
- Foyer, C. H., and Noctor, G.,** 2005, Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell and Environment*, 28(8), 1056-1071. doi:DOI 10.1111/j.1365-3040.2005.01327.x
- Foyer, C. H., and Noctor, G.** 2016, Stress-triggered redox signalling: what's in pROSpect? *Plant, cell & environment*, 39(5), 951-964.
- Foyer, C. H., and Shigeoka, S.,** 2011, Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. *Plant Physiology*, 155(1), 93-100. doi:10.1104/pp.110.166181
- Fridman, V. A., Fadeev, V. S., Tyurin, A. A., Demyanchuk, I. S., and Goldenkova-Pavlova, I. V.,** 2023, Cultivation of Arabidopsis thaliana in a Laboratory Environment, *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(4), 90 p. doi:10.1134/S1021443723700139
- Fritsche, S., Wang, X. X., and Jung, C.,** 2017, Recent Advances in our Understanding of Tocopherol Biosynthesis in Plants: An Overview of Key Genes, Functions, and Breeding of Vitamin E Improved Crops. *Antioxidants*, 6(4). doi:10.3390/antiox6040099

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Fuentes-Lara, L. O., Medrano-Macías, J., Pérez-Labrada, F., Rivas-Martínez, E. N., García-Enciso, E. L., González-Morales, S., Juárez-Maldonado, A.; Rincón-Sánchez, F. And Benavides-Mendoza, A.,** 2019, From Elemental Sulfur to Hydrogen Sulfide in Agricultural Soils and Plants. *Molecules*, 24(12). doi:10.3390/molecules24122282
- Fujimori, T., Suno, R., Iemura, S.-i., Natsume, T., Wada, I., and Hosokawa, N.,** 2017, Endoplasmic reticulum proteins SDF2 and SDF2L1 act as components of the BiP chaperone cycle to prevent protein aggregation. *Genes to Cells*, 22(8), 684-698. doi:https://doi.org/10.1111/gtc.12506
- Fujita, M., and Hasanuzzaman, M.,** 2022, Approaches to Enhancing Antioxidant Defense in Plants. *Antioxidants*, 11(5). doi:10.3390/antiox11050925
- Galatro, A., Puntarulo, S., Guiamet, J. J., and Simontacchi, M.,** 2013, Chloroplast functionality has a positive effect on nitric oxide level in soybean cotyledons. *Plant Physiology and Biochemistry*, 66, 26-33.
- Gao, J., Wang, M. J., Wang, J. J., Lu, H. P., and Liu, J. X.,** 2022, bZIP17 regulates heat stress tolerance at reproductive stage in. *Abiotech*, 3(1), 1-11. doi:10.1007/s42994-021-00062-1
- Garai, S., Bhowal, B., Gupta, M., Sopory, S. K., Singla-Pareek, S. L., Pareek, A., and Kaur, C.,** 2024, Role of methylglyoxal and redox homeostasis in microbe-mediated stress mitigation in plants. *Plant Science*, 338. doi:ARTN 111922 10.1016/j.plantsci.2023.111922
- Garattini, E., Mendel, R., Romão, M. J., Wright, R., and Terao, M.,** 2003, Mammalian molybdo-flavoenzymes, an expanding family of proteins: structure, genetics, regulation, function and pathophysiology. *Biochemical Journal*, 372(1), 15-32.
- García-Caparrós, P., De Filippis, L., Gul, A., Hasanuzzaman, M., Ozturk, M., Altay, V., and Lao, M. T.,** 2021, Oxidative Stress and Antioxidant Metabolism under Adverse Environmental Conditions: a Review. *Botanical Review*, 87(4), 421-466. doi:10.1007/s12229-020-09231-1

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Gardner, H. W.**, 2016, Formation of (2E)-4-hydroxy-2-nonenal and (2E)-4-hydroxy-2-hexenal by plant enzymes: A review suggests a role in the physiology of plants. *Advances in Enzyme Research*, 4(2), 56-61.
- Gechev, T. S., Van Breusegem, F., Stone, J. M., Denev, I., and Laloi, C.**, 2006, Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *Bioessays*, 28(11), 1091-1101. doi:10.1002/bies.20493
- Gerakis, Y., Quintero, M., Li, H. L., and Hetz, C.**, 2019, The UFMylation System in Proteostasis and Beyond. *Trends in Cell Biology*, 29(12), 974-986. doi:10.1016/j.tcb.2019.09.005
- Gerard-Monnier, D., and Chaudiere, J.**, 1996, Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathologie-biologie*, 44(1), 77-85.
- Germain, H., Chevalier, E., and Matton, D. P.**, 2006, Plant bioactive peptides: an expanding class of signaling molecules. *Canadian Journal of Botany- Revue Canadienne De Botanique*, 84(1), 1-19. doi:10.1139/B05-162
- Giles, G. I., Nasim, M. J., Ali, W., and Jacob, C.**, 2017, The Reactive Sulfur Species Concept: 15 Years On. *Antioxidants*, 6(2). doi:10.3390/antiox6020038
- Gill, S. S., and Tuteja, N.**, 2010, Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gilroy, S., Bialasek, M., Suzuki, N., Górecka, M., Devireddy, A. R., Karpiński, S., and Mittler, R.**, 2016, ROS, Calcium, and Electric Signals: Key Mediators of Rapid Systemic Signaling in Plants *Plant Physiology*, 171(3), 1606-1615. doi:10.1104/pp.16.00434
- Global Biodiversity Information Facility (GBIF) Secretariat**, 2023, <https://www.gbif.org/species/113591039> (Erişim tarihi: 17 Aralık 2024)

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Gogoi, K., Gogoi, H., Borgohain, M., Saikia, R., Chikkaputtaiah, C., Hiremath, S., and Basu, U.,** 2024, The molecular dynamics between reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS) and phytohormones in plant's response to biotic stress. *Plant Cell Reports*, 43(11), 1-25.
- Goosey, L., and Sharrock, R.,** 2001, The Arabidopsis compact inflorescence genes: phase-specific growth regulation and the determination of inflorescence architecture. *Plant Journal*, 26(5), 549-559. doi:DOI 10.1046/j.1365-313x.2001.01053.x
- Govaerts, R., Lughadha, E. N., Black, N., Turner, R., and Paton, A.,** 2021, The World Checklist of Vascular Plants, a continuously updated resource for exploring global plant diversity. *Scientific Data*, 8(1). doi:10.1038/s41597-021-00997-6
- Gronwald, J. W., and Plaisance, K. L.,** 1998, Isolation and characterization of glutathione S-transferase isozymes from sorghum. *Plant Physiology*, 117(3), 877-892. doi:DOI 10.1104/pp.117.3.877
- Grosch, W.,** 1987, Reactions of hydroperoxides-products of low molecular weight. *Autoxidation of unsaturated lipids*, 95-139.
- Gross, A., McDonnell, J. M., and Korsmeyer, S. J.,** 1999, BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes & Development*, 13(15), 1899-1911. doi:DOI 10.1101/gad.13.15.1899
- Gruhlke, M. C., and Slusarenko, A. J.,** 2012, The biology of reactive sulfur species (RSS). *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 98-107.
- Gruhlke, M. C.,** 2019, Reactive Sulfur Species A New Player in Plant Physiology? *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms, Vols 1-2*, 715-728. doi:Book_Doi 10.1002/9781119468677
- Grumati, P., Dikic, I., and Stolz, A.,** 2018, ER-phagy at a glance. *Journal of Cell Science*, 131(17). doi:10.1242/jcs.217364

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Grün, S., Lindermayr, C., Sell, S., and Durner, J.,** 2006, Nitric oxide and gene regulation in plants. *Journal of Experimental Botany*, 57(3), 507-516.
- Grzam, A., Martin, M. N., Hell, R., and Meyer, A. J.,** 2007, γ -Glutamyl transpeptidase GGT4 initiates vacuolar degradation of glutathione S-conjugates in Arabidopsis. *FEBS Letters*, 581(17), 3131-3138. doi:<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.05.071>
- Guerrero, F. D., Jones, J. T., and Mullet, J. E.,** 1990, Turgor-responsive gene transcription and RNA levels increase rapidly when pea shoots are wilted. Sequence and expression of three inducible genes. *Plant Molecular Biology*, 15, 11-26.
- Guo, K., Wang, W., Fan, W. W., Wang, Z. Y., Zhu, M. L., Tang, X. H., Wu, W., Yang, X., Shao, X., Sun, Y., Zhang, W. and Li, X. F.,** 2018, Arabidopsis GAAP1 and GAAP3 Modulate the Unfolded Protein Response and the Onset of Cell Death in Response to ER Stress. *Frontiers in Plant Science*, 9. doi:[10.3389/fpls.2018.00348](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00348)
- Gupta, K. J., Stoimenova, M., and Kaiser, W. M.,** 2005, In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, in vitro and in situ. *Journal of Experimental Botany*, 56(420), 2601-2609.
- Gupta, K. J., and Kaiser, W. M.,** 2010, Production and scavenging of nitric oxide by barley root mitochondria. *Plant and Cell Physiology*, 51(4), 576-584.
- Gupta, K. J., Fernie, A. R., Kaiser, W. M., and van Dongen, J. T.,** 2011, On the origins of nitric oxide. *Trends in plant science*, 16(3), 160-168.
- Haber, F., and Weiss, J.,** 1934, The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A-Mathematical and Physical Sciences*, 147(861), 332-351.
- Halliwell, B.,** 2006, Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology*, 141(2), 312-322. doi:[10.1104/pp.106.077073](https://doi.org/10.1104/pp.106.077073)

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Halliwell, B., and Gutteridge, J. M.,** 2015, *Free radicals in biology and medicine:* Oxford university press, USA.
- Hammarberg, T., Provost, P., Persson, B., and Rådmark, O.,** 2000, The N-terminal domain of 5-lipoxygenase binds calcium and mediates calcium stimulation of enzyme activity. *Journal of Biological Chemistry*, 275(49), 38787-38793. doi:DOI 10.1074/jbc.M006136200
- Han, J. J., Yang, X. Y., Wang, Q., Tang, L., Yu, F. F., Huang, X. H., Wang, Y., Liu, J. X. and Xie, Q.,** 2019, The $\beta 5$ subunit is essential for intact 26S proteasome assembly to specifically promote plant autotrophic growth under salt stress. *New Phytologist*, 221(3), 1359-1368. doi:10.1111/nph.15471
- Hancock, J. T., and Veal, D.,** 2021, Nitric oxide, other reactive signalling compounds, redox, and reductive stress. *Journal of Experimental Botany*, 72(3), 819-829.
- Hänsch, R., and Mendel, R. R.,** 2005, Sulfite oxidation in plant peroxisomes. *Photosynthesis Research*, 86(3), 337-343. doi:10.1007/s11120-005-5221-x
- Hänsch, R., Lang, C., Riebeseel, E., Lindigkeit, R., Gessler, A., Rennenberg, H., and Mendel, R. R.,** 2006, Plant sulfite oxidase as novel producer of H₂O₂: combination of enzyme catalysis with a subsequent non-enzymatic reaction step. *Journal of Biological Chemistry*, 281(10), 6884-6888.
- Hanson, S. R., Culyba, E. K., Hsu, T.-L., Wong, C.-H., Kelly, J. W., and Powers, E. T.,** 2009, The core trisaccharide of an N-linked glycoprotein intrinsically accelerates folding and enhances stability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(9), 3131-3136. doi:doi:10.1073/pnas.0810318105
- Hao, Q., and Maret, W.,** 2006, Aldehydes release zinc from proteins. A pathway from oxidative stress/lipid peroxidation to cellular functions of zinc. *The FEBS journal*, 273(18), 4300-4310.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Mahmud, J., Nahar, K., Mohsin, S., Parvin, K., and Fujita, M.,** 2018a, Interaction of sulfur with phytohormones and signaling molecules in conferring abiotic stress tolerance to plants. *Plant signaling & behavior*, 13(5), e1477905.
- Hasanuzzaman, M., Mahmud, J. A., Anee, T. I., Nahar, K., and Islam, M. T.,** 2018b, Drought stress tolerance in wheat: omics approaches in understanding and enhancing antioxidant defense. *Abiotic stress-mediated sensing and signaling in plants: an omics perspective*, 267-307.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Bhuyan, M. B., Oku, H., and Fujita, M.,** 2018c, Exogenous nitric oxide pretreatment protects *Brassica napus* L. seedlings from paraquat toxicity through the modulation of antioxidant defense and glyoxalase systems. *Plant physiology and biochemistry*, 126, 173-186.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Rahman, A., Inafuku, M., Oku, H., and Fujita, M.,** 2018d, Exogenous nitric oxide donor and arginine provide protection against short-term drought stress in wheat seedlings. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24, 993-1004.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., Hossen, M.S., Zulfiqar, F., Alam, M.M. and Fujita, M.,** 2020a, Regulation of ROS Metabolism in Plants under Environmental Stress: A Review of Recent Experimental Evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22). doi:10.3390/ijms21228695
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M. and Fotopoulos, V.,** 2020b, Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hasanuzzaman, M., Raihan, M. R. H., Khojah, E., Samra, B. N., Fujita, M., and Nahar, K.,** 2021, Biochar and chitosan regulate antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems and enhance salt tolerance in jute (*Corchorus olitorius* L.). *Antioxidants*, 10(12), 2017.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Haskirli, H., Yilmaz, O., Ozgur, R., Uzilday, B., and Turkan, I.,** 2021, Melatonin mitigates UV-B stress via regulating oxidative stress response, cellular redox and alternative electron sinks in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 182, 112592. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112592>
- Hauge, B.M., Hanley, S.M., Cartinhour, S., Cherry, J.M., Goodman, H.M., Koornneef, M., Stam, P., Chang, C., Kempin, S., Medrano, L. and Meyerowitz, E.M.,** 1993, An integrated genetic/RFLP map of the *Arabidopsis thaliana* genome. *The Plant Journal*, 3(5), 745-754.
- He, Y., Tang, R.-H., Hao, Y., Stevens, R. D., Cook, C. W., Ahn, S. M., Jing, L., Yang, Z., Chen, L., Guo, F., Fiorani, F., Jackson, R. B., Crawford, N. M., and Pei Z.-M.,** 2004, Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition. *Science*, 305(5692), 1968-1971.
- Helenius, A., and Aebi, M.,** 2004, Roles of N-Linked Glycans in the Endoplasmic Reticulum. *Annual Review of Biochemistry*, 73(Volume 73, 2004), 1019-1049. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073752>
- Hendriks, K. P., Kiefer, C., Al-Shehbaz, I. A., Bailey, C. D., van Huysduynen, A. H., Nikolov, L. A., Nauheimer, L., Zuntini, A. R., German, D. A., Franzke, A., Koch, M. A., Lysak, M. A., Toro-Núñez, O., Özüdoğru, B., Invernón, V. R., Walden, N., Maurin, O., Hay, N. M., Shushkov, P., Mandáková, T., Schranz, M. E., Thulin, M., Windham, M. D., Rešetnik, I., Španiel, S., Ly, E., Pires, J. C., Harkess, A., Neuffer, B., Vogt, R. Bräuchler, C., Rainer, H., Janssens, S. B., Schmull, M., Forrest, A., Guggisberg, A., Zmarzty, S., Lepschi, B. J., Scarlett, N., Stauffer, F. W., Schönberger, I., Heenan, P., Baker, W. J., Félix Forest, F., Mummenhoff, K. and Lens, F.,** 2023, Global Brassicaceae phylogeny based on filtering of 1,000-gene dataset. *Current Biology*, 33(19), 4052-+. doi:[10.1016/j.cub.2023.08.026](https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.08.026)

