



**KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDA NAR
BİTKİSİNİN (*Punica granatum L.*) TRANSKRİPTOM
PROFİLİNİN ÇIKARILMASI**

Ayşenur YILDIRIM

Danışman: Prof. Dr. Emine ORHAN

Yüksek Lisans Tezi

Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

2026

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDA NAR BİTKİSİNİN (*Punica granatum L.*)
TRANSKRİPTOM PROFİLİNİN ÇIKARILMASI**

(Transcriptome Profiling of Pomegranate Plant (*Punica granatum L.*) Under Drought Stress
Conditions)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşenur YILDIRIM

Danışman: Prof. Dr. Emine ORHAN
İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

Erzurum
Nisan, 2026

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Ayşenur YILDIRIM tarafından hazırlanan “KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDA NAR BİTKİSİNİN (*Punica granatum* L.) TRANSKRİPTOM PROFİLİNİN ÇIKARILMASI” başlıklı çalışması 06 / 04 / 2026 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR Aslı ıslak imzalıdır
Atatürk Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Emine ORHAN Aslı ıslak imzalıdır
Atatürk Üniversitesi

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Yasemin Çelik ALTUNOĞLU Aslı ıslak imzalıdır
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Esra ARSLAN YÜKSEL Aslı ıslak imzalıdır
Atatürk Üniversitesi

İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU Aslı ıslak imzalıdır
Kastamonu Üniversitesi

Enstitü Yönetim Kurulunun
25/07/2024 tarih ve 35/05
sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

.... / / 202..

Aslı ıslak imzalıdır

Prof. Dr. Alper NUHOĞLU

Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK VE BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Emine ORHAN danışmanlığında sunulan “**Kuraklık Stresi Koşullarında Nar Bitkisinin (*Punica granatum* L.) Transkriptom Profiline Çıkarılması**” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	11	30
Kuramsal Temeller	12	30
Materyal ve Yöntem	4	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	2	20
Sonuç	3	20
Tezin Geneli	6	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Ayşenur Yıldırım	Prof. Dr. Emine ORHAN
6.4.2026	6.4.2026
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım bu çalışmanın bazı laboratuvar analizleri Atatürk Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarları Koordinatörlüğü'nde yürütülmüştür. Laboratuvar koordinatörü ve Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Hocam Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR'a teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmaları sırasında bana her zaman yardımcı olan ve desteğini gördüğüm değerli Hocam Doç. Dr. Esra ARSLAN YÜKSEL'e ve Doktora Öğrencisi Betül BAYRAKTAR'a teşekkür ederim. Diğer bazı laboratuvar analizleri ise hizmet alımı işlemleri şeklinde BMLABOSİS tarafından gerçekleştirilmiştir. Analizlerde katkıları olan tüm isimlere teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın planlanmasından yazılmasına kadar geçen tüm aşamalarda desteğini esirgemeyen, bilgisi ve deneyimi ile tez sürecini yöneten tez danışmanı Sayın Hocam Prof. Dr. Emine ORHAN'a teşekkür ederim. Biyoinformatik analizler için Kastamonu Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Öğretim üyeleri Sayın Hocam Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU'na ve Sayın Hocam Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU'na teşekkür ederim.

Hayatım boyunca sabırları, fedakarlıkları ve bitmek bilmeyen destekleriyle her daim yanımda olan, varlıklarıyla bana güç veren annem Susan Yıldırım'a, babam Orhan Yıldırım'a ve kıymetli kardeşlerime; akademik yolculuğun tüm zorluklarını paylaştığım, neşemle ve kederimle ortak olan tüm dostlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından FOA-2024-14555 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. Finansal desteklerinden dolayı BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Ayşenur YILDIRIM

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDA NAR BİTKİSİNİN (*Punica granatum* L.) TRANSKRİPTOM PROFİLİNİN ÇIKARILMASI

Ayşenur Yıldırım

Danışman: Prof. Dr. Emine ORHAN

İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

Amaç: Bu çalışmada, Wonderful ve Hicaznar isimli nar çeşitleri (*Punica granatum* L.) için kuraklık ilişkili genler bakımından bir transkriptom profilinin çıkarılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Wonderful ve Hicaznar çeşitlerinde iki farklı su kısıtı uygulaması (kuraklık stresi) 10 gün ve 20 gün olmak üzere iki farklı süre boyunca uygulanmıştır. Deneme kapsamında üç farklı uygulama grubu oluşturulmuştur: *i*) Kontrol (iyi sulama koşulları), *ii*) T1 (1. Uygulama): %65–75 bağıl toprak su içeriği ve *iii*) T2 (2. Uygulama): %5–15 bağıl toprak su içeriği. Transkriptomik düzeyde profillemeye amacıyla RNA dizileme (RNA-seq) yöntemi esas alınmıştır. RNA-seq verilerinin analizleri CLC Toolbox kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Diferansiyel gen ekspresyon analizleri sonucunda elde edilen genler, ifade düzeylerindeki değişimin yönü ve büyüklüğüne göre sınıflandırılmıştır. Filtrelenmiş diferansiyel gen ekspresyon verileri kullanılarak genler arasındaki benzerlik ve farklılıkların görselleştirilmesi amacıyla ısı haritaları oluşturulmuştur.

Bulgular: Wonderful ve Hicaznar çeşitlerinde T1 ve T2 uygulamaları için 36,4 kDa prolin açısından zengin protein benzeri (LOC116188420), holotricin-3 benzeri (LOC116214822), muhtemel hücre duvarı proteini (LOC116205182), muhtemel mannitol dehidrogenaz (LOC116210572) ve yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (LOC116206805) genlerinin ortak olarak ifade edildikleri belirlenmiştir. Wonderful çeşidinde DREB1A (LOC116202526 ve LOC116211172), ERF017 (LOC116194146) ve NAC (LOC116198601) transkripsiyon faktör genlerinde T1 uygulaması için önemli düzeyde ifade artışları belirlenirken WRKY (LOC116193053) transkripsiyon faktöründe ifade azalışı belirlenmiştir. Hicaznar çeşidinde daha çok yapısal ve çeşitli metabolik olayları etkileyen genlerin ifadesinde değişiklikler belirlenmiştir.

Sonuçlar: Çalışmada ısı haritası değerlendirmeleri sonucunda orta şiddetli (T1) kuraklık uygulaması ile şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan ve azalan genlerin Wonderful ve Hicaznar çeşitleri için farklı oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: nar, kuraklık stresi, transkriptom profillemeye

Nisan 2026, 111 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

TRANSCRIPTOME PROFILING OF POMEGRANATE PLANT (*Punica granatum* L.) UNDER DROUGHT STRESS CONDITIONS

Ayşenur Yıldırım

Supervisor: Prof. Dr. Emine ORHAN

Co-Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

Purpose: This study aimed to obtain a transcriptome profile of drought-related genes for the pomegranate cultivars named Wonderful and Hicaznar.

Method: Two different drought stress treatments were performed on Wonderful and Hicaznar cultivars. Drought stress was applied for two different durations: 10 days and 20 days. Three different water regime application groups were formed within the scope of the experiment: i) Control (good irrigation conditions), ii) T1 (1st treatment): 65–75% relative soil water content and iii) T2 (2nd treatment): 5–15% relative soil water content. For transcriptionomic profiling, RNA sequencing was used as the primary method. This analyses were performed using the CLC Toolbox.

Findings: In Hicaznar and Wonderful cultivars, it was determined that the following genes were commonly expressed for T1 and T2 treatments: 36.4 kDa proline-rich protein-like (LOC116188420), holotricin-3-like (LOC116214822), putative cell wall protein (LOC116205182), probable mannitol dehydrogenase (LOC116210572), and senescence-specific cysteine protease SAG12-like (LOC116206805). In the Wonderful cultivar, significant increases in expression were observed in the DREB1A (LOC116202526 and LOC116211172), ERF017 (LOC116194146), and NAC (LOC116198601) transcription factor genes upon T1 application, while a decrease in expression was observed in the WRKY (LOC116193053) transcription factor. In the Hicaznar cultivar, changes were identified mainly in the expression of genes affecting structural and various metabolic processes.

Conclusions: In the study, it was determined that the genes whose expression increased/decreased as a result of moderate (T1) drought treatment and severe (T2) drought treatment were different for Wonderful and Hicaznar cultivars.

Keywords: pomegranate, drought stress, transcriptome profiling

April 2026, 111 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK VE BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xii
GİRİŞ.....	1
Araştırmanın Amacı	1
Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi	2
KURAMSAL TEMELLER.....	4
Nar Meyve Türünün Tanıtımı	4
Abiyotik Stres Mekanizması	7
Kuraklıkla İlgili Bilinen Bazı Genler ve Özellikleri	8
Transkriptom Profilleme (Genlerin Birlikte İfadesi)	14
RNA Dizileme (RNA-seq=RNA Sequencing)	15
Nar Meyve Türünde Kuraklık ve Diğer Stres Koşulları İçin Fizyolojik Çalışma Örnekleri	17
Nar Meyve Türünde Kuraklık ve Diğer Stres Koşulları İçin Moleküler Çalışma Örnekleri	19
MATERYAL VE YÖNTEM	23
Bitki Materyali	23
Nar Genom Bilgisi: Genome assembly ASM765513v2	23
Yöntem.....	24
Bitki materyali adaptasyonu ve su kısıtı uygulamaları	24
Total RNA izolasyonu.....	27
RNA dizileme (RNA-seq).....	27
RNA-seq verilerinin biyoinformatik analizleri	29
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	32

Wonderful Çeşidinde Kuraklık Stresine Karşı Transkriptomik Profil Analizi.....	32
W_10. Gün 1. ve 2. uygulama grubu (W_10G/T1_T2).....	32
W_20. Gün 1. ve 2. uygulama grubu (W_20G/T1_T2).....	38
W_1. uygulama_10. Gün ve 20. Gün (W_T1/10_20G).....	43
W_2. uygulama_10. Gün ve 20. Gün (W_T2/10_20G).....	44
Hicaznar Çeşidinde Kuraklık Stresine Karşı Transkriptomik Profil Analizi.....	53
H_10. Gün_1. ve 2. uygulama grubu (H_10G/T1_T2).....	54
H_20. Gün_1. ve 2. uygulama grubu (H_20G/T1_T2).....	59
H_1. uygulama_10. gün ve 20. gün (H_T1/10_20G)	61
H_2. uygulama_10. gün ve 20. gün (H_T2/10_20G)	66
SONUÇ.....	77
KAYNAKÇA	85
EKLER	95
EK-1. Çalışmada Bitki Materyali Olarak Kullanılan Hicaz Nar Çeşidine Ait İsmine Doğruluk Kanıtı Sertifika Örneği ve Fidanlıkta Çekilen Görsel	95
EK-2. Çalışmada Bitki Materyali Olarak Kullanılan Wonderful Nar Çeşidine Ait İsmine Doğruluk Kanıtı Sertifika Örneği ve Fidanlıkta Çekilen Görsel	96
ÖZGEÇMİŞ.....	97

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kuraklık Stresi ile İlişkili Bazı Fonksiyonel Genler (Orhan ve Yıldırım 2024)	10
Tablo 2. Kuraklık Stresi ile İlişkili Bazı Düzenleyici Genler (Orhan ve Yıldırım 2024).....	12
Tablo 3. Wonderful ve Hicaznar Çeşitlerinde Kuraklık Uygulamalarına Göre Yapılan Biyoinformatik Karşılaştırmalar. Kontrol (İyi Sulama Koşulları); T1 (Uygulama 1): %65–75 Bağlı Toprak Su İçeriği; T2 (Uygulama 2): %5–15 Bağlı Toprak Su İçeriği.	25
Tablo 4. RNA-seq Analizi İçin Kullanılan RNA'ların Nanodrop Spektrofotometrik Ölçüm Sonuçlarının (BMLABOSİS) Örnek Kodları ve Yaprak Örneği Alımı Gün Bilgisi	28
Tablo 5. Wonderful Çeşidinde Orta Şiddetli ve Şiddetli Kuraklık Stresi Uygulamalarının Onuncu ve Yirminci Gün Süreleri İçin Yapılan RNA-seq Analiz Sonuçlarına Göre Bazı Genlerin İfadesindeki Artışlar ve Azalışlar	51
Tablo 6. Hicaznar Çeşidinde Orta Şiddetli ve Şiddetli Kuraklık Stresi Uygulamalarının Onuncu ve Yirminci Gün Süreleri İçin Yapılan RNA-seq Analiz Sonuçlarına Göre Bazı Genlerin İfadesindeki Artışlar ve Azalışlar	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Dünya nar yetiştirme alanları gösterimi (GBIF 2025).....	4
Şekil 2. Nar bitkisinin çiçekleri ve meyveleri (Rosenberg 2021)	6
Şekil 3. Bitkilerin abiyotik stres faktörlerine karşı moleküler düzeydeki direnci, stresi algılama mekanizmaları ve genetik yanıtlar (Zhang vd. 2023)	7
Şekil 4. Kuraklık koşullarında su stresi ile bitkilerde gözlenen fizyolojik, biyokimyasal, morfolojik ve moleküler düzeydeki değişiklikler (Orhan ve Yıldırım 2026).....	9
Şekil 5. a) Wonderful nar çeşidi meyve görseli (Tinebra vd 2021) b) Hicaznar çeşidi meyve görseli (Şahin 2020)	23
Şekil 6. Aynı familyaya (Lythraceae) ait <i>Heimia myrtifolia</i> ve <i>Punica granatum</i> türlerinin yakın ilişkisi (Wang vd. 2020).....	24
Şekil 7. Bitki materyallerinin alüminyum folyo içinde sıvı azot ile muamelesi (Orijinal görüntü).....	26
Şekil 8. Hicaz nar çeşidinde su kısıtlaması uygulaması yapılan saksı bitkilerden birer örnek (Orijinal görüntü)	26
Şekil 9. Wonderful nar çeşidinde su kısıtlaması uygulaması yapılan saksı bitkilerden birer örnek (Orijinal görüntü)	27
Şekil 10. Log ₂ FC ve FDR değerlerinin yazılım üzerinde belirlenmesi.....	30
Şekil 11. 10 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. (A) Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. (B) farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. (C) farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste.....	37
Şekil 12. 10 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. (A) Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. (B) farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı.	

(C) farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede azalan genlere ait ayrıntılı liste.	39
Şekil 13. 20 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. (A) Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. (B) farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. (C) farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan/azalan genlere ait ayrıntılı liste	42
Şekil 14. 10 gün ve 20 gün süresince T1 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. (A) Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. (B) farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. (C) farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan/azalan genlere ait ayrıntılı liste	45
Şekil 15. 10 gün ve 20 gün süresince T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. (A) Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. (B) farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. (C) farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste.....	48
Şekil 16. 10 gün ve 20 gün süresince T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. (A) Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. (B) farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. (C) farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede azalan genlere ait ayrıntılı liste	49

- Şekil 17.** 10 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** farklı kuraklık uygulamalarında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste 58
- Şekil 20.** 10 ve 20 gün süresince T1 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** On ve 20 gün süresince T1 kuraklık uygulaması sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan veya azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** 10 ve 20 gün süresince T1 kuraklık uygulaması sonrası Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan veya azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** 10 ve 20 gün süresince T1 kuraklık uygulaması sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan veya azalan genlere ait ayrıntılı liste 65
- Şekil 21.** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** On ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste 69
- Şekil 22.** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** On ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası Hicaznar çeşidinde ekspresyonu azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede azalan genlere ait ayrıntılı liste 71

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ABA	: Absisik asit
AP2/ERF	: Etilene Duyarlı Element Bağlama Faktörü Genleri
b-ZİP	: Temel Lösün Fermuar Motifi
CDPK	: Ca Bağımlı Protein Kinazlar
DE	: Diferansiyel İfade
DREB1/CBF	: Dehidrasyona Duyarlı Element Bağlayıcı Protein/C Tekrar Bağlama Faktörleri
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FPKM	: Framents Per Kilobase of Exon Per Million Fragments Mapped
GBIF	: Küresel Biyoçeşitlilik Bilgi Tesisi (THE Global Biodiversity Information Facility)
GRAVY	: Hidropatiliğin Genel Ortalaması
GS	: Genomik Seleksiyon
HD-ZİP	: Homeodomain-Lösün Fermuar Motifi
IGV	: Integrative Genomics Viewer
IP	: İzoelektrik Noktası
KEGG	: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi)
LEA	: Geç Embriyogenez Proteinleri
MAPK	: Mitojenle Aktive Olan Protein Kinazlar
MAS	: Marker Destekli Seleksiyon
MYB	: Miyeloblastozla İlişkili Proteinler
NGS	: Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing)
PTM	: Post-Translational Modifications
QTL	: Kantitatif Özellik Lokusu
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SSR	: Simple Sequence Repeat (Basit Dizi Tekrarları)
TAGEM	: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TPP	: Trehaloz-6-fosfat fosfataz
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
WRKY	: Transkripsiyon Faktörü (Tf) Ailesi

GİRİŞ

Nar (*Punica granatum* L.), kültürü yapılan ve meyvesi için yetiştirilen meyve türüdür. Lif, pektin, şeker, tanen, antosiyanin, flavonoid ve diğer polifenoller bakımından zengin bir kaynak olması nedeniyle tedavi edici özelliklere sahip, besin değeri yüksek bir üründür. Bu özelliklerinden dolayı son yıllarda nar endüstrisi önemli ölçüde artış göstermiştir ve küresel ekonomik pazarda yer bulmuştur.

Su noksanlığından kaynaklanan kuraklık, tuzluluk ve yüksek sıcaklık faktörleri gibi çevresel etkenlere dayalı abiyotik stres faktörleri, tüm dünya ülkelerinde sıkça yaşanan iklimsel değişikliklerin bir sonucudur. Kuraklık stresine tolerans seviyelerinin moleküler mekanizmalarının bilinmesi, tüm bitki türlerinde olduğu gibi kuraklığa tolerant nar çeşit ıslah programları için de anahtar rol oynamaktadır.

Bu çalışmada, nar genomu için kuraklık ilişkili genler bakımından bir transkriptom profili çıkarılmıştır. Kuraklık ilişkili belirlenen genler bakımından nar meyve türünde ifade analizi gerçekleştirilmiştir. Nar meyve türünün kuraklık stresine yönelik yanıtının moleküler mekanizmalarının açıklanmasında kaynak oluşturacak ve dolayısıyla nar meyve türü ve akraba diğer bitki türlerinin ıslah çalışmaları ve yetiştiriciliklerine yönelik katkı sağlayacak önemli verilerin eldesi mümkün olmuştur.

Araştırmanın Amacı

Kurak ve yarı kurak bölgelerde meyve ağaçlarında bitki büyümesini olumsuz yönde etkileyen en önemli faktörlerden biri su kaynaklarının kısıtlı olmasıdır (Xoconostle-Cazares vd. 2010; Tatari vd. 2020). Kuraklık stresinin etkilerini azaltmak ve su kaynaklarının optimal kullanımını sağlamak için kuraklığa dayanıklı bitkilerin tanınması ve kuraklığa tolerans mekanizmalarının anlaşılması çok önemlidir (Cheruth vd. 2009; Tatari vd. 2020).

Bitkiler birden fazla mekanizmanın uygulanmasıyla kuraklık stresine dayanabilirler. Bu mekanizmalar türler ve çeşitler arasında değişen kuraklıktan kaçış ve toleranstır (Cheruth vd. 2009; Tatari vd. 2020). Bir bitkinin kuraklık toleransının yüksek olması, onu özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde ekime uygun hale getirmektedir (da Silva vd. 2013; Dinc vd. 2018; Faraji vd. 2020).

Nar, düşük sıcaklıklara dayanabilmesinin yanında, kuraklığa ve yetiştiği topraktaki yüksek tuza da tolerans göstermektedir (Temiz 2009). Parvizi vd. (2016) ve Tatari vd. (2020)'de

ifade edilen bilgiye göre: Kuraklığa dayanıklı nar çeşitleri, fizyolojik ve morfolojik özellikler üzerinde herhangi bir olumsuz etki yaratmadan, eksik sulama stratejilerine diğer çeşitlerden daha iyi uyum sağlayabilmektedir. Diğer taraftan, nar ağacının fizyolojik düzeyde büyüme yanıtı ile birlikte su eksikliğine verdiği verim düzeyinde yanıt farklılıkları, çeşide, iklim koşullarına, sulama suyu kalitesine, toprak suyu yönetimi uygulamalarına ve toprak suyu mevcudiyetine bağlıdır (Xie vd. 2015).

Meyve türlerinde genetik, genomik ve transkriptom çalışmaları son yıllarda artış göstermiştir. Nar meyve türünde de benzer çalışmalar bulunmakla birlikte kuraklık ilişkili genlerin esas alındığı transkriptomik düzeyde çalışmalarda eksiklikler söz konusudur.

Bu çalışmanın amacı, nar genomu için ilk kez bu çalışma kapsamında olmak üzere kuraklık ilişkili genler bakımından Wonderful ve Hicaznar çeşitlerinde bir transkriptom profilinin çıkarılması olmuştur.

Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi

İklim değişikliği, kirletici faaliyetler ve sürekli artan dünya nüfusu nedeniyle su mevcudiyeti ve su kalitesi düşmektedir. Öte yandan dünya çapında su kullanımının %70'ini oluşturan tarımsal su talebi de sürekli artış göstermektedir. Su eksikliği bitkiler üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir, ürün verimini ve üretkenliği azaltabilmektedir ve büyük ölçüde ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Bu nedenle su kıtlığı, acil bir küresel ve çevresel sorun olarak kabul edilmektedir. Su kısıtlılığı sonucu ortaya çıkan “kuraklık”, köklerin su alımı ile terleme yoluyla su kaybı arasındaki dengesizliği teşvik eden ve bitkinin dehidrasyonuna neden olan önemli bir abiyotik stres kaynağıdır. Yüksek sıcaklık gibi diğer bazı stres faktörleri de genellikle kuraklık stresıyla aynı anda ortaya çıkmaktadır (Carraro ve Di Iorio 2022).

Orta düzeyde bir su eksikliği, stomaların kapanmasına yol açarak CO₂ asimilasyonunu ve transpirasyonu sınırlandırır. Öte yandan şiddetli su stresi, hücresel suyun büyük oranda azaldığı durumda ortaya çıkar ve metabolik olaylarda, enzimatik antioksidan aktivitede ve hücre yapısında büyük bir bozulmalara yol açarak hücre bölünmesinden çok hücre büyümesi üzerinde etkilere neden olur (Jain vd. 2011; Pourghayoumi vd. 2017a).

Bitkiler kuraklık stresine tepki verir ve kurak ve yarı kurak kuraklık koşullarına çeşitli moleküler, fizyolojik, biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerle uyum sağlar. Bitkiler ayrıca topraktaki su kıtlığıyla başa çıkmak ve kuraklık stresine direnmek için farklı yaşam stratejileri benimserler. Bu stratejilerden ikisi kuraklıktan kaçış ve direnç mekanizmasıdır (Wang vd. 2012; Pourghayoumi vd. 2017a).

Sayyad-Amin (2022)'de ifade edilen küresel ısınmanın etkisini hafifletmeye yönelik ıslah stratejileri arasında yer alan dört stratejiden birincisi, yüksek sıcaklığa ve CO₂ konsantrasyonuna dayanıklı yeni genotiplerin geliştirilmesidir. İkinci ıslah stratejisi, markır destekli seleksiyon ve biyotik ve abiyotik dirence sahip transgeniklerin geliştirilmesi olarak ifade edilirken; üçüncü ıslah stratejisi ise sıcağa ve kuraklığa dayanıklı genotiplerin geliştirilmesi olarak ifade edilmektedir. Dördüncü bir ıslah stratejisi olarak ise ürün çeşitlendirmeden (Sarkar vd. 2017) bahsedilmektedir.

Bitkilerde moleküler düzeyde meydana gelen değişimleri analiz etmek amacıyla genomik, transkriptomik, proteomik, biyoinformatik, metabolomik, gen susturma, gen düzenleme, gen haritalaması, mikroRNA teknikleri ve gen mutasyonu gibi ileri düzey yöntemler kullanılmaktadır. Bu teknikler, biyotik ve abiyotik etkilere karşı düzenleme ağlarının fonksiyonel analizinde kritik bir rol oynamaya devam etmektedir (Majeed vd. 2022). Bu yöntemler arasında yer alan “genomik yaklaşım”, gen düzeyinde ek açıklamalar üreterek transkriptomik ve proteomik çalışmalar için bir temel oluşturur. “Transkriptomik yaklaşım” ise, başka hiçbir genomik bilginin olmadığı model olmayan bir türdeki eksprese edilen genlerin başlangıç karakterizasyonu ile birlikte iyi açıklanmış referans genom dizisinin bulunduğu bir model organizmanın karşılaştırıldığı bir yaklaşımdır (Morgil 2019). Transkriptomik analiz için kullanılan “RNA sekanslama (RNA-seq) teknolojisi” beklenen hedefe göre deneysel farklılık gösteren ve sonuçta farklı eksprese olan genlerin belirlenmesi, yeni genlerin ortaya çıkarılması, uç birleştirme (gen ekspresyonu sırasında, çoklu proteinleri kodlayan tek bir gen ile sonuçlanan düzenlenmiş bir işlem) gibi birçok çıktının elde edildiği moleküler bir yaklaşımdır (Morgil 2019).

Bir transkriptom, ribonükleik asit (RNA) moleküllerine kopyalanan genetik kodun küçük bir yüzdesini temsil eder. Hücrenin işlevselliğinin sürdürülmesinin ardındaki önemli biyolojik süreçler hakkında değerli bilgiler sunabilir. Transkriptomik, daha kesin olarak tasarlanmış çalışmalar için temeller sağlar ve fonksiyonel çalışmalar için genlerin seçilmesine yönelik rehberlik sağlar. Transkriptomun incelenmesine yönelik teknoloji, hücrelerde ifade edilen genlere ilişkin herhangi bir ön bilgiye bağlı değildir (Rani ve Sharma 2017).

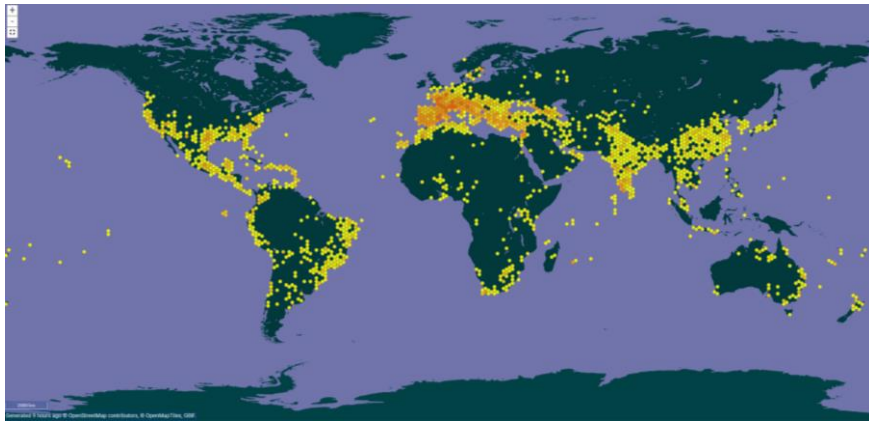
Küresel transkripsiyonel profil oluşturma, hücresel durumları tanımlamak veya benzer ifade modellerine sahip genleri tanımlamak için ifade modellerini açığa çıkarabilen güçlü bir araçtır. Son yıllarda, “transkriptom profili oluşturma” belirli bir hücre tipinin genetik düzenlenmesini anlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Rani ve Sharma 2017).

KURAMSAL TEMELLER

Nar Meyve Türünün Tanıtımı

Nar (*Punica granatum* L.), Lythraceae familyasına dâhil bir türdür (NCBI 2025). Kültürü yapılan ve meyvesi için yetiştirilen bu tür $2n=16$ kromozom sayısına sahiptir. Bu türün içinde kromozom sayısı $2n=18$ olarak bildirilen bazı süs formları (*P. granatum* var. *nana* Pers., *P. granatum* var. *striata*, *P. granatum* var. *florae luteo*, *P. granatum* var. *flore plena* ve *P. granatum* var. *flore albo-plena*) bulunduğu gibi bodur nar formu da (*P. granatum* var. *nana*) bulunmaktadır (Yılmaz, 2007).

Nar meyvesinin anavatanı olarak Asya kıtasının geniş bir bölgesi gösterilmektedir. Bu kapsamda, Güney Asya, Güneybatı Asya, Güney Kafkasya, Yakın Doğu, Orta Doğu ve Anadolu gibi çeşitli bölgeler narın doğal yayılım alanları arasında yer almaktadır. Anadolu, Suriye, İran, Irak ve Afganistan'da yabani nar ormanlarının bulunduğu belirtilmekte olup, narın bu bölgelerden doğu ve batı yönlerinde yayıldığı ifade edilmektedir. Bu yayılım sürecinde, tohumların kuşlar tarafından taşınmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Günümüzde ise nar; Pakistan, Hindistan, Çin, Azerbaycan, Özbekistan, Tacikistan, Türkmenistan ve Gürcistan gibi Asya ülkelerinde; Lübnan, İsrail, Cezayir, Tunus, Fas, İspanya, İtalya ve Yunanistan gibi Akdeniz ülkelerinde; ayrıca Arjantin, Şili, Peru ve ABD gibi Amerika kıtası ülkelerinde yetiştirilmektedir (Onur 1988). Küresel Biyoçeşitlilik Bilgi Tesisi (GBIF=the Global Biodiversity Information Facility) kaynağı esas alınarak dünya nar yetiştirme alanları gösterimine **Şekil 1**'de yer verilmiştir (GBIF 2025). Türkiye'nin nar üretimi miktarı, Türkiye İstatistik Kurumu 2023 yılı verilerine göre 638.821 ton olarak kaydedilmiştir (Meyveler, içecek ve baharat bitkileri toplam üretim miktarı içindeki payı %2,3) (TÜİK 2025).



Şekil 1. Dünya nar yetiştirme alanları gösterimi (GBIF 2025)

Besin içeriği açısından son derece zengin olan nar meyvesi, ortalama %15 oranında karbonhidrat ve %0,8 oranında protein içermektedir. B1, B2 ve C vitaminleri bakımından önemli bir kaynaktır. Kalsiyum, fosfor ve demir gibi minerallerin yanı sıra polifenolik bileşikler yüksek oranda içeriyor olması narın besleyici değerini artırmaktadır. Güçlü antioksidan içeriği sayesinde bağışıklık sistemini destekleyici özellikler gösteren nar, sağlıklı bir beslenme düzeninde önemli bir yere sahiptir (Özcan, 2020). Nar bitkisinin en önemli bileşenlerinden biri olan flavonoidler, güçlü antioksidan özellikleri ile bilinmektedir. Flavonoidlerin serbest radikallerle savaşarak hücre hasarını önlediği ve vücudu oksidatif stresten koruduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Narın meyve suyu ve yağının düzenli tüketilmesinin, yaşam süresini uzattığı, kalp hastalıklarının oluşum riskini azalttığı ve kanser gelişimini önleyici etkiler gösterdiği açıklanmıştır (Lansky vd., 1998).

Nar meyvesinin tüketim şekli, yetiştirildiği bölgelere göre farklılık gösterebilmektedir. Akdeniz ülkelerinde genellikle taze meyve olarak tüketilmesi yaygınken, dünya genelinde farklı gıda ürünlerine yönelik kullanım alanı bulmaktadır. Nar, meyve suyu, salata sosu (nar ekşisi), jöle, nar şurubu, likör ve şarap üretiminde değerlendirilen önemli bir tarımsal üründür (Cemeroğlu, 1982). Nar ağacının farklı kısımlarının (meyve suyu, tohumlar, kabuk, çiçekler, yapraklar ve kabuk) biyoaktif bileşenler açısından zengin olduğu bildirilmektedir. Narın kimyasal bileşenleri üzerine yapılan araştırmaların çoğu narın suyu, kabuğu ve çiçekleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Narın farklı kısımlarından ellagitanninler, gallotanninler, antosiyaninler, flavanol-antosiyanin katkı maddeleri, flavonoidler, fenolik asitler ve diğer fenoller içeren 500'den fazla bileşik izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Yisimayili vd. 2022). İlaç, boya, mürekkep, yağ, hayvan yemi, tanen, sirke gibi ürünlerin üretiminde hammadde olarak kullanılması nedeniyle de bu meyvenin ilerleyen yıllarda önemli bir endüstri bitkisi olacağı izlenimini vermektedir (Özcan 2020).

En çok 7-8 metreye kadar boylanabilen nar bitkisi, botanik özellikleri bakımından küçük ağaç ya da bodur ağaç olarak sınıflandırılmaktadır. İnce yapılı ve sık dallı olan yaprakları 2,5-3 cm boyundadır ve 1 cm genişliğindedir. Oval şekilli ve koyu yeşil renkteki yapraklarında orta damar belirgindir. Nar bitkisinin çiçekleri çok özel bir renge sahiptir. Açık ve parlak bir kırmızı şeklinde ifade edilen bu renk “narçiçeği” adıyla ifade edilmektedir. 4-6 cm çapında olan çiçekleri çoğunlukla dalların uç kısmında yer alırlar. Çok sayıda erkek organı bulunan bu çiçekler hermafrodittir. Tozlaşma böceklerle sağlanır. Nar meyveleri yuvarlak şekilli olup 5-12 cm çapındadır. Derimsi özellikteki meyve kabukları kırmızımsı- kahverengimsi tonlarda renklere sahiptir. Nar meyvesinin yüzey kısmı düzdür ve seyrek tüylerle kaplıdır. Narın dip kısmında bulunan uzun çıkıntı, çanak yaprakların bir kalıntısıdır. Meyvesinde çok sayıda etli

ve sulu özellikte tohum bulunmaktadır. Tohumların iç kısmı çok sert ya da yumuşak olabilmektedir. Tohumu yumuşak olan narlara çekirdeksiz nar adı verilmektedir. Pembe-kırmızı renklerindeki bu tohumlar narın yenilen kısmını oluşturmaktadır (Durmuşkahya 2008) (Şekil 2).



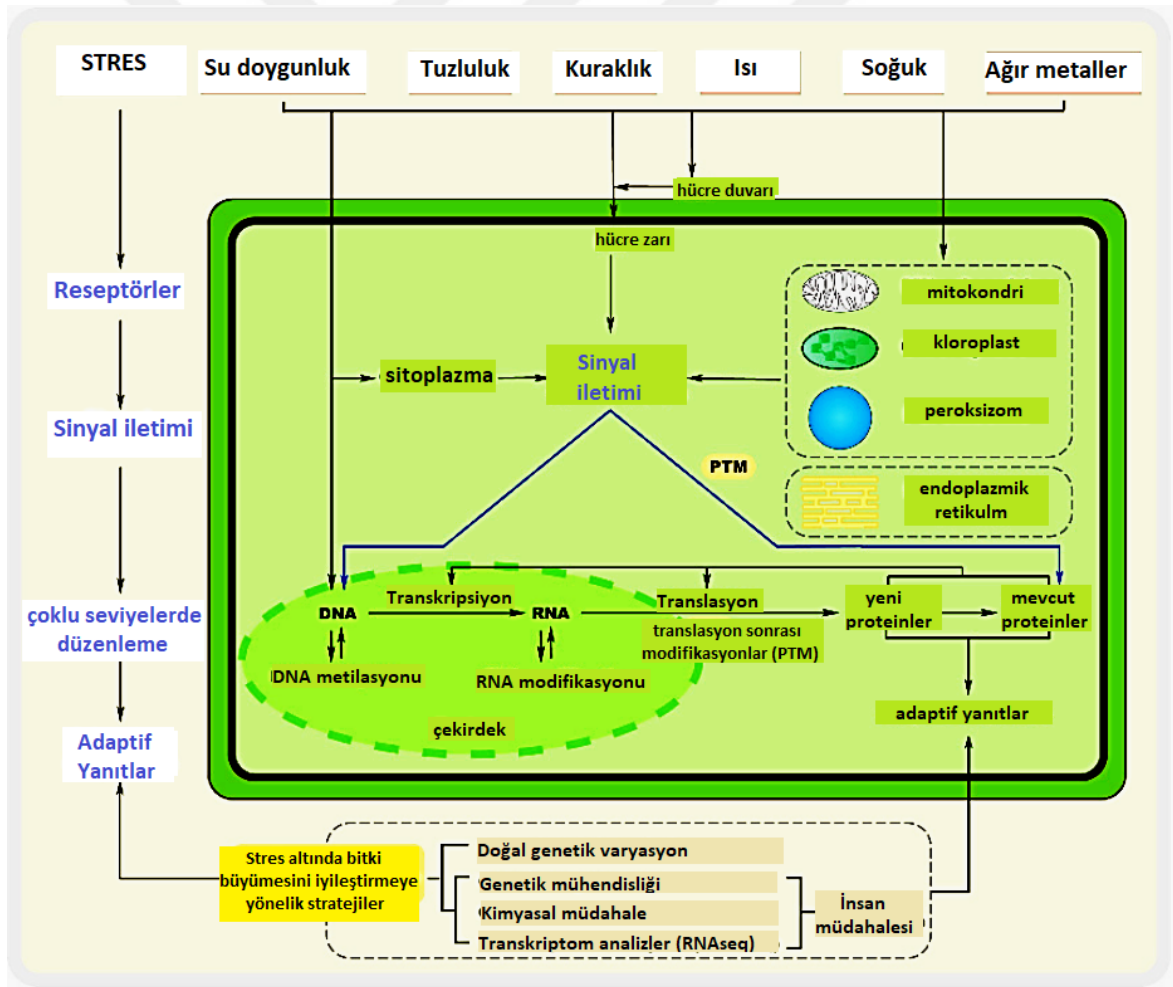
Şekil 2. Nar bitkisinin çiçekleri ve meyveleri (Rosenberg 2021)

Nar, subtropik ve tropik iklim meyve türü olsa da sıcak ılıman iklime sahip bölgelerde de yetişebilmektedir. Sıcak, kurak ve uzun bir yaz ile birlikte ılık ve yağışlı bir kış nar yetiştiriciliği için uygun olarak ifade edilmektedir. Yıllık sıcaklık toplamı gereksinimi yüksek olup aksi halde ürün alınamamaktadır. Yapracağını döken nar tiplerinde az da olsa soğuklama gereksinimi bulunmaktadır. Yağışların özellikle kışın ve ilkbaharda düşmesi istenmektedir. Verimli nar yetiştiriciliği için yıllık yağış miktarı 500 mm ifade edilmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda; Akdeniz Bölgesi, Ege Bölgesi ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nin Türkiye nar yetiştiriciliği için en uygun bölgeler olduğu ifade edilmektedir. Diğer taraftan diğer mikroklima niteliğinde olan bazı bölgelerde de nar yetiştiğine dair bilgileri bulunmaktadır (Şahin 2020). Örneğin. Türkiye'nin kuzey-doğusunda yer alan Çoruh vadisinde doğal yetiştirme alanı bulan nar popülasyonları üzerine morfolojik ve moleküler düzeyde genetik zenginliğin tespitine yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Ercişli vd. 2011; Orhan vd. 2014).