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Hennig, L., Gruissem, W., Grossniklaus, U., and Köhler, C.,** 2004, Transcriptional programs of early reproductive stages in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 135(3), 1765-1775. doi:10.1104/pp.104.043182
- Henry, Y. A., Guissani, A., Ducastel, B., Henry, Y. A., Ducastel, B., and Guissani, A.,** 1997, Basic chemistry of nitric oxide and related nitrogen oxides. *Nitric oxide research from chemistry to biology*, 15-46.
- Henzler, T., and Steudle, E.,** 2000, Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in chara corallina: Model calculations and measurements with the pressure probe suggest transport of H_2O_2 across water channels. *Journal of Experimental Botany*, 51(353), 2053-2066. doi:10.1093/jexbot/51.353.2053
- Herrero, E., Ros, J., Bellí, G., and Cabisco, E.,** 2008, Redox control and oxidative stress in yeast cells. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, 1780(11), 1217-1235. doi:10.1016/j.bbagen.2007.12.004
- Hetz, C., Zhang, K., and Kaufman, R. J.,** 2020, Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(8), 421-438. doi:10.1038/s41580-020-0250-z
- Hijazi, I., Knupp, J., and Chang, A.,** 2020, Retrograde signaling mediates an adaptive survival response to endoplasmic reticulum stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Cell Science*, 133(6). doi:10.1242/jcs.241539
- Hill, B. G., and Bhatnagar, A.,** 2012, Protein S-glutathiolation: redox-sensitive regulation of protein function. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 52(3), 559-567.
- Hille, R.,** 2005, Molybdenum-containing hydroxylases. *Archives of biochemistry and biophysics*, 433(1), 107-116.
- Hille, R., Nishino, T., and Bittner, F.,** 2011, Molybdenum enzymes in higher organisms. *Coordination chemistry reviews*, 255(9-10), 1179-1205.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Hille, R., Hall, J., and Basu, P. ,** 2014, The mononuclear molybdenum enzymes. *Chemical reviews*, 114(7), 3963-4038.
- Hirschmann, F., Krause, F., and Papenbrock, J.,** 2014, The multi-protein family of sulfotransferases in plants: composition, occurrence, substrate specificity, and functions. *Frontiers in plant science*, 5, 556.
- Hoffmann, M. H.,** 2002, Biogeography of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae). *Journal of Biogeography*, 29(1), 125-134. doi:DOI 10.1046/j.1365-2699.2002.00647.x
- Hoffmann, M. H.,** 2005, Evolution of the realized climatic niche IN the genus: *Arabidopsis* (BRASSICACEAE). *Evolution*, 59(7), 1425-1436.
- Holdsworth, M. J., Bentsink, L., and Soppe, W. J. J.,** 2008, Molecular networks regulating *Arabidopsis* seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytologist*, 179(1), 33-54. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02437.x
- Hosokawa, N., Kamiya, Y., Kamiya, D., Kato, K., and Nagata, K.,** 2009, Human OS-9, a lectin required for glycoprotein endoplasmic reticulum-associated degradation, recognizes mannose-trimmed N-glycans. *Journal of Biological Chemistry*, 284(25), 17061-17068. doi:10.1074/jbc.M809725200
- Hossain, M. A., and Fujita, M.,** 2010, Evidence for a role of exogenous glycinebetaine and proline in antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems in mung bean seedlings under salt stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16, 19-29.
- Hossain, M. A., Henríquez-Valencia, C., Gómez-Páez, M., Medina, J., Orellana, A., Vicente-Carbajosa, J., and Zouhar, J.,** 2016, Identification of Novel Components of the Unfolded Protein Response in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 7. doi:10.3389/fpls.2016.00650
- Howell, S. H.,** 2013, Endoplasmic reticulum stress responses in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 64, 477-499. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120053

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Huala, E., Dickerman, A. W., Garcia-Hernandez, M., Weems, D., Reiser, L., LaFond, F., Hanley, D., Kiphart, D., Zhuang, M., Huang, W., Mueller, L. A., Bhattacharyya, D., Bhaya, D., Sobral, B. W., Beavis, W., Meinke, D. W., Town, C. D., Somerville, C., Rhee, S.Y., 2001,** The Arabidopsis Information Resource (TAIR): a comprehensive database and web-based information retrieval, analysis, and visualization system for a model plant. *Nucleic Acids Research*, 29(1), 102-105.
- Huang, H. L., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M., and Zhao, Y., 2019,** Mechanisms of ROS Regulation of Plant Development and Stress Responses. *Frontiers in Plant Science*, 10. doi:ARTN 800 10.3389/fpls.2019.00800
- Hudlicky, M., 1984,** Reductions in organic chemistry. Chichester: Ellis Horwood.
- Hudlicky, M., 1990,** Oxidations in organic chemistry. American Chemical Society.
- Hussain, A., Mun, B.-G., Imran, Q. M., Lee, S.-U., Adamu, T. A., Shahid, M., Kim, K.-M. and Yun, B.-W., 2016a,** Nitric oxide mediated transcriptome profiling reveals activation of multiple regulatory pathways in Arabidopsis thaliana. *Frontiers in plant science*, 7, 975.
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., and Rahu, N., 2016b,** Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us? *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016(1), 7432797.
- Hüttner, S., Veit, C., Schoberer, J., Grass, J., and Strasser, R., 2012,** Unraveling the function of Arabidopsis thaliana OS9 in the endoplasmic reticulum-associated degradation of glycoproteins. *Plant Molecular Biology*, 79(1-2), 21-33. doi:10.1007/s11103-012-9891-4
- Hwang, I., Uddin, M. J., Pak, E. S., Kang, H., Jin, E.-J., Jo, S., Kang, D. Lee, H. and Ha, H., 2020,** The impaired redox balance in peroxisomes of catalase knockout mice accelerates nonalcoholic fatty liver disease through endoplasmic reticulum stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 148, 22-32. doi:https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.025

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Ibdah, M., Chen, Y.-T., Wilkerson, C. G., and Pichersky, E.**, 2009, An aldehyde oxidase in developing seeds of *Arabidopsis* converts benzaldehyde to benzoic acid. *Plant Physiology*, 150(1), 416-423.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS) on-line database**, www.itis.gov, CC0 <https://doi.org/10.5066/F7KH0KBK> (Erişim tarihi: 17 Aralık 2024)
- International Arabidopsis Informatics Consortium**, 2010, An international bioinformatics infrastructure to underpin the *Arabidopsis* community. *Plant Cell*, 22(8), 2530-2536. doi:10.1105/tpc.110.078519
- International Arabidopsis Informatics Consortium**, 2012, Taking the next step: building an *Arabidopsis* information portal. *Plant Cell*, 24(6), 2248-2256. doi:10.1105/tpc.112.100669
- International Conference on Arabidopsis Research (ICAR)**, <https://www.arabidopsisresearch.org/index.php/en/icar> (Erişim tarihi 17 Aralık 2024).
- Islam, M. M., Ye, W., Matsushima, D., Rhaman, M. S., Munemasa, S., Okuma, E., Nakamura, Y., Biswas, M. S., Mano, J. and Murata, Y.**, 2019, Reactive carbonyl species function as signal mediators downstream of H₂O₂ production and regulate [Ca²⁺] cyt elevation in ABA signal pathway in *Arabidopsis* guard cells. *Plant and Cell Physiology*, 60(5), 1146-1159.
- Iwata, Y., and Koizumi, N.**, 2005, An *Arabidopsis* transcription factor, AtbZIP60, regulates the endoplasmic reticulum stress response in a manner unique to plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(14), 5280-5285. doi:10.1073/pnas.0408941102
- Iwata, Y., and Koizumi, N.**, 2012, Plant transducers of the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Trends in Plant Science*, 17(12), 720-727. doi:DOI 10.1016/j.tplants.2012.06.014

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Iwata, Y., Fedoroff, N. V., and Koizumi, N.,** 2008, bZIP60 Is a Proteolysis-Activated Transcription Factor Involved in the Endoplasmic Reticulum Stress Response. *Plant Cell*, 20(11), 3107-3121. doi:10.1105/tpc.108.061002
- Jacob, C., and Anwar, A.,** 2008, The chemistry behind redox regulation with a focus on sulphur redox systems. *Physiologia Plantarum*, 133(3), 469-480. doi:10.1111/j.1399-3054.2008.01080.x
- Jacques, S., Ghesquière, B., Van Breusegem, F., and Gevaert, K.,** 2013, Plant proteins under oxidative attack. *PROTEOMICS*, 13(6), 932-940. doi:https://doi.org/10.1002/pmic.201200237
- Jajic, I., Sarna, T., and Strzalka, K.,** 2015, Senescence, stress, and reactive oxygen species. *Plants*, 4(3), 393-411.
- Jasid, S., Simontacchi, M., Bartoli, C. G., and Puntarulo, S.,** 2006, Chloroplasts as a nitric oxide cellular source. Effect of reactive nitrogen species on chloroplastic lipids and proteins. *Plant Physiology*, 142(3), 1246-1255.
- Jimenez, A., Hernandez, J. A., del Rio, L. A., and Sevilla, F.,** 1997, Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant physiology*, 114(1), 275-284.
- Jin, Y., Zhuang, M., and Hendershot, L. M.,** 2009, ERdj3, a Luminal ER DnaJ Homologue, Binds Directly to Unfolded Proteins in the Mammalian ER: Identification of Critical Residues. *Biochemistry*, 48(1), 41-49. doi:10.1021/bi8015923
- Juan, C. A., de la Lastra, J. M. P., Plou, F. J., and Pérez-Lebeña, E.,** 2021, The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9). doi:ARTN 4642 10.3390/ijms22094642

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Jung, C. H., Ro, S.-H., Cao, J., Otto, N. M., and Kim, D.-H.**, 2010, mTOR regulation of autophagy. *FEBS Letters*, 584(7), 1287-1295. doi:<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.01.017>
- Kamauchi, S., Nakatani, H., Nakano, C., and Urade, R.**, 2005, Gene expression in response to endoplasmic reticulum stress in *Arabidopsis thaliana*. *Febs j*, 272(13), 3461-3476. doi:10.1111/j.1742-4658.2005.04770.x
- Karagöz, G. E., Acosta-Alvear, D., Nguyen, H. T., Lee, C. P., Chu, F., and Walter, P.**, 2017, An unfolded protein-induced conformational switch activates mammalian IRE1. *eLife*, 6, e30700. doi:10.7554/eLife.30700
- Kaur, P., Handa, N., Verma, V., Bakshi, P., Kalia, R., Sareen, S., Nagpal, A., Vig, A. P., Mir, B. A. and Bhardwaj, R.**, 2019, Cross talk among reactive oxygen, nitrogen and sulfur during abiotic stress in plants. *Reactive oxygen, nitrogen and sulfur species in plants: production, metabolism, signaling and defense mechanisms*, 857-871.
- Kehrer, J. P.**, 2000, The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, 149(1), 43-50. doi:Doi 10.1016/S0300-483x(00)00231-6
- Khan, M. N., Mobin, M., Mohammad, F., and Corpas, F. J.**, 2014, *Nitric oxide in plants: metabolism and role in stress physiology*. Cham: Springer International Publishing.
- Khan, M., Al Azawi, T. N. I., Pande, A., Mun, B.-G., Lee, D.-S., Hussain, A., Lee, B.-H. and Yun, B.-W.**, 2021, The role of nitric oxide-induced ATILL6 in growth and disease resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in plant science*, 12, 685156.
- Khan, M., Ali, S., Al Azzawi, T. N. I., Saqib, S., Ullah, F., Ayaz, A., and Zaman, W.**, 2023, The Key Roles of ROS and RNS as a Signaling Molecule in Plant-Microbe Interactions. *Antioxidants*, 12(2). doi:ARTN 268 10.3390/antiox12020268

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

Kiefer, M., Schmickl, R., German, D. A., Mandáková, T., Lysak, M. A., Al-Shehbaz, I. A., Franzke, A., Mummenhoff, K., Stamatakis, A., and Koch, M. A., 2014, BrassiBase: Introduction to a Novel Knowledge Database on Brassicaceae Evolution, *Plant and Cell Physiology*, 55(1). doi:10.1093/pcp/pct158

yalcin

Kim, I. S., Kim, Y. S., Kim, Y. H., Park, A. K., Kim, H. W., Lee, J. H., and Yoon, H. S., 2016, Potential Application of the *Oryza sativa* Monodehydroascorbate Reductase Gene (OsMDHAR) to Improve the Stress Tolerance and Fermentative Capacity of *Saccharomyces cerevisiae* (vol 11, e0158841, 2016). *Plos One*, 11(12). doi:10.1371/journal.pone.0167843

Kim, J. S., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K., 2018, ER-Anchored Transcription Factors bZIP17 and bZIP28 Regulate Root Elongation. *Plant Physiology*, 176(3), 2221-2230. doi:10.1104/pp.17.01414

Kimata , Y., Oikawa , D., Shimizu , Y., Ishiwata-Kimata , Y., and Kohno , K., 2004, A role for BiP as an adjustor for the endoplasmic reticulum stress-sensing protein Ire1. *Journal of Cell Biology*, 167(3), 445-456. doi:10.1083/jcb.200405153

Kimata , Y., Ishiwata-Kimata , Y., Ito , T., Hirata , A., Suzuki , T., Oikawa , D., Takeuchi, M. and Kohno , K., 2007, Two regulatory steps of ER-stress sensor Ire1 involving its cluster formation and interaction with unfolded proteins. *Journal of Cell Biology*, 179(1), 75-86. doi:10.1083/jcb.200704166

Kirch, H.-H., Bartels, D., Wei, Y., Schnable, P. S., and Wood, A. J., 2004, The ALDH gene superfamily of Arabidopsis. *Trends in plant science*, 9(8), 371-377.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Kishimoto, K., Matsui, K., Ozawa, R., and Takabayashi, J.,** 2005, Volatile C6-aldehydes and allo-ocimene activate defense genes and induce resistance against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana* *Plant and Cell Physiology*, 46(7), 1093-1102. doi:10.1093/pcp/pci122
- Knieper, M., Viehhauser, A., and Dietz, K.-J.,** 2023, Oxylipins and reactive carbonyls as regulators of the plant redox and reactive oxygen species network under stress. *Antioxidants*, 12(4), 814.
- Kobayashi, H., Takase, H., Suzuki, Y., Tanzawa, F., Takata, R., Fujita, K., Kohno, M., Mochizuki, M., Shunji Suzuki, S. and Konno, T.,** 2011, Environmental stress enhances biosynthesis of flavor precursors, S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine, in grapevine through glutathione S-transferase activation. *Journal of experimental botany*, 62(3), 1325-1336.
- Koch, M. A., Haubold, B., and Mitchell-Olds, T.,** 2000, Comparative evolutionary analysis of chalcone synthase and alcohol dehydrogenase loci in *Arabidopsis*, *Arabis*, and related genera (Brassicaceae), *Molecular Biology and Evolution*, 17(10), 1483-1498pp. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a026248
- Kohen, R., and Nyska, A.,** 2002, Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.
- Kohli, S. K., Khanna, K., Bhardwaj, R., Abd_Allah, E. F., Ahmad, P., and Corpas, F. J.,** 2019, Assessment of subcellular ROS and NO metabolism in higher plants: multifunctional signaling molecules. *Antioxidants*, 8(12), 641.
- Koiwai, H., Nakaminami, K., Seo, M., Mitsuhashi, W., Toyomasu, T., and Koshiha, T.,** 2004, Tissue-specific localization of an abscisic acid biosynthetic enzyme, AAO3, in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134(4), 1697-1707.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Koizumi, N., Ujino, T., Sano, H., and Chrispeels, M. J.,** 1999, Overexpression of a gene that encodes the first enzyme in the biosynthesis of asparagine-linked glycans makes plants resistant to tunicamycin and obviates the tunicamycin-induced unfolded protein response. *Plant Physiology*, 121(2), 353-361. doi:DOI 10.1104/pp.121.2.353
- Kolbert, Z., Barroso, J. B., Brouquisse, R., Corpas, F. J., Gupta, K. J., Lindermayr, C., Loake, G. J., Palma, J. M., Petrivalsky, M., Wendehenne, D. and Hancock, J. T.,** 2019, A forty year journey: The generation and roles of NO in plants. *Nitric Oxide*, 93, 53-70.
- Komeda, Y.,** 2004, Genetic regulation of time to flower in *Arabidopsis thaliana*. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 521-535. doi:DOI 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141644
- Koornneef, M., Alonso-Blanco, C., and Vreugdenhil, D.,** 2004, Naturally occurring genetic variation in *Arabidopsis thaliana*. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 141-172. doi:DOI 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141605
- Koornneef, M., and Meinke, D.,** 2010, The development of *Arabidopsis* as a model plant, *Plant Journal*, 61(6), 909-921 pp. doi:10.1111/j.1365-313X.2009.04086.x
- Kovacs, I., and Lindermayr, C.,** 2013, Nitric oxide-based protein modification: formation and site-specificity of protein S-nitrosylation. *Frontiers in plant science*, 4, 137.
- Krämer, U.,** 2015, Planting molecular functions in an ecological context with *Arabidopsis thaliana*, *Elife*, 4, e06100 p. doi:10.7554/eLife.06100
- Kranner, I., Minibayeva, F. V., Beckett, R. P., and Seal, C. E.,** 2010, What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*, 188(3), 655-673. doi:https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03461.x