Nar bitkisinde en iyi gelişme, kuru ve sıcak hava koşullarına karşılık derin geçirgen nemli ve serin topraklarda görülmektedir. Ancak, silisli, çakıllı, kumlu, kireçli, killi ve ağır killi gibi çeşitli toprak tiplerinde de nar yetiştiriciliği yapılabilir. Alkali ve asit topraklarda da yetişir. Tuzluluğa orta derecede dayanıklıdır. Bazı meyve türlerinin aksine aşırı toprak nemine de dayandığı tespit edilmiştir. Nar yetiştiriciliğinde sulama oldukça önemlidir. Bu nedenle yağışların yeterli olmadığı her dönemde narlarda sulama şarttır. Genel olarak Şubat-Mart aylarında odun gözlerinin sürmesinden, Eylül-Ekim aylarında meyve olumuna kadar sürekli olarak toprak nemi sağlamak gerekmektedir. Özellikle odun gözlerinin sürmesi, çiçek tomurcuklarının görülmesi ile meyve tutumu ve gelişimi dönemlerinde yeterli toprak nemi mutlaka sağlanmalıdır (Şahin 2020).

Abiyotik Stres Mekanizması

Bitkilerin kuraklık, tuzluluk, ısı, soğuk, su altında kalma, ağır metaller gibi abiyotik stres faktörlerine karşı moleküler düzeydeki direnci, stresi algılama mekanizmaları ve genetik yanıtlar aracılığıyla sağlanır (Şekil 3). Bu şekle göre; abiyotik stres, hücre duvarı (CW=cell wall), plazma zarı (PM= plasma membrane), sitoplazma, mitokondri, kloroplastlar, peroksizomlar, endoplazmik retikulum ve çekirdek dâhil olmak üzere farklı hücresel kısımlarda algılanabilir ve bu da moleküler tepkilerin başlamasına yol açar. Bu stres sensörleri daha sonra sinyalleri ikincil haberciler ve Ca^{2+} , ROT ve protein kinazlar gibi düzenleyici proteinler aracılığıyla aşağı akış gen ifadesi ile sonuçlanır. Ayrıca, abiyotik stresin stres algılama, sinyal iletimi ve düzenlemeyi içeren farklı tepkileri birden fazla düzeyde tetiklediği artık iyi bilinmektedir. Bu nedenle bitkiler, stres altında hayatta kalmak ve üremek için büyümelerini ayarlamak üzere mekanizmalar geliştirmişlerdir. Şekilde ifade edilen PTM kısaltması translasyon sonrası modifikasyonlar olarak ifade edilmiştir (Zhang vd. 2023).

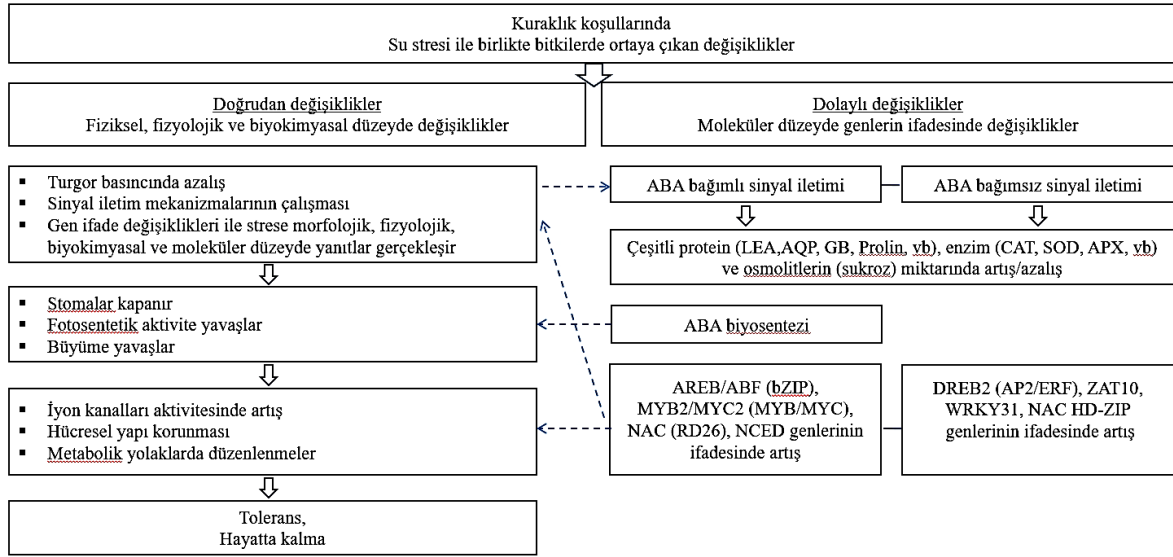


Şekil 3. Bitkilerin abiyotik stres faktörlerine karşı moleküler düzeydeki direnci, stresi algılama mekanizmaları ve genetik yanıtlar (Zhang vd. 2023)

Kuraklıkla İlgili Bilinen Bazı Genler ve Özellikleri

Kuraklığa yanıt, hücresel düzeyde karmaşık ve dinamik olarak ifade edilen fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçlerin bir sonucu ortaya çıkmaktadır (Simonneau *et al.* 2017, Trenti *et al.* 2021). Kuraklık stresi koşullarında bitki hücrelerinde bazı sinyal moleküllerinin (Ca^{2+} , ABA, ROT, vb.) üretimi gerçekleşmektedir. Dolayısıyla, doğrudan (fizyolojik, biyokimyasal ve morfolojik) ya da dolaylı (gen ifadesinde değişiklikler) bir şekilde bitkilerde çok farklı nitelikte değişiklikler ortaya çıkmaktadır (Yang *et al.* 2021) (**Şekil 4**). Shinwari vd. (2020), Yang vd. (2021), Machado vd. (2022) ve Li vd. (2023) tarafından bildirilen bilgilere dayanarak, kuraklık koşullarında su stresi yaşayan bitkilerde meydana gelen bazı değişiklikler **Şekil 4**'de gösterilmiştir. Bu şekilde, bitkilerde doğrudan ve dolaylı olarak gelişen bazı değişimlerin birbirleriyle bağlantılı olduklarına dair bir ilişkilendirme gösterimi yapılmıştır.

Bitkilerin dış formunda gözlenebilen değişiklikler yanında içsel yapısında ve bazı fiziksel özelliklerinde meydana gelebilen değişiklikler, **doğrudan meydana gelen değişiklikler** olarak ifade edilmektedir. Bitki dış formunda ortaya çıkan değişiklikler arasında bitki boyunda azalma, yaprak boyutunda azalma, yaprak sayısında azalma ve yapraklarda solmadan bahsetmek mümkündür. Bitkinin içsel yapısında ve bazı fiziksel özelliklerinde meydana gelen değişiklikler arasında ise yaprak epidermisi dışındaki su kaybını azaltan kütikül gelişimi ve bu tabakanın kalınlaşmasına katkıda bulunan ve ozmotik düzenleyici özelliklere sahip olan mum tabakasından bahsetmek mümkündür. Yapraklarda mezofil palizad dokusunda artış ve bunun tersi olarak sünger dokuda azalış gözlenebilmektedir. Stomalarda boy/en oranının değişimi ile birlikte yaprak başına stoma yoğunluğu değişimi olabilmektedir. İlave olarak, lignifikasyon artışı, taze/kuru ağırlıkta azalış, ksilem doku kalınlaşması ve köklerde kalınlaşma gibi çok farklı değişiklikler oluşabilmektedir (Lovisol *et al.* 2002, Chaves and Oliveira 2004, Hochberg *et al.* 2017, Fahad *et al.* 2017, Simonneau *et al.* 2017, Yang *et al.* 2021). Diğer taraftan, fizyolojik düzeyde ve biyokimyasal nitelikte önemli değişiklikler ortaya çıkabilmektedir. Örneğin, Yang *et al.* (2021)'da ifade edilen bilgiye göre; i) osmotik düzenlenme (hücre hacminde azalış, hücreler arası su içeriğinde azalış, hücre bileşenleri miktarında artış gibi), ii) fotosentetik aktivitede değişiklik, iii) LEA proteinleri, dehidrin, aquaporin gibi kuraklık ilişkili proteinlerde değişiklikler ve iv) Reaktif oksijen metabolizmasında değişiklikler ortaya çıkabilmektedir (**Şekil 4**).



Şekil 4. Kuraklık koşullarında su stresi ile bitkilerde gözlenen fizyolojik, biyokimyasal, morfolojik ve moleküler düzeydeki değişiklikler (Orhan ve Yıldırım 2026)

Bitkilerde, kuraklık stresi koşullarında gen ifade düzeyinde değişiklikler şeklinde **dolaylı olarak ortaya çıkan değişiklikler** de mümkündür. Aşağı-akış (downstream) olarak ifade edilen genlerin ifade seviyesinde artış ortaya çıkmaktadır. Örneğin: i) Prolin, glisin betain, çözünür şeker, geç embriyogenez proteinleri (LEA), aquaporin gibi fonksiyonel gen ürünleri bitki metaboloizmasına dahil olabilirler ve bitki durumunu etkileyebilirler. ii) Ca bağımlı protein kinazlar (CDPK), mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK), homeodomain-lösin fermuar motifi (HD-ZIP), temel lösin fermuar motifi (b-ZIP), AP2/ERF genleri (APETALA2/etilene duyarlı element bağlama faktörü genleri), NAC genleri (NAM, ATAF1/2 ve CUC2 baş harfleriyle ifade edilen gen grubu), miyeloblastozla ilişkili proteinler (MYB), WRKY transkripsiyon faktörü (TF) ailesi ve DREB1/CBF genleri (dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı protein/C tekrar bağlama faktörleri) gibi düzenleyici gen ürünleri, bitki morfolojisinde veya fizyolojisinde düzenleme yaparak değişikliklere neden olabilirler. Bunlar, sinyal iletim yollarını veya downstream genlerinin ifadesini düzenlemek için transkripsiyon faktörleri olarak hareket ederler ve ayrıca bitkilerin kurak şartlarda başarılı bir şekilde hayatta kalmalarını sağlarlar (Yang *et al.* 2021) (**Şekil 4**) (**Tablo 1** ve **Tablo 2**).

Kuraklık stres sinyallerine yanıtta *fonksiyonel genler (osmotik düzenleme ile ilişkili genler ve kuraklık ilişkili protein genleri)* ve *düzenleyici genlerin (sinyal iletimi ilişkili genler, transkripsiyon faktör genleri)* etkili olduğu bilinmektedir. Fonksiyonel genlerden olan osmotik düzenleme ile ilişkili genler arasında prolin ve glisin betain genleri ile birlikte çok karmaşık olan çözülebilir şekerlerin (örneğin, sukroz) metabolik yollarını etkileyen enzimlerden (früktoz-1,6-bifosfataz, sukroz fosfat sentaz gibi) sorumlu olan genlerden bahsetmek mümkündür. Prolin, stoplazma ve kloroplastta sentezlenmektedir. Prolin, glutamik asit ve

ornitin sentez yollarını içermektedir. Prolin birikiminden sorumlu enzimler; farklı metabolik yollara göre, üç kategoride yer almaktadır: a) P5CS, P5CR, Δ -OAT, b) ProDH, P5CDH, c) ProT. Glisin betain sentezinde başlatıcı kolin olup sitoplazmik ezim olan PEAMT (fosfoetanolamin-N-metiltransferaz) ile katalize edilen fosfoetanolamin bağımlı 3-adenozin metionin ile elde edilmektedir. Diğer taraftan, Fonksiyonel genlerden en bilineni olan kuraklık ilişkili LEA proteini, geç embriyogenez aşamasında yüksek düzeyde ifade olmaktadır. Kuraklığa cevapta ve dayanıklılıkta önemli rol oynar. Esas olarak suyu yakalayarak proteinlerin ve zarların yapısını ve işlevini stabilize eder ve korur. Moleküler bir şaperon ve hidrofilik çözünen olarak hücreleri su stresinden korur. Aquaporin ise, majör içsel protein (MIP) gen ailesine ait proteindir. Bu protein plazma zarında ve hücre içinde yer alarak suyun, küçük nötr moleküllerin ve gazların taşınmasını destekleyen bir zar kanalıdır. Özellikle kuraklık stresinde hücrel su hareketini düzenler (Yang *et al.* 2021) (**Tablo 1**).

Tablo 1. Kuraklık Stresi ile İlişkili Bazı Fonksiyonel Genler (Orhan ve Yıldırım 2024)

Kuraklık stresi ile ilişkili fonksiyonel genler		
a)	Osmotik düzenleme ile ilişkili genler	
b)	Kuraklık ilişkili protein genleri	
Prolin (Pro)	Stres koşullarında bitkilerde miktarsal artış gösteren osmolit, antioksidatif savunma molekülü ve sinyal molekülü özelliğinde olan bir aminoasittir. Farklı metabolik yollara göre Prolin birikimi ilişkili enzimler bulunmaktadır: P5CS (Δ -Prolin-5-karboksilaz sentaz), P5CR (Prolin-5-karboksilaz redüktaz), Δ-OAT (Ornitin- δ -aminotransferaz), ProDH (Prolin dehidrogenaz), P5CDH (Δ -Prolin-5-karboksilaz dehidrogenaz), ProT (Prolin transferaz)	Yang <i>et al.</i> 2021
Glisin Betain (GB)	Stres koşullarında bitkilerde miktarsal artış gösteren osmo-düzenleyicidir.	
Aquaporin (AQP)	Hücre zarında ve hücre içinde yer alarak suyun, küçük nötr moleküllerin ve gazların taşınmasını destekleyen zar kanalıdır. Özellikle kuraklık stresinde hücrel su hareketini düzenleyici olarak bilinirler. MIP gen ailesine ait proteindir (PIPs , TIPs , NIPs , SIPs , vb).	
LEA proteini	Geç embriyogenez aşamasında yüksek ölçüde ifade olan proteindir. Kuraklığa cevapta ve dayanıklılıkta önemli rollere sahiptir. Esas olarak suyu yakalayarak proteinlerin ve zarların yapısını ve işlevini stabilize eder ve korur.	
Çözülebilir şekerler	Çözünür şekerler, temel olarak hücrelerin metabolik kaynakları ve yapısal bileşenleri olarak işlev görürler. Etki hızını sınırlayan enzimler bulunmaktadır. Örneğin; FBPase (Früktöz-1,6-bifosfataz), SPS (Sukroz fosfat sentaz)	

Düzenleyici genler arasında sinyal iletimi ile ilişkili genler arasında NCED genleri, MAPK genleri ve CDPK (Ca bağımlı kalmodulin, kalmodulin benzeri proteinler) genleri

bulunmaktadır (Mizoguchi 1996, Yang *et al.* 2021). NCED, kuraklık toleransını düzenleyen genidir. Bu genin aşırı ekspresyonu endojen ABA seviyesini artırır. ABA senteziyle ilişkili olarak *Arabidopsis thaliana*'da AtNCED2, AtNCED3, AtNCED5, AtNCED6 ve AtNCED9 genleri tanımlanmıştır (Zhang *et al.* 2009, Li *et al.* 2021a). MAPK'lar, hücre dışı uyarıları çok çeşitli hücresel tepkilere dönüştüren protein Ser/Thr kinazlardır. Kuraklık, tuzluluk, düşük sıcaklık gibi stres koşullarında uyarılan bu protein kinazlar, stres sinyallerini algılayarak sinyal iletimi ile ilişkili olarak transkripsiyonel düzeyde etki yaparlar. *Arabidopsis thaliana*'da tanımlanmış olan MAPK genleri arasında AtMPK3, AtMPK4, AtMPK6, AtMEK1, AtMEKK1 yer almaktadır (Cargnello and Roux 2011, Yerlikaya 2022). CDPK ya da CPK olarak bilinen Ca bağımlı proteinler arasında kalmodulin, kalmodulin benzeri proteinler, kalmodulin-b-benzeri proteinler bulunmaktadır. Kalmodulin, dört adet Ca bağlanma bölgesi içeren asidik proteindir. Hücre içi uyarı nedeniyle artış gösterdiğinde kalmodulin Ca^{2+} 'a bağlanır. Konformasyonel değişim geçirir ve kinaz kompleksini (CaM) aktifleştirir. Kinaz ise hedef enzimleri fosforilleyerek aktifliklerini düzenler (Xiao *et al.* 2017) (**Şekil 4**) (**Tablo 2**).

Düzenleyici genler arasında eksprese edilen TF genleri MYB, MYC, WRKY, NAC, AP2/ERF, bZIP/HDZIP, DREB1/CBF genleridir. Bu genler stres koşullarında stres hasarını azaltacak şekilde hareket eder (Mizoguchi 1996, Yang *et al.* 2021). Hem MYB ve hem de MYC, dehidrasyon ve ABA ile indüklenebilir ekspresyonunda transkripsiyonel aktivatörler olarak işlev yaparlar. MYB genleri, tüm ökaryotik canlılarda bulunan bir TF ailesidir. Bitki büyüme ve gelişimi ile hücre morfolojisi ve fizyolojik metabolizma gibi çoklu biyolojik süreçlerde etkilidirler. Stres koşullarına yanıtta etkilidirler. Bitki büyümesi ve gelişimi, hücre morfolojisi ve model oluşumu, fizyolojik aktivite metabolizması, birincil ve ikincil metabolik reaksiyonlar ve yanıtlar gibi çoklu biyolojik süreçlerde önemli roller oynarlar (Abe *et al.* 1997, Cao *et al.* 2020). Temel sarmal-ilmek-sarmal (bHLH) TF familyasına ait olan MYC genleri, özellikle büyüme ve gelişme olmak üzere abiyotik ve biyotik streslere yanıtta önemli roller oynar. Bitkinin ikincil metabolizmasında da rol oynarlar (Abe *et al.* 1997, Chen *et al.* 2019). WRKY TF ailesi proteinleri 60 aminoasitlik korunmuş bir WRKY domainine sahiptirler. Bitkilerde savunma yanıtı yollarının düzenlenmesinde ve bitki gelişiminde önemlidirler. Bu TF'ler, biyotik ve abiyotik uyarılara yanıt olarak birçok bitki sürecini düzenleyen, aynı zamanda gelişimsel süreçleri koordine eden dahili sinyallere yanıt olarak düzenleyen ve etkileşim olarak ek DNA bağlayıcı ve DNA bağlayıcı olmayan proteinler içeren bir bitki sinyal ağının önemli bileşenleridir (Imanzhanov 2018, Bakshi and Oelmüller 2014). Bitkilerde NAC transkripsiyon faktörleri, *Arabidopsis*'te 100'den fazla aile üyesiyle en büyük transkripsiyon faktörü ailelerinden birini oluşturur. NAC kısaltması olarak ifade edilen üç gen grubu şunlardır: NAM (no apical meristem), ATAF1/2 (*Arabidopsis* transcription activation factor) ve CUC2

(cup-shaped cotyledon). Bunların bitki gelişimi ve biyotik-abiyotik stres şartlarına yanıtta önemli oldukları bildirilmiştir. Oldukça korunmuş bir N-uç DNA bağlanma domaini ve değişken bir C-uç bölgesini içerirler. Bitki gelişimi ve çevresel stresler sırasında hormonla ilgili süreçlere çeşitli NAC proteinlerinin dahil olduğu rapor edilmiştir (Jensen *et al.* 2010, Imanzhanov 2018). AP2 isimli en az bir bağlanma domaini içeren AP2/ERF proteinleri, ERF, AP2 ve RAV olmak üzere üç farklı aileye sahiptir. Bu TF'ler savunma genini etkinleştirmek ya da baskılamak için sinyal iletiminde ve farklı sinyal yolları arasındaki etkileşimin düzenlenmesinde önemlidirler. Sinyal basamağından sondan bir önceki basamağa yerleştirilen TF ler, hızlandırıcılarda cis-etkili elementler ile DNA bağlanması sayesinde doğrudan aşağı-ağış gen ifadesini düzenlerler. Ayrıca, EREBP TF'leri de (etilen duyarlı eleman bağlama faktörü) AP2 TF'leri gibi bitkiler tarafından biyotik strese yanıt vermek için kullanılan mekanizmanın bir bölümünü oluşturmaktadır. Strese alışma ve sinyal yolunda metabolik yollarda etkilidirler (Nakano *et al.* 2006, Xie *et al.* 2019). DREB1/CBF TF'leri ise, DRE/CRT cis-elementine bağlanan ve strese duyarlı genlerin ekspresyonunu düzenleyen AP2/ERF ailesi transkripsiyon faktörlerine aittir. Bu protein ailesinin ortak noktası AP2 DNA bağlama motifidir. Kuraklık ve düşük sıcaklık gibi abiyotik stres yanıtı DRE/CRT elementlerine spesifik olarak bağlanabilen TF'dür. Su stresinde güçlü bir şekilde uyarılırlar ve çeşitli fonksiyonel genlerin ekspresyonunu düzenleyebilirler (Badawi *et al.* 2007, Akhtar *et al.* 2012). bZIP TF'ler, bitişik bir a-sarmalında yer alan iki yapısal özellikten oluşan, yüksek düzeyde korunmuş bir bZIP alanına göre adlandırılır. Biyotik ve abiyotik stres sinyalleri ile tohum olgunlaşması gibi süreçlerde düzenleyici olarak ifade edilmektedir. bZIP TF ailesi proteinlerin DNA bağlanma alanı, özgün DNA tanıma için çift iplikli DNA promotörü ile etkileşime giren en basit ve uygun motiftir (Gai *et al.* 2020, Kalyoncuoğlu 2023). HD-ZIP TF'ler bir homedomain ve bir lörin fermuar motifinden ibarettir. Stres gelişiminden morfogenez ve büyüme ve gelişime kadar çeşitli örtüşen olaylarda etkin olduğu ifade edilmektedir. Bitkilere özgü transkripsiyon faktörleridir ve *Arabidopsis thaliana*'da 25'ten fazla gen tarafından kodlanır (Elhiti and Stasolla 2009) (**Şekil 4**) (**Tablo 2**).

Tablo 2. Kuraklık Stresi ile İlişkili Bazı Düzenleyici Genler (Orhan ve Yıldırım 2024)

Kuraklık stresi ile ilişkili düzenleyici genler			
a)	Sinyal iletimi ilişkili genler		
NCED	9-cis-epoxycarotenoid di-oksigenaz	Kuraklık toleransını düzenleyen gen dir. NCED aşırı ekspresyonu endojen ABA seviyesini artırır.	Zhang <i>et al.</i> 2009 Li <i>et al.</i> 2021

Tablo 2. (devamı)

MAPKs MAPK MAPKK MAPKKK	Mitojenle aktive olan protein kinazlar (Mitogen-activated protein kinases)	Hücre dışı uyarıları çok çeşitli hücrel tepkilere dönüştüren protein Ser/Thr kinazlardır. Kuraklık, tuzluluk, düşük sıcaklık gibi stres koşullarında uyarılan bu protein kinazlar, stres sinyallerini algılayarak sinyal iletimi ile ilişkili olarak transkripsiyonel düzeyde etki yaparlar.	<i>Cargnello and Roux 2011</i> <i>Yerlikaya 2022</i>
CDPKs (= CPKs)	Ca bağımlı protein kinazlar (The calcium-dependent protein kinase)	Ca bağımlı proteinler arasında kalmodulin, kalmodulin benzeri proteinler, kalmodulin-b-benzeri proteinler bulunmaktadır. Hücre içi uyarı nedeniyle artış gösterdiğinde kalmodulin Ca^{2+} 'a bağlanır. Konformasyonel değişim geçirir. CaM kinaz kompleksini aktifleştirir. Kinaz ise hedef enzimleri fosforilleyerek aktifliklerini düzenler.	<i>Xiao et al. 2017</i>
b) Transkripsiyon faktör genleri (TF)			
MYB	Myeloblastosis-related proteins	MYB, tüm ökaryotik canlılarda bulunan bir TF ailesidir. Bitki büyüme ve gelişimi ile hücre morfolojisi ve fizyolojik metabolizma gibi çoklu biyolojik süreçlerde etkilidirler. Stres koşullarına yanıtta etkilidirler.	<i>Abe et al. 1997</i> <i>Cao et al. 2020</i>
MYC	Myelocytomatosis oncogenes	Temel sarmal-ilmek-sarmal (bHLH) TF familyasına ait olan MYC genleri, özellikle büyüme ve gelişme olmak üzere abiyotik ve biyotik streslere yanıtta önemli roller oynar. Dehidrasyon ve ABA ile indüklenebilir ekspresyonunda transkripsiyonel aktivatörlerdir.	<i>Abe et al. 1997</i> <i>Chen et al. 2019</i>
WRKY	WRKYGQK	Bitkilerde biyotik ve abiyotik uyarılara yanı olarak birçok bitki sürecini düzenleyerek savunma yanıtı yollarının regülasyonunda ve bitki gelişiminde önemlidirler.	<i>Imanzhanov 2018</i> <i>Bakshi and Oelmüller 2014</i>
NAC (NAM, ATAF1/2, and CUC2)	NAC kısaltması, üç genden türetilir: No apical meristem (NAM), Arabidopsis transcription activation factor (ATAF1/2), Cup-shaped cotyledon (CUC2)	Bitkilere özgü TF'lerin en büyük ailesi olarak ifade edilirler. Bitki gelişimi ve biyotik-abiyotik stres koşullarına yanıtta önemlidirler.	<i>Jensen et al 2010</i> <i>Imanzhanov 2018</i>

Tablo 2. (devamı)

AP2/ ERF	APETALA2	AP2 isimli en az bir bağlanma domaini içeren AP2/ERF proteinleri, ERF, AP2 ve RAV olmak üzere üç farklı aileye sahiptir. Bu TF'ler savunma genini etkinleştirmek ya da baskılamak için sinyal iletiminde ve farklı sinyal yolları arasındaki etkileşimin düzenlenmesinde önemlidirler.	<i>Nakano et al 2006</i> <i>Xie et al. 2019</i>
ERBP EREBP	Etilen Duyarlı Eleman Bağlama Faktörü (Ethylene Responsive Element Binding Factor)	EREBP TF'leri AP2 TF'leri gibi bitkiler tarafından biyotik strese yanıt vermek için kullanılan mekanizmanın bir bölümünü oluşturmaktadır. Strese alışma ve sinyal yolunda metabolik yollarda etkilidirler.	<i>Dong et al. 2021</i>
DREB1/ CBF	Dehidrasyona duyarlı element bağlama proteini / C-tekrar bağlama faktörleri (Dehydration- responsive element- binding protein /C- rebinding factors)	DRE/CRT cis-elementine bağlanan ve strese duyarlı genlerin ekspresyonunu düzenleyen AP2/ERF ailesi transkripsiyon faktörlerine aittirler. Bu protein ailesinin ortak noktası AP2 DNA bağlama motifidir. Kuraklık ve düşük sıcaklık gibi abiyotik stres yanıtında önemlidirler.	<i>Badawi et al. 2007</i> <i>Akhtar et al. 2012</i>
b-ZİP	Temel lösün fermuar motifi (basic region/leucine zipper motif)	bZIP TF'ler, bitişik bir a-sarmalında yer alan iki yapısal özellikten oluşan, yüksek düzeyde korunmuş bir bZIP alanına göre adlandırılır. Biyotik ve abiyotik stres sinyalleri ile tohum olgunlaşması gibi süreçlerde düzenleyici olarak ifade edilmektedir.	<i>Gai et al. 2020</i> <i>Kalyoncuoğlu 2023</i>
HD-ZİP	Homeodomain- lösün fermuar motifi (homeodomain- leucine zipper motif)	Bir homedomain ve bir lösün fermuar motifinden ibarettir. Stres gelişiminden morfogenez ve büyüme ve gelişime kadar çeşitli örtüşen olaylarda etkin olduğu ifade edilmektedir. Bitkilere özgü transkripsiyon faktörleridir ve Arabidopsis thaliana'da 25'ten fazla gen tarafından kodlanır.	<i>Elhiti and Stasolla 2009</i>

Transkriptom Profilleme (Genlerin Birlikte İfadesi)

Bir organizmanın DNA'sında yer alan bilgilerin işleme geçirilebilmesi için DNA'da bulunan bilginin okunması ve RNA moleküllerine kopyalanması yani transkripte edilmesi gereklidir. Bu RNA moleküllerine “transkript” adı verilmektedir. Bir biyolojik örnekte (doku

vb.) yer alan transkriptlerin içeriğinin ve ifade edilme seviyelerinin tespit edildiği analiz yöntemine ise “transkriptom analizi” denilmektedir (TUGEM 2024).

“Transkriptom”, özel koşullar altında ifadesi yapılan tüm genleri tanımlamakla birlikte bazı hücrelerde bazı durumlarda, tek bir genden çok sayıda farklı mRNA (alternatif splicing) oluşabilmesi veya olgun mRNA’ya dönüşmeyen kodlanmamış RNA’ları da kapsayan bir tanımlamadır (Lüleyap 2008).

“Transkriptomik” kavramı, hücre genomunda ifadesi gerçekleştirilen tüm mRNA transkriptlerinin kapsamlı düzeyde bir analizini ifade etmektedir. Bir örnekteki RNA miktarına bağlı olarak genlerin seçilen bir alt grubu veya tamamının ifade düzeyini ölçmeyi hedefler (Yılmaz vd 2025)

“Transkriptom profillemesi” kavramı ise, genlerin birlikte ifadesi anlamında kullanılmaktadır. Belirli bir zamanda bir hücrenin tüm RNA bileşeninin küresel bir anlık görüntüsünü ortaya çıkarabilen, transkriptomikte kullanılan en son araç ve tekniklere ve bununla ilgili konulara ilişkin önemli bilgiler sağlar. Bu anlık görüntü, farklı hücre tipleri, farklı hastalık durumları ve gelişim sırasındaki farklı zaman noktaları arasındaki ayrımı mümkün kılar. Transkriptom analizi onlarca yıldır biyolojik araştırmaların önemli bir alanı olmuştur. Yeni nesil dizileme teknolojileri, yüksek verimli ekspresyon verilerinin tek bazlı çözünürlükte elde edildiği hücre transkriptomlarının çok boyutlu incelemelerine yönelik fırsatlar sağlayarak transkriptomikte devrim yaratmıştır. Transkriptom analizi, tek RNA moleküllerinin tespitinden, büyük ölçekli gen ekspresyonu profillemesi ve genom açıklama girişimlerine kadar gelişme göstermiştir (Ali and Lee 2022).

RNA Dizileme (RNA-seq=RNA Sequencing)

Modern bitki yetiştirme programlarının temel taşı haline geldiği birçok çalışmada ifade edilen (Abdelrahman vd. 2017; Pavlovich 2017) yeni nesil dizileme (NGS=Next Generation Sequencing) ve biyoinformatik programlar, yüksek verimli veri analizi sağlarlar. Bu teknolojiler, tek nükleotid polimorfizmleri, insersiyonlar, delesyonlar ve diğer bazı karmaşık yapısal özelliklerin moleküler düzeyde anlaşılmasına, gen ekspresyon atlaslarının gelişimine, çevresel strese koşullarına yanıtta sinyal yollarını anlaşılmasında etkili olmuşlardır (Rourke vd. 2014; Yuan vd. 2017; Zhang vd. 2017; Morgil 2019).

RNA seq gibi gelecek nesil sekanslama teknolojileri, tüm transkriptomun yüksek verimli analizini mümkün kılar ve önceki bir sekans bilgisine ihtiyaç duymadan bile, gen ekspresyon seviyelerini nicelleştirir ve bu yaklaşım ile bitkilerin ekspresyon profili hakkında

değerli bilgiler sağlanarak, bitki genomundaki tüm genleri karşılaştırmaya ve tespit etmeye izin verir (Deshmukh vd. 2014; Morgil 2019).

“RNA-seq” farklı amaçlar için kullanılabilir. Bu amaçlardan birisi, transkriptomların fonksiyonel anotasyonu diye adlandırılan bir organizmanın genlerinin ve proteinlerinin bir kataloğunu oluşturmak ve diferansiyel ifade (DE) analizi adıyla anılan gen ifadesindeki değişiklikleri incelemektir. RNA-seq genellikle bir hücre popülasyonundan gelen materyalin dizileme (sekanslama) için bir araya getirildiği bir yaklaşımdır. Bir RNA dizileme çalışmasında kısa okuma dizilimi esas alınır. Bunun için çalışılacak organizmaya ait örneklerden öncelikle RNA molekülleri izole edilir, zenginleştirilir ve tamamlayıcı DNA’ya (cDNA) ters kopyalanır. Sonra, cDNA dizileri fragmanlara ayrılır, rastgele seçilerek PCR ile amplifiye edilir böylece dizileme için cDNA kütüphanesi elde edilir. Bir dizileme çıktısı, içerisinde nükleotidlerin sıralandığı milyonlarca kısa okumadan (50-350 bp) oluşur. Dizileme için kullanılan kütüphane belli uzunluktaki parçaları tutmak için dizileri yeniden boyutlandırır. Kısa okumalar tekrar birleştirilir ve transkriptom derlemesi hazırlanır. Dizilerin birleştirilmesi işleminde referans kılavuzlu veya de novo yaklaşım kullanılabilir. Referans kılavuzlu yaklaşımda organizmanın veya yakın bir türün genomu gereklidir. Okumaların hangi genlerden kaynaklandığını belirlemek ve ardından ona karşılık gelen transkriptleri yeniden yapılandırmak için okumalar bu referans genomla eşleştirilmektedir. De novo yaklaşımda ise okumalarda yer alan bilgiler kullanılır. Ancak bu bilgiler öncelikle anlaşılır şekilde tanımlanmalıdır. Biyolojik anlamlılıklarının ortaya konulabilmesi için fonksiyonel ve evrimsel özelliklerinin karakterize edilmesi gereklidir. Bu süreç, transkriptom anotasyonu adı verilmektedir. (Martin and Wang 2011; Han vd. 2015; Salzberg 2019; Raghavan vd. 2022; Ulu 2022).

Günümüzde, RNA-seq kullanılarak Yeni Nesil Dizileme (YND) platformları sayesinde RNA’nın yüksek verimli profillemesi daha uygun maliyetle yapılabilir (Wang vd. 2009; Slatko vd. 2018; Morgil 2019; Ulu 2022). RNA-Seq için iki deney protokolü yaygın olarak kullanılmaktadır: (a) tek uçlu ve (b) çift uçlu dizileme deneyleri. Tek uçlu deneyler için, uzun (tipik olarak 200 ila 400 nükleotid) bir molekülün bir ucu (tipik olarak yaklaşık 50 ila 100 bp) sekanslanır. Çift uçlu deneyleri için, tipik olarak 200 ila 400 nükleotid molekülünün her iki ucunun tipik olarak 50 ila 100 bp’si dizilenir (Wang vd., 2009). Mevcut Illumina teknolojisini kullanarak, sekanslama makinesi her çalıştırıldığında, sekiz örnek (örneğin, potansiyel olarak sekiz farklı gen ekspresyonu kataloğu) bağımsız olarak sorgulanabilir ve her örnekte on milyonlarca okuma üretilir (Rani ve Sharma 2017).