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Krieger-Liszkay, A.**, 2005, Singlet oxygen production in photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 56(411), 337-346. doi:10.1093/jxb/erh237
- Krukowski, P. K., Ellenberger, J., Röhlen-Schmittgen, S., Schubert, A., and Cardinale, F.**, 2020, Phenotyping in Arabidopsis and crops—are we addressing the same traits? A case study in tomato, *Genes*, 11(9).
- Kubienová, L., Tichá, T., Jahnová, J., Luhová, L., Mieslerová, B., and Petrivalsky, M.**, 2014, Effect of abiotic stress stimuli on S-nitrosoglutathione reductase in plants. *Planta*, 239(1), 139-146. doi:10.1007/s00425-013-1970-5
- Kucera, B., Cohn, M. A., and Leubner-Metzger, G.**, 2005, Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*, 15(4), 281-307. doi:10.1079/Ssr2005218
- Kulkarni, S., Das, S., Funk, C. D., Murray, D., and Cho, W.**, 2002, Molecular basis of the specific subcellular localization of the C2-like domain of 5-lipoxygenase. *Journal of Biological Chemistry*, 277(15), 13167-13174. doi:10.1074/jbc.M112393200
- Kunishima, M., Yamauchi, Y., Mizutani, M., Kuse, M., Takikawa, H., and Sugimoto, Y.**, 2016, Identification of (Z)-3:(E)-2-hexenal isomerases essential to the production of the leaf aldehyde in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 291(27), 14023-14033. doi:10.1074/jbc.M116.726687
- Kunming, C. H. E. N., Haijun, G. O. N. G., and Suomin, W. A. N. G.**, 2004 Glutathione metabolism and environmental stresses in plants. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 24(6), 1119-1130.
- Kwiatkowska, D.**, 2008, Flowering and apical meristem growth dynamics. *Journal of Experimental Botany*, 59(2), 187-201. doi:10.1093/jxb/erm290
- Lai, E., Teodoro, T., and Volchuk, A.**, 2007, Endoplasmic reticulum stress: signaling the unfolded protein response. *Physiology (Bethesda)*, 22, 193-201. doi:10.1152/physiol.00050.2006

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Laibach, F.**, 1943, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. als Objekt für genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen. *Bot Arch*, 44, 439-455.
- Lam, E.**, 2004, Controlled cell death, plant survival and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(4), 305-315. doi:10.1038/nrm1358
- Leary, A. Y., Savage, Z., Tumbas, Y., and Bozkurt, T.**, 2019, Contrasting and emerging roles of autophagy in plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 52, 46-53. doi:10.1016/j.pbi.2019.07.002
- Lee, S. H., Oe, T., and Blair, I. A.**, 2001, Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins. *Science*, 292(5524), 2083-2086. doi:DOI 10.1126/science.1059501
- Lee, H. K., Cho, S. K., Son, O., Xu, Z. Y., Hwang, I., and Kim, W. T.**, 2009, Drought stress-induced Rma1H1, a RING membrane-anchor E3 ubiquitin ligase homolog, regulates aquaporin levels via ubiquitination in transgenic *Arabidopsis* Plants. *Plant Cell*, 21(2), 622-641. doi:10.1105/tpc.108.061994
- Leung, D. W.**, 2019, Participation of hydrogen peroxide and nitric oxide in improvement of seed germination performance under unfavourable conditions. *Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide Signaling in Higher Plants*, 145-156.
- Leutwiler, L. S., Hough-Evans, B. R., and Meyerowitz, E. M.**, 1984, The DNA of *Arabidopsis thaliana*. *Molecular and General Genetics MGG*, 194, 15-23.
- Li, L., Wang, Y., and Shen, W.**, 2012, Roles of hydrogen sulfide and nitric oxide in the alleviation of cadmium-induced oxidative damage in alfalfa seedling roots. *Biometals*, 25(3), 617-631.
- Li, Q., and Lancaster, J. R.**, 2013, Chemical foundations of hydrogen sulfide biology. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry*, 35, 21-34. doi:10.1016/j.niox.2013.07.001

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Li, J., Jia, H., Wang, J., Cao, Q., and Wen, Z.,** 2014, Hydrogen sulfide is involved in maintaining ion homeostasis via regulating plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter system in the hydrogen peroxide-dependent manner in salt-stress *Arabidopsis thaliana* root. *Protoplasma*, 251, 899-912
- Li, Z. G.,** 2016, Methylglyoxal and Glyoxalase System in Plants: Old Players, New Concepts. *Botanical Review*, 82(2), 183-203. doi:10.1007/s12229-016-9167-9
- Liebthal, M., Maynard, D., and Dietz, K. J.,** 2018, Peroxiredoxins and Redox Signaling in Plants. *Antioxidants & Redox Signaling*, 28(7), 609-624. doi:10.1089/ars.2017.7164
- Lin, L. G., Zhang, C. C., Chen, Y. W., Wang, Y., Wang, D. H., Liu, X. L., Wang, M., Mao, J., Zhang, J., Xing, W., Liu, L. and Li, J. M.,** 2019, PAWH1 and PAWH2 are plant-specific components of an Arabidopsis endoplasmic reticulum-associated degradation complex. *Nature Communications*, 10. doi:10.1038/s41467-019-11480-7
- Lin, Z., Ali, M. M., Yi, X., Zhang, L., Wang, S., and Chen, F.,** 2023, Unlocking the Potential of Carbon Quantum Dots for Cell Imaging, Intracellular Localization, and Gene Expression Control in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), 15700.
- Lindahl, R.,** 1992, Aldehyde dehydrogenases and their role in carcinogenesis. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 27(4-5), 283-335.
- Lindermayr, C.,** 2018, Crosstalk between reactive oxygen species and nitric oxide in plants: key role of S-nitrosoglutathione reductase. *Free Radical Biology and Medicine*, 122, 110-115.
- Link, B. M., Durst, S. J., Zhou, W., and Stankovic, B.,** 2003, Seed-to-seed growth of *Arabidopsis thaliana* on the International Space Station. *Space Life Sciences: Gravity-Related Processes in Plants*, 31(10), 2237-2243. doi:10.1016/S0273-1177(03)00250-3

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Liu, D., Liu, M., Liu, X.-L., Cheng, X.-G., and Liang, Z.-W.,** 2018, Silicon priming created an enhanced tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) seedlings in response to high alkaline stress. *Frontiers in Plant Science*, 9, 716.
- Liu, F., Marshall, R. S., and Li, F. Q.,** 2018, Understanding and exploiting the roles of autophagy in plants through multi-omics approaches. *Plant Science*, 274, 146-152. doi:10.1016/j.plantsci.2018.05.009
- Liu, J. X., Srivastava, R., and Howell, S. H.,** 2008, Stress-induced expression of an activated form of AtbZIP17 provides protection from salt stress in. *Plant Cell and Environment*, 31(12), 1735-1743. doi:10.1111/j.1365-3040.2008.01873.x
- Liu, J. X., and Howell, S. H.,** 2010, bZIP28 and NF-Y Transcription Factors Are Activated by ER Stress and Assemble into a Transcriptional Complex to Regulate Stress Response Genes in. *Plant Cell*, 22(3), 782-796. doi:10.1105/tpc.109.072173
- Liu, J.-X., and Howell, S. H.,** 2016, Managing the protein folding demands in the endoplasmic reticulum of plants. *New Phytologist*, 211(2), 418-428. doi:https://doi.org/10.1111/nph.13915
- Liu, H. Y., Yu, X., Cui, D.-Y., Sun, M.-H., Sun, W.-N., Tang, Z.-C., Kwak, S.-S. and Su, W.-A.,** 2007, The role of water channel proteins and nitric oxide signaling in rice seed germination. *Cell research*, 17(7), 638-649.
- Liu, L. J., Cui, F., Li, Q. L., Yin, B. J., Zhang, H. W., Lin, B. Y., Wu, Y., Xia, R., Tang, S. and Xie, Q.,** 2011, The endoplasmic reticulum-associated degradation is necessary for plant salt tolerance. *Cell Research*, 21(6), 957-969. doi:10.1038/cr.2010.181
- Liu, M. M., and Lu, S. F.,** 2016, Plastoquinone and Ubiquinone in Plants: Biosynthesis, Physiological Function and Metabolic Engineering. *Frontiers in Plant Science*, 7. doi:10.3389/fpls.2016.01898

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Liu, Y. D., Zhang, C. C., Wang, D. H., Su, W., Liu, L. C., Wang, M. Y., and Li, J. M.,** 2015, EBS7 is a plant-specific component of a highly conserved endoplasmic reticulum-associated degradation system in. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(39), 12205-12210. doi:10.1073/pnas.1511724112
- Liu, Y. M., Burgos, J. S., Deng, Y., Srivastava, R., Howell, S. H., and Bassham, D. C.,** 2012, Degradation of the Endoplasmic Reticulum by Autophagy during Endoplasmic Reticulum Stress in. *Plant Cell*, 24(11), 4635-4651. doi:10.1105/tpc.112.101535
- Ma, Z., Marsolais, F., Bykova, N. V., and Igamberdiev, A. U.,** 2016, Nitric oxide and reactive oxygen species mediate metabolic changes in barley seed embryo during germination. *Frontiers in Plant Science*, 7, 138.
- Ma, Z.-X., Leng, Y.-J., Chen, G.-X., Zhou, P.-M., Ye, D., and Chen, L.-Q.,** 2015, The THERMOSENSITIVE MALE STERILE 1 Interacts with the BiPs via DnaJ Domain and Stimulates Their ATPase Enzyme Activities in Arabidopsis. *PLOS ONE*, 10(7), e0132500. doi:10.1371/journal.pone.0132500
- Magnien, E., Bevan, M., and Planque, K.,** 1992, A European Bridge Project to Tackle a Model-Plant Genome. *Trends in Biotechnology*, 10(1-2), 12-15. doi:Doi 10.1016/0167-7799(92)90159-S
- Malik, S. I., Hussain, A., Yun, B.-W., Spoel, S. H., and Loake, G. J.,** 2011, GSNOR-mediated de-nitrosylation in the plant defence response. *Plant Science*, 181(5), 540-544.
- Mandal, M., Sarkar, M., Khan, A., Biswas, M., Masi, A., Rakwal, R., Agrawal, G. K., Srivastava, A. and Sarkar, A.,** 2022, Reactive Oxygen Species (ROS) and Reactive Nitrogen Species (RNS) in plants—maintenance of structural individuality and functional blend. *Advances in Redox Research*, 5, 100039.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Mano, J. i., Torii, Y., Hayashi, S.-i., Takimoto, K., Matsui, K., Nakamura, K., Inzé, D., Babiychuk, E., Kushnir, S. and Asada, K.,** 2002, The NADPH: quinone oxidoreductase P1- ζ -crystallin in Arabidopsis catalyzes the α , β -hydrogenation of 2-alkenals: detoxication of the lipid peroxide-derived reactive aldehydes. *Plant and cell physiology*, 43(12), 1445-1455.
- Mano, J. i., Belles-Boix, E., Babiychuk, E., Inzé, D., Torii, Y., Hiraoka, E., Takimoto, K., Slooten, L., Asada, K. and Kushnir, S.,** 2005, Protection against photooxidative injury of tobacco leaves by 2-alkenal reductase. Detoxication of lipid peroxide-derived reactive carbonyls. *Plant physiology*, 139(4), 1773-1783.
- Mano, J. i., Miyatake, F., Hiraoka, E., and Tamoi, M.,** 2009, Evaluation of the toxicity of stress-related aldehydes to photosynthesis in chloroplasts. *Planta*, 230, 639-648.
- Mano, J., Tokushige, K., Mizoguchi, H., Fujii, H., and Khorobrykh, S.,** 2010, Accumulation of lipid peroxide-derived, toxic, -unsaturated aldehyde (E)-2-pentenal, acrolein and (E)-2-hexenal in leaves under photoinhibitory illumination. *Plant Biotechnology*, 27(2), 193-197. doi:DOI 10.5511/plantbiotechnology.27.193
- Mano, J.,** 2012, Reactive carbonyl species: their production from lipid peroxides, action in environmental stress, and the detoxification mechanism. *Plant Physiol Biochem*, 59, 90-97. doi:10.1016/j.plaphy.2012.03.010
- Mano, J., Khorobrykh, S., Matsui, K., Iijima, Y., Sakurai, N., Suzuki, H., and Shibata, D.,** 2014a, Acrolein is formed from trienoic fatty acids in chloroplast: A targeted metabolomics approach. *Plant Biotechnology*, 31(5), 535-543.
- Mano, J. i., Nagata, M., Okamura, S., Shiraya, T., & Mitsui, T.,** 2014b, Identification of oxidatively modified proteins in salt-stressed Arabidopsis: a carbonyl-targeted proteomics approach. *Plant and Cell Physiology*, 55(7), 1233-1244.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Mano, J., Ishibashi, A., Muneuchi, H., Morita, C., Sakai, H., Biswas, M. S., Koeduka, T., and Kitajima, S.,** 2017, Acrolein-detoxifying isozymes of glutathione transferase in plants. *Planta*, 245(2), 255-264. doi:10.1007/s00425-016-2604-5
- Mano, J. i., Biswas, M. S., & Sugimoto, K.,** 2019a, Reactive carbonyl species: a missing link in ROS signaling. *Plants*, 8(10), 391.
- Mano, J. i., Kanameda, S., Kuramitsu, R., Matsuura, N., and Yamauchi, Y.,** 2019b, Detoxification of reactive carbonyl species by glutathione transferase tau isozymes. *Frontiers in plant science*, 10, 487.
- Mao, C., Zhu, Y., Cheng, H., Yan, H., Zhao, L., Tang, J., Ma, X. And Mao, P.,** 2018, Nitric oxide regulates seedling growth and mitochondrial responses in aged oat seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1052.
- Marshall, R. S., and Vierstra, R. D.,** 2018, Autophagy: The Master of Bulk and Selective Recycling. *Annual Review of Plant Biology*, 69(Volume 69, 2018), 173-208. doi:https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040606
- Martínez, I. M., and Chrispeels, M. J.,** 2003, Genomic analysis of the unfolded protein response in Arabidopsis shows its connection to important cellular processes. *Plant Cell*, 15(2), 561-576. doi:10.1105/tpc.007609
- Maruyama, D., Sugiyama, T., Endo, T., and Nishikawa, S.-i.,** 2014, Multiple BiP Genes of Arabidopsis thaliana are Required for Male Gametogenesis and Pollen Competitiveness. *Plant and Cell Physiology*, 55(4), 801-810. doi:10.1093/pcp/pcu018
- Matsui, K.,** 2006, Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 274-280. doi:10.1016/j.pbi.2006.03.002
- Mayer, A.,** 1967, Subcellular location of sulphite reductase in plant tissues. *Plant physiology*, 42(3), 324.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- McCormack, M. E., Liu, X., Jordan, M. R., and Pajerowska-Mukhtar, K. M.,** 2015, An improved high-throughput screening assay for tunicamycin sensitivity in Arabidopsis seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 6. doi:10.3389/fpls.2015.00663
- Mcrae, D. G., & Thompson, J. E.,** 1983, Senescence-Dependent Changes in Superoxide Anion Production by Illuminated Chloroplasts from Bean-Leaves. *Planta*, 158(3), 185-193. doi:Doi 10.1007/Bf01075253
- Medrano-Macías, J., Flores-Gallegos, A. C., Nava-Reyna, E., Morales, I., Tortella, G., Solís-Gaona, S., and Benavides-Mendoza, A.,** 2022, Reactive oxygen, nitrogen, and sulfur species (RONSS) as a metabolic cluster for signaling and biostimulation of plants: an overview. *Plants*, 11(23), 3203.
- Meinke, D. W., Cherry, J. M., Dean, C., Rounsley, S. D., and Koornneef, M.,** 1998, Arabidopsis thaliana: a model plant for genome analysis, *Science*, 282(5389), 662-682 pp. doi: 10.1126/science.282.5389.662
- Mendel, R. R., and Schwarz, G.,** 2023, The History of Animal and Plant Sulfite Oxidase—A Personal View. *Molecules*, 28(19), 6998.
- Mène-Saffrané, L., Davoine, C., Stolz, S., Majcherczyk, P., and Farmer, E. E.,** 2007, Genetic removal of tri-unsaturated fatty acids suppresses -: Developmental and molecular phenotypes of an α -tocopherol-deficient mutant. *Journal of Biological Chemistry*, 282(49), 35749-35756. doi:10.1074/jbc.M706838200
- Meng, D., Zhang, P., Zhang, L. L., Wang, H., Ho, C. T., Li, S. M., Shahidi, F., and Zhao, H.,** 2017, Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays. *Journal of Functional Foods*, 37, 467-479. doi:10.1016/j.jff.2017.08.008
- Meng, L.,** 2020, *Tailoring Conducting Polymer Interface for Sensing and Biosensing* (Vol. 2094): Linköping University Electronic Press.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Mesa, T., and Munné-Bosch, S.,** 2023, α -Tocopherol in chloroplasts: nothing more than an antioxidant? *Current Opinion in Plant Biology*, 74, 102400.
- Meunier, L., Usherwood, Y.-K., Chung, K. T., and Hendershot, L. M.,** 2002, A Subset of Chaperones and Folding Enzymes Form Multiprotein Complexes in Endoplasmic Reticulum to Bind Nascent Proteins. *Molecular Biology of the Cell*, 13(12), 4456-4469. doi:10.1091/mbc.e02-05-0311
- Meyer, R. C., Weigelt-Fischer, K., Knoch, D., Heuermann, M., Zhao, Y. S., Altmann, T., and Wilson, Z.,** 2021, Temporal dynamics of QTL effects on vegetative growth in. *Journal of Experimental Botany*, 72(2), 476-490. doi:10.1093/jxb/eraa490
- Meyerowitz, E. M., and Pruitt, R. E.,** 1985, Arabidopsis thaliana and plant molecular genetics. *Science*, 229(4719), 1214-1218.
- Mhamdi, A., Noctor, G., and Baker, A.,** 2012, Plant catalases: peroxisomal redox guardians. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 525(2), 181-194.
- Miki, D., Zinta, G., Zhang, W., Peng, F., Feng, Z., and Zhu, J. K.,** 2021, CRISPR/Cas9-Based Genome Editing Toolbox for Arabidopsis thaliana. *Methods Mol Biol*, 2200, 121-146. doi:10.1007/978-1-0716-0880-7_5
- Millar, A. H., and Leaver, C. J.,** 2000, The cytotoxic lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal, specifically inhibits decarboxylating dehydrogenases in the matrix of plant mitochondria. *FEBS letters*, 481(2), 117-121.
- Mishina, T. E., Lamb, C., and Zeier, J.,** 2007, Expression of a nitric oxide degrading enzyme induces a senescence programme in Arabidopsis. *Plant, cell & environment*, 30(1), 39-52.
- Mishra, V., Singh, P., Tripathi, D. K., Corpas, F. J., and Singh, V. P.,** 2021, Nitric oxide and hydrogen sulfide: an indispensable combination for plant functioning. *Trends in Plant Science*, 26(12), 1270-1285.
- Misra, A. N., Vladkova, R., Singh, R., Misra, M., Dobrikova, A. G., and Apostolova, E. L.,** 2014, Action and target sites of nitric oxide in chloroplasts. *Nitric oxide*, 39, 35-45.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Missihoun, T. D., Schmitz, J., Klug, R., Kirch, H.-H., and Bartels, D.,** 2011, Betaine aldehyde dehydrogenase genes from Arabidopsis with different sub-cellular localization affect stress responses. *Planta*, 233, 369-382.
- Mitchell-Olds, T.,** 2001, Arabidopsis thaliana and its wild relatives: a model system for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(12), 693-700. doi:Doi 10.1016/S0169-5347(01)02291-1
- Mittler, R., and Berkowitz, G.,** 2001, Hydrogen peroxide, a messenger with too many roles? *Redox Report*, 6(2), 69-72. doi:10.1179/135100001101536067
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., and Van Breusegem, F.,** 2004, Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci*, 9(10), 490-498. doi:10.1016/j.tplants.2004.08.009
- Mittler, R., Finka, A., and Goloubinoff, P.,** 2012, How do plants feel the heat? *Trends Biochem Sci*, 37(3), 118-125. doi:10.1016/j.tibs.2011.11.007
- Mittler, R.,** 2017, ROS Are Good. *Trends Plant Sci*, 22(1), 11-19. doi:10.1016/j.tplants.2016.08.002
- Mittler, R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y., and Van Breusegem, F.,** 2022, Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(10), 663-679. doi:10.1038/s41580-022-00499-2
- Miyashita, N. T., Kawabe, A., and Innan, H.,** 1999, DNA variation in the wild plant Arabidopsis thaliana revealed by amplified fragment length polymorphism analysis. *Genetics*, 152(4), 1723-1731.
- Mochizuki, S., Sugimoto, K., Koeduka, T., and Matsui, K.,** 2016, Arabidopsis lipoxygenase 2 is essential for formation of green leaf volatiles and five-carbon volatiles. *Febs Letters*, 590(7), 1017-1027. doi:10.1002/1873-3468.12133
- Monticolo, F., Colantuono, C., and Chiusano, M. L.,** 2017, Shaping the evolutionary tree of green plants: evidence from the GST family. *Scientific Reports*, 7. doi:10.1038/s41598-017-14316-w

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Montillet, J. L., Cacas, J. L., Garnier, L., Montané, M. H., Douki, T., Bessoule, J. J., Polkowska-Kowalczyk, L., Maciejewska, U., Agnel, J. P., Vial, A. and Triantaphylides, C.,** 2004, The upstream oxylipin profile of *Arabidopsis thaliana*: a tool to scan for oxidative stresses. *The Plant Journal*, 40(3), 439-451.
- Montillet, J.-L., Chamnongpol, S., Rustérucci, C., Dat, J., Van De Cotte, B., Agnel, J.-P., Battesti, C., Inze, D., Van Breusegem, F. and Triantaphylides, C.,** 2005, Fatty acid hydroperoxides and H₂O₂ in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves. *Plant physiology*, 138(3), 1516-1526.
- Moreau, M., Lindermayr, C., Durner, J., & Klessig, D. F.,** 2010, NO synthesis and signaling in plants—where do we stand? *Physiologia Plantarum*, 138(4), 372-383.
- Mueller, M. J., and Berger, S.,** 2009, Reactive electrophilic oxylipins: pattern recognition and signalling. *Phytochemistry*, 70(13-14), 1511-1521.
- Mullineaux, P. M., Exposito-Rodriguez, M., Laissue, P. P., and Smirnoff, N.,** 2018, ROS-dependent signalling pathways in plants and algae exposed to high light: Comparisons with other eukaryotes. *Free Radical Biology and Medicine*, 122, 52-64.
- Munemasa, S., Hauser, F., Park, J., Waadt, R., Brandt, B., and Schroeder, J. I.,** 2015, Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture. *Curr Opin Plant Biol*, 28, 154-162. doi:10.1016/j.pbi.2015.10.010
- Mur, L. A., Carver, T. L., and Prats, E.,** 2006, NO way to live; the various roles of nitric oxide in plant–pathogen interactions. *Journal of experimental botany*, 57(3), 489-505.
- Mur, L. A., Mandon, J., Persijn, S., Cristescu, S. M., Moshkov, I. E., Novikova, G. V., Hall, M. A., Harren, F. J. M., Hebelstrup, K. H. And Gupta, K. J.,** 2013, Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge. *AoB plants*, 5, pls052.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Murata, Y., Mori, I. C., and Munemasa, S.,** 2015, Diverse Stomatal Signaling and the Signal Integration Mechanism. *Annual Review of Plant Biology*, Vol 66, 66, 369-392. doi:10.1146/annurev-arplant-043014-114707
- Müller, J., Piffanelli, P., Devoto, A., Miklis, M., Elliott, C., Ortmann, B., Schulze-Lefert, P. and Panstruga, R.,** 2005, Conserved ERAD-Like quality control of a plant polytopic membrane protein. *Plant Cell*, 17(1), 149-163. doi:10.1105/tpc.104.026625
- Nagashima, Y., Iwata, Y., Mishiba, K.-i., and Koizumi, N.,** 2016, Arabidopsis tRNA ligase completes the cytoplasmic splicing of bZIP60 mRNA in the unfolded protein response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 470(4), 941-946. doi:https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.01.145
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., and Fujita, M.,** 2016, Physiological roles of glutathione in conferring abiotic stress tolerance to plants. *Abiotic stress response in plants*, 155-184.
- Nambara, E., and Marion-Poll, A.,** 2005, Absciscic acid biosynthesis and catabolism. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56(1), 165-185.
- Navarro-Aviño, J. P., Prasad, R., Miralles, V. J., Benito, R. M., and Serrano, R.,** 1999, A proposal for nomenclature of aldehyde dehydrogenases in *Saccharomyces cerevisiae* and characterization of the stress-inducible ALD2 and ALD3 genes. *Yeast*, 15(10A), 829-842.
- Navrot, N., Rouhier, N., Gelhaye, E., & Jacquot, J. P.,** 2007, Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 129(1), 185-195.
- Nawkar, G. M., Kang, C. H., Maibam, P., Park, J. H., Jung, Y. J., Chae, H. B., Chi, Y. H., Jung, I. J., Kim, W. Y., Yun, D.-J and Lee, S. Y.,** 2017, HY5, a positive regulator of light signaling, negatively controls the unfolded protein response in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(8), 2084-2089. doi:doi:10.1073/pnas.1609844114

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Nekrasov, V., Li, J., Batoux, M., Roux, M., Chu, Z. H., Lacombe, S., Rougon, A., Bittel, P., Kiss-Papp, M., Chinchilla, D., van Esse, H. P., Jorda, L., Schwessinger, B., Nicaise, V., Thomma, B. P., Molina, A., Jones, J. D. and Zipfel, C.,** 2009, Control of the pattern-recognition receptor EFR by an ER protein complex in plant immunity. *The EMBO Journal*, 28(21), 3428-3438. doi:<https://doi.org/10.1038/emboj.2009.262>
- Nimse, S. B., and Pal, D.,** 2015, Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances*, 5(35), 27986-28006. doi:[10.1039/c4ra13315c](https://doi.org/10.1039/c4ra13315c)
- Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N. C., and Pogson, B. J.,** 2015, Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant*, 8(1), 68-82. doi:[10.1016/j.molp.2014.12.007](https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007)
- Nishino, T.,** 1989, The nicotinamide adenine dinucleotide-binding site of chicken liver xanthine dehydrogenase: evidence for alteration of the redox potential of the flavin by NAD binding or modification of the NAD-binding site and isolation of a modified peptide. *Journal of Biological Chemistry*, 264(10), 5468-5473.
- Noctor, G., and Foyer, C. H.,** 1998, Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, 49(1), 249-279.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L., and Foyer, C. H.,** 2002, Drought and Oxidative Load in the Leaves of C3 Plants: a Predominant Role for Photorespiration? *Annals of Botany*, 89(7), 841-850. doi:[10.1093/aob/mcf096](https://doi.org/10.1093/aob/mcf096)
- Noctor, G., Reichheld, J.-P., and Foyer, C. H.,** 2018, *ROS-related redox regulation and signaling in plants*. Paper presented at the Seminars in cell & developmental biology.
- Noh, S.-J., Kwon, C. S., Oh, D.-H., Moon, J. S., and Chung, W.-I.,** 2003, Expression of an evolutionarily distinct novel BiP gene during the unfolded protein response in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 311, 81-91. doi:[https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(03\)00559-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(03)00559-6)

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Nordling, E., Jörnvall, H., and Persson, B.,** 2002, Medium-chain dehydrogenases/reductases (MDR) Family characterizations including genome comparisons and active site modelling. *European journal of biochemistry*, 269(17), 4267-4276.
- Nurbekova, Z., Srivastava, S., Standing, D., Kurmanbayeva, A., Bekturova, A., Soltabayeva, A., Oshanova, D., Turečková, V., Strand, M., Biswas, M.S., Mano, J. and Sagi M.,** 2021, Arabidopsis aldehyde oxidase 3, known to oxidize abscisic aldehyde to abscisic acid, protects leaves from aldehyde toxicity. *The Plant Journal*, 108(5), 1439-1455.
- Oberschall, A., Deák, M., Török, K., Sass, L., Vass, I., Kovács, I., Fehér, A., Dudits, D. and Horváth, G. V.,** 2000, A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses. *The Plant Journal*, 24(4), 437-446.
- Oda, T., Hashimoto, H., Kuwabara, N., Akashi, S., Hayashi, K., Kojima, C., Wong, H. L., Kawasaki, T., Shimamoto, K., Sato, M. and Shimizu, T.,** 2010, Structure of the N-terminal Regulatory Domain of a Plant NADPH Oxidase and Its Functional Implications*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(2), 1435-1445. doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.M109.058909>
- Ogawara, T., Higashi, K., Kamada, H., and Ezura, H.,** 2003, Ethylene advances the transition from vegetative growth to flowering in. *Journal of Plant Physiology*, 160(11), 1335-1340. doi:Doi 10.1078/0176-1617-01129
- Ohkama-Ohtsu, N., Zhao, P., Xiang, C., and Oliver, D. J.,** 2007, Glutathione conjugates in the vacuole are degraded by γ -glutamyl transpeptidase GGT3 in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 49(5), 878-888. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.03005.x>
- Olson, K. R., and Straub, K. D.,** 2016, The role of hydrogen sulfide in evolution and the evolution of hydrogen sulfide in metabolism and signaling. *Physiology*, 31(1), 60-72.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Olson, K. R., Gao, Y., DeLeon, E. R., Arif, M., Arif, F., Arora, N., and Straub, K. D.**, 2017, Catalase as a sulfide-sulfur oxido-reductase: An ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS). *Redox Biology*, 12, 325-339.
- Olson, K. R., Gao, Y., Arif, F., Arora, K., Patel, S., DeLeon, E. R., Sutton, T. R., Feelisch, M., Cortese-Krott, M. M. and Straub, K. D.**, 2018, Metabolism of hydrogen sulfide (H₂S) and production of reactive sulfur species (RSS) by superoxide dismutase. *Redox Biology*, 15, 74-85. doi:10.1016/j.redox.2017.11.009
- Olson, K. R.**, 2019, Hydrogen sulfide, reactive sulfur species and coping with reactive oxygen species. *Free Radical Biology and Medicine*, 140, 74-83. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.020
- Olson, K. R.**, 2020, Reactive oxygen species or reactive sulfur species: why we should consider the latter. *Journal of Experimental Biology*, 223(4). doi:10.1242/jeb.196352
- Olson, M. V.**, 2024, Oxidation-reduction reaction. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/oxidation-reduction-reaction> (Erişim tarihi: 17 Aralık 2024)
- Onda, Y.**, 2013, Oxidative Protein-Folding Systems in Plant Cells. *International Journal of Cell Biology*, 2013(1), 585431. doi:https://doi.org/10.1155/2013/585431
- Onda, Y., Kumamaru, T., and Kawagoe, Y.**, 2009, ER membrane-localized oxidoreductase Ero1 is required for disulfide bond formation in the rice endosperm. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(33), 14156-14161. doi:10.1073/pnas.0904429106
- O'Neill, J. P., Colon, K. T., and Jenik, P. D.**, 2019, The onset of embryo maturation in Arabidopsis is determined by its developmental stage and does not depend on endosperm cellularization. *The Plant Journal*, 99(2), 286-301.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Ortega-Galisteo, A. P., Rodríguez-Serrano, M., Pazmiño, D. M., Gupta, D. K., Sandalio, L. M., and Romero-Puertas, M. C.,** 2012, S-Nitrosylated proteins in pea (*Pisum sativum* L.) leaf peroxisomes: changes under abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 63(5), 2089-2103. doi:10.1093/jxb/err414
- Ostergaard, L.,** 2009, Don't 'leaf' now. The making of a fruit. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(1), 36-41. doi:10.1016/j.pbi.2008.09.011
- Ozgur, R., Turkan, I., Uzilday, B., and Sekmen, A. H.,** 2014, Endoplasmic reticulum stress triggers ROS signalling, changes the redox state, and regulates the antioxidant defence of. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1377-1390. doi:10.1093/jxb/eru034
- Ozgur, R., Uzilday, B., Sekmen, A. H., and Turkan, I.,** 2015, The effects of induced production of reactive oxygen species in organelles on endoplasmic reticulum stress and on the unfolded protein response in arabidopsis. *Annals of Botany*, 116(4), 541-553. doi:10.1093/aob/mcv072
- Ozgur, R., Uzilday, B., Iwata, Y., Koizumi, N., and Turkan, I.,** 2018, Interplay between the unfolded protein response and reactive oxygen species: a dynamic duo. *Journal of Experimental Botany*, 69(14), 3333-3345. doi:10.1093/jxb/ery040
- Pajares, M., Jiménez-Moreno, N., Dias, I. H., Debele, B., Vucetic, M., Fladmark, K. E., Basaga, H., Ribaric, S., Milisav, I. and Cuadrado, A.,** 2015, Redox control of protein degradation. *Redox biology*, 6, 409-420.
- Palanivelu, R., and Preuss, D.,** 2006, Distinct short-range ovule signals attract or repel *Arabidopsis thaliana* pollen tubes in vitro. *Bmc Plant Biology*, 6. doi:10.1186/1471-2229-6-7
- Palma, J. M., Mateos, R. M., López-Jaramillo, J., Rodríguez-Ruiz, M., González-Gordo, S., Lechuga-Sancho, A. M., and Corpas, F. J.,** 2020, Plant catalases as NO and H₂S targets. *Redox Biology*, 34. doi:10.1016/j.redox.2020.101525