Nar Meyve Türünde Kuraklık ve Diğer Stres Koşulları İçin Fizyolojik Çalışma Örnekleri

Şu ana kadar su stresi altında gelişim gösterebilen nar çeşitleri ya da türlerinin oluşturulduğu ve bu duruma köklü bir çözüm sunacak bir yöntem üzerinde durulmamıştır. Nar ıslahı ile ilgili yapılan araştırmalarda, su stresi toleranslı nar çeşitlerinin geliştirilmesi yerine, daha çok su stresine karşı azaltıcı uygulamalara yönelindiği gözlemlenmiştir. Bu uygulamaların yüksek maliyetli olduğu kadar soruna kalıcı bir çözüm sağlamadığı belirtilmektedir. Öte yandan, bitkinin fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerinin tespitine yönelik temel araştırmalara oldukça fazla önem verilmiştir. Aşağıda, nar türü için kuraklık stresi ve diğer stres koşulları için gerçekleştirilmiş fizyolojik nitelikte bazı çalışma örnekleri bulunmaktadır. Nar, genellikle su kaynaklarının sınırlı olduğu kurak ve yarı kurak bölgelerde yetişen, kuraklığa dayanıklı bir bitki türü olarak tanımlanmaktadır. Bu bitki türünün çöl kenarlarında da yetiştirilebildiği tespit edilmiştir (Aseri vd. 2008; Galindo vd. 2017; Ghanbarpour vd. 2019; Tatari vd. 2020; Zahedi vd. 2022).

Nar, kurak ve yarı kurak iklim koşullarına uyum sağlayabilen bir bitki olmasına rağmen, özellikle erken büyüme evresinde karşılaştığı şiddetli kuraklık koşulları, bitkinin gelişimini olumsuz yönde etkileyerek hem verim kaybına hem de meyve kalitesinde düşüşe yol açabilmektedir. Kuraklık stresi, nar bitkisinde fizyolojik ve morfolojik değişimlere neden olarak bitkisel büyümeyi sınırlandırmakta, fotosentetik aktiviteyi azaltmakta ve su dengesini bozarak meyve çatlaması gibi kaliteyi doğrudan etkileyen problemlere sebep olmaktadır. Bu faktörler bir araya geldiğinde, uzun vadede hem ticari üretim açısından ekonomik kayıplara hem de bitkinin genel sağlığında bozulmalara yol açabilmektedir (Singh vd. 2020; Zahedi vd. 2024).

Gomez-Bellot vd. (2024)'nin gerçekleştirdiği araştırmanın bulgularına göre, nar bitkisi toprak nemindeki değişimlere kısa sürede tepki vermektedir. Bununla birlikte, orta düzeyde su eksikliği koşullarında bitkinin su stresine karşı tepkisinin daha yavaş olduğu, bu durumun ise nar türünün su stresine karşı dayanıklılığını desteklediği belirtilmektedir.

Çin'de yürütülen bir başka araştırmada, bir yaşındaki nar bitkileri kullanılarak gerçekleştirilen bir saksı denemesinde, farklı seviyelerde su kısıtlaması uygulanmıştır (%60, %40 ve %20). Yapılan gözlemler sonucunda, %40 ve daha yüksek oranlardaki su kısıtlama uygulamalarında, nar bitkilerinin vejetatif büyümesinin, tamamen sulanan kontrol grubundaki bitkilere kıyasla belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Xie vd. 2015).

'Rabab', 'Shishecap', 'M-Saveh', 'M-Yazdi' ve 'Ghojagh' gibi nar çeşitlerinin (*Punica granatum* L.) kullanıldığı bir çalışmada; nar bitkilerinin yapraklarında gövde su potansiyeli değerleri ve kuraklık stresi belirtilerinin belirlendiği bir ön deneme yapılmıştır. Orta seviyede

su stresi (7 gün sulama durdurulması) ve şiddetli seviyede su stresi (14 gün sulama durdurulması) dikkate alınmıştır. Su stresinin 7. gününde, tüm nar çeşitlerinin yapraklarının çoğunluğu taze ve yeşil kalırken tüm çeşitlerin gövde su potansiyeli açıkça birinci günden daha az olmuştur. Su stresinin 14. gününde, yapraklarda solma ve rengi solukluğu gözlenirken tüm çeşitlerin gövde suyu potansiyeli 7. günden önemli ölçüde daha az olmuştur. Ana deneyi uygulamak için ise; Temmuz ayı sonuna kadar her çeşitten 32 bitki iki gruba ayrılmıştır: Kontrol bitkileri (her çeşitten 16 bitki) ve kuraklık stresi altındaki bitkiler (her çeşitten 16 bitki). Kontrol bitkileri, tüm deneme süresi boyunca günlük olarak tarla kapasitesi seviyesine kadar sulanırken, kuraklık stresindeki bitkiler için bitkiler güçlü bir su kaybı gösterene kadar 14 gün boyunca sulamanın durdurulması yoluyla su stresi uygulanmıştır. Gün ortası gövde suyu potansiyeli, yaprak bağıl su içeriği, membran stabilite indeksi, alan başına yaprak kuru kütlesi, net fotosentez dahil gaz değişim parametreleri, yaprak terlemesi, stoma iletkenliği, içsel su kullanım verimliliği değerleri belirlenmiştir. Tüm çeşitlerde kuraklık stresini tolere etme yeteneği tespit edilmiştir. 'Ghojagh' çeşidinin daha fazla tolerans sergilediği belirlenmiştir (Pourghayoumi vd.2017a).

Adiba vd (2021 tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 11 farklı Akdeniz nar çeşidinin kuraklığa toleransı araştırılmıştır. Çalışma, Kuzeybatı Fas'taki Sais Ovası'nda tarla koşullarında, damla sulama yöntemi kullanılarak yürütülmüş ve on iki yaşındaki nar ağaçları (*Punica granatum* L.) değerlendirilmiştir. Her nar çeşidi için, meyve tutum döneminden hasat zamanına kadar iki farklı sulama uygulaması uygulanmıştır: Birincisi, tam sulama sağlanan kontrol grubu (%100 ETc), ikincisi ise sürekli su kısıtlaması uygulanan ve %50 ETc ile sulanan deney grubu olmuştur. Kuraklık stresinin en yaygın etkileri arasında verimde düşüş, meyve ağırlığında azalma ve klorofil pigment içeriğinde değişimler tespit edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, kuraklığa en dayanıklı çeşit 'Zheri Automne' olarak belirlenirken, onu sırasıyla 'Djebali' ve 'Bzou' çeşitleri takip etmiştir. Öte yandan, en hassas çeşit olarak 'Grenade Rouge' kaydedilmiştir.

Tunus'a özgü yumuşak çekirdekli nar çeşidinde (*Punica granatum* L.) soğuk stresine karşı moleküler yanıt mekanizmalarının incelendiği bir çalışmada, düşük sıcaklık stresinin bitki üzerindeki etkileri transkriptom profillemeye ve fizyolojik analizler yoluyla değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında, nar yaprakları 6°C'de soğuk stresine ve 0°C'de donma stresine maruz bırakılmış, bu süreçte meydana gelen moleküler ve fizyolojik değişimler ayrıntılı bir şekilde analiz edilmiştir. Fizyolojik incelemeler, her iki stres koşulunun da hücre zarı bütünlüğünü bozarak membran hasarına neden olduğunu göstermiştir. Moleküler düzeyde yapılan analizler, soğuk strese yanıt veren çeşitli genlerin ifade düzeylerinde değişiklikler

meydana geldiğini ortaya koymuştur. Bu genler arasında, bitki hormonu sinyal iletiminde rol oynayan genler, fotosentetik süreçleri düzenleyen bileşenler, C4 yolunda karbon fiksasyonunu etkileyen faktörler ile sükroz ve galaktoz metabolizmasına katılan genler yer almaktadır. Elde edilen bulgular, nar bitkisinin soğuk stresine karşı geliştirdiği moleküler ve fizyolojik adaptasyon mekanizmalarını anlamada önemli bir temel oluşturmakta olup, bu tür stres koşullarına dayanıklılığı artırmaya yönelik genetik ve tarımsal stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabilir (Guan vd. 2023).

Nar Meyve Türünde Kuraklık ve Diğer Stres Koşulları İçin Moleküler Çalışma Örnekleri

Kuraklık stresi ile ilgili DNA markırlarının geliştirilmesi, stres mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve bu strese bağlı aday genlerin tanımlanması, ıslah programları ve genetik araştırmalar açısından büyük önem taşımaktadır. Mevcut literatürde, kuraklık koşullarına dayanıklı bir nar çeşidi geliştirilmesine dair bir bilgi bulunmamaktadır. Ayrıca, nar için kuraklık stresine özgü geliştirilmiş herhangi bir DNA markırı ya da belirlenen bir aday gen de mevcut değildir. Aşağıda, nar bitkisi üzerinde kuraklık stresi ve diğer stres koşullarına ilişkin moleküler düzeyde yapılmış bazı örnek çalışmalar sunulmaktadır.

Ticari değeri yüksek beş nar çeşidinin şiddetli su stresine karşı biyokimyasal ve moleküler yanıtları, sulama durdurularak 14 gün boyunca uygulanan su stresi ve ardından 7 gün süresince yeniden sulama yapılmasıyla incelenmiştir. Elde edilen bulgular, şiddetli su stresi ve sonrasındaki iyileşme sürecinde, farklı nar çeşitleri arasında metabolit içerikleri ve antioksidan enzim aktivitelerinde belirgin farklılıkların meydana geldiğini göstermiştir. Araştırma sonuçlarına göre, narda artan prolin birikiminin, şiddetli su stresi sırasında ozmotik düzenleme ile doğrudan ilişkili olmadığı belirlenmiştir. ‘Ghojagh’ çeşidi hariç, şiddetli su stresi koşullarında yetişen yapraklarda, azalan klorofil konsantrasyonu gibi oksidatif stresin tipik belirtileri gözlemlenmiştir. ‘Ghojagh’ çeşidi, kuraklık koşulları altında daha yüksek bir performans sergileyerek, bu durumu etkili bir ozmotik düzenleme ile ilişkilendirmek mümkün olmuştur. Ayrıca, kuraklık stresi altında, sitosolik glutatyon redüktaz (sitosolik GR) ve glutatyon peroksidaz genlerinin ekspresyonlarında yukarı veya aşağı yönlü değişiklikler gözlemlenmiştir. Bu bağlamda, sitosolik GR'nin bastırılmış ifadesi de kaydedilmiştir. Bu bulgular, nar bitkisinin kuraklık stresine karşı gösterdiği biyokimyasal ve moleküler yanıtları daha iyi anlamamıza yardımcı olmakta ve özellikle 'Ghojagh' çeşidinin kuraklık tolerans mekanizmalarının belirlenmesine ışık tutmaktadır (Pourghayoumi vd. 2017b).

Absisik asit (ABA) uygulamalarının, bitkilerin kuraklık gibi stres koşullarına karşı dirençlerini artırmaya yardımcı olduğu bilinmektedir Qian vd (2020) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, kuraklık stresi altında bulunan nar bitkilerine farklı konsantrasyonlarda (30, 60

ve 90 μ M) eksojen ABA verilmiştir. Yapılan karşılaştırmalar sonucunda, ABA'nın nar bitkisinin büyüme durumu ve bu büyümeyle ilişkili fizyolojik süreçler üzerinde olumlu etkiler yarattığı tespit edilmiştir. Bu çalışma, kuraklık stresine karşı ABA'nın etkilerini daha iyi anlayabilmek amacıyla, ABA uygulanan ve uygulanmayan nar bitkileri arasında karşılaştırmalı bir transkriptom analizi yapılmıştır. Elde edilen bulgular, ekzojen ABA uygulamasının bazı önemli metabolik yolları aktif hale getirdiğini ve bu yolların kuraklık direncini artırmada rol oynadığını göstermektedir. Bu metabolik yollar arasında, brassinosteroid sentezi, peroksizom biyogenez, fotosentez ve hemiselüloz sentezi gibi süreçler yer almaktadır. Bunun yanı sıra, eksojen ABA uygulamasının aşırı dozda uygulanmasının, narda ABA bozunma süreçlerini başlatarak bir geri besleme döngüsüne yol açtığı da gözlemlenmiştir. Bu durum, yüksek konsantrasyonda verilen ABA'nın, bitkinin içsel dengeleme mekanizmalarını tetikleyerek potansiyel olarak stres yanıtlarını değiştirdiğini ve bu mekanizmaların kuraklık stresine karşı bitkinin uyum sağlama kapasitesini etkileyebileceğini göstermektedir.

Alzahrani (2023) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, trehalozun bitki büyümesi ve gelişmesiyle birlikte stres tepkileriyle de ilişkili olan bir indirgeyici olmayan disakkarit olduğu belirtilmiştir. Trehaloz-6-fosfat fosfataz (TPP) enzimi, yüksek bitkilerde trehaloz üretiminde kritik bir rol oynar. Bu çalışma kapsamında, nar türlerinde toplamda yedi TPP familyası geni (PgTPP1–PgTPP7) tanımlanmış ve filogenetik analizler yoluyla bu yedi PgTPP'nin üç alt grubu belirlenmiştir. Ayrıca, PgTPP proteinlerinin uzunluğu, izoelektrik noktası (Ip), hidropatiliğin genel ortalaması (GRAVY), korunmuş alanlar, korunmuş motifler, sentez süreçleri ve *Arabidopsis* ve domatesin TPP proteinleri ile olan filogenetik ilişkileri incelenmiştir. Çalışmada, PgTPP genlerinin promotör bölgesindeki cis-etkili elementler ve absisik asit (ABA) aracılı kuraklık stresi altında gen ekspresyonu da araştırılmıştır. İlave olarak kök, çiçek ve yaprak dokularındaki PgTPP genlerinin ekspresyon farklılıkları değerlendirilmiştir. Yapılan analizlere göre; PgTPP2 ve PgTPP5 genlerinin transkriptomları, absisik asit kaynaklı kuraklık stresine verilen yanıtla ilişkili bulunmuştur. PgTPP1 ve PgTPP2 genlerinin ekspresyonu sırasıyla yalnızca çiçek dokusunda ve köklerde gözlemlenmiştir. Diğer PgTPP genleri ise köklerde, çiçeklerde ya da yapraklarda anlamlı bir ekspresyon değişikliği göstermemiştir. Bu bulgular, nar bitkisinde trehalozun ve TPP genlerinin kuraklık stresine karşı gösterilen moleküler yanıtlar üzerindeki potansiyel rollerini ortaya koymaktadır. ki farklı nar çeşidi (Wonderful ve Parfianka) üzerinde yapılan bir çalışmada, orta dereceli tuz stresinin (100 mM) erken evrelerinde Na^+ ve K^+ iyonlarının taşınması, translokasyonu ve hücre içi bölünmesine aracılık eden genlerin (özellikle NHX1, HKT1 ve SOS1 genleri) ekspresyonları tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Wonderful çeşidi üzerinde yapılan tuz uygulaması, sulamanın başlangıcından üç saat sonra yalnızca olgun yapraklarda Na^+ içeriğinde

önemli bir artışa yol açmış (kontrol grubuna kıyasla iki kat daha yüksek) ve buna karşın K⁺ içeriğinde %33 oranında bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, tuzlu sulama, Wonderful çeşidinin genç yapraklarında NHX1 geni dışında tüm genlerin ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde artırmıştır. Parfianka çeşidinde ise, tuz uygulamasının yaprak yaşına bağlı olarak Na⁺ içeriğinde herhangi bir değişiklik ortaya çıkarmadığı, ancak K⁺ içeriğinde yalnızca olgun yapraklarda üçüncü saatte %46 oranında anlamlı bir artış gözlemlendiği belirlenmiştir. Bununla birlikte NHX1 gen ekspresyonu, Parfianka çeşidinin olgun yapraklarında aşağıya doğru regüle olurken, genç yapraklarında ise yukarıya doğru regüle olmuştur. Çalışmanın bulguları, çeşitler arasındaki iyon homeostazisi ve tuz toleransı farklarının, üç ana Na⁺ taşıyıcı gen ailesinin üyeleri olan NHX1, HKT1 ve SOS1 genlerinin transkripsiyonel regülasyonu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, tuz stresine karşı bitkilerin adaptasyon mekanizmaları ve iyon dengesi üzerinde bu genlerin önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Calzone vd 2021).

Yin vd (2024) tarafından yapılan çalışmada, bitkilerin abiyotik strese yanıtında ABA sinyal iletim yolunun önemli bileşenlerinden olan PYR/PYL/RCAR genlerinin bu süreçte karmaşık bir şekilde aracılık ettiği ifade edilmiştir. PYL genleri, farklı bitki türlerinde yaygın olarak tanımlanmış olsa da, nar bitkisi (*Punica granatum* L.) için bu genlerin evrimsel geçmişi ve yapısal özellikleri henüz kapsamlı bir şekilde araştırılmamıştır. Bu çalışmada, tüm genom veri setinden toplamda 12 PgPYL genini tespit etmişlerdir ve bu genleri beş farklı kromozomla ilişkilendirmişlerdir. Filogenetik analizler sonucunda, bu genler üç ana alt grupta (Grup I, Grup II ve Grup III) sınıflandırılmıştır. PgPYL genlerinin kompozisyonu detaylı bir şekilde incelendiğinde, aynı alt gruptaki genler arasında benzer korunmuş motifler ve ekson-intron yapıları olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, türler arası eşdoğrusallık analizi, tanımlanan PgPYL genleri arasındaki potansiyel evrimsel ilişkileri açığa çıkarmıştır. Cis-etkili eleman analizi, PgPYL genlerinin promotör bölgelerinde yer alan stres ve hormon tepkisi elemanlarının zengin bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymuş ve bu elemanların çeşitli sinyal yollarındaki muhtemel rollerine dair önemli bilgiler sunmuştur. Ek olarak, 100 µmol/L ABA uygulaması sonrasında PgPYL gen ailesinin ekspresyon modelleri incelenmiştir. QRT-PCR verileri, çoğu PYL geninde önemli bir yukarı regülasyon olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, PgPYL genlerinin bitkinin eksojen ABA'ya verdiği yanıtta aktif bir rol oynadığını desteklemektedir. PgPYL gen ailesinden, özellikle PgPYL1 geninin fonksiyonlarını araştırmak amacıyla aday gen olarak seçilmiştir. PgPYL1 geninin CDS dizisi, 218 amino asidi kodlayan 657 bp'lik bir tam uzunluklu dizi olarak nar yapraklarından klonlanmıştır. Yapılan analizlerde, pBI121-PgPYL1 ekspresyon seviyeleri ile ABA sinyal yolunun ilgili genlerinde tutarlı bir artış eğilimi gözlemlenmiştir; her iki parametre de başlangıçta düşük olmasına rağmen ABA uygulaması

sonrasında belirgin bir artış göstermiştir. Bu bulgular, PgPYL1'in potansiyel işlevlerinin anlaşılmasına yönelik önemli bir temel sağlamaktadır.

Kashash vd. (2019) tarafından yapılan bir araştırmada, 84 farklı nar çeşidi arasında soğuğa tolerans açısından belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. 'Ganesh' çeşidi soğuğa duyarlı bulunurken, 'Wonderful' çeşidi ise nispi bir soğuk toleransı göstermiştir. Bu çeşitlerdeki transkriptomik değişiklikler de detaylı bir şekilde incelenmiştir. Diferansiyel olarak ifade edilen transkriptlerin fonksiyonel kategorize edilmesi amacıyla MapMan yazılımı kullanılmış ve jasmonik asit biyosentezi ve sinyalleme, galaktinol, rafinoz, fenol ve fenilpropanoid biyosentezi, kalsiyum ve mitojenle aktive olan protein kinaz sinyalleme, lipid metabolizması gibi çeşitli metabolik yollarla ilgili birçok transkriptin tespit edildiği belirlenmiştir. Ayrıca, çeşitli transkripsiyon faktörleri ve ısı şoku proteinlerinin 'Wonderful' çeşidinin meyvesinde önemli derecede yukarı yönlü olarak ifade edildiği bulunmuştur. Bu bulgular, soğuk stresine karşı nar bitkisinin moleküler düzeydeki adaptasyon stratejilerini daha iyi anlamamıza yardımcı olmaktadır.

Soğuk stresi, bitkilerin büyüme, gelişim ve verimini sınırlayan önemli çevresel bir faktördür ve C-tekrar bağlama faktörleri (CBF'ler), bitkilerde soğuğa karşı dayanıklılığın sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Ancak, nar bitkisinde CBF transkripsiyon faktörlerinin soğuk sinyaline yanıtlarının ne şekilde işlediği henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Yapılan bir çalışmada, soğuğa toleranslı 'Yudazi' nar çeşidinde, PgCBF3 ve PgCBF7 genlerinin ekspresyon seviyelerinin, soğuğa duyarlı olan 'Tunus' çeşidi ile karşılaştırıldığında, 4°C altında belirgin şekilde yukarı regüle olduğu gözlemlenmiştir. Bu genlerin lokalizasyonu incelendiğinde, PgCBF3'ün çekirdekte, PgCBF7'nin ise hücre zarında, sitoplazmada ve çekirdekte lokalize olduğu belirlenmiştir. Her iki gen de transkripsiyonel aktivasyon aktivitesine sahip olup, soğuk stresine karşı verilen yanıtta işlev göstermektedir. Yabani tip bitkilerle karşılaştırıldığında, PgCBF3 ve PgCBF7 transgenik *Arabidopsis thaliana* hatları, soğuk uygulamaları sonrası daha yüksek hayatta kalma oranlarına sahip olmuştur. Ayrıca, bu bitkilerde çözünabilir şeker ve prolin içeriğinde artış gözlemlenirken, elektrolit sızıntısı, malondialdehit içeriği, reaktif oksijen türlerinin üretimi, katalaz, peroksidaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir. Çalışma ayrıca, AtCOR15A, AtCOR47, AtRD29A ve AtKIN1 genlerinin ifadelerinde önemli bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, PgCBF3 ve PgCBF7'nin soğuk stresine karşı bitkilerin adaptasyon mekanizmalarını güçlendiren ve soğuk dayanıklılığını artıran transkripsiyon faktörleri olarak işlev gördüğünü göstermektedir (Wang vd 2022).

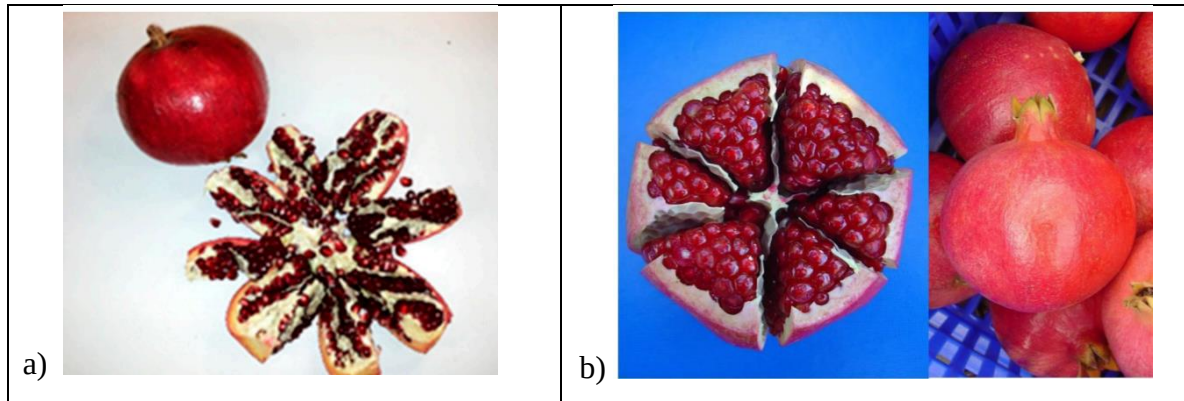
MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali

Bitki materyali olarak nar meyve türüne ait vegetatif olarak çoğaltılmış iki yaşındaki sertifikalı fidanlar kullanılmıştır. Araştırmada, 'Wonderful' ve 'Hicaznar' çeşitleri tercih edilmiştir (**Ek-1** ve **Ek-2**).

'Wonderful' çeşidi, ABD kökenli olup, verimlilik, kalite, depolamaya dayanıklılığı ve adaptasyon yeteneği açısından üstün özelliklere sahip bir nar çeşididir. Meyveleri iri, koyu mor-kırmızı renkte ve parlak bir görünüme sahiptir. Lezzet açısından mayhoş bir aroma taşırken, taneleri sert değildir. Kabuğu orta kalınlıkta olup, bu özelliği taze tüketim ve işleme için (tane veya meyve suyu üretimi) avantaj sağlamaktadır (Palou vd., 2007) (**Şekil 5a**). Yaprak morfo-anatomik adaptasyonlarına dair yapılan bir çalışmada (Fayek vd., 2022), 'Wonderful' ve 'Manfalouty' çeşitlerinin, diğer üç çeşit (Acco, Assuity ve 116) ile karşılaştırıldığında, su stresi koşullarına en iyi uyum sağlayan çeşitler arasında yer aldığı belirlenmiştir.

'Hicaznar' çeşidi, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından tescil edilmiş ve Türkiye'de en yaygın olarak yetiştirilen ve ihraç edilen nar çeşidi olarak öne çıkmaktadır. Bu çeşit, yüksek verimliliği, taşıma ve muhafazaya uygunluğu ile dikkat çekmektedir. Kırmızımsı kabuğu ve koyu kırmızı taneleri ve mayhoş tadı ile Avrupa pazarında beğeni kazanmıştır. Yıllık ihracatında artış gösteren bir çeşittir (Şahin, 2020) (**Şekil 5b**). Ancak, bu çeşidin kuraklık toleransı ile ilgili literatürde herhangi bir bilgiye ulaşılamamıştır.



Şekil 5. a) Wonderful nar çeşidi meyve görseli (Tinebra vd 2021) **b)** Hicaznar çeşidi meyve görseli (Şahin 2020)

Nar Genom Bilgisi: Genome assembly ASM765513v2

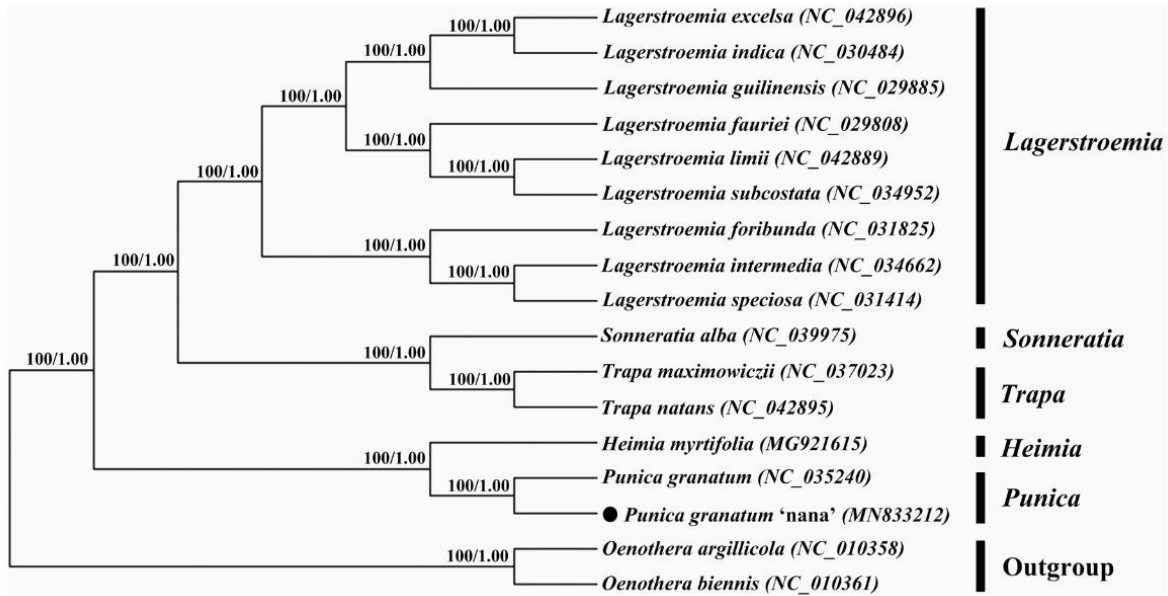
(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_007655135.1/)

Yöntem

Bitki materyali adaptasyonu ve su kısıtı uygulamaları

Uygulama yapılacak fidanlar için dört litrelik saksılar ve torf ortamı (EC toprak iletkenliği: 0.5-0.8 mmhos/cm, pH: 5.5-6.5) kullanılmıştır (Şekil 7 ve Şekil 8). Su kısıtı uygulamalarına başlamadan önce, nar bitki materyalleri ortam koşullarına adaptasyon sağlamak amacıyla iki ay süreyle uygulama yapılacak odada bekletilmiştir. $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ortam sıcaklığı koşulları sağlanan nar fidanlarına ihtiyaç gereğince normal sulama yapılmıştır. Uygulama odası sıcaklığını ölçmek için termometre (TP101, Digital Thermometer, $-50^{\circ}\text{C}+300^{\circ}\text{C}$) kullanılmıştır. Saksılarda ki ortamın nem seviyesini (bağıl toprak su içeriği) ölçmek için ise toprak nemi ölçer (Hubstein) kullanılmıştır.

Wang vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, aynı familyaya (Lythraceae) ait *Heimia myrtifolia* ve *Punica granatum* türlerinin yakın ilişkisi tespit edilmiştir (Şekil 6). Bu bulgular doğrultusunda, Yang vd. (2022) tarafından *Heimia myrtifolia* türü üzerinde uygulanan su kısıtlama yaklaşımı, bu çalışmada modifiye edilerek kullanılmıştır.



Şekil 6. Aynı familyaya (Lythraceae) ait *Heimia myrtifolia* ve *Punica granatum* türlerinin yakın ilişkisi (Wang vd. 2020)

Su kısıtı uygulamaları, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak üç tekrar şeklinde yapılmıştır. Kontrol grubu için her 3-5 günde bir 500 ml su verilerek saksılarda su doygunluğu sağlanmıştır (saksı altında su çıkışı görülmesi görsel kriter alınmıştır, %90-100). Uygulama-1 (%65~75) ve Uygulama-2 (%5~15) olmak üzere iki farklı su kısıtı dozu uygulamaları yapılmıştır. Su kısıtı uygulamaları sonrasında her iki nar çeşidinde ikişer uygulama için sıfırcı (0.) gün kontrol olmak üzere ve 10. gün ve 20. günlerde yaprak örneklerinin alımı yapılmıştır.

Kuraklık stresi 10 gün ve 20 gün olmak üzere iki farklı süre boyunca uygulanmıştır. Deneme kapsamında üç farklı su rejimi uygulama grubu oluşturulmuştur:

- Kontrol (iyi sulama koşulları)
- T1 (1. Uygulama): %65–75 bağıl toprak su içeriği
- T2 (2. Uygulama): %5–15 bağıl toprak su içeriği

Bu kapsamda T1 orta düzey su kısıtı koşullarını temsil ederken, T2 şiddetli kuraklık stresini temsil etmektedir. Her iki çeşit için kuraklık stresi altında farklı süreler ve farklı kuraklık uygulamaları altında değişen gen ifade profilini belirlemek için biyoinformatik karşılaştırmalar aşağıdaki tabloda (**Tablo 3**) gösterildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

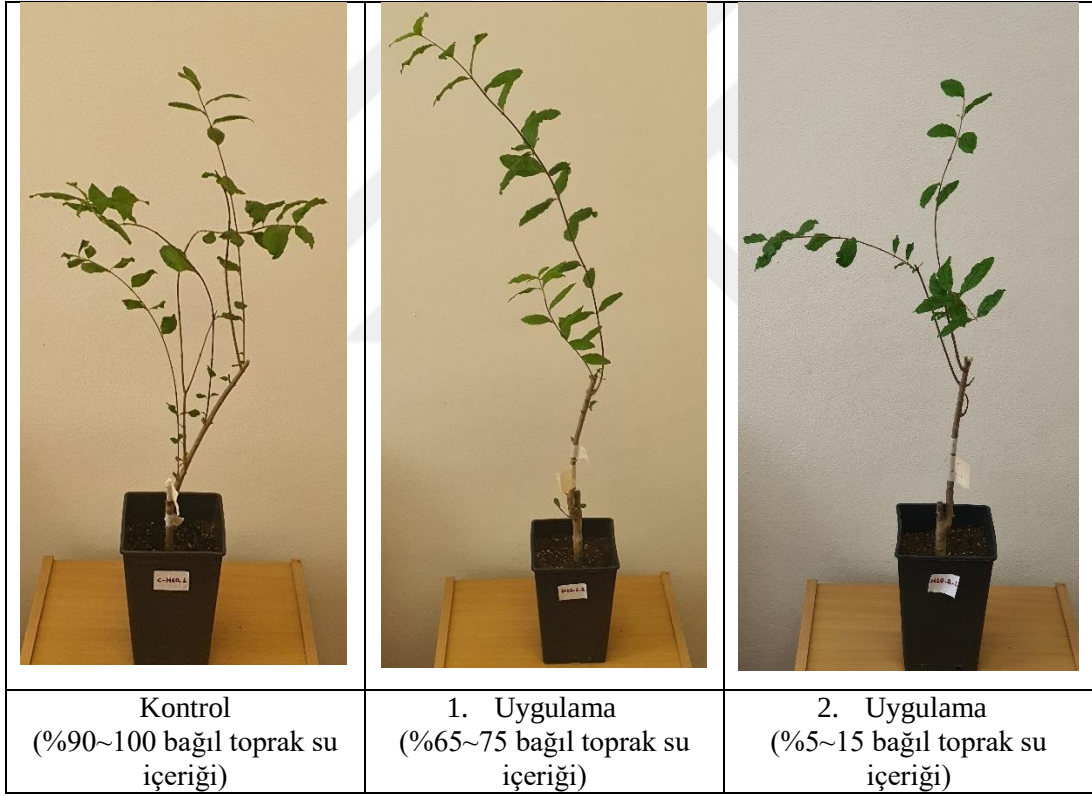
Tablo 3. Wonderful ve Hicaznar Çeşitlerinde Kuraklık Uygulamalarına Göre Yapılan Biyoinformatik Karşılaştırmalar. Kontrol (İyi Sulama Koşulları); T1 (Uygulama 1): %65–75 Bağıl Toprak Su İçeriği; T2 (Uygulama 2): %5–15 Bağıl Toprak Su İçeriği.

<i>Çeşit</i>	<i>Süre / Gün</i>	<i>Karşılaştırma</i>
<i>Wonderful</i>	10. gün	Kontrol vs. T1
<i>Wonderful</i>	10. gün	Kontrol vs. T2
<i>Wonderful</i>	20. gün	Kontrol vs. T1
<i>Wonderful</i>	20. gün	Kontrol vs. T2
<i>Wonderful</i>	10. ve 20. gün	T1 vs. Kontrol
<i>Wonderful</i>	10. ve 20. gün	T2 vs. Kontrol
<i>Hicaznar</i>	10. gün	Kontrol vs. T1
<i>Hicaznar</i>	10. gün	Kontrol vs. T2
<i>Hicaznar</i>	20. gün	Kontrol vs. T1
<i>Hicaznar</i>	20. gün	Kontrol vs. T2
<i>Hicaznar</i>	10. ve 20. gün	T1 vs. Kontrol
<i>Hicaznar</i>	10. ve 20. gün	T2 vs. Kontrol

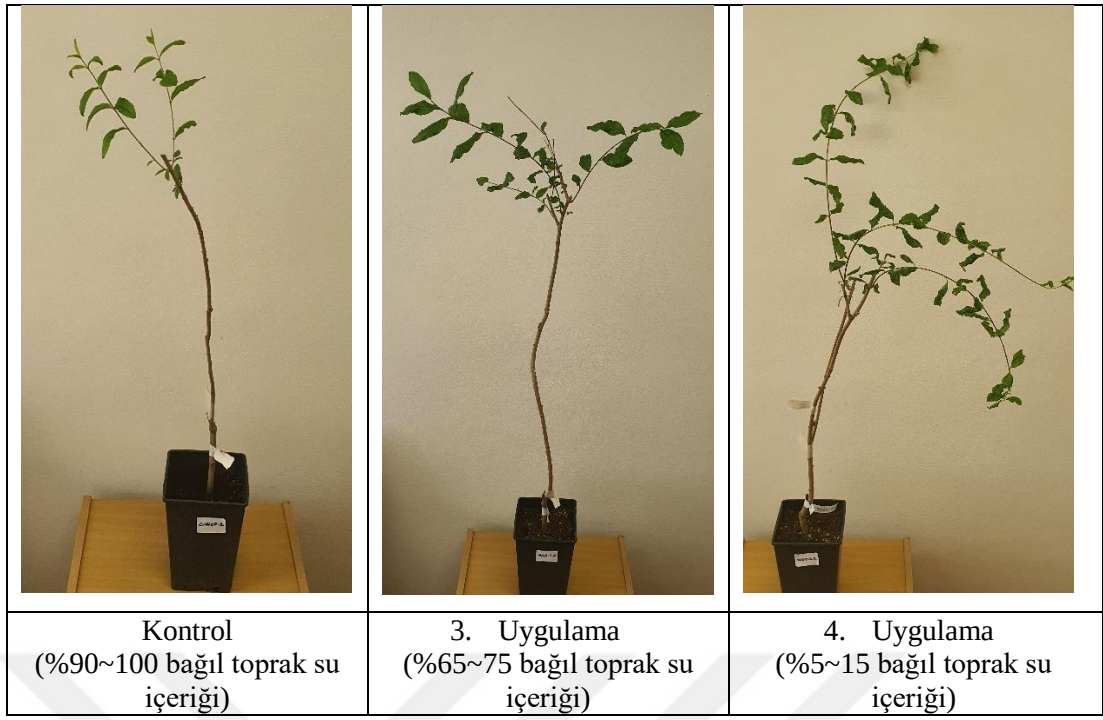
Wonderful ve Hicaznar çeşitlerine ait uygulama yapılan bitkilerden yaprak örnekleri alınır alınmaz alüminyum folyo ile sarılmıştır ve bekletilmeden sıvı azot bulunan dewar kabı içine konulmuştur (**Şekil 7**). Örnekler laboratuvara ulaştırılmıştır ve -80°C dondurucu dolapta muhafaza altına alınmıştır.



Şekil 7. Bitki materyallerinin alüminyum folyo içinde sıvı azot ile muamelesi (Orijinal görüntü)



Şekil 8. Hicaz nar çeşidinde su kısıtlaması uygulaması yapılan saksı bitkilerden birer örnek (Orijinal görüntü)



Şekil 9. Wonderful nar çeşidinde su kısıtlaması uygulaması yapılan saksı bitkilerden birer örnek (Orijinal görüntü)

Total RNA izolasyonu

RNA-seq hizmet alımı için gerekli total RNA'ların izolasyonu hizmet alımı yolu ile BMLABOSİS tarafından gerçekleştirilmiştir. Elde edilen RNA'lara ait Nanodrop spektrofotometre ölçüm sonuçları **Tablo 4**'te verilmiştir.

RNA dizileme (RNA-seq)

Nar bitki türüne ait 'Wonderful' ve 'Hicaznar' çeşitlerinde kuraklık ile ilişkili genlerin transkriptomik düzeyde analiz edilmesi amacıyla esas alınan RNA dizileme (RNA-seq) işlemi, hizmet alımı yolu ile BMLABOSİS tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, RNA izolasyonu gerçekleştirilen örneklerde olası DNA kontaminasyonunu önlemek amacıyla DNase I uygulaması yapılmış ve ardından mRNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. mRNA izolasyonu, TruSeq RNA kütüphane hazırlık protokolüne uygun olarak toplam RNA'dan poliadenilat [poly(A)+] taşıyan mRNA'ların seçilmesiyle sağlanmıştır. Bu işlem, manyetik bilyeler (magnetic beads) kullanılarak Oligo-dT primer tekniği ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen mRNA'ların sonraki kütüphane hazırlık aşamaları için optimum boyuta getirilmesi amacıyla, her bir örneğe fragmentasyon tamponu (fragmentation buffer) eklenerek mRNA'lar belirli büyüklüklerde parçalara ayrılmıştır. Parçalanmış mRNA'lar, ters transkriptaz enzimi yardımıyla cDNA sentezinde kalıp olarak kullanılmış ve birinci zincir (first-strand) cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Ardından, ikinci zincir (second-strand) sentez aşaması tamamlanarak çift sarmallı cDNA elde edilmiştir. Kütüphane hazırlama sürecinde, oluşturulan

cDNA molekülleri, özgül adaptör problemleri ile hibridize edilmiş ve amplifikasyon işlemi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen kısa cDNA zincirleri, elektroforez bazlı ayırma işlemleri ve saflaştırma teknikleri kullanılarak elüsyon tamponu (EB buffer: 10 mM Tris-Cl, pH 8.5) ile çözülmüş ve sekanslama işlemine uygun hale getirilmiştir. Son aşamada, oluşturulan kütüphane, yeni nesil dizileme (next-generation sequencing, NGS) teknolojisi kullanılarak yüksek verimli RNA dizileme işlemine tabi tutulmuştur. RNA dizileme işlemi, ileri düzey biyoinformatik analizler için temel veri setini oluşturmak amacıyla hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4. RNA-seq Analizi İçin Kullanılan RNA'ların Nanodrop Spektrofotometrik Ölçüm Sonuçlarının (BMLABOSİS) Örnek Kodları ve Yaprak Örneği Alımı Gün Bilgisi

Örnek kodu	Yaprak Örneği Alınan Gün	Konsantrasyon (ng/ µl)	Total RNA (µl)	Hacim (µl)
H1_1	0. Gün (kontrol)	150.26	4.21	28
H1_2		139.38	3.90	28
H2_1	10. Gün	157.47	4.41	28
H2_2		159.92	4.48	28
H3_1		135.87	3.80	28
H3_2		355.22	9.95	28
H4_1	0. Gün (kontrol)	188.98	5.29	28
H4_2		381.94	10.69	28
H5_1	20. Gün	246.23	6.89	28
H5_2		150.12	4.20	28
H6_1		221.97	8.21	37
H6_2		182.52	5.11	28
W1_1	0. Gün (kontrol)	193.34	5.41	28
W1_2		98.84	2.77	28
W2_1	10. Gün	209.21	5.86	28
W2_2		196.57	5.50	28
W3_1		245.16	6.86	28
W3_2		278.10	7.79	28
W4_1	0. Gün (kontrol)	717.99	20.10	28
W4_2		203.87	5.71	28
W5_1	20. Gün	131.52	4.87	37
W5_2		422.72	11.84	28
W6_1		125.1	3.50	28
W6_2		219.63	6.15	28

RNA-seq verilerinin biyoinformatik analizleri

RNA dizileme verilerinin işlenmesi

Çalışmada elde edilen RNA-seq verileri biyoinformatik analizler için CLC Genomics Workbench 11 yazılımına aktarılmıştır. Veri işleme süreci aşağıdaki aşamalardan oluşmaktadır:

Veri yükleme

Hicaz ve Wonderful çeşitlerine ait ham RNA dizi analiz verileri, CLC Genomics Workbench 11 yazılımına “Import → Standard Import” seçeneği kullanılarak aktarılmıştır.

Kalite kontrol ve trimleme

Okuma verilerinde bulunan düşük kaliteli bazlar ve adaptör dizileri temizlenmiştir. Bu işlem, veri kalitesinin artırılması ve yanlış hizalamaların önlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Referans genoma hizalama

Kalite kontrolünden geçirilen (trimlenmiş) okuma verileri nar bitkisine ait referans genoma hizalanmıştır. Bu çalışmada referans genom olarak RefSeq veri tabanında yer alan GCF_007655135.1_ASM765513v2 erişim numaralı nar genomu kullanılmıştır (Usha vd., 2022).

RNA-seq ve diferansiyel gen ekspresyon analizi

RNA-seq analizleri CLC Toolbox kullanılarak gerçekleştirilmiş ve trimlenmiş veriler analiz girdisi olarak kullanılmıştır. Analiz sonucunda her örnek için dört farklı çıktı dosyası elde edilmiş olup, diferansiyel gen ekspresyon analizlerinde gen ekspresyonu (GE) verilerini içeren dosyalar kullanılmıştır.

Metadata oluşturulması ve ekspresyon analizi

Diferansiyel ekspresyon analizleri için örnek gruplarını tanımlayan metadata dosyaları hazırlanmış ve analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Excel formatında kaydedilmiştir.

Filtreleme kriterleri

Diferansiyel gen ekspresyon sonuçları aşağıdaki eşik değerlere göre filtrelenmiştir:

- Log_2 fold change (Log_2FC): ≥ 2 veya ≤ -2
- FDR (False Discovery Rate): ≤ 0.01

Log₂FC değeri gen ekspresyon düzeyindeki değişimin büyüklüğünü ifade etmektedir. Örneğin, Log₂FC değerinin 2 olması gen ifadesinin kontrol grubuna göre 4 kat arttığını, -2 olması ise 4 kat azaldığını göstermektedir. FDR değeri, çoklu karşılaştırmalarda yanlış pozitif sonuçları minimize etmek amacıyla 0.01 olarak belirlenmiştir.

The image shows two side-by-side windows from a software application, both titled "Özel Otomatik Filtre". Each window has a "Filtre ölçütü:" label. The left window is set to "Log2 fold change" and has two input fields: "büyük ya da eşittir" with the value "2" and "küçük ya da eşittir" with the value "-2". The right window is set to "FDR p-value" and has one input field: "küçük ya da eşittir" with the value "0.01". Both windows have radio buttons for "Ve" and "Veya", with "Veya" being selected. At the bottom of each window are "Tamam" and "İptal" buttons. Below the input fields, there is a note: "Tek bir karakter yerine ? kullanın" and "Bir dizi karakter yerine * kullanın".

Şekil 10. Log₂FC ve FDR değerlerinin yazılım üzerinde belirlenmesi

Genlerin sınıflandırılması

Diferansiyel gen ekspresyon analizleri sonucunda elde edilen genler, ifade düzeylerindeki değişimin yönü ve büyüklüğüne göre sınıflandırılmıştır. Bu kapsamda, genler **artış gösteren (up-regulated)** ve **azalış gösteren (down-regulated)** olmak üzere iki ana grupta değerlendirilmiştir.

Up-regulated genler, kontrol grubuna kıyasla ekspresyon düzeyi artan genleri ifade etmekte olup, bu genler Log₂ fold change (Log₂FC) değerlerine göre büyükten küçüğe doğru sıralanmıştır. Bu sıralama sonucunda, en yüksek artış gösteren ilk 20 gen analiz kapsamına dahil edilmiştir. Benzer şekilde, down-regulated genler kontrol grubuna göre ekspresyon düzeyi azalan genleri temsil etmekte olup, Log₂FC değerlerine göre küçükten büyüğe doğru sıralanmış ve en fazla azalış gösteren ilk 20 gen seçilmiştir.

Bu yaklaşım, özellikle yüksek sayıda anlamlı gen elde edilen karşılaştırmalarda veri setinin daha yönetilebilir hale getirilmesini ve biyolojik olarak en belirgin değişimlerin ön plana çıkarılmasını sağlamaktadır. Ayrıca, tüm karşılaştırmalar arasında standardizasyonun sağlanması ve sonuçların karşılaştırılabilirliğinin artırılması amacıyla sabit sayıda gen seçimi tercih edilmiştir. Bu sayede, farklı stres süreleri ve uygulamalar arasında gen ekspresyon profillerinin daha tutarlı ve sistematik bir şekilde değerlendirilmesi mümkün olmuştur.

Isı haritası (Heatmap) analizi

Filtrelenmiş diferansiyel gen ekspresyon verileri kullanılarak genler arasındaki benzerlik ve farklılıkların görselleştirilmesi amacıyla ısı haritaları (heatmap) oluşturulmuştur.

Bu analizlerde, gen ekspresyonundaki değişimin büyüklüğünü ve yönünü temsil eden Log₂ fold change (Log₂FC) değerleri temel alınmıştır. Log₂FC değerlerinin kullanılması, farklı örnekler ve koşullar arasında ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmasını kolaylaştırarak biyolojik olarak anlamlı değişimlerin daha net ortaya konmasına olanak sağlamaktadır.

Isı haritası oluşturulurken, genler ve örnekler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amacıyla hiyerarşik kümeleme yöntemi uygulanmıştır. Bu kapsamda, kümeleme algoritması olarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) tercih edilmiştir. Benzerlik ölçütü olarak ise Pearson korelasyonuna dayalı mesafe metriği kullanılmıştır. Bu yaklaşım, genler arasındaki doğrusal ilişkiyi dikkate alarak benzer ekspresyon profiline sahip genlerin aynı kümede toplanmasını sağlamaktadır.

Kümeleme işlemi hem satırlar (genler) hem de sütunlar (örnekler/koşullar) için uygulanmış olup, böylece hem genler arasındaki hem de örnekler arasındaki benzerlikler eş zamanlı olarak değerlendirilmiştir. Bu yöntem sayesinde, farklı uygulama ve stres koşullarına verilen transkriptomik yanıtların bütüncül bir şekilde analiz edilmesi mümkün olmuştur.

Venn diyagramı analizi

Farklı karşılaştırmalar arasında ortak ve özgün olarak ifade edilen genlerin belirlenmesi amacıyla Venn diyagramları oluşturulmuştur. Bu analizler Venny 2.1 çevrimiçi aracı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Kuraklık stresine dayanıklı bitki türlerinin belirlenmesi ve bu türlerde toleransa katkı sağlayan genlerin tespiti büyük bir öneme sahiptir.

Kuraklık stresine yanıt olarak bitkilerde gerçekleşen fizyolojik ve moleküler değişimlerin anlaşılması amacıyla transkriptomik analizler kritik bir araç olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda, nar (*Punica granatum* L.) bitkisinde kuraklık stresine bağlı gen ekspresyon değişikliklerinin belirlenmesi amacıyla yüksek çözünürlüklü transkriptomik analiz yöntemlerinden biri olan yeni nesil dizileme (Next-Generation Sequencing, NGS) teknolojisi kullanılmıştır. Yeni nesil dizileme teknolojileri, geleneksel gen ifade analiz yöntemlerine kıyasla çok daha kısa sürede, yüksek doğruluk oranı ile geniş ölçekli gen ekspresyon verilerinin elde edilmesine olanak sağlamaktadır.

Yeni nesil dizileme teknolojileri, genomik ve transkriptomik analizlerde devrim niteliğinde gelişmeler sağlamış olup, yüksek hassasiyetle gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesine, farklı çevresel stres koşullarına verilen genetik yanıtların karşılaştırmalı olarak incelenmesine ve transkripsiyonel regülasyon mekanizmalarının aydınlatılmasına olanak tanımaktadır. Geleneksel gen ifade analiz teknikleri, örneğin mikromarray tabanlı yöntemler veya RT-qPCR gibi yaklaşımlar, sınırlı sayıda genin analiziyle sınırlıyken, yeni nesil dizileme teknolojileri ile tüm transkriptomun geniş ölçekli incelenmesi mümkün hale gelmiştir.

Kuraklık stresi uygulanan ve uygulanmayan nar (*Punica granatum* L.) çeşitlerine (Wonderful ve Hicaznar) ait mRNA kütüphanelerinin karşılaştırmalı biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, Wonderful ve Hicaznar ve çeşitlerinde hem 10. hem de 20. gün süresince uygulanan orta (%65–75 bağıl toprak su içeriği; T1 kuraklık uygulaması) ve şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği; T2 kuraklık uygulaması) kuraklık stresine maruz bırakılan bitkiler ile kontrol grupları arasında diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin karşılaştırılması RNA dizileme analizi sonuç elde edilen veriler kullanılarak yapılmıştır.

Wonderful Çeşidinde Kuraklık Stresine Karşı Transkriptomik Profil Analizi

W_10. Gün 1. ve 2. uygulama grubu (W_10G/T1_T2)

Kuraklık stresi uygulanan ve uygulanmayan nar (*Punica granatum* L.) çeşitlerine ait mRNA kütüphanelerinin karşılaştırmalı biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, Wonderful çeşidinde 10 gün süresince uygulanan orta (%65–75 bağıl toprak su

içeriği, T1) ve şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresine maruz bırakılan bitkiler ile kontrol grupları arasında diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin karşılaştırılması yapılmıştır.

İlk olarak genel bir perspektif elde etmek amacıyla, Wonderful çeşidinde kuraklık stresi uygulaması sonrasında ekspresyonu artan genlere ait ısı haritası oluşturulmuş ve incelenmiştir (Şekil 11A). Isı haritasına göre, orta şiddetli (T1) kuraklık uygulaması ile şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan bazı genlerin farklı olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin LOC116202526, LOC116205258, LOC116205726, LOC116193068, LOC116205979, LOC116200499, LOC116204856, LOC116196732 kodlu genlerin sadece (T1) kuraklık uygulaması sonucunda ifadesi artarken, LOC116215189, LOC116195886, LOC116207435, LOC116197531 ve LOC116208132 kodlu genlerin ise sadece (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ifadesinin arttığı saptanmıştır.

T1 uygulaması sonucunda Wonderful çeşidinde 10. gün sonunda LOC116202526 kodlu dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı faktör 1A (Dehydration-responsive element-binding factor 1A=DREB1A) geninin ekspresyonu yaklaşık 4,9 kat artış göstermiştir. T2 uygulamasında ise bu genin ekspresyonunda anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir. Bu bulgu, DREB1A geninin kuraklık stresine karşı özellikle orta düzey stres koşullarında (T1) hızlı ve erken yanıt veren bir düzenleyici olarak işlev gördüğünü göstermektedir. Erken dönemdeki yüksek ekspresyon, bitkinin hücrel stres yanıt mekanizmalarını aktive ederek su kaybı ve oksidatif stresle başa çıkmasını kolaylaştırabilir. Örneğin, havuç bitkisinde gerçekleştirilen bir çalışmada (DcDREB1A) bu genin çekirdek protein olarak DRE elementine bağlanabildiği ve kuraklık koşullarında aşırı ekspresyonunun transgenik bitkilerde superoksit dismutaz (SOD) ve peroksidaz (POD) aktivitelerini artırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca transgenik bitkilerde lignin birikimi artmış, stomatal açıklık ve yoğunluğu azalmış ve stres yanıt genlerinin ekspresyonu yükselmiştir (Liv d., 2020). Bu mekanizmalar, hücre içi reaktif oksijen türleri (ROT) dengesini koruyarak su kaybını sınırlamak ve kuraklık toleransını artırmak açısından kritik rol oynamaktadır. Wonderful çeşidindeki DREB1A ekspresyonu ile literatürdeki DcDREB1A işlevleri karşılaştırıldığında, T1 uygulamasındaki erken dönem ekspresyon artışının, nar bitkisinde de benzer şekilde ROT metabolizması, stomatal kontrol ve lignin birikimi gibi adaptif mekanizmaları aktive ederek kuraklık toleransını desteklediği düşünülebilir. Ayrıca, T2 uygulamasında ekspresyon artışının sınırlı olması, genin stres yanıtının şiddetli kuraklık koşullarında farklı düzenlemelere tabi olduğunu ve uzun süreli stres koşullarında enerji tasarrufu mekanizmalarının devreye girdiğini göstermektedir. Ayrıca, T1 uygulaması sonucunda Wonderful çeşidinde 10. gün sonunda LOC116211172 kodlu DREB1A

(Dehydration-responsive element-binding factor 1A) geninin ekspresyonu yaklaşık 4,6 kat artış göstermiş olup, T2 uygulamasında da bu genin ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Bu durum, DREB1A gen ailesine ait farklı üyelerin kuraklık stresine yanıtının değişkenlik gösterdiğini ve bazı genlerin şiddetli kuraklık koşullarında (T2) da aktif rol alarak bitkinin stres toleransını desteklediğini göstermektedir. Yani LOC116202526 geninde artış yalnızca orta stres koşullarında gözlemlenirken, LOC116211172 geninin T2 koşullarında da ifade artışı göstermesi, aynı gen ailesinin farklı üyelerinin stres yanıtında komplementer ve esnek bir düzenleme mekanizması ile bitkinin adaptasyonunu sağladığını düşündürmektedir.

Venn diyagramına göre, orta şiddetli (T1) kuraklık uygulaması ile şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan ortak ve kuraklık uygulamaları özelinde saptanan gen grupları belirlenmiştir (Şekil 11.B). Wonderful çeşidinde orta (%65–75 bağıl toprak su içeriği, T1) ve şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık uygulamalarından sonra ekspresyon seviyesi ortak olarak artan genlerin karşılaştırmak amacıyla Venn diyagramı çizilmiştir (Şekil 11.B). Analiz sonucunda, LOC116188420 kodlu gen her iki uygulamada da ortak olarak ekspresyon artışı göstermiştir. Bu gen T1 uygulamasında yaklaşık 4,3 kat, T2 uygulamasında ise 5,33 kat artış göstermiştir. LOC116188420, literatürde 36,4 kDa prolince zengin protein benzeri (36,4 kDa proline-rich protein-like) olarak tanımlanmış ve bitkilerde su stresine yanıt veren genler arasında yer almaktadır. Benzer şekilde, nohut bitkisinde (*Cicer arietinum*) yapılan bir çalışmada kök örneklerinde su yetersizliği koşullarında gerçekleştirilen transkriptom analizinde, bir defensin geni olan Ca-AFP ile birlikte 36,4 kDa prolince zengin protein benzeri genin de ekspresyonu artmış ve bu artış qRT-PCR ile doğrulanmıştır. Bu genlerin su stresi koşullarında yukarı regüle olduğu gözlemlenmiştir (Kumar vd., 2019). Bu literatür bilgisi, LOC116188420 geninin nar bitkisinde de benzer şekilde kuraklık yanıt mekanizmalarını aktive eden bir gen olarak işlev gördüğünü ve hem orta hem de şiddetli kuraklık koşullarında bitkinin adaptif yanıtlarını desteklediğini göstermektedir. Bu bulgular, farklı stres şiddetlerinde ekspresyon artışı gösteren ortak genlerin belirlenmesinin, bitkide temel kuraklık yanıt mekanizmalarının anlaşılması açısından kritik olduğunu ve bu genlerin bitkide su stresi toleransını artıran pozitif regülatörler olarak işlev görebileceğini ortaya koymaktadır.

Wonderful çeşidinde 10 gün süresince orta (%65–75 bağıl toprak su içeriği, T1) ve şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresi uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detay bilgileri Şekil 11.C sunulmuştur. Bu tabloya göre, 10 gün süresince orta şiddetli (T1) kuraklık uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış

ilk 5 gen LOC116202526, LOC116211172, LOC116188420, LOC116194146 ve LOC116205258 şeklinde sıralanmıştır. Benzer şekilde şiddetli (T2) kuraklık uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen ise, LOC116202289, LOC116215189, LOC116202382, LOC116194690 ve LOC116188420 şeklinde sıralanmıştır.

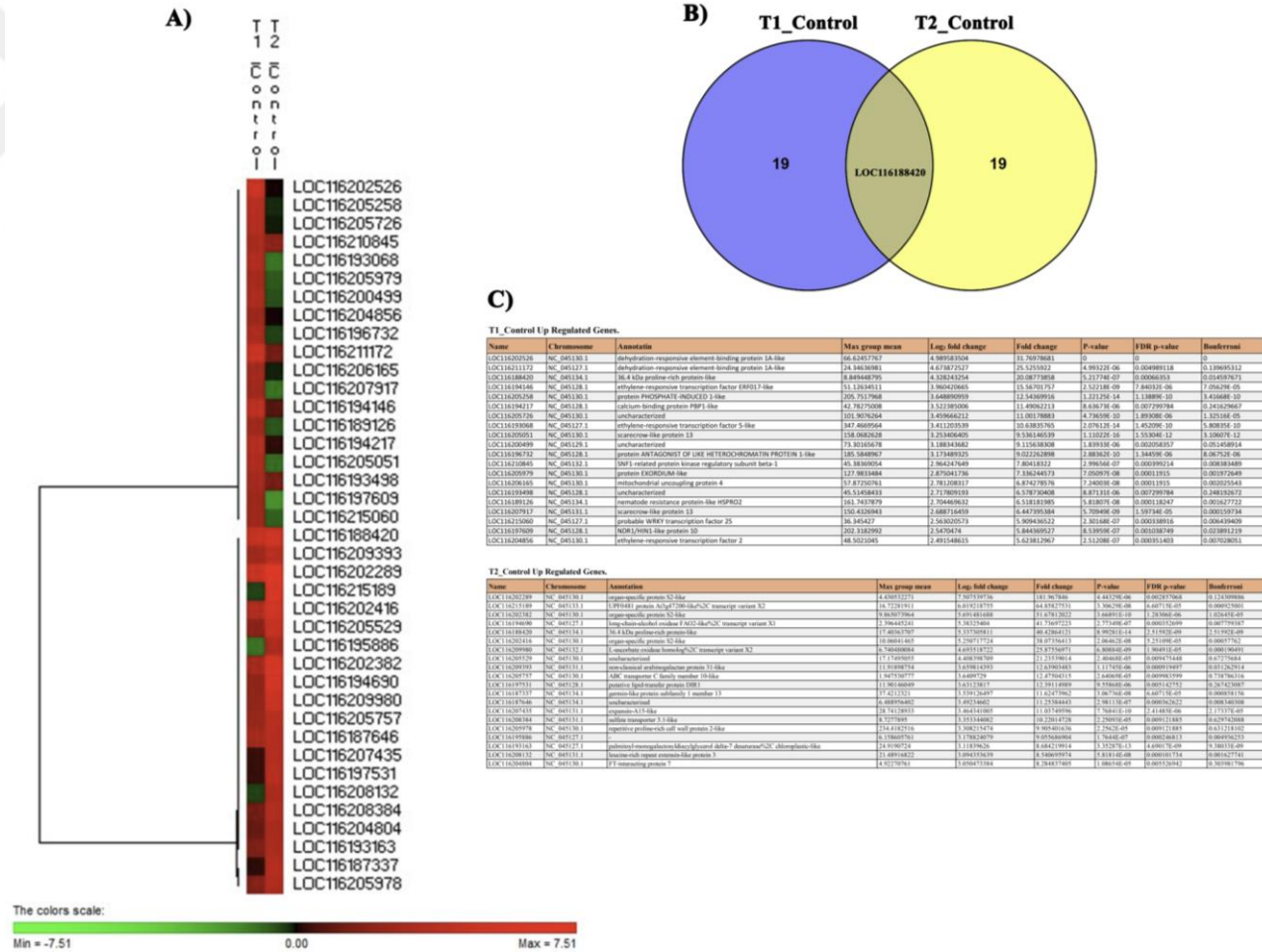
Wonderful çeşidinde kuraklık stresi altında LOC116194146 kodlu genin, etilene duyarlı transkripsiyon faktörünü (ethylene responsive transcription factor ERF017) kodladığı belirlenmiştir. Bu genin ekspresyonu T1 uygulamasında yaklaşık 3,96 kat artış göstermiş, T2 uygulamasında ise daha düşük düzeyde bir artış sergilemiştir. Etilen, bitkilerde hem gelişimsel süreçlerde hem de abiyotik stres yanıtlarında temel bir düzenleyici olup, bu sinyal yolunun önemli bileşenlerinden biri olan ERF (Ethylene Response Factor) ailesi, özellikle kuraklık gibi stres koşullarında transkripsiyonel düzenlemede kritik rol oynamaktadır. Literatürde ERF genlerinin kuraklık, tuzluluk ve sıcaklık gibi çeşitli stres koşullarında indüklendiği ve stres toleransını artıran genlerin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Müller vd., 2015). Bu bağlamda, Wonderful çeşidinde ERF017 geninin özellikle orta düzey kuraklık koşullarında (T1) daha yüksek ekspresyon göstermesi, bu genin erken ve etkin bir stres yanıt mekanizmasında rol aldığını düşündürmektedir. T2 uygulamasında gözlenen daha düşük ekspresyon ise, şiddetli stres koşullarında etilen sinyal yolunun farklı düzenleyici mekanizmalarla kontrol edildiğini veya genin optimal düzeyde orta stres koşullarında daha aktif olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, ERF017 geninin nar bitkisinde kuraklık stresine karşı adaptif yanıtın düzenlenmesinde önemli bir transkripsiyon faktörü olarak görev yaptığını ortaya koymaktadır.

Genel bir perspektif elde etmek amacıyla, Wonderful çeşidinde kuraklık stresi uygulaması sonrasında ekspresyonu azalan genlere ait ısı haritası oluşturulmuş ve incelenmiştir (Şekil 12.A). Isı haritasına göre, orta şiddetli (T1) kuraklık uygulaması ile şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan bazı genlerin farklı olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin LOC116212637, LOC116189126, LOC116214822, LOC116210572 ve LOC116212062 kodlu genlerin ise sadece (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ifadesinin azaldığı saptanmıştır. Venn diyagramına göre, orta şiddetli (T1) kuraklık uygulaması ile şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan ortak ve kuraklık uygulamaları özelinde saptanan gen grupları belirlenmiştir (Şekil 12.B). Wonderful çeşidinde orta (%65–75 bağıl toprak su içeriği, T1) ve şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık uygulamalarından sonra ekspresyon seviyesi ortak olarak artan genlerin karşılaştırmak amacıyla Venn diyagramı çizilmiştir (Şekil

12.B). Analiz sonucunda LOC116196660, LOC116rpoC2, atpA, atpI ve LOC116202733 genlerin ifade seviyeleri her iki uygulama sonucunda düştüğü gözlemlenmiştir.

T1 uygulaması sonucunda Wonderful çeşidinde 10. gün sonunda LOC116196660 kodlu flavonoid 3-monooksijenaz (flavonoid 3-monooxygenase CYP75B137-like) geninin ekspresyonu yaklaşık 6,71 kat azalış göstermiştir. T2 uygulamasında da bu genin ekspresyonunda anlamlı bir azalış gözlemlenmemiştir. Kolza (*Brassica napus*) üzerinde gerçekleştirilen çalışmada, iyi sulama ve kuraklık koşulları altında yapılan entegre analizler sonucunda flavonoid biyosentez yollarında görev alan genlerin (özellikle PAL, CHI, CYP75B137) kuraklık stresi altında ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir. Bu artışın, flavonoid ve fenolik bileşiklerin sentezini artırarak bitkide antioksidan kapasitenin yükseltilmesine ve stres toleransının geliştirilmesine katkı sağladığı ifade edilmiştir (Salami vd., 2024). Buna karşılık, nar çalışmasında LOC116196660 geninin kodladığı flavonoid 3-monooksijenaz (CYP75B137) geninin ekspresyonunun hem T1 hem de T2 uygulamalarında azaldığı belirlenmiştir. Özellikle T1 uygulamasında yaklaşık 6,71 kat azalış, T2 uygulamasında ise yine ekspresyon seviyesinde düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, kolza çalışmasında bildirilen kuraklık altında flavonoid biyosentez genlerinin artış eğiliminin aksine, nar bitkisinde bu yolun baskılandığını göstermektedir. Bu farklılık, türler arası stres yanıt mekanizmalarının çeşitliliğini ortaya koymaktadır. Nar bitkisinde flavonoid biyosentez yolunun kuraklık koşullarında baskılanması, bitkinin sınırlı enerji kaynaklarını daha kritik yaşamsal süreçlere yönlendirdiğini veya alternatif savunma mekanizmalarını devreye soktuğunu düşündürmektedir. Ayrıca, flavonoid sentezinin azalması, nar bitkisinin kuraklık stresine karşı farklı metabolik stratejiler geliştirdiğini ve sekonder metabolizma yerine primer stres yanıt yollarına öncelik verdiğini göstermektedir. Sonuç olarak, CYP75B137 geninin nar bitkisinde kuraklık stresine karşı negatif yönde regüle edilmesi, flavonoid biyosentezinin bu türde stres toleransında baskın bir mekanizma olmayabileceğini ve kuraklık yanıtının farklı moleküler yollar üzerinden sağlandığını ortaya koymaktadır.

Wonderful çeşidinde 10 gün süresince orta (T1) ve şiddetli (T2) kuraklık stresi uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi azalan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detay bilgiler Şekil 12. C sunulmuştur. Bu tabloya göre, 10 gün süresince orta şiddetli (T1) kuraklık uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi azalan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen LOC116196660, LOC116214841, LOC116207265, LOC116197532 ve LOC116192574 şeklinde sıralanmıştır.



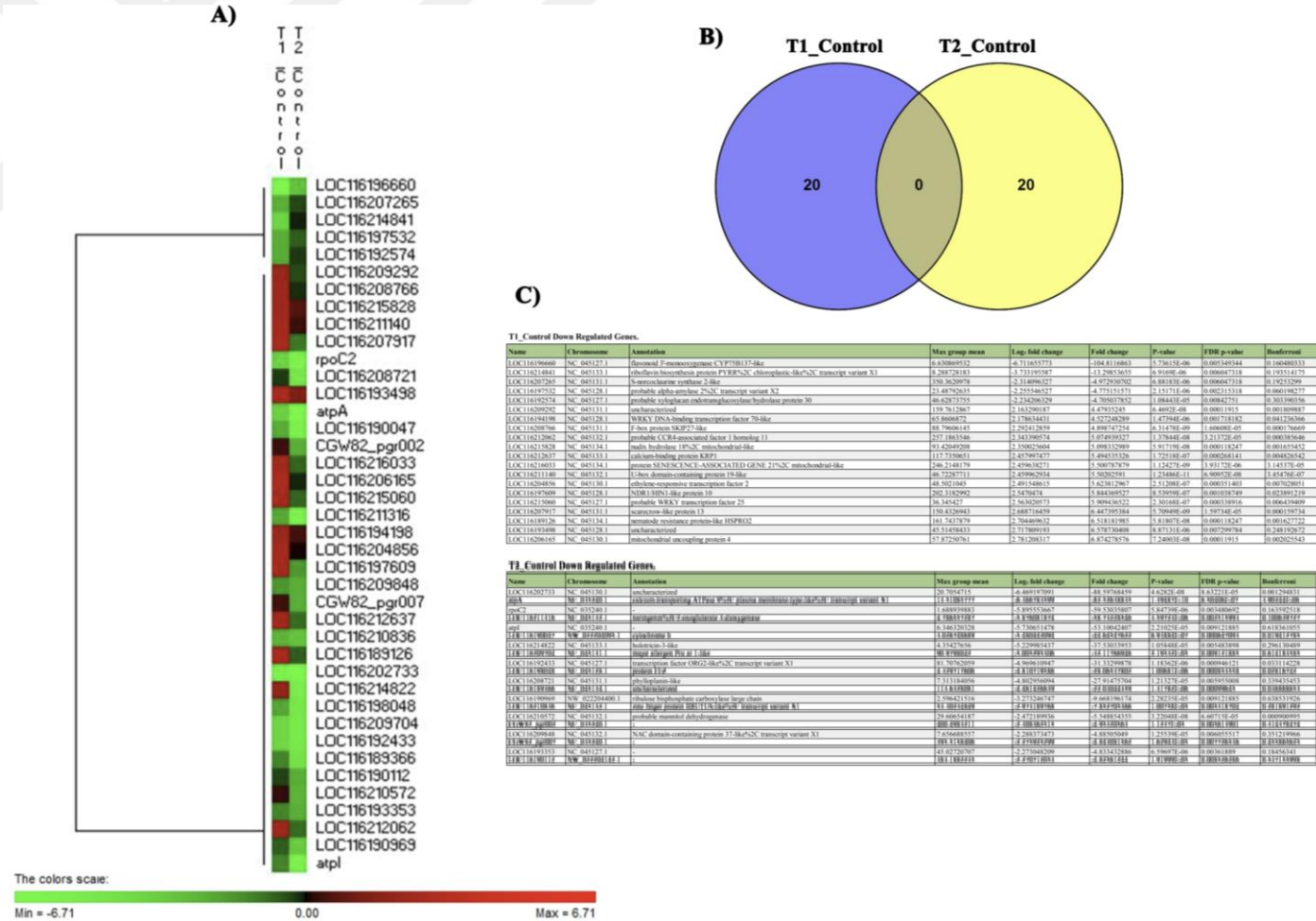
Şekil 11. 10 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste

Benzer şekilde şiddetli (T2) kuraklık uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi azalan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen ise, LOC116202733, atpA rpoC2, LOC116211316 ve atpI şeklinde sıralanmıştır.

Nar çalışmasında flavonoid biyosentezinde görev alan LOC116196660 (CYP75B137) geninin ekspresyonunun hem T1 hem de T2 uygulamalarında azaldığı, özellikle T1 koşulunda yaklaşık 6,71 kat düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, riboflavin biyosentezinde rol oynayan riboflavin biyosentez proteini pyyR (riboflavin biosynthesis protein pyrR) geninin de T1 uygulamasında yaklaşık 3,73 kat azaldığı, T2 uygulamasında ise daha sınırlı bir düşüş sergilediği gözlemlenmiştir. Bu iki gen birlikte değerlendirildiğinde, nar bitkisinde kuraklık stresi altında hem flavonoid biyosentezi hem de riboflavin (vitamin B2) metabolizması gibi sekonder metabolik yolların baskılandığı görülmektedir. Flavonoidler ve riboflavin türevleri, genellikle hücrel redoks dengesinin korunması ve antioksidan savunma mekanizmalarında rol oynayan bileşiklerdir. Ancak bu çalışmada söz konusu yolların özellikle orta düzey kuraklık koşullarında (T1) daha belirgin şekilde baskılanması, bitkinin enerji ve kaynaklarını farklı stres yanıt mekanizmalarına yönlendirdiğini düşündürmektedir. T2 uygulamasında gözlenen daha sınırlı azalma ise, şiddetli stres koşullarında bu metabolik yolların tamamen baskılanmak yerine belirli bir düzeyde korunmaya çalışıldığını gösterebilir. Bu durum, nar bitkisinde kuraklık stresine karşı metabolik yanıtların stres şiddetine bağlı olarak yeniden düzenlendiğini ve flavonoid ile riboflavin biyosentezinin bu süreçte dinamik bir şekilde kontrol edildiğini ortaya koymaktadır.