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Pan, R. H., Reumann, S., Lisik, P., Tietz, S., Olsen, L. J., and Hu, J. P.,** 2018, Proteome analysis of peroxisomes from dark-treated senescent leaves. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(11), 1028-1050. doi:10.1111/jipb.12670
- Pan, R., He, D., Xu, L., Zhou, M., Li, C., Wu, C., Xu, Y. and Zhang, W.,** 2019, Proteomic analysis reveals response of differential wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes to oxygen deficiency stress. *BMC Genomics*, 20(1), 60. doi:10.1186/s12864-018-5405-3
- Pan, R. H., Liu, J., Wang, S. S., and Hu, J. P.,** 2020, Peroxisomes: versatile organelles with diverse roles in plants. *New Phytologist*, 225(4), 1410-1427. doi:10.1111/nph.16134
- Papenbrock, J., and Schmidt, A.,** 2000, Characterization of two sulfurtransferase isozymes from *Arabidopsis thaliana*. *European Journal of Biochemistry*, 267(17), 5571-5579.
- Parani, M., Rudrabhatla, S., Myers, R., Weirich, H., Smith, B., Leaman, D. W., and Goldman, S. L.,** 2004, Microarray analysis of nitric oxide responsive transcripts in *Arabidopsis*. *Plant Biotechnology Journal*, 2(4), 359-366.
- Park, C.-J., Bart, R., Chern, M., Canlas, P. E., Bai, W., and Ronald, P. C.,** 2010, Overexpression of the Endoplasmic Reticulum Chaperone BiP3 Regulates XA21-Mediated Innate Immunity in Rice. *PLOS ONE*, 5(2), e9262. doi:10.1371/journal.pone.0009262
- Park, J. H., Kang, C. H., Nawkar, G. M., Lee, E. S., Paeng, S. K., Chae, H. B., Chi, Y. H., Kim, W. Y., Yun, D. J. and Lee, S. Y.,** 2018, EMR, a cytosolic-abundant ring finger E3 ligase, mediates ER-associated protein degradation in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 220(1), 163-177. doi:10.1111/nph.15279

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Park, S.-W., Li, W., Viehhauser, A., He, B., Kim, S., Nilsson, A. K., Andersson, M.X., Kittle, J.D., Ambavaram, M.M.R., Luan, S., Esker, A.R., Tholl, D., Cimini, D., Ellerström, M., Coaker, G., Mitchell, T.K., Pereira, A., Dietz, K., and Lawrence, C.B.,** 2013, Cyclophilin 20-3 relays a 12-oxo-phytodienoic acid signal during stress responsive regulation of cellular redox homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(23), 9559-9564. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218872110>
- Passardi, F., Dobias, J., Valerio, L., Guimil, S., Penel, C., and Dunand, C.,** 2007, Morphological and physiological traits of three major *Arabidopsis thaliana* accessions. *Journal of Plant Physiology*, 164(8), 980-992 pp. doi:10.1016/j.jplph.2006.06.008
- Pastor-Cantizano, N., Ko, D. K., Angelos, E., Pu, Y., and Brandizzi, F.,** 2020, Functional Diversification of ER Stress Responses in *Arabidopsis*. *Trends Biochem Sci*, 45(2), 123-136. doi:10.1016/j.tibs.2019.10.008
- Pastori, G. M., and delRio, L. A.,** 1997, Natural senescence of pea leaves - An activated oxygen-mediated function for peroxisomes. *Plant Physiology*, 113(2), 411-418. doi:DOI 10.1104/pp.113.2.411
- Pearse , B. R., Gabriel , L., Wang , N., and Hebert , D. N.,** 2008, A cell-based reglucosylation assay demonstrates the role of GT1 in the quality control of a maturing glycoprotein. *Journal of Cell Biology*, 181(2), 309-320. doi:10.1083/jcb.200712068
- Penning, T. M.,** 2004, Aldo-keto reductases and formation of polycyclic aromatic hydrocarbon o-quinones. *Methods in enzymology*, 378, 31-67.
- Petersen, D. R., and Doorn, J. A.,** 2004, Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets. *Free Radic Biol Med*, 37(7), 937-945. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.012
- Plaxton, W. C.,** 1996, The organization and regulation of plant glycolysis. *Annual review of plant biology*, 47(1), 185-214.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Pollard, M. G., Travers, K. J., and Weissman, J. S.,** 1998, Ero1p: a novel and ubiquitous protein with an essential role in oxidative protein folding in the endoplasmic reticulum. *Mol Cell*, 1(2), 171-182. doi:10.1016/s1097-2765(00)80018-0
- Polverari, A., Molesini, B., Pezzotti, M., Buonauro, R., Marte, M., and Delledonne, M.,** 2003, Nitric oxide-mediated transcriptional changes in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16(12), 1094-1105.
- Pooam, M., El-Esawi, M., Aguida, B., and Ahmad, M.,** 2020, Arabidopsis cryptochrome and Quantum Biology: new insights for plant science and crop improvement. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 29(4), 636-651. doi:10.1007/s13562-020-00620-6
- Prakash, V., Singh, V. P., Tripathi, D. K., Sharma, S., and Corpas, F. J.,** 2019, Crosstalk between nitric oxide (NO) and abscisic acid (ABA) signalling molecules in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 41-49.
- Preuss, M. L., Cameron, J. C., Berg, R. H., and Jez, J. M.,** 2014, Immunolocalization of glutathione biosynthesis enzymes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 75, 9-13. doi:10.1016/j.plaphy.2013.11.027
- Provart, N.J., Alonso, J., Assmann, S.M., Bergmann, D., Brady, S.M., Brkljacic, J., Browse, J., Chapple, C., Colot, V., Cutler, S., Dangel, J., Ehrhardt, D., Friesner, J.D., Frommer, W.B., Grotewold, E., Meyerowitz, E., Nemhauser, J., Nordborg, M., Pikaard, C., Shanklin, J., Somerville, C., Stitt, M., Torii, K.U., Waese, J., Wagner, D. and McCourt, P.,** 2016, 50 years of Arabidopsis research: highlights and future directions. *New Phytologist*, 209(3), 921-944. doi:10.1111/nph.13687

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Pruitt, R. E., Bowman, J. L., and Grossniklaus, U.,** 2003, Plant genetics: a decade of integration. *Nature Genetics*, 33, 294-304. doi:10.1038/ng1108
- Pulido, P., Cazalis, R., and Cejudo, F. J.,** 2009, An antioxidant redox system in the nucleus of wheat seed cells suffering oxidative stress. *Plant Journal*, 57(1), 132-145. doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03675.x
- Pyott, D. E., Sheehan, E., and Molnar, A.,** 2016, Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free Arabidopsis plants. *Molecular Plant Pathology*, 17(8), 1276-1288 pp. doi:10.1111/mpp.12417
- Qiao, W., Li, C., and Fan, L.-M.,** 2014, Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 100, 84-93.
- Quan, E. M., Kamiya, Y., Kamiya, D., Denic, V., Weibezahn, J., Kato, K., and Weissman, J. S.,** 2008, Defining the Glycan Destruction Signal for Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation. *Molecular Cell*, 32(6), 870-877. doi:10.1016/j.molcel.2008.11.017
- Queval, G., Jaillard, D., Zechmann, B., and Noctor, G.,** 2011, Increased intracellular H₂O₂ availability preferentially drives glutathione accumulation in vacuoles and chloroplasts. *Plant, Cell & Environment*, 34(1), 21-32.
- Radi, R.,** 2004, Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(12), 4003-4008.
- Radi, R.,** 2013, Protein tyrosine nitration: biochemical mechanisms and structural basis of functional effects. *Accounts of chemical research*, 46(2), 550-559.
- Rai, K. K.,** 2023, Revisiting the critical role of ROS and RNS in plant defense. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(10), 6202-6227.
- Rai, K. K., and Kaushik, P.,** 2023, Free radicals mediated redox signaling in plant stress tolerance. *Life*, 13(1), 204.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., and John, R.,** 2017, Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, 137, 142-157. doi:10.1016/j.envexpbot.2017.02.010
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M., Gour, V.S., Minkina, T., Sushkova, S. and Mandzhieva, S.,** 2021, Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4), 267.
- Ramel, F., Birtic, S., Ginies, C., Soubigou-Taconnat, L., Triantaphylidès, C., and Havaux, M.,** 2012, Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(14), 5535-5540.
- Ritter, C., Quirin, K., Kowarik, M., and Helenius, A.,** 2005, Minor folding defects trigger local modification of glycoproteins by the ER folding sensor GT. *The EMBO Journal*, 24(9), 1730-1738. doi:https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600645
- Rodrigues, S. M., Andrade, M. O., Gomes, A. P. S., DaMatta, F. M., Barakat-Pereira, M. C., and Fontes, E. P.,** 2006, Arabidopsis and tobacco plants ectopically expressing the soybean antiquitin-like ALDH7 gene display enhanced tolerance to drought, salinity, and oxidative stress. *Journal of experimental botany*, 57(9), 1909-1918.
- Rodríguez-Trelles, F., Tarrío, R., and Ayala, F. J.,** 2003, Convergent neofunctionalization by positive Darwinian selection after ancient recurrent duplications of the xanthine dehydrogenase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(23), 13413-13417.
- Roelfsema, M. R. G., and Hedrich, R.,** 2005, In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate'. *New Phytologist*, 167(3), 665-691. doi:https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01460.x

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Rogov, V., Dötsch, V., Johansen, T., and Kirkin, V.**, 2014, Interactions between Autophagy Receptors and Ubiquitin-like Proteins Form the Molecular Basis for Selective Autophagy. *Molecular Cell*, 53(2), 167-178. doi:10.1016/j.molcel.2013.12.014
- Rolland, N., Droux, M., and Douce, R.**, 1992), Subcellular distribution of O-acetylserine (thiol) lyase in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) inflorescence. *Plant Physiology*, 98(3), 927-935.
- Romero-Puertas, M. C., Perazzolli, M., Zago, E. D., and Delledonne, M.**, 2004, Nitric oxide signalling functions in plant–pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, 6(9), 795-803.
- Romero-Puertas, M. C., Rodríguez-Serrano, M., and Sandalio, L. M.**, 2013, Protein S-nitrosylation in plants under abiotic stress: an overview. *Frontiers in plant science*, 4. doi:10.3389/fpls.2013.00373
- Ruberti, C., and Brandizzi, F.**, 2014 Conserved and plant-unique strategies for overcoming endoplasmic reticulum stress. *Frontiers in Plant Science*, 5. doi:10.3389/fpls.2014.00069
- Ruberti, C., Kim, S. J., Stefano, G., and Brandizzi, F.**, 2015, Unfolded protein response in plants: one master, many questions. *Curr Opin Plant Biol*, 27, 59-66. doi:10.1016/j.pbi.2015.05.016
- Ruggiero, M. A., Gordon, D. P., Orrell, T. M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R. C., Cavalier-Smith, T., Guiry, M. D. and Kirk, P. M.**, 2015, A Higher Level Classification of All Living Organisms. *Plos One*, 10(4). doi:ARTN e0119248 10.1371/journal.pone.0119248
- Saha, B., Borovskii, G., and Panda, S. K.**, 2016, Alternative oxidase and plant stress tolerance. *Plant signaling & behavior*, 11(12), e1256530.
- Sahay, S., and Gupta, M.**, 2017, An update on nitric oxide and its benign role in plant responses under metal stress. *Nitric oxide*, 67, 39-52.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Saito, R., Yamamoto, H., Makino, A., Sugimoto, T., and Miyake, C.,** 2011, Methylglyoxal functions as Hill oxidant and stimulates the photoreduction of O₂ at photosystem I: a symptom of plant diabetes. *Plant, Cell & Environment*, 34(9), 1454-1464.
- Saito, R., Shimakawa, G., Nishi, A., Iwamoto, T., Sakamoto, K., Yamamoto, H., Amako, K., Makino, A. and Miyake, C.,** 2013, Functional analysis of the AKR4C subfamily of Arabidopsis thaliana: model structures, substrate specificity, acrolein toxicity, and responses to light and [CO₂]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(10), 2038-2045.
- Sawyer, D. T., Richens, D. T., Nanni Jr, E. J., and Stallings, M. D.,** 1980, Redox reaction chemistry of superoxide ion. *Chemical and biochemical aspects of superoxide and superoxide dismutase*, 1-23.
- Sayre, L. M., Lin, D., Yuan, Q., Zhu, X., and Tang, X.,** 2006, Protein adducts generated from products of lipid oxidation: focus on HNE and one. *Drug metabolism reviews*, 38(4), 651-675.
- Schaller, F.,** 2001, Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derived signalling molecules. *Journal of Experimental Botany*, 52(354), 11-23. doi:DOI 10.1093/jexbot/52.354.11
- Scheibe, R., Backhausen, J. E., Emmerlich, V., and Holtgreffe, S.,** 2005, Strategies to maintain redox homeostasis during photosynthesis under changing conditions. *Journal of experimental botany*, 56(416), 1481-1489.
- Schmid, M., Davison, T. S., Henz, S. R., Pape, U. J., Demar, M., Vingron, M., Schölkopf, B., Weigel, D. and Lohmann, J. U.,** 2005, A gene expression map of Arabidopsis thaliana development. *Nature genetics*, 37(5), 501-506.
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., and Karsch-Mizrachi, I.,** 2020 NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database (Oxford)*, 2020. doi:10.1093/database/baaa062

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Schröder, M., and Kaufman, R. J.**, 2005, The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem*, 74, 739-789. doi:10.1146/annurev.biochem.73.011303.074134
- Schwarz, D. S., and Blower, M. D.**, 2016, The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. *Cell Mol Life Sci*, 73(1), 79-94. doi:10.1007/s00018-015-2052-6
- Selles, B., Moseler, A., Rouhier, N., and Couturier, J.**, 2019, Rhodanese domain-containing sulfurtransferases: multifaceted proteins involved in sulfur trafficking in plants. *Journal of Experimental Botany*, 70(16), 4139-4154.
- Sellin, S., Holmquist, B., Mannervik, B., and Vallee, B. L.**, 1991, Oxidation and reduction of 4-hydroxyalkenals catalyzed by isozymes of human alcohol dehydrogenase. *Biochemistry*, 30(9), 2514-2518.
- Sengupta, D., Mudalkar, S., and Reddy, A. R.**, 2012, Detoxification potential and expression analysis of eutypine reducing aldehyde reductase (VrALR) during progressive drought and recovery in *Vigna radiata* (L.) Wilczek roots. *Planta*, 236, 1339-1349.
- Sengupta, D., Naik, D., and Reddy, A. R.**, 2015, Plant aldo-keto reductases (AKRs) as multi-tasking soldiers involved in diverse plant metabolic processes and stress defense: A structure-function update. *Journal of plant physiology*, 179, 40-55.
- Seo, M., Koiwai, H., Akaba, S., Komano, T., Oritani, T., Kamiya, Y., and Koshiba, T.**, 2000, Absciscic aldehyde oxidase in leaves of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 23(4), 481-488.
- Shabala, S., Wu, H. H., and Bose, J.**, 2015, Salt stress sensing and early signalling events in plant roots: Current knowledge and hypothesis. *Plant Science*, 241, 109-119. doi:10.1016/j.plantsci.2015.10.003
- Shan, C., Wang, T., Zhou, Y., and Wang, W.**, 2018, Hydrogen sulfide is involved in the regulation of ascorbate and glutathione metabolism by jasmonic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Biologia Plantarum*, 62(1), 188-193.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Shankar, S., Jaiswal, L., and Rhim, J.-W.,** 2021, New insight into sulfur nanoparticles: Synthesis and applications. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 51(20), 2329-2356.
- Sharbel, T. F., Haubold, B., and Mitchell-Olds, T.,** 2000, Genetic isolation by distance in *Arabidopsis thaliana*: biogeography and postglacial colonization of Europe. *Molecular Ecology*, 9(12), 2109-2118.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., and Pessarakli, M.,** 2012, Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, 2012(1), 217037.
- Shental-Bechor, D., and Levy, Y.,** 2008, Effect of glycosylation on protein folding: A close look at thermodynamic stabilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(24), 8256-8261. doi:doi:10.1073/pnas.0801340105
- Shi, J. Q., Huang, S. M., Fu, D. H., Yu, J. Y., Wang, X. F., Hua, W., Liu, S., Guihua Liu, G., and Wang, H. Z.,** 2013, Evolutionary Dynamics of Microsatellite Distribution in Plants: Insight from the Comparison of Sequenced *Brassica*, *Arabidopsis* and Other Angiosperm Species. *Plos One*, 8(3). doi:ARTN e59988 10.1371/journal.pone.0059988
- Shigeoka, S., and Maruta, T.,** 2014, Cellular redox regulation, signaling, and stress response in plants. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 78(9), 1457-1470. doi:10.1080/09168451.2014.942254
- Shimakawa, G., Iwamoto, T., Mabuchi, T., Saito, R., Yamamoto, H., Amako, K., Sugimoto, T., Makino, A. and Miyake, C.,** 2013, Acrolein, an α , β -unsaturated carbonyl, inhibits both growth and PSII activity in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 77(8), 1655-1660.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Shiojiri, K., Kishimoto, K., Ozawa, R., Kugimiya, S., Urashimo, S., Arimura, G., Horiuchi, J., Nishioka, T., Matsui, K. and Takabayashi, J.,** 2006, Changing green leaf volatile biosynthesis in plants: An approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45), 16672-16676. doi:10.1073/pnas.0607780103
- Sies, H., Berndt, C., and Jones, D. P.,** 2017, Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86(Volume 86, 2017), 715-748. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>
- Signorelli, S., and Considine, M. J.,** 2018, Nitric oxide enables germination by a four-pronged attack on ABA-induced seed dormancy. *Frontiers in Plant Science*, 9, 296.
- Simpson, G. G.,** 2005, NO flowering. *Bioessays*, 27(3), 239-241.
- Simpson, P. J., Tantitadapitak, C., Reed, A. M., Mather, O. C., Bunce, C. M., White, S. A., and Ride, J. P.,** 2009, Characterization of two novel aldo-keto reductases from *Arabidopsis*: expression patterns, broad substrate specificity, and an open active-site structure suggest a role in toxicant metabolism following stress. *Journal of molecular biology*, 392(2), 465-480.
- Singh, R., Parihar, P., Singh, S., Mishra, R. K., Singh, V. P., and Prasad, S. M.,** 2017, Reactive oxygen species signaling and stomatal movement: Current updates and future perspectives. *Redox Biol*, 11, 213-218. doi:10.1016/j.redox.2016.11.006
- Sitia, R., and Braakman, I.,** 2003, Quality control in the endoplasmic reticulum protein factory. *Nature*, 426(6968), 891-894. doi:10.1038/nature02262
- Sivasubramanian, R., Mukhi, N., and Kaur, J.,** 2015, *Arabidopsis thaliana: A Model for Plant Research*, In: Bahadur, B., Venkat Rajam, M., Sahijram, L., Krishnamurthy, K. (eds) *Plant Biology and Biotechnology*. Springer, New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2283-5>

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Skibbe, D. S., Liu, F., Wen, T.-J., Yandea, M. D., Cui, X., Cao, J., Simmons, C. R. and Schnable, P. S.,** 2002, Characterization of the aldehyde dehydrogenase gene families of *Zea mays* and *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 48, 751-764.
- Skovsen, E., Snyder, J. W., Lambert, J. D. C., and Ogilby, P. R.,** 2005, Lifetime and Diffusion of Singlet Oxygen in a Cell. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(18), 8570-8573. doi:10.1021/jp051163i
- Smirnoff, N., and Arnaud, D.,** 2019, Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New phytologist*, 221(3), 1197-1214.
- Smith, S. R., Gillard, J. T., Kustka, A. B., McCrow, J. P., Badger, J. H., Zheng, H., New, A. M., Dupont, C. L., Obata, T., Fernie, A. R. and Allen, A. E.,** 2016, Transcriptional orchestration of the global cellular response of a model pennate diatom to diel light cycling under iron limitation. *PLoS Genetics*, 12(12), e1006490.
- So, W. M., Huque, A. K. M. M., Shin, H.-y., Kim, S. Y., Shin, J. S., Cui, M., and Shin, J. S.,** 2020, AtMYB109 negatively regulates stomatal closure under osmotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, 255, 153292. doi:https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153292
- Soares, C., Carvalho, M. E. A., Azevedo, R. A., and Fidalgo, F.,** 2019, Plants facing oxidative challenges-A little help from the antioxidant networks. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 4-25. doi:10.1016/j.envexpbot.2018.12.009
- Somerville, C., and Koornneef, M.,** 2002, A fortunate choice: the history of *Arabidopsis* as a model plant. *Nature Reviews Genetics*, 3(11), 883-889pp.
- Sonmez, M. C., Yirmibesoglu, S. S. S., Ozgur, R., Uzilday, B., and Turkan, I.,** 2024, Roles of Reactive Carbonyl Species (RCS) in Plant Response to Abiotic Stress. *Methods Mol Biol*, 2798, 101-130. doi:10.1007/978-1-0716-3826-2_7

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Spalding, E. P.**, 2000, Ion channels and the transduction of light signals. *Plant Cell and Environment*, 23(7), 665-674. doi:DOI 10.1046/j.1365-3040.2000.00594.x
- Spyropoulou, E. A., Dekker, H. L., Steemers, L., van Maarseveen, J. H., de Koster, C. G., Haring, M. A., Schuurink, R. C. and Allmann, S.**, 2017, Identification and Characterization of (3Z):(2E)-Hexenal Isomerases from cucumber. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.01342
- Srivastava, R., Deng, Y., Shah, S., Rao, A. G., and Howell, S. H.**, 2013, BINDING PROTEIN Is a Master Regulator of the Endoplasmic Reticulum Stress Sensor/Transducer bZIP28 in Arabidopsis *The Plant Cell*, 25(4), 1416-1429. doi:10.1105/tpc.113.110684
- Srivastava, S., Brychkova, G., Yarmolinsky, D., Soltabayeva, A., Samani, T., and Sagi, M.**, 2017, Aldehyde Oxidase 4 Plays a Critical Role in Delaying Silique Senescence by Catalyzing Aldehyde Detoxification. *Plant physiology*, 173(4), 1977-1997. doi:10.1104/pp.16.01939
- Stamler, J. S.**, 1994 Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell*, 78(6), 931-936.
- Stanley, A. M., Carvalho, P., and Rapoport, T.**, 2011, Recognition of an ERAD-L substrate analyzed by site-specific in vivo photocrosslinking. *Febs Letters*, 585(9), 1281-1286. doi:10.1016/j.febslet.2011.04.009
- Stephani, M., Picchianti, L., Gajic, A., Beveridge, R., Skarwan, E., Hernandez, V. S. D., Mohseni, A., Clavel, M., Zeng, Y., Naumann, C., Matuszkiewicz, M., Turco, E., Loeffke, C., Li, B., Dürnberger, G., Schutzbier, M., Chen, H. T., Abdrakhmanov, A., Savova, A., Chia, K. S., Djamei, A., Schaffner, I., Abel, S., Jiang, L., Mechtler, K., Ikeda, F., Martens, S., Clausen, T. and Dagdas, Y.**, 2020, A cross-kingdom conserved ER-phagy receptor maintains endoplasmic reticulum homeostasis during stress. *Elife*, 9. doi:10.7554/eLife.58396

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Stiti, N., Missihoun, T. D., Kotchoni, S. O., Kirch, H.-H., and Bartels, D.,** 2011, Aldehyde dehydrogenases in *Arabidopsis thaliana*: biochemical requirements, metabolic pathways, and functional analysis. *Frontiers in plant science*, 2, 65.
- Strasser, R.,** 2018, Protein Quality Control in the Endoplasmic Reticulum of Plants. *Annu Rev Plant Biol*, 69, 147-172. doi:10.1146/annurev-arplant-042817-040331
- Su, W., Liu, Y. D., Xia, Y., Hong, Z., and Li, J. M.,** 2012, The Arabidopsis Homolog of the Mammalian OS-9 Protein Plays a Key Role in the Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation of Misfolded Receptor-Like Kinases Degradation. *Molecular Plant*, 5(4), 929-940. doi:10.1093/mp/sss042
- Su, Z., Ma, X., Guo, H. H., Sukiran, N. L., Guo, B., Assmann, S. M., and Ma, H.,** 2013, Flower Development under Drought Stress: Morphological and Transcriptomic Analyses Reveal Acute Responses and Long-Term Acclimation in. *Plant Cell*, 25(10), 3785-3807. doi:10.1105/tpc.113.115428
- Su, T., Li, X. Z., Yang, M. Y., Shao, Q., Zhao, Y. X., Ma, C. L., and Wang, P. P.,** 2020, Autophagy: An Intracellular Degradation Pathway Regulating Plant Survival and Stress Response. *Frontiers in Plant Science*, 11. doi:10.3389/fpls.2020.00164
- Sugimoto, K., Matsui, K., Iijima, Y., Akakabe, Y., Muramoto, S., Ozawa, R., Uefune, M., Sasaki, R., Alamgir, K.M., Akitake, S., Nobuke, T., Galis, I., Aoki, K., Shibata, D. and Takabayashi, J.,** 2014, Intake and transformation to a glycoside of (Z)-3-hexenol from infested neighbors reveals a mode of plant odor reception and defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(19), 7144-7149. doi:10.1073/pnas.1320660111

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Sugimoto, K., Matsuoka, Y., Sakai, K., Fujiya, N., Fujii, H., and Mano, J. ,** 2021, Catechins in green tea powder (matcha) are heat-stable scavengers of acrolein, a lipid peroxide-derived reactive carbonyl species. *Food Chemistry*, 355, 129403.
- Sultana, M. S., Yamamoto, S. I., Biswas, M. S., Sakurai, C., Isoai, H., and Mano, J.,** 2022, Histidine-Containing Dipeptides Mitigate Salt Stress in Plants by Scavenging Reactive Carbonyl Species. *J Agric Food Chem*, 70(36), 11169-11178. doi:10.1021/acs.jafc.2c03800
- Sultana, M. S., Sakurai, C., Biswas, M. S., Szabados, L., and Mano, J.,** 2024, Accumulation of reactive carbonyl species in roots as the primary cause of salt stress-induced growth retardation of *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, 176(1), e14198. doi:https://doi.org/10.1111/ppl.14198
- Sultanova, Z., and Sultansoy, S.,** 2024, Beyond Earthly Limits: Protection against Cosmic Radiation through Biological Response Pathways. *arXiv preprint arXiv:2405.12151*.
- Sun, J. Q., Wang, W. A., and Zheng, H. Q.,** 2022, ROOT HAIR DEFECTIVE3 Is a Receptor for Selective Autophagy of the Endoplasmic Reticulum in. *Frontiers in Plant Science*, 13. doi:10.3389/fpls.2022.817251
- Sun, L., Yang, Z. T., Song, Z. T., Wang, M. J., Sun, L., Lu, S. J., and Liu, J. X.,** 2013, The Plant-Specific Transcription Factor Gene NAC103 Is Induced by BZIP60 through a New Cis-Regulatory Element to Modulate the Unfolded Protein Response in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 76(2), 274-286. doi:10.1111/tpj.12287
- Sun, T. H., Rao, S. M., Zhou, X. S., and Li, L.,** 2022, Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. *Molecular Horticulture*, 2(1). doi:10.1186/s43897-022-00023-2
- Sun, Y.-Y., Wang, J.-Q., Xiang, R.-H., and Li, Z.-G.,** 2022, Key role of reactive oxygen species-scavenging system in nitric oxide and hydrogen sulfide crosstalk-evoked thermotolerance in maize seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 13, 967968.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Sunkar, R., Bartels, D., and Kirch, H. H.**, 2003, Overexpression of a stress-inducible aldehyde dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* in transgenic plants improves stress tolerance. *The Plant Journal*, 35(4), 452-464.
- Suzuki, N., Miller, G., Morales, J., Shulaev, V., Torres, M. A., and Mittler, R.**, 2011, Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 14(6), 691-699. doi:10.1016/j.pbi.2011.07.014
- Suzuki, N., Koussevitzky, S., Mittler, R., and Miller, G.**, 2012, ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell and Environment*, 35(2), 259-270. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x
- Tada, Y., Spoel, S. H., Pajerowska-Mukhtar, K., Mou, Z., Song, J., Wang, C., Zuo, C., and Dong, X.**, 2008, Plant Immunity Requires Conformational Charges of NPR1 via S-Nitrosylation and Thioredoxins. *Science*, 321(5891), 952-956. doi:doi:10.1126/science.1156970
- Takagi, D., Ifuku, K., Ikeda, K.-i., Inoue, K. I., Park, P., Tamoi, M., Inoue, H., Sakamoto, K., Saito, R. and Miyake, C.**, 2016, Suppression of chloroplastic alkenal/one oxidoreductase represses the carbon catabolic pathway in *Arabidopsis* leaves during night. *Plant Physiology*, 170(4), 2024-2039.
- Takeda, S., Gapper, C., Kaya, H., Bell, E., Kuchitsu, K., and Dolan, L.**, 2008, Local positive feedback regulation determines cell shape in root hair cells. *Science*, 319(5867), 1241-1244. doi:10.1126/science.1152505
- Tan, Y. Y., Xu, H. H., Tao, W. J., Hoffmann, M. H., Wang, X. F., and Lu, Y. T.**, 2005, Transgenic GFP as a molecular marker for approaches to quantify pollination mechanism and gene flow in. *Plant Biology*, 7(4), 405-410. doi:10.1055/s-2005-837734
- Tannous, A., Patel, N., Tamura, T., and Hebert, D. N.**, 2015, Reglucosylation by UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1 delays glycoprotein secretion but not degradation. *Molecular Biology of the Cell*, 26(3), 390-405. doi:10.1091/mbc.E14-08-1254

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Taylor, N. L., Day, D. A., and Millar, A. H.**, 2002, Environmental stress causes oxidative damage to plant mitochondria leading to inhibition of glycine decarboxylase. *Journal of Biological Chemistry*, 277(45), 42663-42668.
- Terao, M., Kurosaki, M., Marini, M., Vanoni, M. A., Saltini, G., Bonetto, V., Bastone, A., Federico, C., Saccone, S., Fanelli, R., Salmona, M. and Garattini, E.**, 2001, Purification of the aldehyde oxidase homolog 1 (AOH1) protein and cloning of the AOH1 and aldehyde oxidase homolog 2 (AOH2) genes: identification of a novel molybdo-flavoprotein gene cluster on mouse chromosome 1. *Journal of Biological Chemistry*, 276(49), 46347-46363.
- The Arabidopsis Genome Initiative**, 2000, Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*, *Nature*, 408(6814), 796-815 pp. doi:10.1038/35048692
- The Arabidopsis Information Resource (TAIR)**,
https://www.arabidopsis.org/results?mainType=detail&category=community&search_params=%7B%22searchTerms%22%3A%5B%5D%7D
(Erişim tarihi 17 Aralık 2024)
- The World Flora Online (WFO)**, [2024], “*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh”.
<http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000541830>. (Erişim tarihi: 17 Aralık 2024)
- Thiruvengadam, R., Venkidasamy, B., Easwaran, M., Chi, H. Y., Thiruvengadam, M., and Kim, S.-H.**, 2024, Dynamic interplay of reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS) in plant resilience: Unveiling the signaling pathways and metabolic responses to biotic and abiotic stresses. *Plant Cell Reports*, 43(8), 198.
- Tian, S., Wang, X. B., Li, P., Wang, H., Ji, H. T., Xie, J. Y., Qui, Q., Shen, D. and Dong, H. S.**, 2016, Plant Aquaporin AtPIP1;4 Links Apoplastic Induction to Disease Immunity Pathways. *Plant Physiology*, 171(3), 1635-1650. doi:10.1104/pp.15.01237