W_20. Gün 1. ve 2. uygulama grubu (W_20G/T1_T2)

İlk olarak genel bir perspektif elde etmek amacıyla, Wonderful çeşidinde kuraklık stresi uygulaması sonrasında ekspresyonu artan ve azalan genlere ait ısı haritası oluşturulmuş ve incelenmiştir (Şekil 13.A). Isı haritasına göre, hem orta şiddetli (T1) kuraklık uygulaması hem de şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan genlerin LOC116206579, LOC116200065, LOC116212822, LOC116193031, LOC116211879 ve LOC116214825 şeklinde sıralanmaktadır. Bazı genlerin her iki kuraklık stresi uygulaması sonrasında ekspresyonunun azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 13.B). Bu genler arasında ise LOC116201926, LOC116199997, LOC116205995, LOC116194280 ve LOC116205182 yer almaktadır (Şekil 13.C).



Şekil 12. 10 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede azalan genlere ait ayrıntılı liste.

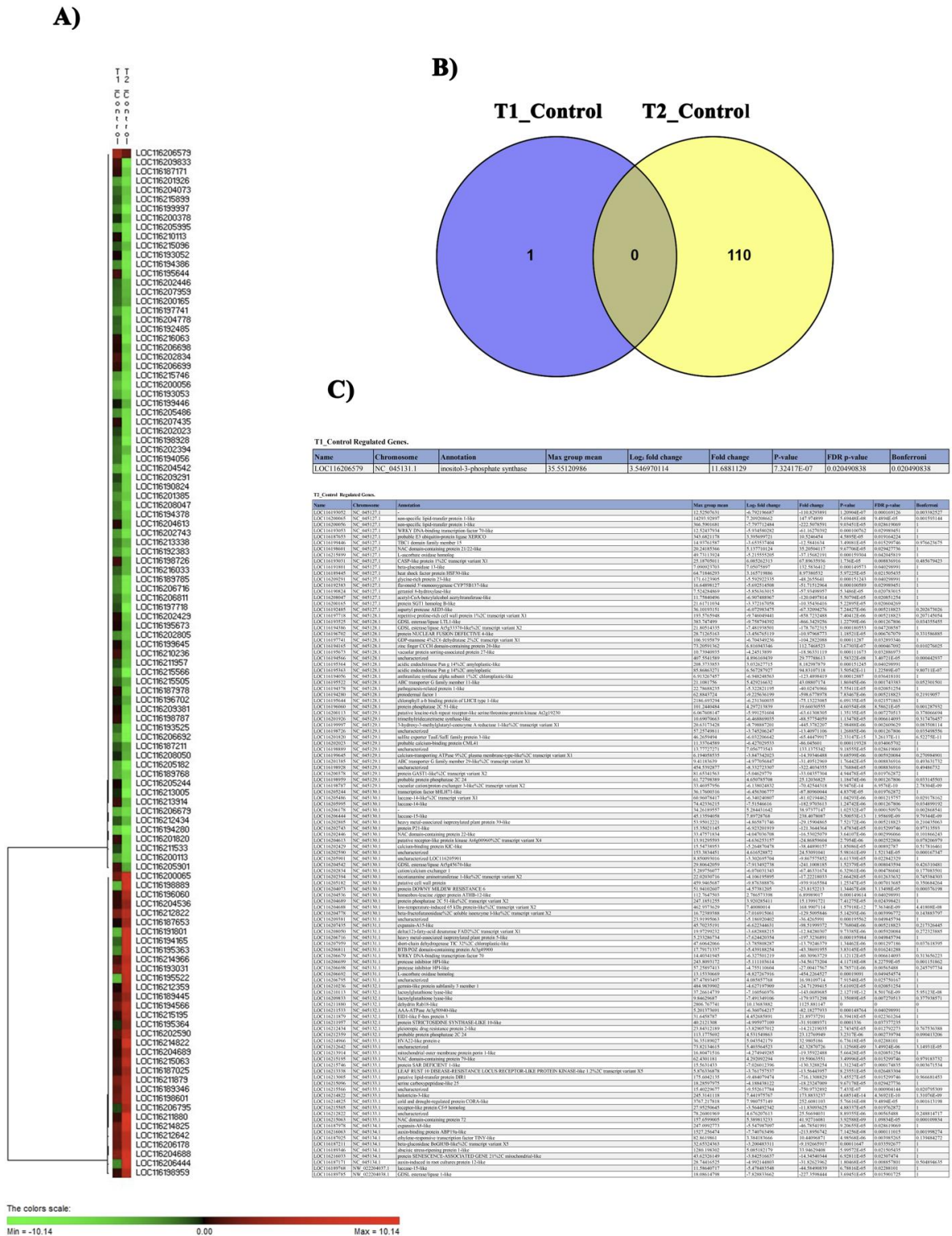
İnositol-3-fosfat sentaz (MIPS; EC 5.5.1.4), glikoz-6-fosfattan miyo-inozitol sentezini katalizleyen ve bitkilerde hücre duvarı oluşumu, auxin depolanması, fitik asit ve oligosakkarit biyosentezi gibi temel süreçlerde rol oynayan kritik bir enzimdir. Literatürde, MIPS geninin aşırı ekspresyonunun kuraklık, tuzluluk ve soğuk stresine toleransı artırdığı; ayrıca etilen ve jasmonat (ET/JA) sinyal yolları ile etkileşerek stres ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, MIPS'in ekspresyon düzeyinin büyüme ve stres toleransı arasında hassas bir denge oluşturduğu ve bu dengenin bitki performansı açısından belirleyici olduğu vurgulanmaktadır (Sharma vd., 2020). Bu çalışmada ise LOC116206579 geninin inositol-3-fosfat sentazı kodladığı ve bu genin ekspresyonunun hem T1 uygulamasında yaklaşık 3,5 kat arttığı, hem de T2 koşullarında benzer şekilde yüksek kaldığı belirlenmiştir. Bu bulgu, MIPS geninin nar bitkisinde kuraklık stresine karşı aktif olarak indüklendiğini ve stres şiddetinden bağımsız olarak işlevini sürdürdüğünü göstermektedir. Bu durum literatür ile birlikte değerlendirildiğinde, nar bitkisinde MIPS geninin artan ekspresyonunun, miyo-inozitol üretimi üzerinden hücre koruyucu mekanizmaları desteklediği düşünülebilir. Miyo-inozitol ve türevleri, ozmotik denge, membran stabilitesi ve sinyal iletiminde görev alarak kuraklık koşullarında hücre bütünlüğünün korunmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca MIPS'in etilen ile ilişkili sinyal yolları ile bağlantılı olduğu göz önüne alındığında, bu genin nar bitkisinde yalnızca metabolik değil, aynı zamanda düzenleyici bir rol üstlenerek stres yanıtını koordine ettiği değerlendirilebilir. Sonuç olarak, LOC116206579 geninin hem orta hem de şiddetli kuraklık koşullarında artan ekspresyon göstermesi, nar bitkisinde MIPS'in kuraklık toleransında merkezi ve sürdürülebilir bir rol oynadığını ve diğer bazı metabolik yolların aksine (örneğin flavonoid biyosentezi) baskılanmak yerine aktive edildiğini ortaya koymaktadır.

Spesifik olmayan lipid transfer proteinleri (non-specific lipid transfer protein=nsLTP), bitkilerde sekiz sistein içeren korunmuş yapılarıyla tanımlanan ve hem savunma hem de stres yanıtında önemli rol oynayan proteinlerdir. Bu proteinler, lipid taşınımı ve hücreler arası sinyal iletiminde görev alırken, aynı zamanda hücre zarının stabilitesini koruyarak ve su kaybını azaltarak kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik streslere karşı bitkinin dayanıklılığını artırmaktadır. Literatürde, nsLTP genlerinin aşırı ekspresyonunun stres toleransını artırdığı ve özellikle kuraklık koşullarında koruyucu mekanizmaları güçlendirdiği gösterilmiştir (McLaughlin ve Tumer, 2025). Bu çalışmada LOC116200065 geninin nsLTP proteinini kodladığı belirlenmiş olup, bu genin ekspresyonunun T1 uygulamasında arttığı, T2 uygulamasında ise yaklaşık 7,2 kat ile çok daha belirgin bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum, nsLTP geninin özellikle şiddetli kuraklık koşullarında daha güçlü şekilde indüklendiğini ve stres şiddeti arttıkça daha aktif rol üstlendiğini göstermektedir. Literatür ile birlikte değerlendirildiğinde, bu

genin nar bitkisinde hücre zarının korunması, lipid kompozisyonunun düzenlenmesi ve su kaybının azaltılması gibi mekanizmalar üzerinden kuraklık toleransına katkı sağladığı düşünülmektedir. Özellikle T2 koşullarındaki yüksek ekspresyon, nsLTP'lerin nar bitkisinde şiddetli kuraklığa karşı kritik bir savunma bileşeni olarak işlev gördüğünü ortaya koymaktadır.

WRKY transkripsiyon faktörleri, bitkilerde hem biyotik hem de abiyotik stres sinyal yollarında önemli düzenleyiciler olarak görev yapmaktadır. Özellikle WRKY70, bazı türlerde biyotik stres yanıtlarında pozitif, abiyotik streslerde ise tür ve koşula bağlı olarak farklı roller üstlenebilen bir düzenleyici olarak tanımlanmıştır. Literatürde, *Myrothamnus flabellifolia* kaynaklı *MfWRKY70* geninin aşırı ekspresyonunun kuraklık, ozmotik ve tuzluluk streslerine toleransı artırdığı; kök gelişimini teşvik ettiği, su tutulumunu iyileştirdiği ve antioksidan sistemleri güçlendirerek ROT dengesini koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu genin stresle ilişkili diğer genlerin ekspresyonunu da pozitif yönde düzenlediği belirtilmiştir (Xiang vd., 2021). Bu çalışmada ise LOC116193053 geninin WRKY70 benzeri bir transkripsiyon faktörünü kodladığı belirlenmiştir. Bu genin ekspresyonu T1 uygulamasında düşük seviyede kalırken, T2 uygulamasında yaklaşık 5,9 kat azalma göstermiştir. Bu durum, literatürde bazı WRKY70 homologlarının abiyotik streslerde negatif düzenleyici rol oynayabildiğine dair bulgularla uyumludur. Özellikle şiddetli kuraklık koşullarında (T2) gen ekspresyonundaki belirgin düşüş, WRKY70'in nar bitkisinde stres yanıtını baskılayan veya ince ayar yapan bir düzenleyici olabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda, nar bitkisinde WRKY70 benzeri geninin baskılanması, kuraklık stresine karşı diğer savunma ve adaptasyon mekanizmalarının (örneğin antioksidan sistemler veya ozmotik düzenleme yolları) daha etkin hale gelmesine olanak tanıyan bir düzenleme stratejisi olarak değerlendirilebilir. Dolayısıyla, bu genin nar bitkisinde kuraklık yanıtında tür-spesifik ve koşula bağlı bir rol üstlendiği anlaşılmaktadır.

NAC (NAM, ATAF ve CUC) domainine sahip transkripsiyon faktörleri, bitkilerde özellikle kuraklık gibi abiyotik streslere karşı yanıtın düzenlenmesinde görev alan temel düzenleyicilerden biridir. Bu gen ailesi, stresle ilişkili genlerin ekspresyonunu kontrol ederek, kök gelişimini destekleme, yapraklardan su kaybını azaltma ve hem ABA'ya bağlı hem de bağımsız sinyal yollarını aktive etme gibi mekanizmalar üzerinden kuraklık toleransını artırmaktadır. Farklı bitki türlerinde NAC genlerinin aşırı ekspresyonunun stres koşullarında hayatta kalma oranını yükselttiği birçok çalışmada gösterilmiştir (Yang vd., 2022). Bu çalışmada LOC116198601 kodlu NAC transkripsiyon faktörünün (NAC domain containing protein 21/22-like) ekspresyonunun T1 uygulamasında arttığı, T2 uygulamasında ise yaklaşık 5,12 kat ile daha belirgin bir artış gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 13. 20 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan/azalan genlere ait ayrıntılı liste

Bu durum, NAC geninin kuraklık stresine duyarlı bir şekilde indüklendiğini ve stres şiddeti arttıkça daha güçlü bir yanıt verdiğini göstermektedir. Özellikle T2 koşullarındaki yüksek ekspresyon, bu genin nar bitkisinde stres yanıtını yönlendiren üst düzey bir düzenleyici olarak işlev gördüğünü düşündürmektedir. Bu bulgular, literatürde NAC genlerinin kuraklık toleransını artırıcı rolü ile uyumlu olup, nar bitkisinde de bu genin stres koşullarında adaptif yanıtların aktive edilmesinde önemli bir rol üstlendiğini ortaya koymaktadır.

W_1. uygulama_10. Gün ve 20. Gün (W_T1/10_20G)

İlk olarak genel bir perspektif elde etmek amacıyla, Wonderful çeşidinde kuraklık stresi uygulaması sonrasında ekspresyonu artan ve azalan genlere ait ısı haritası oluşturulmuş ve incelenmiştir (Şekil 14.A). Isı haritasına göre, hem 10. günde hem de 20 günde orta şiddetli (T1) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu azalan ortak genler LOC116200056 ve LOC116205182 genleridir (Şekil 14.B). Ayrıca 10. günde gen ekspresyonu artan ancak 20. günde gen ifadesi azalan genler ise LOC116193068, LOC116196732, LOC116205051, LOC116202526, LOC116205258 ve LOC116207917 şeklinde sıralanmıştır (Şekil 14.C). LOC1162193354 kodlu gen 10. günde ifadesi azalırken 20. günde ifadesinin yaklaşık 3,46 kat arttığı tespit edilmiştir. Ancak bu genin anatasyonu hakkında bir bilgi elde edilememiştir.

ERF transkripsiyon faktörleri, AP2/ERF ailesinin bir alt grubu olup, bitkilerde stres yanıtı ve hormonal düzenlemede önemli rol oynar. Özellikle ERF IX alt grubu genlerinin kuraklık stresine yanıt olarak indüklendiği ve jasmonat (JA) sinyal yolu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Kavak üzerinde yapılan bir çalışmada PtoERF15 geninin kuraklık koşullarında ekspresyonunun arttığı, bu genin ksilem gelişimi ve lignin birikimini artırarak su taşınımını düzenlediği ve böylece kuraklık toleransını iyileştirdiği gösterilmiştir (Kong vd., 2023). Nar çalışmasında ise LOC116193068 geninin ERF benzeri bir transkripsiyon faktörünü kodladığı ve bu genin 10. gün sonunda yaklaşık 3,98 kat artış gösterdiği, ancak 20. gün T1 koşulunda ekspresyonunun belirgin şekilde azaldığı belirlenmiştir. Bu durum, söz konusu genin kuraklık stresine erken dönemde yanıt veren bir düzenleyici olduğunu düşündürmektedir. Başlangıçta artan ekspresyon, muhtemelen su iletimi ve hücre yapısının korunmasına yönelik adaptif mekanizmaları tetiklerken, uzun süreli stres koşullarında gen ifadesinin düşmesi, bitkinin stres yanıtını yeniden dengelediğini ve farklı düzenleyici yolları devreye aldığını göstermektedir.

DREB (Dehydration-responsive element-binding) transkripsiyon faktörleri, AP2 domaini içeren ve bitkilerde kuraklık stresine karşı yanıtın düzenlenmesinde önemli rol oynayan genlerdir. Bu genlerin farklı bitki türlerinde stres toleransını artırdığı ve özellikle metabolik yolların yeniden düzenlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir (Yang vd., 2025). Nar çalışmasında LOC116202526 geninin bir DREB1A transkripsiyon faktörünü kodladığı ve

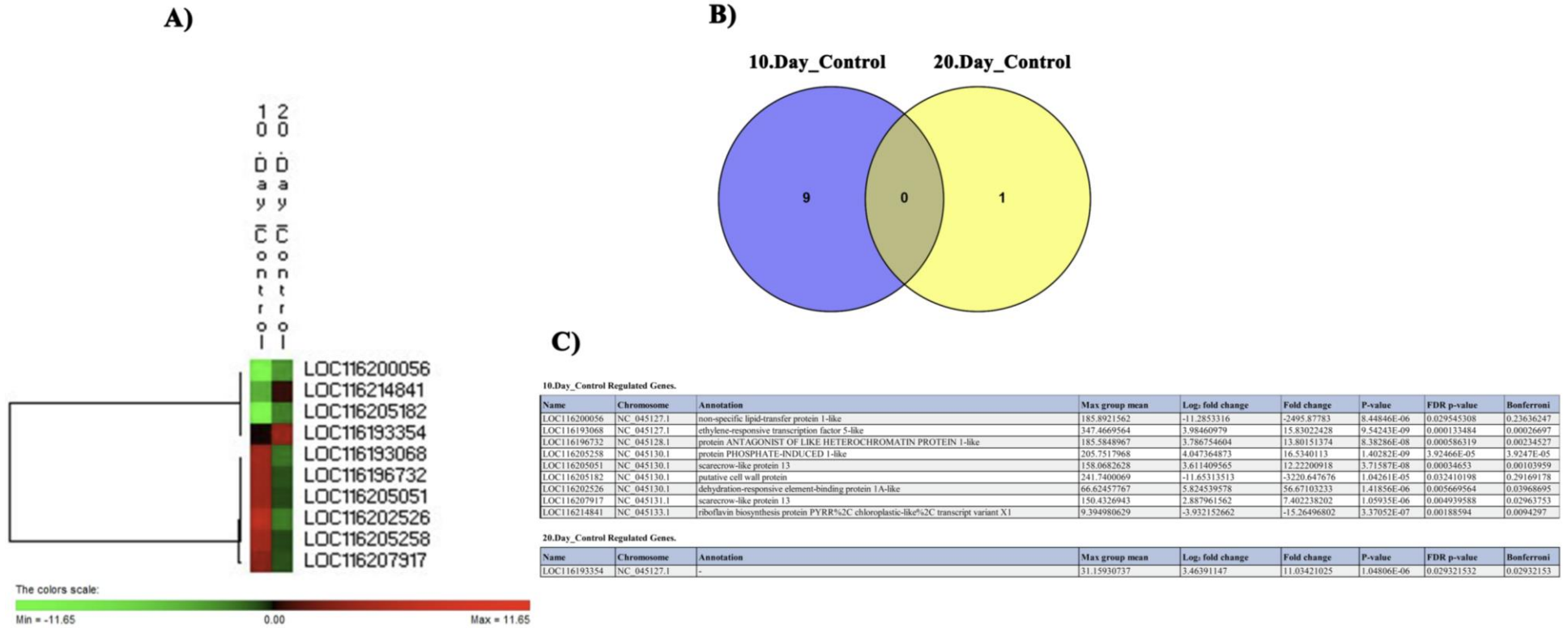
T1 koşulu altında 10. gün sonunda yaklaşık 5,82 kat artış gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşılık, 20. gün sonunda gen ifadesinde belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, DREB1A geninin kuraklık stresine karşı erken dönemde aktif rol aldığını, ancak stres süresi uzadıkça bu etkinliğin azaldığını göstermektedir. İlk aşamada artan ekspresyonun stres yanıt mekanizmalarını hızla devreye soktuğu, daha uzun süreli koşullarda ise bitkinin farklı düzenleyici süreçlere yöneldiği düşünülmektedir.

W_2. uygulama_10. Gün ve 20. Gün (W_T2/10_20G)

Genel bir bakış açısı elde etmek amacıyla, Wonderful çeşidinde kuraklık stresini uygulaması sonrasında ekspresyonu artan ve azalan genlere ait ısı haritası oluşturulmuş ve incelenmiştir (Şekil 15.A). Isı haritasına göre, hem 10. günde hem de 20 günde şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan ortak genler LOC116198653, LOC116212333, LOC116215580 LOC116189807, LOC116206178, LOC116206795 ve LOC116210088 şeklinde sıralanabilir (Şekil 15.B).

Fasciclin benzeri arabinogalaktan (fasciclin-like arabinogalactan=FLA) proteinleri, arabinogalaktan proteinlerin bir alt grubunu oluşturmakta olup hücre adezyonu ile ilişkili fasciclin domainleri taşırlar. Bu proteinler bitkilerde büyüme ve gelişimin yanı sıra kuraklık, tuzluluk, sıcaklık ve ABA gibi çeşitli abiyotik stres koşullarına verilen yanıtlarda da görev almaktadır (Zang vd., 2015). Bu çalışmada LOC116198653 geninin FLA proteinini kodladığı belirlenmiştir. Bu genin T2 koşulu altında 10. gün sonunda yaklaşık 4,3 kat artış gösterdiği, ancak 20. gün sonunda bu artışın bir miktar azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, genin özellikle stresin erken döneminde aktif olarak devreye girdiğini, ilerleyen süreçte ise ifadesinin kısmen dengelendiğini göstermektedir.

Elde edilen bulgular, FLA genlerinin hücre duvarı yapısı ve hücreler arası etkileşimler üzerinden kuraklık stresine uyumda rol oynadığına dair literatür ile uyumludur. Nar bitkisinde bu genin T2 koşullarında erken dönemde artış göstermesi, şiddetli kuraklık altında hücre yapısının korunmasına katkı sağladığını düşündürmektedir. Daha sonraki dönemde ekspresyonun hafif azalması ise, stres yanıtının zamanla yeniden düzenlendiğine işaret etmektedir.



Şekil 14. 10 gün ve 20 gün süresince T1 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan/azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan/azalan genlere ait ayrıntılı liste

Dehidrinler, LEA (late embryogenesis abundant) protein ailesinin bir üyesi olup yüksek hidrofilik yapıları sayesinde kuraklık, düşük sıcaklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarında koruyucu rol üstlenirler. Bu proteinler hücre zarlarını ve proteinleri stabilize eder, DNA yapısını korur ve genel olarak hücre su dengesinin sürdürülmesine katkı sağlar. Literatürde, özellikle RAB18 gibi dehidrin genlerinin ABA, soğuk ve su stresi altında indüklendiği ve stres toleransında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Sun vd., 2021). Bu çalışmada LOC116211880 geninin RAB18 olarak adlandırılan bir dehidrin proteinini kodladığı ve şiddetli kuraklık stresi (T2) koşulu altında 20. gün sonunda yaklaşık 9,97 kat artış gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşılık, 10. gün sonunda gen ifadesinin daha düşük seviyede kaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, söz konusu genin kuraklık stresi karşısında özellikle uzun süreli ve şiddetli koşullarda daha güçlü bir şekilde indüklendiğini göstermektedir. Bu bulgular, dehidrinlerin stresin ilerleyen aşamalarında hücre su dengesini korumaya yönelik bir rol üstlendiğine dair literatür ile uyumludur. Nar bitkisinde bu genin 20. günde belirgin şekilde artması, uzun süreli su kısıtında hücre zarlarının stabilizasyonu ve su kaybının sınırlandırılması gibi koruyucu mekanizmaların devreye girdiğini düşündürmektedir. Bu nedenle, LOC116211880 geninin nar bitkisinde özellikle ileri düzey kuraklık koşullarında stres toleransına katkı sağlayan önemli bir bileşen olduğu değerlendirilmektedir.

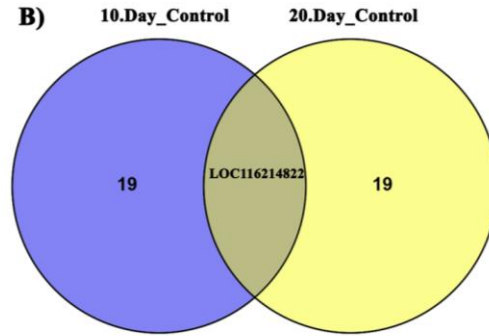
Wonderful çeşidinde 10 gün ve 20 gün süresince şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresi uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detay bilgiler Şekil 15.C sunulmuştur. Bu tabloya göre, 10 gün süresince şiddetli (T2) kuraklık uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen LOC116198653, LOC116194453, LOC116206579, LOC11621233 ve LOC116205839 iken 20 gün süresince ekspresyon seviyesi artan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen LOC116211880, LOC116214825, LOC116204688, LOC116194165 ve LOC116200065 şeklinde sıralanmıştır.

SbCDR (cold and drought regulated) geni, ekstrem halofit *Salicornia brachiata*'dan tanımlanmış olup zarla ilişkili bir protein olarak görev yapmaktadır. Bu genin aşırı ekspresyonu farklı bitkilerde kuraklık, tuzluluk ve soğuk stresi karşısında toleransı artırmakta; su içeriğinin korunması, membran stabilitesi, ozmotik denge ve ROT temizleme mekanizmalarının güçlendirilmesi gibi süreçleri desteklemektedir. Ayrıca prolin, şekerler ve diğer koruyucu metabolitlerin birikimini artırarak stres koşullarında bitki performansını iyileştirdiği gösterilmiştir (Jha vd., 2021). Nar çalışmasında LOC116214825 geninin soğuk ve kuraklık düzenleyici bir proteini (cold and drought regulated protein CORA-like) kodladığı

belirlenmiştir. Bu genin şiddetli kuraklık (T2) koşulu altında 20. gün sonunda yaklaşık 8,3 kat artış gösterdiği, 10. gün sonunda ise daha düşük düzeyde ifade edildiği gözlemlenmiştir. Bu durum, genin özellikle uzun süreli ve şiddetli kuraklık koşullarında daha belirgin şekilde indüklendiğini göstermektedir. Elde edilen bulgular, CORA benzeri proteinlerin stresin ileri aşamalarında koruyucu rol üstlendiğine dair literatür ile uyumludur. Nar bitkisinde bu genin 20. günde yüksek düzeyde artması, hücre zarının korunması, su dengesinin sürdürülmesi ve oksidatif stresin azaltılması gibi mekanizmaların devreye girdiğini düşündürmektedir. Buna karşılık, erken dönemde daha düşük ekspresyon gözlenmesi, bu genin daha çok stresin ilerleyen safhalarında aktifleşen bir yanıt mekanizmasının parçası olduğunu göstermektedir.

Genel bir bakış açısı elde etmek amacıyla, Wonderful çeşidinde kuraklık stresi uygulaması sonrasında ekspresyonu azalan genlere ait ısı haritası oluşturulmuş ve incelenmiştir (Şekil 16.A). Isı haritasına göre, hem 10. günde hem de 20 günde şiddetli (T2) kuraklık uygulaması sonucunda ekspresyonu artan ortak genler LOC116205182, LOC116200056, LOC116205182, atpA ve LOC116193525 şeklinde sıralanabilir (Şekil 16.B).

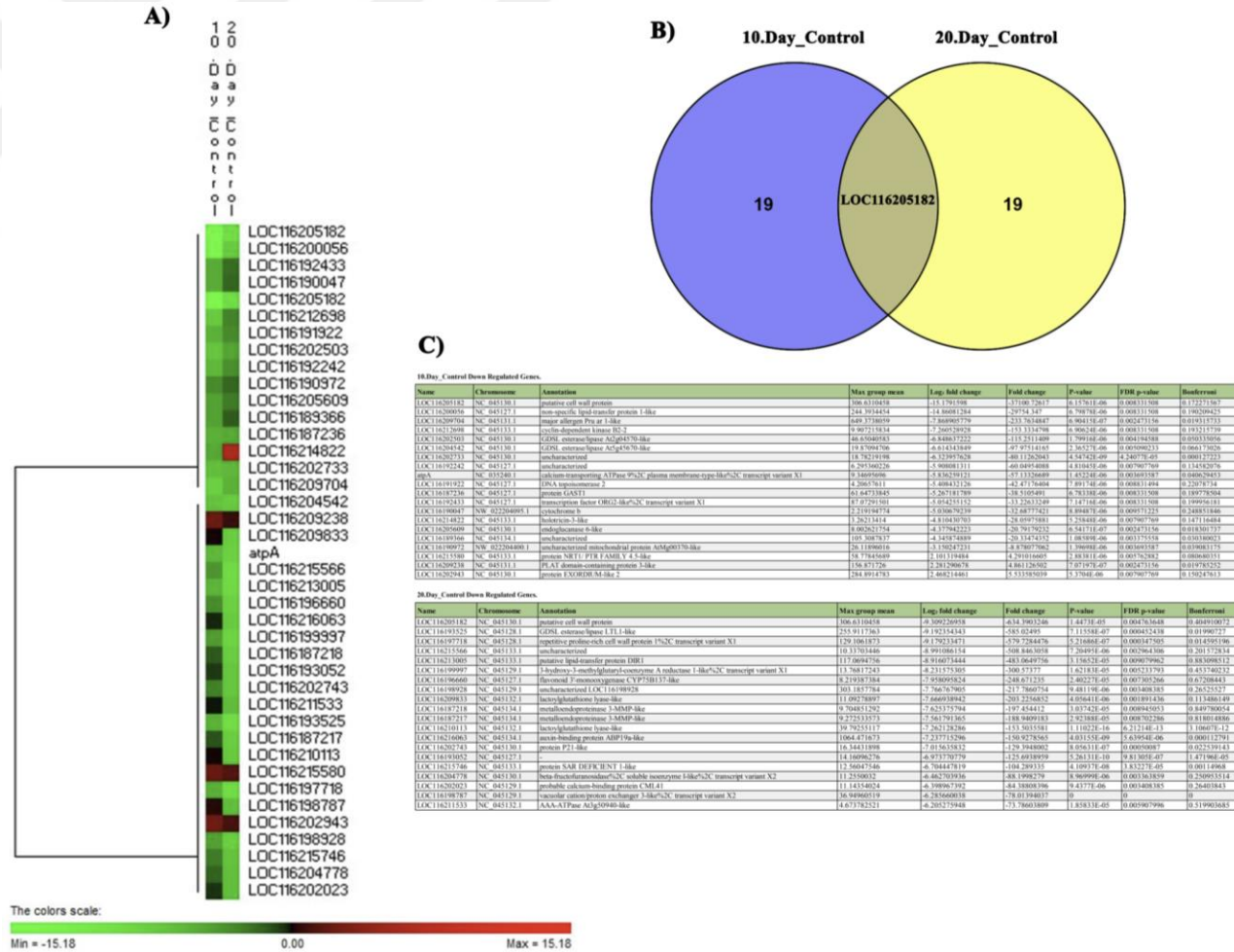
Bitki hücre duvarı; selüloz, hemiselüloz ve pektin gibi polisakkaritler ile ligninden oluşan dinamik bir yapı olup, hücreyi korumanın yanı sıra hücreler arası iletişimde de rol oynar. Hücre duvarı proteinleri (cell wall protein=CWP) bu yapının yeniden düzenlenmesinde, sinyal iletiminde ve polisakkaritlerin modifikasyonunda görev alır. Bu proteinler enzimatik aktiviteler gösterebildiği gibi, hücre duvarı bileşenleri arasında etkileşimleri de düzenleyerek yapısal bütünlüğe katkı sağlar (Jamet ve Dunand, 2020). Nar çalışmasında LOC116205182 geninin olası bir hücre duvarı proteinini kodladığı ve bu genin T2 koşulu altında 20. gün sonunda yaklaşık 15,1 kat, 10. gün sonunda ise 9,3 kat azaldığı belirlenmiştir. Bu belirgin düşüş, kuraklık stresi altında hücre duvarı ile ilişkili yeniden düzenleme süreçlerinin baskılandığını göstermektedir. Bu durum, nar bitkisinde özellikle şiddetli ve uzun süreli kuraklık koşullarında büyüme ve hücre duvarı dinamiklerine ayrılan kaynakların sınırlandığını düşündürmektedir. Hücre duvarı proteinlerinin ekspresyonundaki azalma, bitkinin enerji ve metabolik kaynaklarını daha kritik stres yanıt mekanizmalarına yönlendirdiğine işaret edebilir. Aynı zamanda bu bulgu, hücre duvarı modifikasyon süreçlerinin kuraklık koşullarında yavaşladığını ve bitkinin yapısal değişimden ziyade hayatta kalmaya yönelik stratejilere öncelik verdiğini göstermektedir.



Accession	Chromosome	Annotation	Max group mean	Log fold change	Fold change	P-value	FDR α -value	Benferroni
LOC1161863	NC	LOC451223	low-molecular-weight endoplasmic protein X2	2.7607123	1.33374445	1.6647638	0.00000004	0.0000000473
LOC1161843	NC	LOC5128	cytochrome P-450 1A1, transcrypt variant 12	40.9972620	1.93064424	15.2406599	4.9941e-13	1.292067e-08
LOC1162079	NC	LOC45131	acetoin-lipoate lyase	28.9811080	2.5645628	9.52571100	1.063664e-09	1.417960e-05
LOC1162133	NC	LOC45133	2-Pyruvate 1	28.1005911	1.06078107	3.5424841	6.25447e-07	1.610000e-06
LOC1162039	NC	LOC45130	transcription factor 10, transcrypt variant 1	20.9010385	1.28960731	4.74471784	0.0047540e-08	0.0007907e-09
LOC1161907	NC	LOC226040	transcription factor 2-dehydroxy and oxidase (GLO-4), transcrypt variant X1	92.0131926	1.56482513	9.1718026	3.202176e-08	0.0089197e-15
LOC1162018	NC	LOC45132	transcription factor 10, transcrypt variant 2	21.4491473	1.40471481	5.3535039	5.75041e-08	0.0007907e-09
LOC1162018	NC	LOC45131	PLA1 domain-containing protein 3-like	28.9811080	2.32829678	4.86112055	7.07197e-07	0.0043714e-06
LOC1161987	NC	LOC45131	protein S1, PFK family 4, cytochrome P-450 1A1, transcrypt variant 1	28.9811080	1.56482513	9.1718026	3.202176e-08	0.0089197e-15
LOC1161992	NC	LOC226040	transcription factor 2-dehydroxy and oxidase (GLO-4), transcrypt variant X1	28.1189610	1.31924723	4.76979052	1.36666e-08	0.0008175e-05
LOC1162056	NC	LOC45134	uncharacterized	105.308787	4.43587489	20.3344352	1.085984e-06	0.0033755e-08
LOC1162049	NC	LOC45133	transcription factor 10, transcrypt variant 1	28.9811080	1.56482513	9.1718026	3.202176e-08	0.0089197e-15
LOC1162102	NC	LOC45133	histone-H3-like	3.2621444	1.48134009	28.0995807	5.258448e-06	0.0007907e-09
LOC1161904	NC	LOC226040	transcription factor 2-dehydroxy and oxidase (GLO-4), transcrypt variant X1	27.9194774	1.06078107	3.5424841	6.25447e-07	1.610000e-06
LOC1161933	NC	LOC45132	transcription factor 10, transcrypt variant X1	47.0729518	1.65452152	23.5353249	4.47412e-06	0.0099953e-08
LOC1161726	NC	LOC45121	protein GAST1	44.6473845	5.20718170	38.510491	6.783381e-06	0.0033150e-08
LOC1161992	NC	LOC45132	transcription factor 10, transcrypt variant X1	4.3865761	1.48134009	28.0995807	5.258448e-06	0.0007907e-09
LOC1161992	NC	LOC45132	transcription factor 10, transcrypt variant X1	4.3865761	1.48134009	28.0995807	5.258448e-06	0.0007907e-09
LOC1162042	NC	LOC45131	uncharacterized	6.39336260	3.88081111	24.6047403	4.101404e-06	0.0007907e-09
LOC1162273	NC	LOC45131	uncharacterized	18.7821910	6.12795828	46.1126204	4.454245e-09	4.334077e-05

Accession	Chromosome	Annotation	Max group mean	Log fold change	Fold change	P-value	FDR α -value	Benferroni
LOC11621180	NC	LOC45132	dehydrogenase Ruhl-like	28.0667774	0.97755568	1.008124127	0	0
LOC11621482	NC	LOC45131	cold and drought-regulated protein CORA-like	76.7712118	9.30960482	57.1276260	5.55121e-16	2.38839e-12
LOC11620468	NC	LOC45131	low-molecular-weight endoplasmic protein X2	40.9972620	1.27070217	1.475158124	0	0
LOC11619163	NC	LOC45128	transcription factor 10, transcrypt variant 20-like	17.2099136	7.05181883	133.6251804	5.911305e-07	4.55717e-05
LOC11620065	NC	LOC45131	non-specific lipid-transfer protein 1-like	14.9293287	6.521410006	91.8629735	8.998721e-11	1.350659e-07
LOC11621482	NC	LOC45131	histone-H3-like	3.26114118	1.48134009	28.0995807	5.258448e-06	0.0007907e-09
LOC11620464	NC	LOC45131	acetoin-lipoate lyase	45.1359480	6.17864227	72.4345471	1.525445e-08	0.0003989e-06
LOC11620178	NC	LOC45130	transcription factor 10, transcrypt variant 1	34.2618957	5.08012775	56.0300043	3.058149e-06	4.503114e-05
LOC11619350	NC	LOC45128	acidic endonuclease Ppn 14PNC amphipathic	95.8680237	5.13266613	42.643201	1.344811e-08	1.525445e-05
LOC11619456	NC	LOC45131	transcription factor 10, transcrypt variant 1	40.7554159	1.56482513	9.1718026	3.202176e-08	0.0089197e-15

Şekil 15. 10 gün ve 20 gün süresince T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Wonderful çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** farklı kuraklık uygulamalarında Wonderful çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste



Wonderful çeşidinde 10 gün ve 20 gün süresince şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresi uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi azalan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detay bilgiler Şekil 16.C sunulmuştur. Bu tabloya göre, 10 gün süresince şiddetli (T2) kuraklık uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi azalan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen LOC116205182, LOC116200056, LOC116209704, LOC116212698 ve LOC116202503 iken 20 gün süresince ekspresyon seviyesi azalan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen LOC116205182, LOC116193525, LOC116197718, LOC116215566 ve LOC116213005 şeklinde sıralanmıştır.