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Tiwari, B. S., Belenghi, B., and Levine, A.,** 2002, Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death. *Plant physiology*, 128(4), 1271-1281.
- Todokoro, S., Terauchi, R., and Kawano, S.,** 1995, Microsatellite Polymorphisms in Natural-Populations of *Arabidopsis-Thaliana* in Japan. *Japanese Journal of Genetics*, 70(4), 543-554. doi:DOI 10.1266/jjg.70.543
- Tola, A. J., Jaballi, A., and Missihoun, T. D.,** 2021, Protein Carbonylation: Emerging Roles in Plant Redox Biology and Future Prospects. *Plants*, 10(7), 1451. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/7/1451>
- Totani, K., Ihara, Y., Tsujimoto, T., Matsuo, I., and Ito, Y.,** 2009, The Recognition Motif of the Glycoprotein-Folding Sensor Enzyme UDP-Glc:Glycoprotein Glucosyltransferase. *Biochemistry*, 48(13), 2933-2940. doi:10.1021/bi8020586
- Toufighi, K., Brady, S. M., Austin, R., Ly, E., and Provart, N. J.,** 2005, The Botany Array Resource: e-Northerns, expression angling, and promoter analyses. *The Plant Journal*, 43(1), 153-163.
- Trapet, P., Kulik, A., Lamotte, O., Jeandroz, S., Bourque, S., Nicolas-Francès, V., Rosnoblet, C., Besson-Bard, A. and Wendehenne, D.,** 2015, NO signaling in plant immunity: a tale of messengers. *Phytochemistry*, 112, 72-79.
- Trchounian, A., Petrosyan, M., and Sahakyan, N.,** 2016, Plant Cell Redox Homeostasis and Reactive Oxygen Species. In D. K. Gupta, J. M. Palma, & F. J. Corpas (Eds.), *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses* (pp. 25-50). Cham: Springer International Publishing.
- Trewavas, A. J., and Malho, R.,** 1997, Signal perception and transduction: The origin of the phenotype. *Plant Cell*, 9(7), 1181-1195. doi:DOI 10.1105/tpc.9.7.1181

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Triantaphylidès, C., Krischke, M., Hoeberichts, F. A., Ksas, B., Gresser, G., Havaux, M., Van Breusegem, F., and Mueller, M. J.,** 2008, Singlet Oxygen Is the Major Reactive Oxygen Species Involved in Photooxidative Damage to Plants. *Plant Physiology*, 148(2), 960-968. doi:10.1104/pp.108.125690
- Tripathy, B. C., and Oelmüller, R.,** 2012, Reactive oxygen species generation and signaling in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 7(12), 1621-1633. doi:10.4161/psb.22455
- Tsuji, H., and Sato, M.,** 2024, The Function of Florigen in the Vegetative-to-Reproductive Phase Transition in and around the Shoot Apical Meristem. *Plant and Cell Physiology*, 65(3), 322-337. doi:10.1093/pcp/pcae001
- Turner, N. A., Doyle, W. A., Ventom, A. M., and Bray, R. C.,** 1995, Properties of rabbit liver aldehyde oxidase and the relationship of the enzyme to xanthine oxidase and dehydrogenase. *European Journal of Biochemistry*, 232(2), 646-657.
- Tuteja, N., Chandra, M., Tuteja, R., and Misra, M. K.,** 2004, Nitric oxide as a unique bioactive signaling messenger in physiology and pathophysiology. *BioMed Research International*, 2004(4), 227-237.
- Uchida, K.,** 2003, 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Prog Lipid Res*, 42(4), 318-343. doi:10.1016/s0163-7827(03)00014-6
- Usadel, B., Obayashi, T., Mutwil, M., Giorgi, F. M., Bassel, G. W., Tanimoto, M., Chow, A., Steinhäuser, D., Persson, S. and Provart, N. J.,** 2009, Co-expression tools for plant biology: opportunities for hypothesis generation and caveats. *Plant, cell & environment*, 32(12), 1633-1651.
- Uzilday, B., Ozgur, R., Sekmen, A. H., and Turkan, I.,** 2018, Endoplasmic reticulum stress regulates glutathione metabolism and activities of glutathione related enzymes in Arabidopsis. *Functional Plant Biology*, 45(2), 284-296. doi:https://doi.org/10.1071/FP17151

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- van Doorn, W. G., and Woltering, E. J.,** 2005, Many ways to exit? Cell death categories in plants. *Trends in Plant Science*, 10(3), 117-122. doi:10.1016/j.tplants.2005.01.006
- van Doorn, W. G., Beers, E. P., Dangl, J. L., Franklin-Tong, V. E., Gallois, P., Hara-Nishimura, I., Jones, A. M., Kawai-Yamada, M., Lam, E., Mundy, J., Mur, L. A. J., Petersen, M., Smertenko, A., Taliansky, M., Van Breusegem, F., Wolpert, T., Woltering, E., Zhivotovsky, B. and Bozhkov, P. V.,** 2011, Morphological classification of plant cell deaths. *Cell Death and Differentiation*, 18(8), 1241-1246. doi:10.1038/cdd.2011.36
- van Zanten, M., Koini, M. A., Geyer, R., Liu, Y. X., Brambilla, V., Bartels, D., Koornneef, M., Fransz, P., and Soppe, W. J. J.,** 2011, Seed maturation in *Arabidopsis thaliana* is characterized by nuclear size reduction and increased chromatin condensation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(50), 20219-20224. doi:10.1073/pnas.1117726108
- Vasiliou, V., Pappa, A., and Petersen, D. R.,** 2000, Role of aldehyde dehydrogenases in endogenous and xenobiotic metabolism. *Chemico-biological interactions*, 129(1-2), 1-19.
- Vembar, S. S., and Brodsky, J. L.,** 2008, One step at a time: endoplasmic reticulum-associated degradation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(12), 944-U930. doi:10.1038/nrm2546
- Viedma-Poyatos, A., González-Jiménez, P., Langlois, O., Company-Marín, I., Spickett, C. M., and Pérez-Sala, D.,** 2021, Protein Lipoxidation: Basic Concepts and Emerging Roles. *Antioxidants*, 10(2). doi:10.3390/antiox10020295
- Vivancos, P. D., Dong, Y., Ziegler, K., Markovic, J., Pallardó, F. V., Pellny, T. K., Verrier, P.J. and Foyer, C. H.,** 2010a, Recruitment of glutathione into the nucleus during cell proliferation adjusts whole-cell redox homeostasis in *Arabidopsis thaliana* and lowers the oxidative defence shield. *The Plant Journal*, 64(5), 825-838.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Vivancos, D. P., Wolff, T., Markovic, J., Pallardo, F. V., and Foyer, C. H.,** 2010b, A nuclear glutathione cycle within the cell cycle. *Biochemical Journal*, 431(2), 169-178.
- Vogelsang, L., and Dietz, K. J.,** 2022, Plant thiol peroxidases as redox sensors and signal transducers in abiotic stress acclimation. *Free Radical Biology and Medicine*, 193, 764-778. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.019
- Vu, B. N., Vu, T. V., Yoo, J. Y., Nguyen, N. T., Ko, K. S., Kim, J. Y., and Lee, K. O.,** 2023, CRISPR-Cas-mediated unfolded protein response control for enhancing plant stress resistance. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1271368.
- Wachter, A., Wolf, S., Steininger, H., Bogs, J., and Rausch, T.,** 2005, Differential targeting of GSH1 and GSH2 is achieved by multiple transcription initiation: implications for the compartmentation of glutathione biosynthesis in the Brassicaceae. *The Plant Journal*, 41(1), 15-30. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02269.x
- Walley, J., Xiao, Y., Wang, J. Z., Baidoo, E. E., Keasling, J. D., Shen, Z., Briggs, S. P. and Dehesh, K.,** 2015, Plastid-produced interorgannellar stress signal MEcPP potentiates induction of the unfolded protein response in endoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(19), 6212-6217. doi:10.1073/pnas.1504828112
- Walter, P., and Ron, D.,** 2011, The Unfolded Protein Response: From Stress Pathway to Homeostatic Regulation. *Science*, 334(6059), 1081-1086. doi:doi:10.1126/science.1209038
- Wan, S., and Jiang, L.,** 2016, Endoplasmic reticulum (ER) stress and the unfolded protein response (UPR) in plants. *Protoplasma*, 253(3), 753-764. doi:10.1007/s00709-015-0842-1
- Wang, H. Y., Lockwood, S. K., Hoeltzel, M. F., and Schiefelbein, J. W.,** 1997, The ROOT HAIR DEFECTIVE3 gene encodes an evolutionarily conserved protein with GTP-binding motifs and is required for regulated cell enlargement in Arabidopsis. *Genes & Development*, 11(6), 799-811. doi:DOI 10.1101/gad.11.6.799

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Wang, N., Clark, L. D., Gao, Y., Kozlov, M. M., Shemesh, T., and Rapoport, T. A.**, 2021, Mechanism of membrane-curvature generation by ER-tubule shaping proteins. *Nature Communications*, 12(1). doi:10.1038/s41467-020-20625-y
- Wang, P., Mugume, Y., and Bassham, D. C.**, 2018, New advances in autophagy in plants: Regulation, selectivity and function. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 80, 113-122. doi:https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.018
- Wang, P., Wang, T., Han, J., Li, M., Zhao, Y., Su, T., and Ma, C.**, 2021, Plant Autophagy: An Intricate Process Controlled by Various Signaling Pathways. *Frontiers in Plant Science*, 12. doi:10.3389/fpls.2021.754982
- Wang, W. N., and Zheng, H. Q.**, 2024, Arabidopsis reticulons inhibit ROOT HAIR DEFECTIVE3 to form a stable tubular endoplasmic reticulum network. *Plant Physiology*, 194(3), 1431-1446. doi:10.1093/plphys/kiad574
- Wang, W., Zhang, X. P., Deng, F. N., Yuan, R., and Shen, F. F.**, 2017, Genome-wide characterization and expression analyses of superoxide dismutase (SOD) genes in *Gossypium hirsutum*. *Bmc Genomics*, 18. doi:10.1186/s12864-017-3768-5
- Wang, X., Zhang, M. M., Wang, Y. J., Gao, Y. T., Li, R., Wang, G. F., Li, E.-Q and Chen, K. M.**, 2016, The plasma membrane NADPH oxidase OsRbohA plays a crucial role in developmental regulation and drought-stress response in rice. *Physiologia Plantarum*, 156(4), 421-443.
- Wang, Y., Loake, G. J., and Chu, C.**, 2013, Cross-talk of nitric oxide and reactive oxygen species in plant programmed cell death. *Frontiers in plant science*, 4, 314.
- Wani, S. H., Sah, S. K., Hossain, M. A., Kumar, V., & Balachandran, S. M.**, 2016, Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in crop plants. *Advances in plant breeding strategies: agronomic, abiotic and biotic stress traits*, 345-396.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Waszczak, C., Carmody, M., and Kangasjärvi, J.,** 2018, Reactive oxygen species in plant signaling. *Annual review of plant biology*, 69(1), 209-236.
- Watanabe, N., and Lam, E.,** 2008, BAX inhibitor-1 modulates endoplasmic reticulum stress-mediated programmed cell death in Arabidopsis. *J Biol Chem*, 283(6), 3200-3210. doi:10.1074/jbc.M706659200
- Wayne, R.,** 2019, Chapter 12 - Cell Signaling. In R. Wayne (Ed.), *Plant Cell Biology (Second Edition)* (pp. 207-234): Academic Press.
- Weber, H., Chételat, A., Reymond, P., and Farmer, E. E.,** 2004, Selective and powerful stress gene expression in Arabidopsis in response to malondialdehyde. *Plant Journal*, 37(6), 877-888. doi:10.1111/j.1365-313X.2003.02013.x
- Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D. F., and Durner, J.,** 2001, Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Trends in plant science*, 6(4), 177-183.
- West, J. D., and Marnett, L. J.,** 2006, Endogenous reactive intermediates as modulators of cell signaling and cell death. *Chemical Research in Toxicology*, 19(2), 173-194. doi:10.1021/tx050321u
- Williams, B., Verchot, J., and Dickman, M. B.,** 2014, When supply does not meet demand-ER stress and plant programmed cell death. *Frontiers in Plant Science*, 5. doi:10.3389/fpls.2014.00211
- Willson, R. L.,** 1979, Hydroxyl radicals and biological damage in vitro: what relevance in vivo. In *Oxygen free radicals and tissue damage* (Vol. 65, pp. 19-42): Wiley Online Library.
- Wilson, D. K., Nakano, T., Petrash, J. M., and Quijcho, F. A.,** 1996, 1.7 Å Structure of FR-1, a Fibroblast Growth Factor-Induced Member of the Aldo- Keto Reductase Family, Complexed with Coenzyme and Inhibitor. *Biochemistry*, 35(5), 1700-1700.
- Wilson, I. D., Neill, S. J., and Hancock, J. T.,** 2008, Nitric oxide synthesis and signalling in plants. *Plant, cell & environment*, 31(5), 622-631.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Winger, A. M., Millar, A. H., and Day, D. A.,** 2005, Sensitivity of plant mitochondrial terminal oxidases to the lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal (HNE). *Biochemical Journal*, 387(3), 865-870.
- Winger, A. M., Taylor, N. L., Heazlewood, J. L., Day, D. A., and Millar, A. H.,** 2007, The cytotoxic lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal covalently modifies a selective range of proteins linked to respiratory function in plant mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 282(52), 37436-37447. doi:10.1074/jbc.M702385200
- Wirtz, M., Droux, M., and Hell, R.,** 2004 O-acetylserine (thiol) lyase: an enigmatic enzyme of plant cysteine biosynthesis revisited in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 55(404), 1785-1798.
- Wood, A., and Kraysky, S.,** 2002, The role of aldehyde dehydrogenases (ALDHs) in plant stress tolerance. *Biochemical & Molecular Responses of Plants to the Environment* (Wood, AJ ed.), 1-14.
- Wu, H., Chen, B. J., Fiers, M., Wróbel-Marek, J., Kodde, J., Groot, S. P. C., Angenent, G., Feng, H., Bentsink, L., and Boutilier, K.,** 2019, Seed maturation and post-harvest ripening negatively affect *Arabidopsis* somatic embryogenesis. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 139(1), 17-27. doi:10.1007/s11240-019-01658-8
- Wu, J., Kamanga, B. M., Zhang, W., Xu, Y., and Xu, L.,** 2022, Research progress of aldehyde oxidases in plants. *PeerJ*, 10, e13119.
- Xie, X. L., He, Z. Q., Chen, N. F., Tang, Z. Z., Wang, Q., and Cai, Y.,** 2019, The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. *Biomed Research International*, 2019. doi:10.1155/2019/9732325
- Xie, Y. C., Lie, J. B., Kang, R., and Tang, D. L.,** 2020, Interplay Between Lipid Metabolism and Autophagy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. doi:10.3389/fcell.2020.00431

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Xu, J., Hou, Q.-M., Khare, T., Verma, S. K., & Kumar, V.,** 2019, Exploring miRNAs for developing climate-resilient crops: a perspective review. *Science of the Total Environment*, 653, 91-104.
- Yachandra, V. K., Sauer, K., and Klein, M. P.,** 1996, Manganese cluster in photosynthesis: where plants oxidize water to dioxygen. *Chemical Reviews*, 96(7), 2927-2950.
- Yalcinkaya, T., Uzilday, B., Ozgur, R., Turkan, I., and Mano, J.,** 2019a, Lipid peroxidation-derived reactive carbonyl species (RCS): Their interaction with ROS and cellular redox during environmental stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 165, 139-149.
- Yalcinkaya, T., Uzilday, B., Ozgur, R., and Turkan, I.,** 2019b, The roles of reactive carbonyl species in induction of antioxidant defence and ROS signalling in extreme halophytic model *Eutrema parvulum* and glycophytic model *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, 160, 81-91.
- Yamauchi, Y., Furutera, A., Seki, K., Toyoda, Y., Tanaka, K., and Sugimoto, Y.,** 2008, Malondialdehyde generated from peroxidized linolenic acid causes protein modification in heat-stressed plants. *Plant physiology and biochemistry*, 46(8-9), 786-793.
- Yamauchi, Y., Hasegawa, A., Taninaka, A., Mizutani, M., and Sugimoto, Y.,** 2011, NADPH-dependent reductases involved in the detoxification of reactive carbonyls in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 286(9), 6999-7009.
- Yamauchi, Y., Hasegawa, A., Mizutani, M., and Sugimoto, Y.,** 2012, Chloroplastic NADPH-dependent alkenal/one oxidoreductase contributes to the detoxification of reactive carbonyls produced under oxidative stress. *Febs Letters*, 586(8), 1208-1213. doi:10.1016/j.febslet.2012.03.013
- Yang, X. C., and Bassham, D. C.,** 2015, New Insight into the Mechanism and Function of Autophagy in Plant Cells. *International Review of Cell and Molecular Biology*, Vol 320, 320, 1-40. doi:10.1016/bs.ircmb.2015.07.005