GDSL esteraz/lipazlar (GELP'ler), bitki büyümesi, gelişimi ve stres yanıtlarında kritik işlevler üstlenen çok işlevli enzimlerdir. N-uçta bulunan korunan GDSL motifi ve Ser-His-Asp/Glu triadı aracılığıyla çeşitli substratları hidrolize edebilen bu proteinler, hücre duvarı modifikasyonu, lipid metabolizması ve stres tolerans mekanizmalarında görev alır. Literatürde, farklı türlerde GDSL aile üyesi genlerin kuraklık, tuzluluk ve ABA uygulamaları altında ekspresyonunun büyük çoğunlukla baskılandığı (down-regulated) rapor edilmiştir; örneğin soya (*Glycine max*) genç yapraklarında yapılan çalışmalarda 66 GDSL geninden 59'u kuraklık stresinde ekspresyonunu düşürmüştür (Su vd., 2020). Bu durum, kuraklık koşullarında lipid ve hücre duvarı ile ilişkili enzimlerin metabolik olarak sınırlandırılmasının genel bir bitki adaptasyon stratejisi olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada LOC116193525 geninin GDSL esteraz/lipaz LTL1 benzeri proteini (GDSL esterase/lipase LTL1-like) kodladığı ve T2 koşulu altında 20. gün sonunda yaklaşık 9,19 kat azaldığı, 10. gün sonunda ise 20. güne kıyasla daha düşük bir azalış sergilediği belirlenmiştir. Bu bulgu, literatürde gözlemlenen genel kuraklık yanıtıyla uyumludur ve nar bitkisinde de benzer şekilde şiddetli kuraklık koşullarında lipid metabolizması ve hücre duvarı modifikasyon süreçlerinin baskılandığını göstermektedir. Ayrıca 10. gün ekspresyonundaki daha sınırlı düşüş, erken dönemde genin hâlâ kısmi fonksiyon gösterdiğini, ancak uzun süreli stresle birlikte baskılanmanın arttığını işaret etmektedir. Bu gözlemler, narda GDSL esterase/lipazların stres yanıtında zamanla değişen, dinamik bir düzenleyici rol üstlendiğini desteklemektedir.

Tablo 5. Wonderful Çeşidinde Orta Şiddetli ve Şiddetli Kuraklık Stresi Uygulamalarının Onuncu ve Yirminci Gün Süreleri İçin Yapılan RNA-seq Analiz Sonuçlarına Göre Bazı Genlerin İfadesindeki Artışlar ve Azalışlar

Wonderful			
T1 (1. Uygulama)		T2 (2. Uygulama)	
Gen İsmi	İfade Artışı (↑)/ İfade Azalışı (↓)	Gen İsmi	İfade Artışı (↑)/ İfade Azalışı (↓)
W-10. Gün, 1. ve 2. Uygulama grubu (Şekil-11 ifade artışı) (Şekil-12 ifade azalışı)			
Dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı faktör 1A (DREB1A) (LOC116202526)	4,98 kat ↑		
Dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı faktör 1A(DREB1A) (LOC116211172)	4,6 7kat ↑		
36,4 kDa prolince zengin protein benzeri (LOC116188420)	4,32 kat ↑	36,4 kDa prolince zengin protein benzeri (LOC116188420)	5,33 kat ↑
Ethylene responsive transcription factor (ERF017) (LOC116194146)	3,96 kat ↑		
Flavonoid 3-monooksijenaz (CYP75B137) (LOC116196660)	6,71 kat ↓		
Riboflavin biyosentez proteini pyrR (LOC116214841)	3,73 kat ↓		
WRKY DNA bağlayıcı transkripsiyon faktör-70 benzeri (LOC116194198)	2,17 kat ↑		
Muhtemel WRKY transkripsiyon faktör-25 (LOC116195060)	2,56 kat ↑		
		Tekrarlayan prolince zengin hücre duvarı proteini 2 benzeri (LOC116205978)	3,3 kat ↑
		Organ spesifik protein S2 benzeri (LOC116202289)	7,5 kat ↑
		Organ spesifik protein S2 benzeri (LOC116202382)	5,69 kat ↑
		Organ spesifik protein S2 benzeri (LOC116202416)	5,25 kat ↑
		NAC alanı içeren protein 37-like%2C transcript variant X1 (LOC116199848)	2,28 kat ↓
		Holotricin-3-benzeri (LOC116214822)	5,2 kat ↓

Tablo 5. (devamı)

W-20. Gün, 1. ve 2. Uygulama grubu (Şekil-13 ifade artışı/azalışı)		
İnositol-3-fosfat sentaz (MIPS) (LOC116206579)	3,5 kat↑	
Spesifik olmayan lipid transfer proteinleri (nsLTP) (LOC116200065)	7,2 kat ↑	
Spesifik olmayan lipid transfer proteinleri (nsLTP) (LOC1162000556)	7,79 kat ↓	
WRKY DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü 70 benzeri (LOC116193053)	5,9 kat ↓	
WRKY DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü 70 benzeri (LOC116196679)	6,3 kat ↓	
NAC alanı içeren protein 21/22 benzeri (LOC116198601)	5,13 kat ↑	
NAC alanı içeren protein 21/22 benzeri (LOC116192446)	4 kat ↓	
NAC alanı içeren protein 72 (LOC116195063)	5,38 kat ↑	
Flavonoid 3-monooksijenaz (CYP75B137) (LOC116192383)	5,69 kat ↓	
Çinko parmak CCCH alanı içeren protein-20 benzeri (LOC116194165)	6,8 kat ↑	
Soğuk ve kuraklık düzenleyici protein CORA benzeri (LOC116214825)	7,98 kat ↑	
Absisik stres olgunlaşma proteini benzeri (LOC116189346)	5,08 kat ↑	
Ethylene-responsive transcription factor TINY-like (LOC116187025)	3,38 kat ↑	
Dehidrin RAB18 benzeri (LOC116211880)	10,13 kat ↑	
Ağır metal ilişkili izoprenillenmiş bitki proteini 5 benzeri (LOC116206716)	7,6 kat↓	
Düşük sıcaklık kaynaklı 65 kda protein benzeri %2C transkript varyantı X2 (LOC116204688)	7,4 kat ↑	

Tablo 5. (devamı)

W-1. Uygulama, 10. Gün ve 20. Gün (Şekil 14 ifade artışı/azalışı)		
Etilene duyarlı transkripsiyon faktörü 5 benzeri (LOC116193068)	3,98 kat ↑	
Dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı faktör 1A benzeri (DREB1A) (LOC116202526)	5,8 kat ↑	
Spesifik olmayan lipit transfer proteini 1 benzeri (LOC116200056)	11,28 kat ↓	
Muhtemel hücre duvarı proteini (CWP) (LOC116205182)	11,65 kat ↓	
W-2. Uygulama, 10. Gün ve *20. Gün (Şekil 15 ifade artışı) (Şekil 16 ifade azalışı)		
Fasciclin benzeri arabinogalaktan (FLA) (LOC116198653)	4,35 kat ↑	
*Dehidrin RAB18 benzeri (LOC116211880)	9,97 kat ↑	
*Soğuk ve kuraklık düzenleyici protein CORA benzeri (LOC116214825)	8,3 kat ↑	
Muhtemel hücre duvarı proteini (CWP) (LOC116205182)	15,17 kat ↓	
*Muhtemel hücre duvarı proteini (CWP) (LOC116205182)	9,3 kat ↓	
GDSL esteraz/lipaz LTL1benzeri (LOC116192503)	6,84 kat ↓	
GDSL esteraz/lipaz LTL1benzeri (LOC116194542)	6,61 kat ↓	
*GDSL esteraz/lipaz LTL1benzeri (LOC116193525)	9,19 kat ↓	

Hicaznar Çeşidinde Kuraklık Stresine Karşı Transkriptomik Profil Analizi

Hicaznarnar çeşidinde 10 gün süresince uygulanan orta (%65–75 bağıl toprak su içeriği, T1) ve şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresine maruz bırakılan bitkiler ile kontrol grupları arasında diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin karşılaştırılması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kontrol ve ilgili uygulama gruplarına ait mRNA kütüphanelerinin karşılaştırmalı biyoinformatik analizleri yapılmıştır.

H_10. Gün_1. ve 2. uygulama grubu (H_10G/T1_T2)

Önce 10 gün süresince yapılan T1 ve T2 kuraklık uygulamalarında ifadesi artan genlere ait ısı haritaları oluşturulmuştur (Şekil 17A). Bu ısı haritaları incelendiğinde LOC116207297 LOC116199069, LOC116201396 ve LOC116213264 kodlu genlerin ifadesinde T1 uygulamasında bir artış gözlenmezken T2 uygulamasında bu genlere ait ifadelerin arttığı gözlenmiştir. LOC116187168 ve LOC116214822 genlerinin ise ifadeleri T1 kuraklık uygulamasında kontrole göre artmışken, T2 uygulamasında bu genlere ait ifadelerin kontrole göre önemli oranda azaldığı gözlenmiştir. Gen ifadesinde artış veya azalma gösteren genlerin anotasyon analizleri yapıldığında tahmini olarak bu genlerin; yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (senescence-specific cysteine protease SAG12-like, LOC116206805), stemmadenin O-asetiltransferaz benzeri (stemmadenine O-acetyltransferase-like, LOC116199069), salatalık kabuğu kupredoksin benzeri (cucumber peeling cupredoxin-like, LOC116201396), poligalakturonaz QRT2 benzeri (polygalacturonase QRT2-like, LOC116187168), holotricin-3-benzeri (holotricin-3-like proteinleri, LOC116214822) ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. İfadesi stres uygulaması ile artış gösteren senescence-specific cysteine protease genlerinin konu alan Jones ve ark. (2005)'nin yapmış olduğu çalışmada, petunya (cv. Mitchell) taç yapraklarında senesens-spesifik genlerin spesifik sistein proteaz genleri (PhCP2–PhCP10) (*Petunia* × *hybrida* sistein proteazı) tanımlanmış; bunlardan bazılarının ekspresyonunun yaşlanma sürecinde kademeli olarak arttığı ve bunun programlanmış hücre ölümünün erken evrelerde başladığını gösterdiği değerlendirilmiştir (Iakimova ve Woltering 2025; Jones vd., 2005). Bu genlerin nar bitkisinde gözlenen ifade seviyesindeki artışın, bitkinin strese karşı ilk tepkisi olabileceği ve programlanmış hücre ölümüne yönlendirilerek bitkiyi enerji tasarrufuna olanak sağlama ihtimali ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

On gün süreyle T1 ve T2 uygulamaları arasındaki gen ifade seviyesi bakımından farklılıkları daha kapsamlı yapabilmek amacıyla uygulamalardan sonra ifade seviyesi artan genler Venn diyagramı ile gösterilmiştir (Şekil 17B). Bu diyagram incelendiğinde T1 stres uygulamasına özgü 20 farklı genin ve T2 stres uygulamasına özgü 20 farklı genin ifade seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte Venn diyagramına göre her iki stres uygulaması için ekspresyonu artan ortak bir gen bu analiz sonucunda elde edilmemiştir.

Hicaznar çeşidinde 10 gün süreyle iki farklı stres uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detaylı bilgiler Şekil 17C'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde Hicaznar çeşidinde 10 gün süresince T1

stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesi artan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen LOC116208653, LOC116187168, LOC116208779, LOC116187298, LOC11696660 şeklindedir. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; erken nodulin-75 benzeri (early nodulin-75-like), poligalakturonaz QRT2 benzeri (polygalacturonase QRT2-like), erken nodulin-75 benzeri (early nodulin-75-like), kalkon--flavonon izomeraz benzeri (chalcone--flavonone isomerase-like), flavonoid 3'-monooksijenaz CYP75B137 benzeri (flavonoid 3'-monooxygenase CYP75B137-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. On gün süresince T2 stres uygulaması sonucu ekspresyon seviyesi artan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen ise LOC116207224, LOC116194610, LOC116188701, LOC116210369 ve LOC116203042 şeklindedir. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında tahmini olarak bu genlerin; yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (senescence-specific cysteine protease SAG12-like), yağ açıl-CoA redüktaz 2 benzeri (fatty acyl-CoA reductase 2-like), beta-amyrin 28-monooksijenaz (beta-amyrin 28-monooxygenase), şaperon protein dnaJ 11%2C kloroplastik benzeri (chaperone protein dnaJ 11%2C chloroplastic-like), patogenezle ilişkili protein PR-1 tipi benzeri (pathogenesis-related protein PR-1 type-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Mevcut çalışmada da stres altında ifadesi artan genlerden olan nodulinler, yalnızca kök nodüllerinde bulunan ve simbiyoz gelişim sırasında ekspresyonu artan bitki proteinleridir. Bu genler farklı alt gruplara ayrılır, bununla birlikte bu alt gruplardan özellikle erken nodulin (ENOD) genleri ilgi çekmektedir. ENOD genleri; *Pisum sativum*, *Medicago sativa*, *Glycine max*, *Oryza sativa*, *Triticum aestivum* ve *Arabidopsis thaliana* gibi birçok bitki türünde tanımlanmıştır. Bu genlerin, simbiyozun erken aşamalarında aktif rol oynadığı ve besin, amino asit ve fitohormon taşınımı ile gelişimsel düzenleme süreçlerine katkı sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, ENOD genleri konak bitkinin patojen kolonizasyonuna adaptasyonunu artırmada da önemli bir işleve sahiptir (Zhang vd., 2026). Bu proteinlerin bahsi geçen rolleri, stres şartlarına bitkinin adaptasyonunun artırılmasına olanak sağlama potansiyeli olduğundan, ifade artışının stres uygulaması ile uyumlu olduğu düşünülebilir.

Bitkilerdeki poligalakturonaz enzimleri, glikozid hidrolaz 28 ailesine aittir ve üç ana tipi bulunur: exoPG, endoPG ve RhaPG. EndoPG, pektinin ana zincirindeki bağları rastgele kırar. ExoPG, zincirin ucundan başlayarak GalA birimlerini tek tek koparır. RhaPG ise rhamnogalakturonan (RG I) yapısındaki özel bağları parçalar. Kısaca, bu enzimler pektini farklı şekillerde parçalayarak hücre duvarının yıkımında görev almaktadır (Shu vd., 2025). Bitkilerde poligalakturonaz genleri genellikle gen aileleri halinde bulunur ve OsPG2 geni aktarılan transgenik pirinçte, kök uzama bölgesindeki pektin içeriğinin yabancı tipe göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (Nagayama vd., 2022). Mevcut çalışmada da stres uygulaması sonrası

poligalakturonaz gen ifadesinin artmış olmasının, pektin içeriğini azaltarak suya ulaşmayı kolaylaştırmak amacıyla gerçekleştirilmiş olabileceği düşünülmektedir.

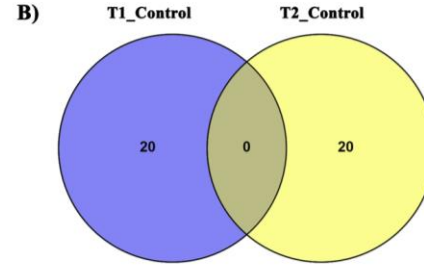
On gün süresince farklı kuraklık stresi uygulamaları sonrası Hicaznar çeşidinde ekspresyonu azalan genlere ait ısı haritası incelenmiştir (Şekil 18A). Bu ısı haritasına göre Hicaznar çeşidinde farklı kuraklık stresi uygulamaları sonucunda gen ekspresyonu azalan gen gruplarının çoğunun ortak olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte LOC116200013, LOC116208474, LOC116207114 genlerinin ifade seviyelerinin sadece T2 kuraklık uygulaması sonrasında arttığı gözlenirken, LOC116206697 ve LOC116214825 genlerinin ifadelerinin ise yalnızca T1 kuraklık uygulaması sonrasında arttığı gözlenmiştir.

On gün süresince farklı kuraklık stresi uygulamalarından sonra ekspresyon seviyesi azalan genlerin Venn diyagramı ile gösterimi yapılmıştır (Şekil 18B). Bu diyagram incelendiğinde T1 stres uygulamasına özgü 20 farklı genin ve T2 stres uygulamasına özgü 20 farklı genin ifade seviyesinin azaldığı gözlenmiştir.

Hicaznar çeşidinde 10 gün süresince iki farklı stres uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi azalan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detaylı bilgiler Şekil 18C’de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde Hicaznar çeşidinde 10 gün süresince T1 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesi azalan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen LOC116202416, LOC116211172, LOC116207087, LOC116200013 ve LOC116205739 şeklindedir. Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; organ spesifik protein S2 benzeri (organ-specific protein S2-like), dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı protein 1A benzeri (dehydration-responsive element-binding protein 1A-like), spesifik olmayan lipid transfer protein 1 benzeri (non-specific lipid-transfer protein 1-like), şikimat O-hidroksisinnamoiltransferaz benzeri (shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase-like%2C transcript variant X2) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. On gün süresince T2 stres uygulaması sonucu ekspresyon seviyesi azalan Log₂ değişim oranı değerine göre sıralanmış ilk 5 gen ise LOC116194366, LOC116200770, LOC116202054, LOC116208218 ve LOC116201511 şeklindedir. Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; GDP-mannoz 3%2C5-epimeraz 2 benzeri (GDP-mannose 3%2C5-epimerase 2-like%2C transcript variant X1), GDSL esretaz/lipaz EXL3 benzeri (GDSL esterase/lipase EXL3-like), MLP benzeri protein 328 (MLP-like protein 328), ağır metal ilişkili izoprenillenmiş bitki protein 7 benzeri (heavy metal-associated isoprenylated plant protein 7-

like), aldehit dehidrojenaz ailesi 3 üyesi F1 benzeri (aldehyde dehydrogenase family 3 member F1-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir.

GDP-mannoz 3,5-epimeraz (GME), kısa zincirli dehidrojenaz/redüktaz (SDR) protein ailesine ait bir enzimdir ve GDP-mannozu GDP-galaktoza dönüştürür. Bu dönüşüm, çift epimerizasyon olarak adlandırılır ve oksidasyon, proton alma/verme ve indirgenme gibi birden fazla basamak içeren karmaşık bir reaksiyonla gerçekleşir. Bu enzim bitkilerde C vitamini (askorbik asit) biyosentezinde önemli bir rol alırken, bakterilerde ise lipopolisakkarit sentezine katkı sağlar (Beerens vd., 2022). Nar bitkisinde bu genin ifadesinde görülen azalma bitkinin stres anında şeker metabolizmasında yaptığı düzenlemelerle ve enerji tasarrufu ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ağır metal ile ilişkili izoprenillenmiş bitki proteinleri (Heavy metal-associated isoprenylated plant proteins, HIPP'ler), hem bir veya iki ağır metal bağlayıcı alana hem de bir izoprenilasyon bölgesi içermektedir ve bu özellik de translasyon sonrası protein lipid modifikasyonunu kolaylaştırır. Özellikle stres yanıtlarıyla ilişkili önemli bir protein ailesidir. Bu proteinler, ağır metalleri bağlayabilen bölgeleri sayesinde bitkilerin ağır metal stresi başta olmak üzere biyotik ve abiyotik streslere karşı yanıt vermesinde rol oynar. Ayrıca HIPP'lerin önemli bir kısmı, hücreler arası iletişimi sağlayan plazmodezmalarda bulunur ve bu sayede stres durumlarında hücreler arası sinyal iletimine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu özellikleriyle HIPP'ler, stres koşullarında bitkide düzenleyici ve koruyucu işlevler üstlenen aday proteinlerdir (Barr vd., 2023). Bununla birlikte, mevcut çalışmada bu genin ifade seviyesinde gözlenen azalma, bitkinin öncelikle diğer stres yanıt mekanizmalarını çalıştırması ile ilgili olabilir.



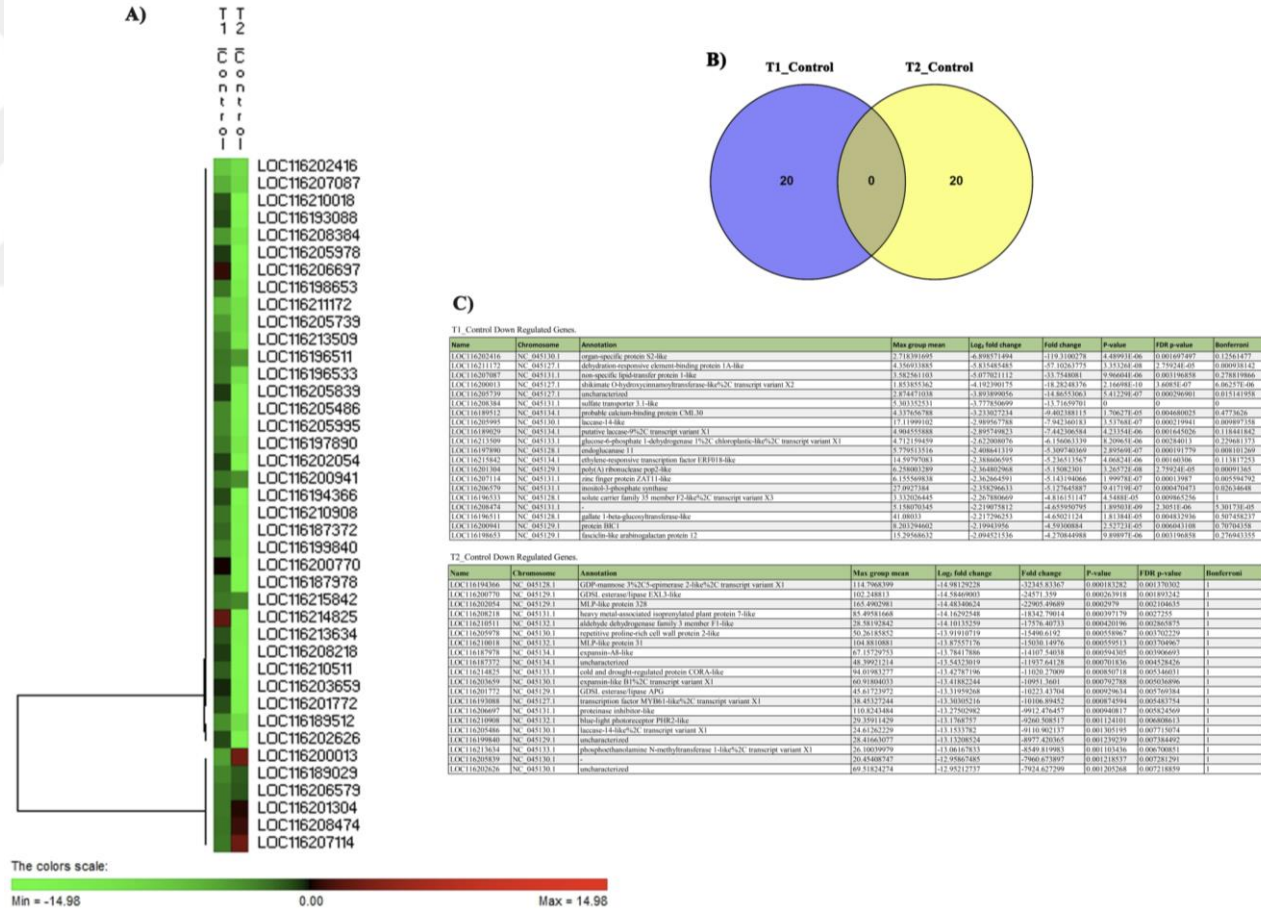
Şekil 17. 10 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** farklı kuraklık uygulamalarında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste

H_20. Gün_1. ve 2. uygulama grubu (H_20G/T1_T2)

Yirmi gün süresince yapılan orta (%65–75 bağıl toprak su içeriği, T1) ve şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresi uygulamalarında ifadesi artan ve azalan genlere ait ısı haritaları oluşturulmuştur (Şekil 19A). Bu ısı haritası değerlendirildiğinde, farklı kuraklık uygulamaları sonucu ifadesi artan bazı ortak genlerin bulunduğu belirlenmiştir. Örneğin LOC116189090, LOC116210572, LOC116206805 ve LOC116200065 numaralı genlerin ifadelerinin her iki farklı kuraklık stresi uygulaması sonucu arttığı görülmüştür. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; 8-hydroxygeraniol dehydrogenase-like, probable mannitol dehydrogenase, senescence-specific cysteine protease SAG12-like, non-specific lipid-transfer protein 1-like proteinleri ile ilişkili olduğu değerlendirilmiştir.

Yirmi gün süreyle T1 ve T2 uygulamaları arasındaki gen ifade seviyesi bakımından farklılıkları daha kapsamlı yapabilmek amacıyla uygulamalardan sonra ifade seviyesinde farklılık görülen genler Venn diyagramı ile gösterilmiştir (Şekil 19B). Bu diyagram incelendiğinde T1 stres uygulamasına özgü 3 farklı genin ve T2 stres uygulamasına özgü 62 farklı genin ifade seviyesinde artış veya azalış olduğu gözlenmiştir.

Hicaznar çeşidinde 20 gün süresince iki farklı koşulda stres uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan veya azalan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detaylı bilgiler Şekil 19C’de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde Hicaznar çeşidinde 20 gün süresince T1 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesinde Log₂ değişim oranı değerine göre yaklaşık 3,5 kat artış olan LOC116210572 geni ile ekspresyon seviyesinde yaklaşık 4 kat azalma olan LOC116194691 genleri öne çıkmaktadır. Hicaznar çeşidinde 20 gün süresince T2 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesinde Log₂ değişim oranı değerine göre LOC116206805, LOC116200065, LOC116204688 ve LOC116212359 genlerinin ifadesinde artışlar görülmüştür. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; senescence-specific cysteine protease SAG12-like, non-specific lipid-transfer protein 1-like, low-temperature-induced 65 kDa protein-like%2C transcript variant X2, probable protein phosphatase 2C proteinleri ile ilişkili olduğu değerlendirilmektedir. Buna karşılık, Log₂ değişim oranı değerine göre ifade seviyeleri uygulama sonrası en fazla azalma gösteren genlerin ise LOC116192574 (yaklaşık 8 kat azalma), LOC116209516 (yaklaşık 6,5 kat azalma), LOC116206760 (yaklaşık 6 kat azalma), LOC116187236 (yaklaşık 6 kat azalma) ve LOC116192642 (yaklaşık 5 kat azalma) olduğu görülmüştür.



Şekil 18. 10 gün süresince T1 ve T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** Kuraklık uygulamaları sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** Farklı kuraklık uygulamalarında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** Farklı kuraklık uygulamaları sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede azalan genlere ait ayrıntılı liste

Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; muhtemel ksiloglukan endotransglukozilaz /hidrolaz proteini 30 (probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 30), vejetatif hücre duvarı proteini gp1 benzeri (vegetative cell wall protein gp1-like), aquaporin TIP1-1, protein GAST1, glukan endo-1%2C3-beta-glukozidaz 10 benzeri (glucan endo-1%2C3-beta-glucosidase 10-like%2C transcript variant X2) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Tohum çimlenmesi, bitki yaşam döngüsünün başlangıcını oluşturmakta ve çimlenme oranı ile fide çıkışının iyileştirilmesi verimi artırabilmektedir. Bir çalışmada yer fıstığında (*Arachis hypogaea*) xyloglucan endotransglucosylases/hydrolases (XTH) gen ailesi incelenmiş ve toplam 58 AhXTH geni tanımlanmıştır. Ekspresyon analizleri, genlerin yaklaşık %45'inin çimlenme aşamasında yüksek düzeyde ifade edildiğini ve bu süreçte önemli rol oynadığını göstermiştir. Özellikle AhXTH4 geninin hipokotil uzamasında rol aldığı ve çimlenme sırasında hücre uzamasını düzenlediği de doğrulanmıştır (Zhu vd., 2022). Mevcut çalışmada ise gen ifadesi yüksek oranda azalan genlerden olan ksiloglukan endotransglukozilaz/hidrolaz geninde bu azalmanın literatür ile uyumlu olduğu değerlendirilmekte ve bitkinin büyümekten çok stres yanıtına öncelik vermesi olarak düşünülmektedir.

H_1. uygulama_10. gün ve 20. gün (H_T1/10_20G)

On gün ve 20 gün süresince uygulanan orta (%65–75 bağıl toprak su içeriği, T1) şiddetteki kuraklık stresi uygulamalarında ifadesi artan ve azalan genlere ait ısı haritası oluşturulmuştur (Şekil 20A). Bu ısı haritası değerlendirildiğinde Hicaznar çeşidinde T1 uygulaması sonrası uygulamanın 10. ve 20. günlerinde ifadesi ortak olarak artan genler olduğu belirlenmiştir. Örneğin LOC116210572, LOC116190129, LOC116200065, LOC116210710 ve LOC116214822 genleri bu kapsamda sayılabilir. Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; muhtemel mannitol dehidrogenaz (probable mannitol dehydrogenase), monotiol glutaredoksin-S4 benzeri (monothiol glutaredoxin-S4-like), spesifik olmayan lipid transfer protein 1 benzeri (non-specific lipid-transfer protein 1-like), holotricin-3 benzeri (holotricin-3-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir.

On gün ve 20 gün süresince T1 stres uygulaması arasındaki gen ifade seviyesi bakımından farklılıkları daha kapsamlı yapabilmek amacıyla uygulamalardan sonra ifade seviyesinde farklılık görülen genler Venn diyagramı ile gösterilmiştir (Şekil 20B). Bu diyagram incelendiğinde 10 gün süresince uygulanan T1 stres uygulamasına özgü 61 farklı genin ve yirmi gün süresince uygulanan aynı stres uygulamasına özgü ise 6 farklı genin ifade seviyesinde artış veya azalma olduğu gözlenmiştir. Ayrıca LOC116210572 geninin Venn diyagramında gen ifade seviyesinde değişiklik olan LOC116210572 geninin her iki zaman periyodu için de ortak olduğu gözlenmiştir. Bu genin anotasyon analizi yapıldığında mannitol dehydrogenase proteini ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bitki ıslahında umut vadeden genler arasında, şeker alkoller metabolizmasında görev alan genler çok yönlülükleriyle öne çıkmaktadır. Bu bağlamda, iyi karakterize edilmiş bir şeker alkolü olan mannitol, birçok yüksek bitkide önemli bir fotosentetik ürün olup, özellikle kereviz bitkisinde hem metabolit hem de ozmoprotektan olarak işlevleri ayrıntılı olarak belirlemiştir. Bununla birlikte, mannitolün yalnızca metabolik bir bileşen olmayıp, aynı zamanda antioksidan özellikleri sayesinde çevresel stres yanıtları ve bitki-patojen etkileşimlerinde de kritik roller üstlendiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Mannitol düzeylerinin düzenlenmesinde temel bir enzim olan mannitol dehidrogenaz (MTD), bu metabolitin birikiminin başlıca düzenleyicisidir ve karmaşık regülasyonu mannitol metabolizmasının fizyolojik işlevlerinin anlaşılması açısından önem taşımaktadır. Bir çalışmada, MTD promotörünün çevresel ve metabolik yanıtları, transforme edilmiş *Arabidopsis* bitkileri kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen bulgular, kereviz hücrelerinde MTD RNA birikiminde gözlenen değişimlerin *Arabidopsis*'teki transkripsiyonel düzenlemelerle örtüştüğünü göstermiştir. Buna göre, MTD ekspresyonu salisilik asit tarafından ifadesi yukarı yönde düzenlenirken, heksokinaz aracılı şekerler ile baskılanmakta; ayrıca tuz ve ozmotik stres ile ABA varlığında ifadesi azalmaktadır. Bununla birlikte, tuz stresi altındaki *Arabidopsis* köklerinin vasküler dokularında gözlenen belirgin MTD ekspresyon artışı, MTD'nin mannitol taşınımı ve boşaltımında, ayrıca şeker metabolizması ile etkileşiminde potansiyel bir rolü olabileceğine işaret etmektedir (Zamski vd., 2001). Mevcut çalışmada da gen ifadesinde her iki zaman periyodunda da artış görülen bu genin literatürle de uyumlu olarak ifade artışı gösterdiği görülmektedir ve bitkinin strese yanıt olarak şeker metabolizmasında yapmış olduğu düzenlemelere kanıt potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir.

Hicaznar çeşidinde 10 gün ve 20 gün süresince T1 stres uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan veya azalan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detaylı bilgiler Şekil 20C'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde Hicaznar çeşidinde 10 gün süresince T1 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesinde Log₂ değişim

oranı değerine göre ifadesi sırasıyla değişen oranlarda artan genler LOC116213226, LOC116214822, LOC116187168, LOC116203102 ve LOC116200065'dir. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; holotricin-3 benzeri (holotricin-3-like), holotricin-3 benzeri (holotricin-3-like), poligalakturonaz QRT2 benzeri (polygalacturonase QRT2-like), rRNA 2'-O-metiltransferaz fibrillarin benzeri (rRNA 2'-O-methyltransferase fibrillarin-like), spesifik olmayan lipid transfer protein 1 benzeri (non-specific lipid-transfer protein 1-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Yirmi gün süresince T1 stres uygulaması sonrası ifade artışı öne çıkan genler ise değişen oranlarda artışla LOC116190129, LOC116210010 ve LOC116210572 genleri olmuştur. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; monotirol glutaredoksin-S4 benzeri (monothiol glutaredoxin-S4-like), MLP benzeri protein 328 (MLP-like protein 328), muhtemel mannitol dehidrogenaz (probable mannitol dehydrogenase) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. On gün süresince T1 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesinde Log₂ değişim oranı değerine göre ifadesi sırasıyla azalan genlere örnek olarak LOC116202416, LOC116198589, LOC116200013, LOC116197341 ve LOC116206251 genleri örnek verilebilir. Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; organ spesifik protein S2 benzeri (organ-specific protein S2-like), asit fosfataz 1 benzeri (acid phosphatase 1-like), şikimat O-hidroksisinnamoiltransferaz benzeri (shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase-like%2C transcript variant X2), demir indirgeme oksidaz %2C kloroplastik benzeri (ferric reduction oxidase %2C chloroplastic-like), skopoletin glukoziltransferaz benzeri (scopoletin glucosyltransferase-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Yirmi gün süresince T1 stres uygulaması sonrası ifadesi önemli oranda azalan genlere ise LOC116195349, LOC116194691, LOC116203190 ve LOC116189449 örnek verilebilir. Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; muhtemel F-kutusu/LRR tekrar proteini (putative F-box/LRR-repeat protein At5g02930%2C transcript variant X10), tanımlanmamış bir gen, G tipi lektin S reseptör benzeri serin/treonin protein kinaz (G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase SD1-1%2C), benzoat karboksil metiltransferaz benzeri (benzoate carboxyl methyltransferase-like%2C transcript variant X3) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir.

H_2. uygulama_10. gün ve 20. gün (H_T2/10_20G)

On gün ve 20 gün süresince uygulanan şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresi uygulamalarında ifadesi artan genlere ait ısı haritası oluşturulmuştur (Şekil 21A). Bu ısı haritası değerlendirildiğinde Hicaznar çeşidinde T2 uygulaması sonrası uygulamanın 10. ve 20. günlerinde ifadesi ortak olarak artan genler olduğu belirlenmiştir. Bu genlere örnek olarak ise LOC116210369, LOC116203042, LOC116208150 ve LOC116206805 genleri verilebilir. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; şaperon protein dnaJ 11%2C kloroplastik benzeri (chaperone protein dnaJ 11%2C chloroplastic-like), patogeneze ilişkili protein PR-1 tipi benzeri (pathogenesis-related protein PR-1 type-like), muhtemel LRR reseptör benzeri serin/treonin protein kinaz At3g47570 (probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570), yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (senescence-specific cysteine protease SAG12-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. DnaJ proteinleri, tek başlarına veya ısı şoku proteini 70 (Hsp70) ortaklarıyla birlikte moleküler şaperonlar olarak işlev görmek ve proteinlerin katlanması/açılması, birleşmesi/ayrışması ve bozunması da dahil olmak üzere çok çeşitli temel hücrel basamaklarda rol almaktadırlar (Hennessy vd., 2005; Craig vd., 2006). Ayrıca bu proteinler, normal ve stres koşulları altında hücrel protein homeostazına da katkıda bulunan temel hücrel bileşenlerdir (Wang vd., 2004). Yapılan bir çalışmada, domateste (*Solanum lycopersicum*) kloroplast hedefli bir DnaJ proteini olan SlCDJ2'nin ısı stresine karşı dirençteki rolü, transgenik bitkiler kullanılarak incelenmiştir. SlCDJ2'nin kloroplastta tilakoid ve stroma bölgelerinde homojen olarak dağıldığı belirlenmiş, böylece DnaJ proteinlerinin kloroplast fonksiyonlarının korunmasındaki potansiyel rolü desteklenmiştir. Isı stresi altında SlCDJ2'nin aşırı eksprese edildiği bitkilerde daha yüksek klorofil içeriği ve biyokütle ile birlikte daha düşük reaktif oksijen türleri (ROT) birikimi ve membran hasarı gözlenmiştir. Ayrıca bu bitkilerde Rubisco aktivitesi ve CO₂ asimilasyon kapasitesi artmıştır. DnaJ proteinlerinden SlCDJ2'nin özellikle Rubisco'nun ısıya bağlı degradasyonunu sınırlayarak fotosentetik kapasitenin korunmasına katkı sağladığını göstermektedir (Wang vd.,2015). Mevcut çalışmada da ifadesi yüksek oranda artan genlerden olan DnaJ'nin bitkinin kuraklık stresine yanıtta protein stabilitesini korumak amacıyla ifade seviyesinin artmış olma potansiyelinin yüksek olduğu düşünülmektedir.