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Yang, Z. T., Lu, S. J., Wang, M. J., Bi, D. L., Sun, L., Zhou, S. F., Song, Z.T. and Liu, J. X.,** 2014, A plasma membrane-tethered transcription factor, NAC062/ANAC062/NTL6, mediates the unfolded protein response in Arabidopsis. *Plant Journal*, 79(6), 1033-1043. doi:10.1111/tpj.12604
- Yarmolinsky, D., Brychkova, G., Fluhr, R., and Sagi, M.,** 2013, Sulfite reductase protects plants against sulfite toxicity. *Plant physiology*, 161(2), 725-743.
- Yarmolinsky, D., Brychkova, G., Kurmanbayeva, A., Bekturova, A., Ventura, Y., Khozin-Goldberg, I., Eppel, A., Fluhr, R. and Sagi, M.,** 2014, Impairment in sulfite reductase leads to early leaf senescence in tomato plants. *Plant physiology*, 165(4), 1505-1520.
- Yemets, A., Shadrina, R., Blume, R., Plokhovska, S., and Blume, Y.,** 2024, Autophagy formation, microtubule disorientation, and alteration of ATG8 and tubulin gene expression under simulated microgravity in Arabidopsis thaliana. *npj Microgravity*, 10(1), 31. doi:10.1038/s41526-024-00381-9
- Yi, H., Galant, A., Ravilious, G. E., Preuss, M. L., and Jez, J. M.,** 2010, Sensing sulfur conditions: simple to complex protein regulatory mechanisms in plant thiol metabolism. *Molecular Plant*, 3(2), 269-279.
- Yim, C., Bellis, E. S., DeLeo, V. L., Gamba, D., Muscarella, R., and Lasky, J. R.,** 2024, Climate biogeography of Arabidopsis thaliana: Linking distribution models and individual variation. *Journal of Biogeography*, 51(4), 560-574. doi:10.1111/jbi.14737
- Yin, L., Mano, J. i., Wang, S., Tsuji, W., and Tanaka, K.,** 2010, The involvement of lipid peroxide-derived aldehydes in aluminum toxicity of tobacco roots. *Plant physiology*, 152(3), 1406-1417.
- Yoshida, A., Rzhetsky, A., Hsu, L. C., and Chang, C.,** 1998, Human aldehyde dehydrogenase gene family. *European Journal of Biochemistry*, 251(3), 549-557.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Yoshida, Y., and Tanaka, K.**, 2010, Lectin-like ERAD players in ER and cytosol. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, 1800(2), 172-180. doi:10.1016/j.bbagen.2009.07.029
- Yoshimoto, K., Jikumar, Y., Kamiya, Y., Kusano, M., Consonni, C., Panstruga, R., Ohsumi, Y. and Shirasu, K.**, 2009, Autophagy Negatively Regulates Cell Death by Controlling NPR1-Dependent Salicylic Acid Signaling during Senescence and the Innate Immune Response in Arabidopsis. *Plant Cell*, 21(9), 2914-2927. doi:10.1105/tpc.109.068635
- Yoshimoto, K., and Ohsumi, Y.**, 2018, Unveiling the Molecular Mechanisms of Plant Autophagy-From Autophagosomes to Vacuoles in Plants. *Plant and Cell Physiology*, 59(7), 1337-1344. doi:10.1093/pcp/pcy112
- Youn, B., Kim, S. J., Moinuddin, S. G. A., Lee, C., Bedgar, D. L., Harper, A. R., Davin, L. B., Lewis, N. G. and Kang, C.**, 2006, Mechanistic and structural studies of apoform, binary, and ternary complexes of the alkenal double bond reductase At5g16970. *Journal of Biological Chemistry*, 281(52), 40076-40088. doi:10.1074/jbc.M605900200
- Youssefian, S., Nakamura, M., Orudgev, E., and Kondo, N.**, 2001, Increased cysteine biosynthesis capacity of transgenic tobacco overexpressing an O-acetylserine (thiol) lyase modifies plant responses to oxidative stress. *Plant Physiology*, 126(3), 1001-1011.
- Yu, M., Lamattina, L., Spoel, S. H., and Loake, G. J.**, 2014, Nitric oxide function in plant biology: a redox cue in deconvolution. *New phytologist*, 202(4), 1142-1156.
- Zardilis, A., Hume, A., and Millar, A. J.**, 2019, A multi-model framework for the Arabidopsis life cycle. *Journal of Experimental Botany*, 70(9), 2463-2477. doi:10.1093/jxb/ery394
- Zdunek-Zastocka, E., Omarov, R. T., Koshiba, T., and Lips, H. S.**, 2004, Activity and protein level of AO isoforms in pea plants (*Pisum sativum* L.) during vegetative development and in response to stress conditions. *Journal of experimental botany*, 55(401), 1361-1369.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Zeidler, D., Zähringer, U., Gerber, I., Dubery, I., Hartung, T., Bors, W., Hutzler, P. Durner, J.,** 2004, Innate immunity in *Arabidopsis thaliana*: lipopolysaccharides activate nitric oxide synthase (NOS) and induce defense genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(44), 15811-15816.
- Zhang, A., Jiang, M., Zhang, J., Ding, H., Xu, S., Hu, X., and Tan, M.,** 2007, Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. *New Phytologist*, 175(1), 36-50.
- Zhang, H., Hu, L. Y., Hu, K. D., He, Y. D., Wang, S. H., and Luo, J. P.,** 2008, Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress. *Journal of integrative plant biology*, 50(12), 1518-1529.
- Zhang, S. S., Yang, H. X., Ding, L., Song, Z. T., Ma, H., Chang, F., and Liu, J. X.,** 2017, Tissue-Specific Transcriptomics Reveals an Important Role of the Unfolded Protein Response in Maintaining Fertility upon Heat Stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 29(5), 1007-1023. doi:10.1105/tpc.16.00916
- Zhang, Y., Wang, L., Liu, Y., Zhang, Q., Wei, Q., and Zhang, W.,** 2006, Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na⁺/H⁺ antiport in the tonoplast. *Planta*, 224, 545-555.
- Zhao, M.-G., Tian, Q.-Y., and Zhang, W.-H.,** 2007, Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 144(1), 206-217.
- Zhao, Y., Zhang, C., Liu, W., Gao, W., Liu, C., Song, G., Li, W., Mao, L., Chen, B., Xu, Y., Li, X. and Xie, C.,** 2016, An alternative strategy for targeted gene replacement in plants using a dual-sgRNA/Cas9 design. *Scientific reports*, 6(1), 23890.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Zhou, M., Zhang, J., Zhou, H., Zhao, D., Duan, T., Wang, S., Yuan, X. and Xie, Y.**, 2022, Hydrogen sulfide-linked persulfidation maintains protein stability of ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 4 and delays seed germination. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1389.
- Zhou, S. F., Sun, L., Valdés, A. E., Engström, P., Song, Z. T., Lu, S. J., and Liu, J. X.**, 2015, Membrane-associated transcription factor peptidase, site-2 protease, antagonizes ABA signaling in Arabidopsis. *New Phytologist*, 208(1), 188-197. doi:10.1111/nph.13436
- Zhou, X., Joshi, S., Patil, S., Khare, T., & Kumar, V.**, 2021, Reactive oxygen, nitrogen, carbonyl and sulfur species and their roles in plant abiotic stress responses and tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-24.
- Zhou, Z.-H., Wang, Y., Ye, X.-Y., and Li, Z.-G.**, 2018, Signaling molecule hydrogen sulfide improves seed germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.) under high temperature by inducing antioxidant system and osmolyte biosynthesis. *Frontiers in plant science*, 9, 1288.
- Zhu, J.-K.**, 2016, Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*, 167(2), 313-324. doi:10.1016/j.cell.2016.08.029
- Zhu, M. L., Tang, X. H., Wang, Z. Y., Xu, W. Q., Zhou, Y., Wang, W., Li, X., Li, R., Guo, K., Sun, Y., Zhang, W., Xu, L. and Li, X. F.**, 2019, Arabidopsis GAAPs interacting with MAPR3 modulate the IRE1-dependent pathway upon endoplasmic reticulum stress. *Journal of Experimental Botany*, 70(21), 6113-6125. doi:10.1093/jxb/erz402
- Zhu, Q., Zheng, Z.-P., Cheng, K.-W., Wu, J.-J., Zhang, S., Tang, Y. S., Sze, K.-H., Chen, J., Chen, F. and Wang, M.**, 2009, Natural polyphenols as direct trapping agents of lipid peroxidation-derived acrolein and 4-hydroxy-trans-2-nonenal. *Chemical research in toxicology*, 22(10), 1721-1727.
- Zhuang, X. H., Chung, K. P., Luo, M. Q., and Jiang, L. W.**, 2018, Autophagosome Biogenesis and the Endoplasmic Reticulum: A Plant Perspective. *Trends in Plant Science*, 23(8), 677-692. doi:10.1016/j.tplants.2018.05.002

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Zhuang, X. H., and Jiang, L. W.**, 2019, Chloroplast Degradation: Multiple Routes Into the Vacuole. *Frontiers in Plant Science*, 10. doi:10.3389/fpls.2019.00359
- Zimmermann, P., Hirsch-Hoffmann, M., Hennig, L., and Gruissem, W.**, 2004, GENEVESTIGATOR. Arabidopsis microarray database and analysis toolbox. *Plant physiology*, 136(1), 2621-2632.



TEŞEKKÜR

Bambaşka bir alanda çalışırken beni bitkilerin büyüdü dünyasına davet eden, örnek almaktan gurur duyduğum, bilimi hayatının merkezine koyan, yeniliklerden korkmayan, öğrencilerinin arkasında durmanın ne demek olduğunu ondan öğrendiğim, hayallerimi yaşamamı sağlayan, bana her zaman inanan, zekası ve bilgisi ile ufkumu genişleten öğrencisi olmaktan gurur duyduğum tez danışmanım Prof. Dr. İsmail TÜRKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mikropların dünyasından çıkıp bitkilerin dünyasına adım attığımda gerek laboratuvar çalışmalarında gerek teorik anlamda bilgisini benden esirgemeyen, pratik zekası ile sorun çözümü konusunda örnek aldığım Doç.Dr. Barış UZİLDAY'a ve kendime sıklıkla sorduğum "Nasıl bir hoca olmalıyım?" sorusuna en güzel örneklerden biri olan, bilimsel kısmının yanı sıra tüm doktora eğitimim boyunca yaptıklarıyla kişisel gelişimime büyük katkıları olan Doç.Dr. Rengin ÖZGÜR UZİLDAY'a teşekkürü bir borç bilirim. Genel Biyoloji Anabilim dalı öğretim üyelerinden nezaketi ve elegant duruşunu her daim örnek aldığım Prof. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU'na ve tez izleme komitemde bulunarak tezimin ve bakış açımın gelişmesine yaptığı değerli katkıları için Prof.Dr. Çağlar H. KARAKAYA'ya, Doç Dr. Ruhan AŞKIN UZEL'e ve Doç. Dr. Ademi Fahri PİRHAN'a teşekkür ederim.

Tüm desteklerinden dolayı araştırma görevlisi olduğum Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nın Başkanı sayın Prof, Dr, Remziye DEVECİ'ye; bölümümüzün sayın hocaları Prof. Dr. İhsan YAŞA, Prof. Dr. Ferah SAYIM, Prof. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN, Prof. Dr. Bekir KESKİN, Prof.Dr. Lale AKTAŞ, Prof.Dr. Güven ÖZDEMİR, Doç. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU, Prof. Dr. Savaş İZZETOĞLU ve Doç.Dr. Ortaç ONMUŞ'a; bölüm sekreterlerimiz Naciye BAYSAL ve Cengiz ÇELEBİ'ye; bölümümüzde görev yapan Araş.Gör. Dr. Ali ÖZCAN'a; Araş. Gör. Dr. Melih DAĞDEVİREN, Öğr. Gör. Dr. Volkan EROĞLU; Araş.Gör. Dr. Asiye Esra EREN EROĞLU, Araş.Gör. Dr. Melodi YENMİŞ, Araş. Gör. Seyit Metin KÖROĞLU ve Araş.Gör. Satı PALTACI'ya teşekkür ederim.

Tüm bu süreçte her zaman yanımda olan sevgili arkadaşlarım Dr. Cem GÜLER, Öğr. Gör. Dr. Taylan Kurtuluş ÖZTÜRK, Serap ÖZKAYA GÜL, Oktay ÇETİN, Büşra ARAT, Hatice EKİN, Uğur KESKİN, Mert ÇAPAR, Irmak

KAPLAN, İkra Gizem YILDIZ, Ayşegül DEDE EREN, Egemen Deniz EREN, Melike KILIÇ, İlker KILIÇ, Bulut OKUMUŞ, Cansın ŞİRİN TOMRUK, Gaye SAMANER, Dilek DEMİRCİ, Dr. Ceren KUŞÇU, Dr. Çevik G REL, Tahmineh DARVISHMOHAMMADI, Tina ROSELT, Maryam SHEKOFTEH ve kız kardeşlerim Araş. Gör. Selin AKBAŞ, Dr.   r. Üyesi Aylin BUHUR, Yüksek Mühendis Mesude İSAR ve Zeynep Seda SOYLU'ya sonsuz te ekk rl r.

Tezimin son döneminde ERASMUS   rencisi olarak birlikte  alı tı ım Prof. Dr. Iwona MORKUNAS'a, Dr. Katarzyna SADOWSKA ve doktora   rencisi Anielkis BATİSTA'ya teşekkür ederim.

Her Őeyden  te bu tezin yazımında en büyük teşekkürü sevgili annem Esin Y RMİBE O LU ve sevgili babam Huzur Sait Y RMİBE O LU'na etmek istiyorum. Sizin evladınız olmaktan gurur duyuyorum. Yaptığım bu tez çalışması ve sonsuz destekleriniz ile hayallerime bir adım daha yaklaşırken sevgili anneannem Rahime  ZK YL 'n n çok önceden söylediği gibi ‘‘Otlarım bitti’’ diyebiliriz.

Bu tez herkese ve her Őeye rağmen akademik hayallerinden vazgeçmeyen özellikle kadın genç bilim insanlarına adanmıştır.

07/ 05 / 2025

Side Selin Su Y RMİBE O LU

ÖZGEÇMİŞ

Lisans eğitimini Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümünde tamamlamış, 2013 yılında şeref öğrencisi olarak mezun olmuştur. Aynı zamanda 2014 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde yandal eğitimini şeref öğrencisi olarak tamamlamıştır. Ardından İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Bölümünde yüksek lisansını “Developing Synthetic Biology Enabled Whole Cell Biosensors” başlıklı tez ile tamamlamıştır. Sonrasında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde ikinci yüksek lisansını “Boğaçay’ın (Antalya) Denize Döküldüğü Alandaki Çoklu Antibiyotik Dirençli Bakterilerin Yaz Ve Kış Mevsimlerinde Karakterizasyonu” başlıklı tez çalışmasıyla tamamlamıştır. Lisans ve yüksek eğitimi boyunca farklı TÜBİTAK ve BAP projelerinde bursiyer ve araştırmacı olarak çalışmıştır. Lisans eğitimini tamamladıktan sonra TÜBİTAK 1512 Girişimcilik Destek programı ile STRAND Biyoteknoloji isimli firmasını kurmuş ve 2020 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olana kadar bu firmada çalışmıştır. 2020 yılından bu yana Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Bu süreçte TÜBİTAK 2209 Üniversite Öğrencileri Araştırma projeleri kapsamında farklı projelerde danışmanlık yapmıştır. 2023 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğrencilerinin TEKNOFEST kapsamında yaptığı projelerde danışman olarak görev almıştır. 2020 yılında Prof. Dr. İsmail TÜRKAN danışmanlığında Ege Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim dalında doktora eğitimine başlamıştır. 2025 yılında “Model Bitki *Arabidopsis thaliana*’ da Reaktif Karbonil Türlerinin (RCS) Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi İle İlişkisinin İncelenmesi” isimli doktora tezi ile mezun olmuştur.