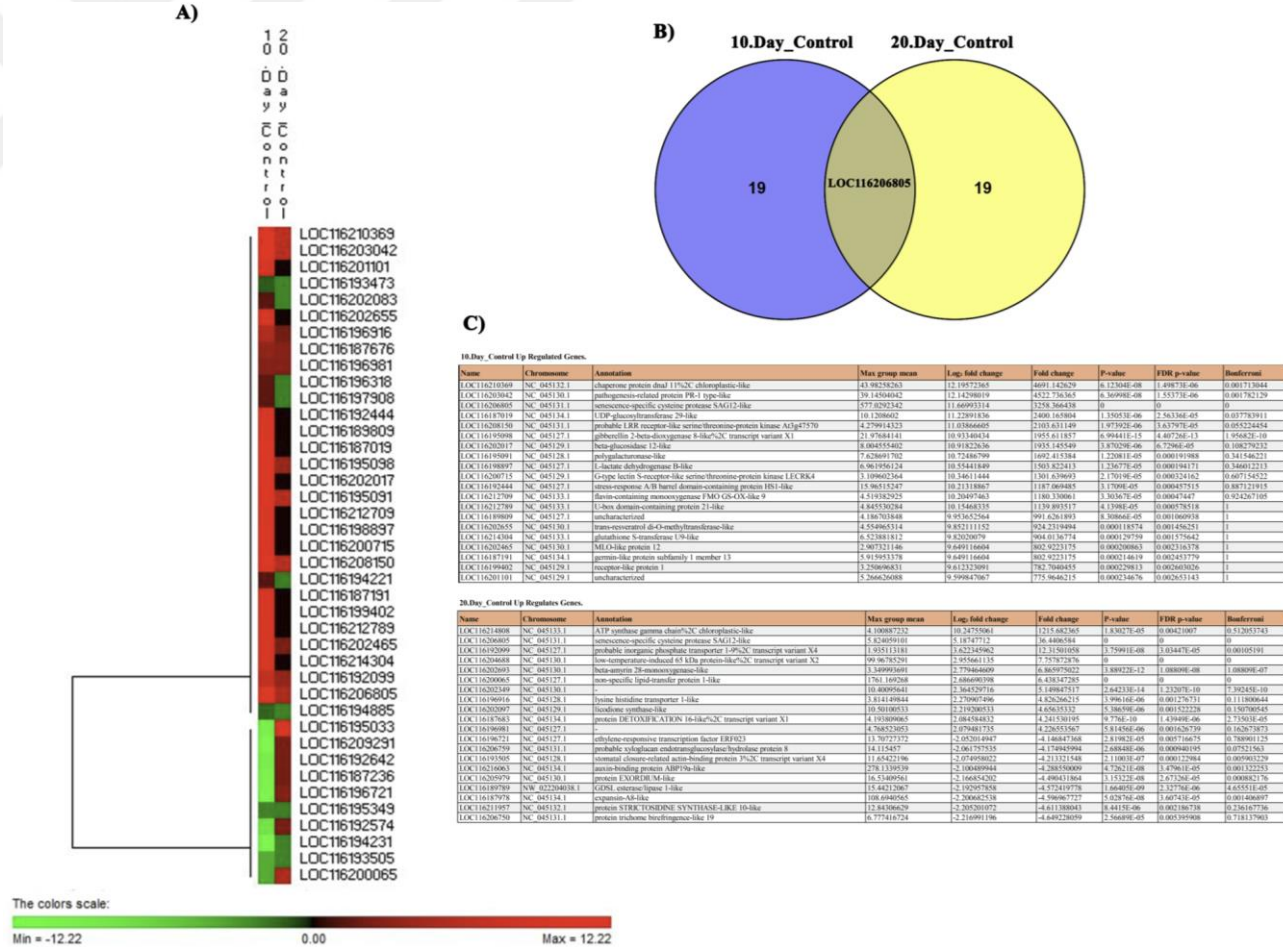
On gün ve 20 gün süresince T2 stres uygulaması arasındaki gen ifade seviyesi bakımından artışları daha kapsamlı yapabilmek amacıyla farkı sürelerle yapılan uygulamadan sonra ifade seviyesinde artış görülen genler Venn diyagramı ile gösterilmiştir (Şekil 21B). Bu diyagram incelendiğinde 10 gün süresince uygulanan T2 stres uygulamasına özgü 19 farklı

genin ve yirmi gün süresince uygulanan aynı stres uygulamasına özgü ise 19 farklı genin ifade seviyesinde artış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca Venn diyagramında LOC116206805 geninin gen ifadesi seviyesindeki artışın her iki zaman periyodu için de ortak olduğu gözlenmiştir. Bu genin anotasyon analizi yapıldığında senescence-specific cysteine protease SAG12-like proteini ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu genin daha önce tartışılan rolü dikkate alındığında nar bitkisinde gözlenen gen ifadesi artışının, bitkinin strese karşı ilk tepkisi olabileceği ve programlanmış hücre ölümüne yönlendirilerek bitkiyi enerji tasarrufuna olanak sağlama ihtimali ile ilgili olduğu değerlendirilmektedir (Iakimova ve Woltering 2025).

Hicaznar çeşidinde 10 gün ve 20 gün süresince T2 stres uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi artan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detaylı bilgiler Şekil 14C’de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde Hicaznar çeşidinde 10 gün süresince T1 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesinde Log₂ değişim oranı değerine göre ifadesi artan ilk 5 genin yaklaşık olarak 11-12 kat artışla LOC116210369, LOC116203042, LOC116206805 LOC116187019 ve LOC116208150 genleri olduğu gözlenmiştir. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; şaperon protein dnaJ 11%2C kloroplastik benzeri (chaperone protein dnaJ 11%2C chloroplastic-like), patogenezele ilişkili protein PR-1 tipi benzeri (pathogenesis-related protein PR-1 type-like), yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (senescence-specific cysteine protease SAG12-like), UDP-glukoziltransferaz 29 benzeri (UDP-glucosyltransferase 29-like), muhtemel LRR reseptör benzeri serin/treonin protein kinaz At3g47570 (probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Yirmi gün süresince T2 stres uygulaması sonrası ifadesi en fazla artan genlere ise LOC116214808, LOC116206805, LOC116192099, LOC116204688 ve LOC116202693 genleri örnek verilebilir. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; ATP sentaz gama zinciri%2C kloroplastik benzeri (ATP synthase gamma chain%2C chloroplastic-like), yaşlanmaya özgü sistein proteaz (senescence-specific cysteine protease SAG12-like), muhtemel inorganik fosfat taşıyıcı (probable inorganic phosphate transporter 1-9%2C transcript variant X4), düşük sıcaklık kaynaklı 65 kDa protein benzeri (low-temperature-induced 65 kDa protein-like%2C transcript variant X2), beta-amyrin 28-monooksijenaz benzeri (beta-amyrin 28-monooxygenase-like) proteinleri ile ilişkili olduğu görülmüştür.

On gün ve 20 gün süresince uygulanan şiddetli (%5–15 bağıl toprak su içeriği, T2) kuraklık stresi uygulamalarında ifadesi azalan genlere ait ısı haritası oluşturulmuştur (Şekil

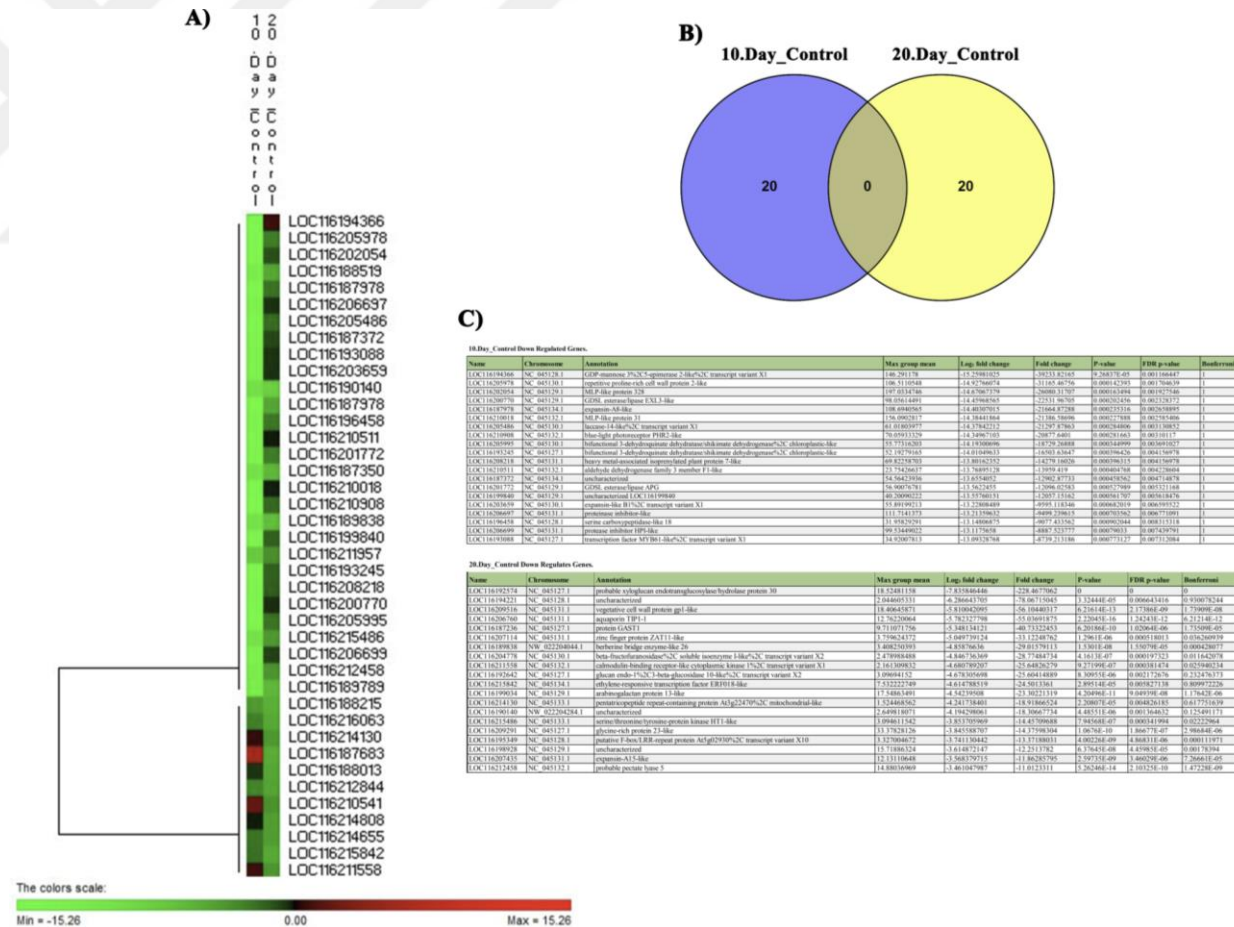
22A). Bu ısı haritası değerlendirildiğinde Hicaznar çeşidinde T2 uygulaması sonrası uygulamanın 10. ve 20. günlerinde ifadesi ortak olarak azalan genler olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte LOC116187683 ve LOC116211558 genlerinin T2 stres uygulamasının 10. gününde 20. günden farklı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Gen ifadesinde artış gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; protein detoksifikasyonu 16-benzeri (protein detoxification 16-like%2C transcript variant X1), kalmodulin bağlayıcı reseptör benzeri sitoplazmik kinaz (calmodulin-binding receptor-like cytoplasmic kinase 1%2C transcript) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Daha önce yapılmış bir çalışmada, *Arabidopsis thaliana*'da kalsiyumla düzenlenen bir kalmodulin bağlayıcı reseptör benzeri sitoplazmik kinaz 3 olan CRCK3'ün, tuz stresine toleransta kritik bir rol oynadığı ortaya konulmuştur. CRCK3 geninin tuz stresi altında indüklendiği ve bu genin kaybının bitkilerde belirgin bir tuz duyarlılığına yol açtığı belirlenmiştir. CRCK3'ün aktivasyonunun kalsiyuma bağımlı olduğu ve kinaz aktivitesinin tuz toleransı için gerekli olduğu da gösterilmiştir. Ayrıca CRCK3'ün, hidrojen peroksit (H₂O₂) detoksifikasyonunda görevli bir enzim olan katalaz 2 (CAT2) ile fiziksel olarak etkileştiği ve bu etkileşimin tuz toleransı açısından işlevsel olduğu saptanmıştır. Tuz stresi altında CRCK3 aracılığıyla CAT2'nin enzimatik aktivitesinin yükseltilerek reaktif oksijen türlerinin (ROT) birikimini azalttığı belirlenmiştir. Böylece, CRCK3–CAT2 modülünün redoks homeostazını düzenleyerek bitkilerde tuz stresine karşı toleransı sağladığı belirlenmiş olmuştur (Zhuang vd., 2025). Mevcut çalışmada da calmodulin-binding receptor-like cytoplasmic kinase geninin stres altında ifadesinin ilk artan genlerden olmasının literatür ile uyumlu olduğu değerlendirilmektedir.



Şekil 21. 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** On ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası Hicaznar çeşidinde ekspresyonu artan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede artan genlere ait ayrıntılı liste

On gün ve 20 gün süresince T2 stres uygulaması arasındaki gen ifade seviyesindeki azalmayı daha kapsamlı yapabilmek amacıyla farkı sürelerle yapılan uygulamadan sonra ifade seviyesinde artış görülen genler Venn diyagramı ile gösterilmiştir (Şekil 22B). Bu diyagram incelendiğinde 10 gün süresince uygulanan T2 stres uygulamasına özgü 20 farklı genin ve yirmi gün süresince uygulanan aynı stres uygulamasına özgü ise 20 farklı genin ifade seviyesinde azalma olduğu gözlenmiştir.

Hicaznar çeşidinde 10 gün ve 20 gün süresince T2 stres uygulamasından sonra ekspresyon seviyesi azalan genlerin kod numaraları, kromozom üzerindeki lokasyonları, gen anotasyonları, Log₂ değişim oranı değeri, p değeri ve FDR (False Discovery Rate) değeri gibi detaylı bilgiler Şekil 22C’de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde Hicaznar çeşidinde 10 gün süresince T2 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesinde Log₂ değişim oranı değerine göre ifadesi azalan ilk 5 genin yaklaşık 15 kat azalmanın görüldüğü LOC116194366, LOC116205978, LOC116202054, LOC116200770 ve LOC116187978 genleri olduğu gözlenmiştir. Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; GDP-mannoz 3%2C5-epimeraz 2 benzeri (GDP-mannose 3%2C5-epimerase 2-like%2C transcript variant X1), tekrarlayan prolince zengin hücre duvarı protein 2 benzeri (repetitive proline-rich cell wall protein 2-like), MLP benzeri protein 328 (MLP-like protein 328), expansin-A8-benzeri (expansin-A8-like) proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Yirmi gün süresince T2 stres uygulaması sonrası ekspresyon seviyesinde Log₂ değişim oranı değerine göre ifadesi en fazla azalan ilk 5 genin ise LOC116192574, LOC116209516, LOC116206760 ve LOC116187236 genleri olduğu belirlenmiştir. Gen ifadesinde azalma gösteren bu genlerin anotasyon analizleri yapıldığında, tahmini olarak bu genlerin; muhtemel ksiloglukan endotransglukozilaz /hidrolaz proteini (probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 30), vejetatif hücre duvarı proteini gp1 benzeri (vegetative cell wall protein gp1-like), aquaporin TIP1-1, protein GAST1 proteinleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir.



Şekil 22. 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve kontrol Hicaznar çeşidine ait diferansiyel gen ekspresyon analizlerinin karşılaştırmalı gösterimi. **(A)** On ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrasında Hicaznar çeşidinde ekspresyonu azalan genlerin ısı haritası; renk skalası göreceli ekspresyon düzeylerini göstermektedir. **(B)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası Hicaznar çeşidinde ekspresyonu azalan ortak ve özgül genlerin dağılımını gösteren Venn diyagramı. **(C)** 10 ve 20 gün süresince T2 kuraklık uygulaması sonrası ekspresyon seviyesi önemli derecede azalan genlere ait ayrıntılı liste

Tablo 6. Hicaznar Çeşidinde Orta Şiddetli ve Şiddetli Kuraklık Stresi Uygulamalarının Onuncu ve Yirminci Gün Süreleri İçin Yapılan RNA-seq Analiz Sonuçlarına Göre Bazı Genlerin İfadesindeki Artışlar ve Azalışlar

Hicaznar			
T1 (1. Uygulama)		T2 (2. Uygulama)	
Gen İsmi	İfade Artışı (↑)/ İfade Azalışı (↓)	Gen İsmi	İfade Artışı (↑)/ İfade Azalışı (↓)
H-10. Gün, 1. ve 2. Uygulama grubu (Şekil 17 ifade artışı) (Şekil 18 ifade azalışı)			
Poligalakturonaz QRT2 benzeri (LOC116187168)	5,6 kat ↑		
Holotricin-3-benzeri (LOC116214822)	4,7 kat ↑		
Erken nodulin-75 benzeri (LOC116208653)	6,55 kat ↑		
Erken nodulin-75 benzeri (LOC116208779)	5,4 kat ↑		
Poligalakturonaz QRT2 benzeri (LOC116187168)	5,6 kat ↑		
Kalkon--flavonon izomeraz benzeri (LOC116187298)	5,16 kat ↑		
Flavonoid 3'-monooksijenaz CYP75B137 benzeri (LOC11696660)	4,9 kat ↑		
Organ spesifik protein S2 benzeri (LOC116202416)	6,89 kat ↓		
Dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı protein 1A Benzeri (LOC116211172)	5,8 kat ↓		
Spesifik olmayan lipit transfer proteini 1 benzeri (LOC116207087)	5,07 kat ↓		
Şikimat O-hidroksisinnamoil transferaz benzeri%2C transkript varyantı X2 (LOC116200013)	4,19 kat ↓		
		Yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (LOC116207297)	13,86 kat ↑
		Yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (LOC116207224)	11,2 kat ↑
		Stemmadenin O-asetiltransferaz benzeri (LOC116199069)	11,1 kat ↑
		Salatalık kabuğu kupredoksin benzeri (LOC116201396)	11 kat ↑

Tablo 6. (devamı)

Reseptör benzeri protein 33 (LOC116213264)	11,66 kat ↑
Yağ açıl-coa redüktaz 2 benzeri (LOC116194610)	12,98 kat ↑
Beta-amyrin 28- monooksijenaz (LOC116188701)	12,89 kat ↑
Şaperon protein dnaj 11%2C kloroplastik benzeri (LOC116210369)	12,29 kat ↑
Patogenezle ilişkili protein PR-1 tipi benzeri (LOC116203042)	12,23 kat ↑
Şikimat O- hidroksisinnamoiltransferaz benzeri%2C transkript varyantı X2 (LOC116200013)	4,19 kat ↓
Çinko parmak proteini ZAT11 benzeri (LOC116207114)	2,36 kat ↓
Proteinaz inhibitörü benzeri (LOC116206697)	13,27 kat ↓
Soğuk ve kuraklık düzenleyici protein CORA benzeri (LOC116214825)	13,42 kat ↓
GDP-mannoz 3%2C5- epimeraz 2 benzeri%2C transkript varyantı X1 (LOC116194366)	14,98 kat ↓
Ağır metal ilişkili izoprenillenmiş bitki proteini 7 benzeri (LOC116208218)	14,16 kat ↓
GDSL esretaz/lipaz EXL3 benzeri (LOC116200770)	14,58 kat ↓
MLP benzeri protein 328 (LOC116202054)	14,48 kat ↓
Aldehit dehidrojenaz ailesi 3 üyesi F1 benzeri (LOC116200511)	14, 10 kat ↓
H-20. Gün, 1. ve 2. Uygulama grubu (Şekil 19 ifade artışı/azalışı)	
Muhtemel mannitol dehidrogenaz (LOC116210572)	3,5 kat ↑
Yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (LOC116206805)	5,9 kat ↑

Tablo 6. (devamı)

Spesifik olmayan lipid transfer proteini 1 benzeri (LOC116200065)	2,8 kat ↑
Düşük sıcaklık kaynaklı 65 kda protein benzeri %2C transkript varyantı X2 (LOC116204688)	2,78 kat ↑
Muhtemel protein fosfataz 2C proteinleri (LOC116212359)	2,5 kat ↑
Muhtemel protein fosfataz 2C proteinleri (LOC116212458)	3,74 kat ↓
Muhtemel ksiloglukan endotransglukozilaz /hidrolaz proteini 30 (LOC116192574)	7,95 kat ↓
Vejetatif hücre duvarı proteini gp1 benzeri (LOC116209516)	6,5 kat ↓
Aquaporin TIP1-1 (LOC116206760)	6 kat ↓
Protein GAST1 (LOC116187236)	5,72 kat ↓
Glukan endo-1%2C3-beta-glukozidaz 10 benzeri%2C transkript varyantı X2 (LOC116192642)	5,3 kat ↓

H-1. Uygulama, 10. Gün ve *20. Gün (Şekil 20 ifade artışı/azalışı)

Muhtemel mannitol dehidrogenaz (LOC116210572)	2,05 kat ↑
*Monotiol glutaredoksin-S4 benzeri (LOC116190129)	4,4 kat ↑
Holotricin-3 benzeri (LOC116213226)	9,54 kat ↑
Holotricin-3 benzeri (LOC116214822)	5,14 kat ↑
Poligalakturonaz QRT2 benzeri (LOC116187168)	4,8 kat ↑
rRNA 2'-O-metiltransferaz fibrillar benzeri (LOC116203102)	2,79 kat ↑
Spesifik olmayan lipid transfer proteini 1 benzeri (LOC116200065)	2,34 kat ↑

Tablo 6. (devamı)

*MLP benzeri protein 328 (LOC116210010)	3,24 kat ↑
Organ spesifik protein S2 benzeri (LOC116202416)	6,48 kat ↓
Asit fosfataz 1 benzeri (LOC116198589)	4,57 kat ↓
Şikimat O- hidroksisinnamoiltransferaz benzeri%2C transkript varyantı X2 (LOC116200013)	4,5 kat ↓
Demir indirgeme oksidaz %72C kloroplastik benzeri (LOC116197341)	4,36 kat ↓
Skopoletin glukoziltransferaz benzeri (LOC116206251)	4,18 kat ↓
*Muhtemel F-kutusu/LRR tekrar proteini At5g02930%2C transkript varyantı X10 (LOC116195349)	4,64 kat ↓
*G tipi lektin S reseptör benzeri serin/treonin protein kinaz SD1-1%2C (LOC116203190)	2,9 kat ↓
*Benzoat karboksil metiltransferaz benzeri%2C transkript varyantı X3 (LOC116189449)	2,21 kat ↓

H-2. Uygulama, 10. Gün ve *20. Gün (Şekil 21 ifade artışı) (Şekil 22 ifade azalışı)

Şaperon protein dnaj 11%2C kloroplastik benzeri (LOC116210369)	12,19 kat ↑
Patogenezle ilişkili protein PR-1 tipi benzeri (LOC116203042)	12,14 kat ↑
Yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (LOC116206805)	11,66 kat ↑
Muhtemel LRR reseptör benzeri serin/treonin protein kinaz At3g47570 (LOC116208150)	11,03 kat ↑
UDP-glukoziltransferaz 29 benzeri (LOC116187019)	11,22 kat↑
GDP-mannoz 3%2C5- epimeraz 2 benzeri%2C transkript varyantı X1 (LOC116194366)	15,25 kat ↓

Tablo 6. (devamı)

Tekrarlayan prolince zengin hücre duvarı proteini 2 benzeri (LOC116205978)	14,92 kat ↓
MLP benzeri protein 328 (LOC116202054)	14,67 kat ↓
GDSL esretaz/lipaz EXL3 benzeri (LOC116200770)	14,45 kat ↓
Expansin-A8-benzeri (LOC116187978)	14,4 kat ↓
*ATP sentaz gama zinciri%2C kloroplastik benzeri (LOC116214808)	10,24 kat ↑
*Yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (LOC116206805)	5,18 kat ↑
*Muhtemel inorganik fosfat taşıyıcı 1-9%2C transkript varyantı X4 (LOC116192099)	3,6 kat ↑
*Düşük sıcaklık kaynaklı 65 kDa protein benzeri %2C transkript varyantı X2 (LOC116204688)	2,95 kat ↑
*Beta-amyrin 28-monooksijenaz benzeri (LOC116202693)	2,77 kat ↑
*Protein detoksifikasyonu 16-benzeri%2C transkript varyantı X1 (LOC116187683)	2,08 kat ↑
*Kalmodulin bağlayıcı reseptör benzeri sitoplazmik kinaz 1%2C transkripti (LOC116211558)	4,68 kat ↓
*Muhtemel ksiloglukan endotransglukozilaz /hidrolaz proteini 30 (LOC116192574)	7,83 kat ↓
*Vejetatif hücre duvarı proteini gp1 benzeri (LOC116209516)	5,81 kat ↓
*Aquaporin TIP1-1 (LOC116206760)	5,78 kat ↓
*Protein GAST1 (LOC116187236)	5,34 kat ↓

SONUÇ

Belirli bir organizmanın “transkriptomik profili” belirli koşullar altında ifade edilen RNA molekülleri kümesidir. Biyolojik sürece, gelişim aşamasına ve çevreye göre değişir. Belirli hücresel durumlarda gen transkripsiyonunu ve ekspresyonunu ölçmek için farklı araçlar geliştirilmiştir.

Bu çalışmada, Wonderful ve Hicaznar olmak üzere iki farklı nar çeşidinde kuraklık stresine karşı gelişen moleküler yanıtların belirlenmesi amacıyla yeni nesil dizileme temelli transkriptom analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan karşılaştırmalı analizler sayesinde, her iki nar çeşidinin kuraklık stresine verdiği yanıt detaylı bir şekilde ortaya konulmuştur. Elde edilen bulgular, narın kuraklığa tolerans mekanizmalarının aydınlatılması açısından önemli veriler sunmakla birlikte, ilerleyen süreçlerde kuraklık stresine dayanıklı nar çeşitlerinin geliştirilmesine yönelik ıslah çalışmalarına da katkı sağlayabilecek nitelikte bulunmuştur.

Farklı stres şiddetlerinde ekspresyon artışı gösteren ortak genlerin belirlenmesi, bitkide temel kuraklık yanıt mekanizmalarının anlaşılması açısından kritik öneme sahiptir ve bu genlerin bitkide su stresi toleransını artıran pozitif regülatörler olarak işlev görebileceği düşünülmektedir.

Çalışmada, Wonderful ve Hicaznar çeşitlerinde T1 ve T2 uygulamaları için proline zengin protein benzeri bir gen (36.4 kDa proline-rich protein-like, LOC116188420), holotrisin benzeri bir antifungal olarak bilinen gen (holotricin-3-like, LOC116214822), hücre duvarı proteini geni (putative cell wall protein, LOC116205182), mannitol dehidrogenaz geni (probable mannitol dehydrogenase, LOC116210572) ve yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri bir genin (senescence-specific cysteine protease SAG12-like, LOC116206805) ortak olarak ifade edildikleri belirlenmiştir.

Prolin açısından zengin proteinler (PRP'ler), genellikle hibrit PRP'ler (HyPRP'ler) veya yapısal glikoproteinler olarak sınıflandırılan hücre duvarının yapısal bileşenleridir. Bunlar, gelişimde ve çevresel stres tepkilerinde kritik roller oynarlar. Hücre duvarı organizasyonunun ayrılmaz bir parçasıdır ve kuraklığa, tuzluluğa ve patojen saldırılarına karşı dirençte yardımcı olurlar (Su vd 2024; Lin vd 2024).

Holotricin-3 benzeri proteinler antifungal proteinlerdir (AFP). *Candida albicans*'a karşı fungisidal aktiviteye sahip olup sırasıyla 84 ve 78 amino asit kalıntısından oluşan ve glisin ve

histidin açısından zengin proteinlerdir (Lee vd 1996). “Holotricin-3-like” yapısı Protein Veri Bankası'ndan (PDB) elde edilen rekombinant bir protein olarak tanımlanmaktadır (Daman ve Sharma 2022).

Hücre duvarı metabolizması, bitkilerin çevresel streslere verdiği tepkinin en önemli yönlerinden biridir ve çeşitli hücre duvarı modifiye edici proteinler tarafından düzenlenir. Bu proteinler, hücre duvarı yapısını ve özelliklerini düzenlemede, bu tür streslere uyum sırasında hücre büyümesinde ve genişlemesinde değişikliklere neden olmada önemli roller oynar. Selüloz mikrofibrilleri ve hemiselülozlar arasındaki etkileşimler, hücre duvarı esnekliğini destekleyen üç enzim grubu tarafından düzenlenir: ekspansinler (EXP'ler), ksiloglukan endo- β -transglukozilaz/hidrolazlar (XET'ler/XTH'ler) ve endo-1,4- β -glukanazlar (EGazlar) (Sasidharan vd. 2011; Ganie ve Ahammed 2021). Pektinler, pektinmetilesteraz (PME), pektat liyaz (PL) ve poligalakturonaz (PG) gibi bir grup hücre duvarı modifiye edici enzim tarafından pektin sertliğini, hücre genişlemesini ve büyümesini düzenlemek için etkilenir (Bray 2004; Ganie ve Ahammed 2021).

Mannitol dehidrogenaz (MTD), mannitolü mannoza oksitleyen ve mannitol katabolizması, şeker metabolizması düzenlemesi ve bitkilerin patojenlere karşı savunma mekanizmalarında önemli rol oynayan hayati bir bitki enzimidir. Bitkilerdeki mannitol dehidrogenaz (MTD) proteinleri, mannitolün mannoza tersinir oksidasyonunu katalize eden ve metabolizma, tuz toleransı ve stres tepkilerinde önemli roller oynayan temel enzimlerdir. Yamamoto vd 1997). MTD, tüm bitkilerin heterotrofik (alıcı) dokularında ve hücre süspansiyon kültürlerinde, substratı mannitolün varlığında yüksek düzeyde ifade edilir. Ancak, şekerlerin ve/veya NaCl'nin varlığında MTD ifadesi baskılanır. Şekerden yoksun alıcı dokularda MTD ifadesinin baskılanmasının ortadan kalkması, mannitolün merkezi metabolizmada daha fazla kullanılmasını sağlar. Tersine, NaCl'ye yanıt olarak MTD ifadesinin negatif düzenlenmesi, daha yüksek mannitol konsantrasyonlarına yol açar ve tuz toleransına katkıda bulunabilir (Williamsom vd 1995).

Yaşlanma ile ilişkili gen-12 (SAG12), *Arabidopsis thaliana*'nın yaprak ve köklerindeki kloroplast proteinlerinin parçalanmasında rol oynayan bir sistein proteazı kodlayan bir gendir. Sistein proteazlarının aktivitesi hem yaprakların hem de taç yapraklarının yaşlanması sırasında tipik olarak artış gösterir (Shi vd 2025).

Kuraklık toleransı seviyesi, bitkinin genetik yapısına ve gen ekspresyonunun ve metabolizmanın yeniden programlanmasının ne kadar hızlı gerçekleştiğine bağlıdır. Stomatal kapanma yoluyla terlemenin azaltılması, hücre büyümesinin ve fotosentezin baskılanması, ozmolitlerin ve geç embriyogenezde bol bulunan (LEA) proteinlerin, patogenezele ilgili (PR)

proteinlerin ve bazı proteazların birikmesine neden olan transkripsiyon faktörlerinin yukarı düzenlenmesi, su eksikliğine yanıt olarak ortaya çıkan ve muhtemelen büyüme, gelişme ve hayatta kalma arasında bir denge sağlayan en iyi karakterize edilmiş bitki savunmaları arasındadır (Shinozaki & Yamaguchi-Shinozaki 2007; Macarisin vd 2009).

Çalışmada, Wonderful çeşidi için T1 ve T2 uygulamalarında onuncu günde DREB1A (LOC116202526 ve LOC116211172), proline zengin protein benzeri (36,4 kDa proline-rich protein-like, LOC116188420), etilene duyarlı transkripsiyon faktörü (ethylene responsive transcription factor ERF017, LOC116194146) genlerinde ifade artışları olurken; flavonoid 3-monooksijenaz (flavonoid 3-monooxygenase CYP75B137-like, LOC116196660) ve Riboflavin biyosentez proteini pyrR (riboflavin biosynthesis protein pyrR, LOC116214841) genlerinde T1 uygulamasında ifade azalışları olmuştur. Wonderful çeşidi için T1 ve T2 uygulamalarında yirminci günde ise inositol-3-fosfat sentaz (MIPS) (LOC116206579), spesifik olmayan lipid transfer proteinleri (non-spesific lipid transfer proteins=nsLTP, LOC116200065) ve NAC transkripsiyon faktörü (NAC domain containing protein 21/22-like, LOC116198601) genlerinde ifade artışları olurken, WRKY70 benzeri transkripsiyon faktör (LOC116193053) geninin ifadesi T1 uygulamasında düşük kalmış ve T2 uygulamasında yaklaşık 5,9 kat azalış göstermiştir.

Hicaznar çeşidi için onuncu günde T1 uygulamasında en fazla erken nodulin-75 benzeri (early nodulin-75-like, LOC116208653 ve LOC116208779), poligalakturonaz QRT2 benzeri (polygalacturonase QRT2-like, LOC116187168), kalkon--flavonon izomeraz benzeri (chalcone--flavonone isomerase-like, LOC116187298) ve flavonoid 3'-monooksijenaz (flavonoid 3'-monooxygenase CYP75B137-like, LOC11696660) genlerinin ifadesinde artış olurken T2 uygulamasında ise en fazla yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (senescence-specific cysteine protease SAG12-like, LOC116207224), yağ açıl-CoA redüktaz 2 benzeri (fatty acyl-CoA reductase 2-like, LOC116194610), beta-amyrin 28-monooksijenaz (beta-amyrin 28-monooxygenase, LOC116188701), şaperon protein dnaJ (chaperone protein dnaJ 11%2C chloroplastic-like, LOC116210369) ve patogenezele ilişkili protein PR-1 tipi benzeri (pathogenesis-related protein PR-1 type-like, LOC116203042) genlerinin ifadesinde artış olmuştur. Hicaznar çeşidi için yirminci günde ise T1 ve T2 uygulamalarında 8-hydroxygeraniol dehydrogenase-like (LOC116189090), probable mannitol dehydrogenase (LOC116210572), senescence-specific cysteine protease SAG12-like (LOC116206805) ve non-specific lipid-transfer protein 1-like (LOC116200065) genlerinin ifadesinde artış olmuştur. Bununla birlikte, Hicaznar çeşidi için onuncu günde T1 uygulamasında organ spesifik protein S2 benzeri (organ-specific protein S2-like, LOC116202416), DREB1A (dehydration-

responsive element-binding protein 1A-like, LOC116211172), spesifik olmayan lipid transfer protein 1 benzeri (non-specific lipid-transfer protein 1-like, LOC116207087) ve şikimat O-hidroksisinnamoiltransferaz benzeri (shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase-like%2C transcript variant X2, LOC116200013) genlerinin ifadesinde azalış olurken T2 uygulamasında ise GDP-mannoz 3%2C5-epimeraz 2 benzeri (GDP-mannose 3%2C5-epimerase 2-like%2C transcript variant X1, LOC116194366), GDSL esteraz/lipaz EXL3 benzeri (GDSL esterase/lipase EXL3-like, LOC116200770), MLP benzeri protein 328 (MLP-like protein 328, LOC116202054), ağır metal ilişkili izoprenillenmiş bitki protein 7 benzeri (heavy metal-associated isoprenylated plant protein 7-like, LOC116208218) ve aldehit dehidrojenaz ailesi 3 üyesi F1 benzeri (aldehyde dehydrogenase family 3 member F1-like, LOC116201511) genlerinin ifadesinde azalış olmuştur. Hicaznar çeşidi için yirminci günde T1 ve T2 uygulamalarında hidroksigeraniol dehidrojenaz benzeri (8-hydroxygeraniol dehydrogenase-like, LOC116189090), muhtemel mannitol dehidrojenaz (probable mannitol dehydrogenase, LOC116210572), yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (senescence-specific cysteine protease SAG12-like, LOC116206805) ve spesifik olmayan lipid transfer protein 1 benzeri (non-specific lipid-transfer protein 1-like, LOC116200065) genlerinin ifadesinde ortak artış olmuştur. Hicaznar çeşidi için yirminci günde T2 uygulamasında yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri (senescence-specific cysteine protease SAG12-like, LOC116206805), spesifik olmayan lipid transfer protein 1 benzeri (non-specific lipid-transfer protein 1-like, LOC116200065), düşük sıcaklık kaynaklı 65 kDa protein benzeri (low-temperature-induced 65 kDa protein-like%2C transcript variant X2, LOC116204688) ve muhtemel protein fosfataz 2C (probable protein phosphatase 2C, LOC116212359) genlerinin ifadesinde artış olmuştur. Bununla birlikte, muhtemel ksiloglukan endotransglukozilaz/hidrolaz proteini 30 (probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 30, LOC116192574), vejetatif hücre duvarı proteini gp1 benzeri (vegetative cell wall protein gp1-like, LOC116209516), aquaporin TIP1-1 (LOC116206760), protein GAST1 (LOC116187236) ve gluklan endo-1%2C3-beta-glukozidaz 10 benzeri (glucan endo-1%2C3-beta-glucosidase 10-like%2C transcript variant X2, LOC116192642) genlerinin ifadesinde azalma olduğu görülmüştür.

Bu çalışmanın bir sonucu olarak, Wonderful çeşidi için kuraklık stresi koşullarında ortaya çıkan ve ifade artışı gösteren ve ifade azalışı gösteren gen bilgilerine yönelik literatür destekli belirlenen bazı açıklamalar aşağıda özetlenmiştir:

- 1) Dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı faktör 1A (Dehydration-responsive element-binding factor 1A=DREB1A) (LOC116202526 ve LOC116211172) geninin orta düzey kuraklık stresi koşullarında (T1) hızlı ve erken yanıt veren bir

düzenleyici olarak işlev gördüğü ve kuraklık stresine karşı adaptif yanıtın düzenlenmesinde rol üstlendiği sonucuna ulaşılmıştır. Diğer taraftan, DREB1A gen ailesine ait farklı üyelerin kuraklık stresine yanıtının değişkenlik gösterdiği ve bazı genlerin şiddetli kuraklık koşullarında (T2) aktif rol alarak bitkinin stres toleransını desteklediğini göstermiştir.

- 2) Etilene duyarlı transkripsiyon faktörü (Ethylene responsive transcription factor=ERF017) (LOC116194146) geninin özellikle orta şiddetteki kuraklık stresi koşulunda (T1) ifadesindeki artış nar bitkisinde kuraklık stresine karşı adaptif yanıtın düzenlenmesinde önemli bir transkripsiyon faktörü olarak görev yaptığını ortaya koymaktadır. ERF-like ((LOC116193068) gen ifadesi de T1 uygulaması için benzer sonuç gösterdiği belirlenmiştir.
- 3) Nar bitkisinde WRKY DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü 70 benzeri (WRKY70-like) (LOC116193053) geninin baskılanması (hem T1 hem de T2 uygulamasında), kuraklık stresine karşı diğer savunma ve antioksidan sistemler veya ozmotik düzenleme yolları gibi adaptasyon mekanizmalarının daha etkin hale gelmesine olanak tanıyan bir düzenleme stratejisi olarak değerlendirilebilir. Dolayısıyla, bu genin nar bitkisinde kuraklık yanıtında tür-spesifik ve koşula bağlı bir rol üstlendiği anlaşılmaktadır.
- 4) NAC alanı içeren protein 21/22 benzeri (NAC domain containing protein 21/22-like, LOC116198601) isimli genin, nar bitkisi için stres koşullarında adaptif yanıtta rol üstlendiği düşüncesi ortaya çıkmıştır (T1 de düşük düzeyde ifade artışı ve T2 de ise önemli düzeyde ifade artışı).
- 5) 36,4 kDa prolince zengin protein benzeri (36,4 kDa proline-rich protein-like, LOC116188420) geninin kuraklık yanıt mekanizmalarını aktive ettiği ve hem orta (T1) hem de şiddetli (T2) kuraklık koşullarında bitkinin adaptif yanıtlarını destekleyici bir gen olduğu sonucuna ulaşılmıştır.
- 6) Flavonoid 3-monooksijenaz (CYP75B137) (Flavonoid 3-monooxygenase, LOC116196660) gen bilgisine dayanarak (T1'de önemli düzeyde artış), nar bitkisinde flavonoid biyosentez yolunun kuraklık koşullarında baskılanması durumu, bitkinin sınırlı enerji kaynaklarını daha kritik yaşamsal süreçlere yönlendirdiğini veya alternatif savunma mekanizmalarını devreye soktuğu sonucuna varılmıştır.
- 7) İnositol-3-fosfat sentaz (MIPS) (Inositol-3-fosfat sentaz, LOC116206579) geninin hem orta (T1) hem de şiddetli (T2) kuraklık koşullarında artan ekspresyon göstermesi, nar bitkisinde MIPS genlerinin (miyo-inozitol ve türevleri) kuraklık

toleransında merkezi ve sürdürülebilir bir rol oynadığını ve diğer bazı metabolik yolların aksine (örneğin flavonoid biyosentezi) baskılanmak yerine aktive edildiğini ortaya koymaktadır.

- 8) Spesifik olmayan lipid transfer proteinleri (Non-specific lipid transfer protein=nsLTP) (LOC116200065) nar bitkisinde hücre zarının korunması, lipid kompozisyonunun düzenlenmesi ve su kaybının azaltılması gibi mekanizmalar üzerinden kuraklık toleransına katkı sağladığı düşünülmektedir. Özellikle T2 koşullarındaki yüksek ekspresyon, nsLTP'lerin nar bitkisinde şiddetli kuraklığa karşı kritik bir savunma bileşeni olarak işlev gördüğünü ortaya koymaktadır.
- 9) Fasciclin benzeri arabinogalaktan geninin (Fasciclin-like arabinogalaktan=FLA) (LOC116198653) nar bitkisinde T2 koşullarında onuncu günde erken dönemde artış göstermesi, şiddetli kuraklık altında hücre yapının korunmasına katkı sağladığını düşündürmüştür. Daha sonraki dönemde bu genin ifadesindeki hafif azalışın ise, stres yanıtının zamanla yeniden düzenlendiğine işaret etmektedir.
- 10) Dehidrin RAB18 benzeri (LOC116211880) isimli genin nar bitkisinde yirminci günde belirgin şekilde artış göstermesi, uzun süreli su kısıtında hücre zarlarının stabilizasyonu ve su kaybının sınırlandırılması gibi koruyucu mekanizmaların devreye girdiğini düşündürmektedir.
- 11) Soğuk ve kuraklık düzenleyici protein CORA benzeri proteinlerin (Cold and drought regulated protein CORA-like, LOC116214825) nar bitkisinde yirminci günde yüksek düzeyde artış göstermesi hücre zarının korunması, su dengesinin sürdürülmesi ve oksidatif stresin azaltılması gibi mekanizmaların devreye girdiğini düşündürmektedir. Buna karşılık, erken dönemde daha düşük ekspresyon gözlenmesi ise bu genin daha çok stresin ilerleyen safhalarında aktifleşen bir yanıt mekanizmasının parçası olduğunu göstermektedir.
- 12) GDSL esterase/lipaz LTL1 benzeri proteinini kodlayan genin (GDSL esterase/lipase LTL1-like, LOC116193525) ifadesinde belirgin azalışların tespiti, bu genin nar bitkisinde şiddetli kuraklık koşullarında lipid metabolizması ve hücre duvarı modifikasyon süreçlerini baskılandığı düşüncesini ortaya çıkarmıştır.
- 13) Hücre duvarı protein (Cell-wall protein=CWP) (LOC116205182) olarak bilinen geninin hem T1 hem de T2 uygulamalarında gözlenen önemli düzeydeki ifade azalışları kuraklık stresi altında hücre duvarı ile ilişkili yeniden düzenleme süreçlerinin baskılandığını göstermektedir. Bu durum, nar bitkisinde özellikle şiddetli ve uzun süreli kuraklık koşullarında büyüme ve hücre duvarı dinamiklerine ayrılan kaynakların sınırlandığını düşündürmektedir. Hücre duvarı proteinlerinin

ekspresyonundaki azalış, bitkinin enerji ve metabolik kaynaklarını daha kritik stres yanıt mekanizmalarına yönlendirdiğine işaret edebilir. Aynı zamanda bu bulgu, hücre duvarı modifikasyon süreçlerinin kuraklık koşullarında yavaşladığını ve bitkinin yapısal değişimden ziyade hayatta kalmaya yönelik stratejilere öncelik verdiğini göstermektedir.

Diğer taraftan, bu çalışmanın bir sonucu olarak, Hicaznar çeşidi için kuraklık stresi koşullarında ortaya çıkan ve ifade artışı gösteren ve ifade azalışı gösteren gen bilgilerine yönelik literatür destekli belirlenen bazı açıklamalar aşağıda özetlenmiştir:

- 1) Poligalakturonaz QRT2 benzeri genin (Polygalacturonase QRT2-like, LOC116187168) nar bitkisinde T1 uygulaması için gözlenen ifade seviyesindeki artışı, bitkinin strese karşı ilk tepkisi olabileceği ve programlanmış hücre ölümüne yönlendirerek bitkiyi enerji tasarrufuna olanak sağlama ihtimali ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Stres uygulaması sonrasında poligalakturonaz gen ifadesindeki artışın, pektin içeriğini azaltarak suya ulaşmayı kolaylaştırmak amacıyla gerçekleşmiş olabileceği de düşünülmektedir.
- 2) Benzer şekilde, holotricin-3-benzeri (holotricin-3-like, LOC116214822) genin nar bitkisinde gözlenen ifade seviyesindeki artışının (T1 uygulamasında) bitkinin strese karşı ilk tepkisi olabileceği ve programlanmış hücre ölümüne yönlendirerek bitkiyi enerji tasarrufuna olanak sağlama ihtimali ile ilgili olduğu düşünülmektedir.
- 3) Erken nodulin-75 benzeri genlerinde (Early nodulin-75-like, LOC116208653 ve LOC116208779) özellikle T1 uygulaması (orta şiddette kuraklık stresi) için ifade artışı gözlenmiştir. Besin, amino asit ve fitohormon taşınımı ile gelişimsel düzenleme süreçlerine katkı sağladığı literatür kaynaklarda ifade edilen nodulin (ENOD) genlerinin kuraklık stres koşullarında ifadesindeki artışın bitkinin adaptasyonunun artırılmasına olanak sağlama potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.
- 4) GDP-mannoz (GDP-mannose 3%2C5-epimerase 2-like%2C transcript variant X1, LOC116194366) geninin ifadesinde görülen azalışın bitkinin stres anında şeker metabolizmasında yaptığı düzenlemelerle ve enerji tasarrufu ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.
- 5) Ağır metal ile ilişkili izoprenillenmiş bitki proteinlerinin (heavy metal-associated isoprenylated plant protein 7-like, LOC116208218) ifadesindeki azalışın bitkinin öncelikle diğer stres yanıt mekanizmalarını çalıştırması ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

- 6) Mannitol dehidrogenaz (MTD) (probable mannitol dehydrogenase, LOC116210572) geninin ifadesinde her iki zaman periyodunda görülen artışın bitkinin strese yanıt olarak şeker metabolizmasında yapmış olduğu düzenlemelerle ilişkili olduğu düşünülmektedir.
- 7) Yaşlanmaya özgü sistein proteaz SAG12 benzeri genin (Senescence-specific cysteine protease SAG12-like, LOC116207224) nar bitkisinde gözlenen gen ifadesi artışının, bitkinin strese karşı ilk tepkisi olabileceği ve programlanmış hücre ölümüne yönlendirerek bitkiyi enerji tasarrufuna olanak sağlama ihtimali ile ilgili olduğu düşünülmektedir.
- 8) Mevcut çalışmada ifadesi yüksek oranda artış gösteren DnaJ geninin bitkinin kuralık stresine yanıtta protein stabilitesini korumak amacıyla ifade seviyesinin artmış olma potansiyelinin yüksek olduğu düşünülmektedir (Chaperone protein dnaJ 11%2C chloroplastic-like, LOC116210369).

Bu çalışmanın temel çıktılarından birisi kuraklık stresine karşı tolerans sağlayabilecek aday genlerin belirlenmesi ve bunların biyolojik işlevleri hakkında bilgi edinilmesidir. Özellikle su stresi ile ilişkili sinyal iletim yollarlarında görev alan genlerin tespiti, genetik mühendislik yaklaşımları veya klasik bitki ıslahı yöntemleriyle dayanıklı bitki çeşitlerinin geliştirilmesi açısından önemli bir temel teşkil etmektedir. Çalışmamızda elde edilen transkriptomik veri setleri, ilerleyen aşamalarda gen fonksiyonlarının aydınlatılması ve kuraklığa tolerans sağlayan genetik faktörlerin detaylı olarak incelenmesi için ileri düzey biyoinformatik analizler ve fonksiyonel validasyon (Q-PCR) çalışmaları ile desteklenmelidir.

Sonuç olarak, bu araştırmada kullanılan yeni nesil dizileme tabanlı transkriptomik analizler, kuraklık stresine yanıt olarak nar bitkisinde gen ekspresyon düzeyinde meydana gelen değişimlerin kapsamlı bir şekilde ortaya konulmasına olanak sağlamış ve Wonderful ve Hicaznar çeşitleri arasında stres yanıtında meydana gelen farklılıkların belirlenmesine katkı sunmuştur. Bu çalışma, nar gibi ekonomik öneme sahip bitkilerde kuraklık stresine dayanıklılık mekanizmalarının anlaşılması ve gelecekte sürdürülebilir tarım uygulamalarına katkı sağlayacak ıslah programlarının geliştirilmesi açısından önemli bir bilimsel altyapı oluşturmaktadır. Elde edilen veriler, yalnızca incelenen tür için değil, aynı zamanda yakın filogenetik ilişkiye sahip türler için de yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdel-Sattar, M., Al-Obeed, R. S., Aboukarima, A. M., Górník, K., & Eshra, D. H. (2023). Improvement of the physico-chemical properties, nutritional, and antioxidant compounds of pomegranate fruit cv. 'Wonderful' using integrated fertilization. *Horticulturae*, 9(2), 195. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020195>
- Abe, H., Yamaguchi-Shinozaki, K., Urao, T., Iwasaki, T., Hosokawa, D., & Shinozaki, K. (1997). Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell*, 9(10), 1859-1868. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.10.1859>
- Adiba, A., Razouka, R., Charafi, J., Haddioui, A., & Hamdani, A. (2021). Assessment of water stress tolerance in eleven pomegranate cultivars based on agronomic traits. *Agricultural Water Management*, 243, 106419.
- Akhtar, M., Jaiswal, A., Taj, G., Jaiswal, J. P., Qureshi, M. I., & Singh, N. K. (2012). Review: DREB1/CBF transcription factors: Their structure, function and role in abiotic stress tolerance in plants. *J. Genet.*, 91(3), 385-395. <https://doi.org/10.1007/s12041-012-0201-3>
- Ali, M. A., & Lee, J. (2022). Transcriptome profiling, progress and prospects [Kitap bölümü veya kitap tanımı]. Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/book/9780323918107/transcriptome-profiling#book-info>
- Alzahrani, F. O. (2023). Genome-wide analysis and expression profiling of Trehalose-6-Phosphate Phosphatase (TPP) in *Punica granatum* in response to abscisic-acid-mediated drought stress. *Plants*, 12(17), 3076. <https://doi.org/10.3390/plants12173076>
- Arslan, E. (2018). Kuraklık stresi ve humik asitin ekmeçlik buğdayda (*Triticum aestivum* L.) bazı genlerin mRNA ifade seviyeleri ve DNA konformasyon değişimlerine etkisi [Yayımlanmamış doktora tezi]. Atatürk Üniversitesi.
- Aseri, G. K., Jain, N., Panwar, J., Rao, A. V., & Meghwal, P. R. (2008). Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. *Sci. Hort.*, 117(2), 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.03.014>
- Badawi, M., Danyluk, J., Boucho, B., Houde, M., & Sarhan, F. (2007). The CBF gene family in hexaploid wheat and its relationship to the phylogenetic complexity of cereal CBFs. *Mol Genet Genomics*, 277(5), 533–554. <https://doi.org/10.1007/s00438-006-0206-9>
- Bakshi, M., & Oelmüller, R. (2014). WRKY transcription factors. *Plant Signal Behav.*, 9(1), e27700. <https://doi.org/10.4161/psb.27700>
- Barr, Z. K., Werner, T., & Tilsner, J. (2023). Heavy metal-associated isoprenylated plant proteins (HIPPs) at plasmodesmata: Exploring the link between localization and function. *Plants*, 12(16), 3015.
- Beerens, K., Gevaert, O., & Desmet, T. (2022). GDP-mannose 3,5-epimerase: A view on structure, mechanism, and industrial potential. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 784142.
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120.

- Bray E. A. (2004) Genes commonly regulated by water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* 55:2331–2341. <https://academic.oup.com/jxb/article/55/407/2331/496055>
- Calzone, A., Crottozzi, L., Pellegrini, E., Lorenzini, G., Nali, C., & Maathuis, F. (2021). Can the transcriptional regulation of NHX1, SOS1 and HKT1 genes handle the response of two pomegranate cultivars to moderate salt stress? Salt-tolerance of two pomegranate cultivars. *Scientia Horticulturae*, 288, 110309.
- Cao, Y., Li, K., Li, Y., Zhao, X., & Wang, L. (2020). Review: MYB transcription factors as regulators of secondary metabolism in plants. *Biology*, 9(3), 61. <https://doi.org/10.3390/biology9030061>
- Cargnello, M., & Roux, P. P. (2011). Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 75(1), 50–83. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-10>
- Carraro, E., & Di Iorio, A. (2022). Eligible strategies of drought response to improve drought resistance in woody crops: A mini review. *Plant Biotechnology Reports*, 16(2), 265–282. <https://doi.org/10.1007/s11816-021-00733-x>
- Cemeroğlu, B. (1982). Meyve suyu üretim teknolojisi. *Teknik Basım*.
- Chen, S., Zhao, H., Luo, T., Liu, Y., Nie, X., & Li, H. (2019). Characteristics and expression pattern of MYC genes in *Triticum aestivum*, *Oryza sativa*, and *Brachypodium distachyon*. *Plants (Basel)*, 8(8), 274. <https://doi.org/10.3390/plants8080274>
- Chen, X., Li, X., Shi, X., Zong, J., & Guo, Y. (2014). Transcriptome sequencing and identification of cold tolerance genes in hardy *Corylus* species (*C. heterophylla* Fisch) floral buds. *PLoS ONE*, 9(9), e108604. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108604>
- Cheruth, A. J., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi Somasundaram, H., & Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol.*, 11(1), 100–105.
- Craig, E. A., Huang, P., Aron, R., & Andrew, A. (2006). The diverse roles of J proteins, the obligate Hsp70 co-chaperone. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 156, 1–21.
- Da Silva, J. A. T., Rana, T. S., Narzary, D., Verma, N., Meshram, D. T., & Ranade, S. A. (2013). Pomegranate biology and biotechnology: A review. *Sci. Hortic.*, 160, 85–107. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.05.017>
- Daman, R., & Sharma, S. (2022). In Silico Characterization, Identification, and Molecular-level Analysis of Holotricin-3: A Dynamic Study. *Orient. J. Chem.*, Vol. 38(3), 671-675. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000823107200017>
- Deshmukh, R., Sonah, H., Patil, G., Chen, W., Prince, S., Mutava, R., ... & Nguyen, H. T. (2014). Integrating omic approaches for abiotic stress tolerance in soybean. *Frontiers in Plant Science*, 5, 244.
- Dinç, N., Aydınşakir, K., Işık, M., Baştuğ, R., Arı, N., Şahin, A., & Büyüktaş, D. (2018). Assessment of different irrigation strategies on yield and quality characteristics of drip irrigated pomegranate under Mediterranean conditions. *Irrig. Sci.*, 36(1), 87–96. <https://doi.org/10.1007/s00271-017-0565-5>
- Durmuşkahya, C. (2008). Yeşil ve teknik: Dünyanın ilk meyvesi Nar. *Bilim ve Teknik*, 41(620), 94–98. Erişim adresi: <https://e-dergi.tubitak.gov.tr/edergi/yazi.pdf?dergiKodu=4&cilt=41&sayi=620&sayfa=94&yaziid=26926>
- Elhiti, M., & Stasolla, C. (2009). Structure and function of homodomain-leucine zipper (HD-Zip) proteins. *Plant Signal Behav.*, 4(2), 86–88. <https://doi.org/10.4161/psb.4.2.7692>

- Ercisli, S., Kafkas, E., Orhan, E., Kafkas, S., Doğan, Y., & Esitken, A. (2011). Genetic characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes by AFLP markers. *Biological Research*, 44(4), 345-350.
- Faraji, S., Hadadinejad, M., Abdossi, V., Basaki, T., & Karami, S. (2020). Screening pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes for drought tolerance using physiological and phytochemical characteristics. *Fruits*, 75(3), 130–140. <https://doi.org/10.17660/th2020/75.3.5>
- Fayek, M. A., Mohamed, A. E., & Rashedy, A. A. (2022). Responses of five pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars to contrasting water availability: Leaf morphophysiological and anatomical adaptation. *Applied Ecology and Environmental Research*, 20(2), 967-978. http://dx.doi.org/10.15666/aeer/2002_967978
- Flora von Deutschland, O. W. T., Schweiz, O. U. D. (1885). [Görsel kaynak] (I. Hmid, D. Elothmani, & H. Hanine (Eds.), Contribution a la valorisation alimentaire du grenadier marocain (*Punica granatum* L.). içinde alıntılanmıştır). Erişim adresi: <https://www.researchgate.net/publication/282185135G>
- Gai, W. X., Ma, X., Qiao, Y. M., Shi, B. H., ul Haq, S., Li, Q. H., Wei, A. M., Liu, K. K., & Gong, Z. H. (2020). Characterization of the bZIP transcription factor family in pepper (*Capsicum annuum* L.): CabZIP25 positively modulates the salt tolerance. *Front. Plant Sci.*, 11, Article 139. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00139>
- Galindo, A., Calín-Sánchez, Á., Griñán, I., Rodríguez, P., Cruz, Z. N., Girón, I. F., Corell, M., Martínez-Font, R., Moriana, A., Carbonell-Barrachina, A. A., Torrecillas, A., & Hernández, F. (2017). Water stress at the end of the pomegranate fruit ripening stage produces earlier harvest and improves fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 226, 68-74.
- Ganie, S.A., Ahammed, G.J., 2021. Dynamics of cell wall structure and related genomic resources for drought tolerance in rice. *Plant Cell Reports* (2021) 40:437–459. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000604188500001>
- GBIF. (2025). Global Biodiversity Information Facility: *Punica granatum* L. [Veritabanı]. Erişim adresi: <https://www.gbif.org/species/5420901> (Erişim tarihi: 02.12.2025)
- Ghanbarpour, E., Rezaei, M., & Lawson, S. (2019). Reduction of cracking in pomegranate fruit after foliar application of humic acid, calcium-boron and kaolin during water stress. *Erwerbs-Obstbau*, 61(1), 29–37.
- Gomez-Bellot, M. J., Parra, A., Nortes, P., Alarcon, J. J., & Ortuno, M. F. (2024). Searching for a deficit irrigation strategy to save water and improve fruit quality without compromising pomegranate production. *Scientia Horticulturae*, 324, 112631.
- Guan, S., Chai, Y., Hao, Q., Ma, Y., Wan, W., Liu, H., & Diao, M. (2023). Transcriptomic and physiological analysis reveals crucial biological pathways associated with low-temperature stress in Tunisian soft-seed pomegranate (*Punica granatum* L.). *Journal of Plant Interactions*, 18(1), 2152887. <https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2152887>
- Guodong, W., Fanying, K., Song, Z., Xia, M., Yong, W., & Qingwei, M. (2015). A tomato chloroplast-targeted DnaJ protein protects Rubisco activity under heat stress. *Journal of Experimental Botany*, 66(11), 3027–3040. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv102>
- Han, Y., Gao, S., Muegge, K., Zhang, W., & Zhou, B. (2015). Advanced applications of RNA sequencing and challenges. *Bioinformatics and Biology Insights*, 9(Suppl. 1), 67-73. <https://doi.org/10.4137/BBI.S28991>
- Hennessy, F., Nicoll, W. S., Zimmermann, R., Cheetham, M. E., & Blatch, G. L. (2005). Not all J domains are created equal: Implications for the specificity of Hsp40–Hsp70 interactions. *Protein Science*, 14, 1697–1709.

- Iakimova, E. T., & Woltering, E. J. (2025). Revealing programmed cell death events during flower (petal) senescence. *Annals of Botany*, mcaf105.
- Jain, S. M., Al-Khayri, J. M., & Johnson, D. V. (Eds.). (2011). *Date palm biotechnology*. Springer Science and Business Media.
- Jamet, E., & Dunand, C. (2020). Plant cell wall proteins and development. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8), 2731. <https://doi.org/10.3390/ijms21082731>
- Jensen, M. K., Kjaersgaard, T., Petersen, K., & Skriver, K. (2010). NAC genes. Time-specific regulators of hormonal signaling in Arabidopsis. *Plant Signal Behav.*, 5(7), 907–910. <https://doi.org/10.4161/psb.5.7.12099>
- Jha, R. K., Patel, J., Patel, M. K., Mishra, A., & Jha, B. (2021). Introgression of a novel cold and drought regulatory-protein encoding CORA-like gene, SbCDR, induced osmotic tolerance in transgenic tobacco. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1170–1188. <https://doi.org/10.1111/ppl.13280>
- Jones, M. L., Chaffin, G. S., Eason, J. R., & Clark, D. G. (2005). Ethylene-sensitivity regulates proteolytic activity and cysteine protease gene expression in petunia corollas. *Journal of Experimental Botany*, 56, 2733–2744. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri266>
- Kalefetoğlu, T., & Ekmekçi, Y. (2005). The effects of drought on plants and tolerance mechanisms (Review). *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18(4), 723–740.
- Kashash, Y., Doron-Faigenboim, A., Bar-Ya'akov, I., Hatib, K., Beja, R., Trainin, T., Holland, D., & Porat, R. (2019). Diversity among pomegranate varieties in chilling tolerance and transcriptome responses to cold storage. *J. Agric. Food Chem.*, 67(3), 760–771.
- Kaur, G., & Asthir, B. (2017). Molecular responses to drought stress in plants. *Biologia Plantarum*, 61(2), 201–209.
- Kong, L., Song, Q., Wei, H., Wang, Y., Lin, M., Sun, K., Zhang, Y., Yang, J., Li, C., & Luo, K. (2023). The AP2/ERF transcription factor PtoERF15 confers drought tolerance via JA-mediated signaling in *Populus*. *New Phytologist*, 240, 1848–1867. <https://doi.org/10.1111/nph.19251>
- Kumar, M., Yusuf, M. A., Yadav, P., Narayan, S., & Kumar, M. (2019). Overexpression of chickpea defensin gene confers tolerance to water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*, 10, 290. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00290>
- Lansky, E. P. (2000). Pomegranate supplements prepared from pomegranate material including pomegranate seeds. US Patent 6,060,063.
- Larcher, W. (1995). *Physiological plant ecology: Ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer.
- Lee, S.Y., Lee, Y.U., Lee, B.L., 1996. Purification and Characterization of a Holotricin 1 Homologues from *Holotrichia diomphalia* Larvae. *Molecules and Cells*, 6(1): 86-90. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1016847823109745?via%3Dihub>
- Lei, L., Zheng, H., Bi, Y., Yang, L., Liu, H., Wang, J., ... & Li, J. (2020). Identification of a major QTL and candidate gene analysis of salt tolerance at the bud burst stage in rice (*Oryza sativa* L.) using QTL-Seq and RNA-Seq. *Rice*, 13(1), 1–14.
- Li, Q. H., Yu, X. T., Chen, L., Zhao, G., Li, S. Z., Zhou, H., Dai, Y., Sun, N., Xie, Y. F., Gao, J. S., Li, D. H., & Sun, X. (2021). Genome-wide identification and expression analysis of the NCED family in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plos One*, 16(2), e0246021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246021>

- Li, T., Huang, Y., Khadr, A., Wang, Y.-H., Xu, Z.-S., & Xiong, A.-S. (2020). DcDREB1A enhances drought tolerance and modulates lignin levels. *Environmental and Experimental Botany*, 169, 103896.
- Lin Y.J., Yao, B.T., Zhang, Q., Feng, Y.X., Xiang, L., 2024. Biochemical insights into proline metabolism and its contribution to the enduring cell wall structure under metal stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 282(1):116725. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116725>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Lüleyap, H. Ü. (2008). Moleküler genetiğin esasları. Nobel Kitabevi.
- Macarisin, D., Wisniewski, M.E., Bassett, C., Thannhauser, T.W., 2009. Proteomic analysis of b-aminobutyric acid priming and abscisic acid – induction of drought resistance in crabapple (*Malus pumila*): effect on general metabolism, the phenylpropanoid pathway and cell wall enzymes. *Plant, Cell and Environment*, 32, 1612–1631. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-3040.2009.02025.x?getft_integrator=clarivate&utm_source=clarivate
- Majeed, Y., Zhu, X., Zhang, N., Rasheed, A., Tahir, M. M., & Si, H. (2022). Functional analysis of mitogen activated protein kinases (MAPKs) in potato under biotic and abiotic stress. *Molecular Breeding*, 42, 31.
- Martin, J. A., & Wang, Z. (2011). Next-generation transcriptome assembly. *Nature Reviews Genetics*, 12(10), 671–682. <https://doi.org/10.1038/nrg3068>
- McLaughlin, J. E., & Tumer, N. E. (2025). Roles of non-specific lipid transfer proteins in plant defense: Structural and functional perspectives. *Frontiers in Fungal Biology*, 6, 1640465.
- Michelmore, R. W., Paran, I., & Kesseli, R. V. (1991). Genetics Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations (random amplified polymorphic DNA/restriction fragment length polymorphism). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88(21), 9828-9832.
- Morgil, H. (2019). Kuraklık stresi uygulanmış mercimek (*Lens culinaris* Medik.) bitkisinin RNA dizileme yöntemi ile transkripsiyonel analizi [Yayımlanmamış doktora tezi]. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Mortazavi, A., Williams, B. A., McCue, K., Schaeffer, L., & Wold, B. (2008). Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nat Methods*, 5(7), 621-628.
- Müller, M., & Munné-Bosch, S. (2015). Ethylene response factors: A key regulatory hub in hormone and stress signaling. *Plant Physiology*, 169(1), 32–41. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00677>
- Nagayama, T., Tatsumi, A., Nakamura, A., Yamaji, N., Satoh, S., Furukawa, J., & Iwai, H. (2022). Effects of polygalacturonase overexpression on pectin distribution. *AoB Plants*, 14, plac003.
- Nakano, T., Suzuki, K., Fujimura, T., & Shinshi, H. (2006). Genome-wide analysis of the ERF gene family in Arabidopsis and rice. *Plant Physiology*, 140(2), 411–432.
- National Parks. (2024). *Heimia myrtifolia* Cham. & Schltdl Flora and Fauna Web [Veritabanı]. Erişim adresi: <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/6/4/6410> (Erişim tarihi: 21.06.2024)

- NCBI. (2025). Taxonomy: *Punica granatum* L. [Veritabanı]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/tree/?taxon=22663&expanded=3928> (Erişim tarihi: 02.12.2025)
- Onur, C. (1988). Nar (Özel sayı). *Derim*, 5(4).
- Orhan, E., & Yıldırım, A. (2024). Review: Studies for drought-related gene identification and expression analysis in fruit species. 6th International Black Sea Modern Scientific Research Congress Full Texts Book (ISBN: 978-625-367-832-6) (ss. 124-139).
- Orhan, E., Ercisli, S., Eşitken, A., & Şengül, M. (2014). Molecular and morphological characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes sampled from Çoruh Valley in Turkey. *Genetics and Molecular Research*, 13(3), 6375-6382.
- Orhan, E., Yıldırım A. (2026). Functional and regulatory genes associated with drought in fruit species. *Osmaniye Korkut Ata University Journal of The Institute of Science and Technology*. (In press-May 2026)
- Özcan, M. (2020). Nar yetiştiriciliği [Ders Notu]. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Subtropik Meyveler Dersi.
- Özgüven, A. I., & Yılmaz, C. (2000). Güneydoğu Anadolu bölgesinde nar yetiştiriciliği. TÜBİTAK Türkiye Araştırma Projesi Yayınları.
- Palou, L., Crisosto, C. H., & Garner, D. (2007). Combination of postharvest antifungal chemical treatments and controlled atmosphere storage to control gray mold and improve storability of ‘Wonderful’ pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 43(1), 133–142.
- Parvizi, H., Sepaskhah, A. R., & Ahmadi, S. H. (2016). Physiological and growth responses of pomegranate tree (*Punica granatum* (L.) cv. Rabab) under partial root zone drying and deficit irrigation regimes. *Agric. Water Manag.*, 163, 146–158. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.09.019>
- Pavlovich, M. (2017). Computing in biotechnology: Omics and beyond. *Trends in Biotechnology*, 35(6), 479-480.
- Pourghayoumi, M., Bakhshi, D., Rahemi, M., Kamgar-Haghighi, A. A., & Aalami, A. (2017a). The physiological responses of various pomegranate cultivars to drought stress and recovery in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae*, 217, 164–172.
- Pourghayoumi, M., Rahemi, M., Bakhshi, D., Aalami, A., & Kamgar-Haghighi, A. A. (2017b). Responses of pomegranate cultivars to severe water stress and recovery: Changes on antioxidant enzyme activities, gene expression patterns and water stress responsive metabolites. *Physiol Mol Biol Plants*, 23(2), 321–330.
- Qian, J., Zhang, X., Yan, Y., Wang, N., Ge, W., Zhou, Q., & Yang, Y. (2020). Unravelling the molecular mechanisms of abscisic acid-mediated drought-stress alleviation in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 157, 211–218.
- Raghavan, V., Kraft, L., Mesny, F., & Rigerte, L. (2022). A simple guide to de novo transcriptome assembly and annotation. *Briefings in Bioinformatics*, 23(2), bbab563. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab563>
- Rani, B., & Sharma, V. K. (2017). Transcriptome profiling: Methods and applications- A review. *Agricultural Reviews*, 38(4), 271-281. <https://doi.org/10.18805/ag.R-1549>
- Rosenberg, S. V. (2021, 2 Ağustos). Pomegranates. UC Master Gardener of Napa County. <https://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=50164>

- Salami, M., Heidari, B., Batley, J., Wang, J., Tan, X.-L., Richards, C., & Tan, H. (2024). Integration of omics reveals drought-related genes in rapeseed flowers. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1249142.
- Salzberg, S. L. (2019). Next-generation genome annotation: We still struggle to get it right. *Genome Biology*, 20(1), 92. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1715-2>
- Sarkar, T., Dewangan, R., Kumar, S., Choudhary, M. S., & Sarkar, K. S. (2017). Review impact of global warming on fruit crops in India. *Inno Farm*, 2(3), 148–153.
- Sasidharan R, Voesenek LA, Pierik R (2011) Cell wall modifying proteins mediate plant acclimatization to biotic and abiotic stresses. *Crit Rev Plant Sci* 30:548–562. <https://www.semanticscholar.org/paper/Cell-Wall-Modifying-Proteins-Mediate-Plant-to-and-Sasidharan-Voesenek/eb7bcc6b31e6af9f11fdf05bb224d094703110b9>
- Sayyad-Amin, P. (2022). A review on breeding fruit trees against climate changes. *Erwerbs-Obstbau*, 64(6), 697–701. <https://doi.org/10.1007/s10341-022-00737-z>
- Sharma, N., Chaudhary, C., & Khurana, P. (2020). Wheat myo-inositol phosphate synthase influences plant growth and stress responses. *Scientific Reports*, 10, 10766. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67627-w>
- Shi, T., Shang, S., Fan, L., Zhou, S., Gao, S., Shaaban, M., Fan, B., Shi, G., Wang, Z., 2025. The role of *IpSAG12* in regulating florescence and senescence of cut Itoh peony flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 222:113352. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521424005970>
- Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 58, 221–227. <https://academic.oup.com/jxb/article/58/2/221/533903>
- Shu, H., Luan, A., Wang, Y., He, J., Wei, Q., Zhan, R., & Chang, S. (2025). Mutation of the polygalacturonase gene AcoPG3 deferred softening of pineapple fruit. *Biology*, 14(5), 474.
- Singh, A., Shukla, A. K., & Meghwal, P. R. (2020). Fruit cracking in pomegranate: Extent, cause, and management—A review. *Int J Fruit Sci*, 20(sup3), S1234–S1253. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1784074>
- Slatko, B. E., Gardner, A. F., & Ausubel, F. M. (2018). Overview of next- generation sequencing technologies. *Current Protocols in Molecular Biology*, 122(1), e59. <https://doi.org/10.1002/cpmb.59>
- Su, H.-G., Zhang, X.-H., Wang, T.-T., Wei, W.-L., Wang, Y.-X., Chen, J., Zhou, Y.-B., Chen, M., Ma, Y.-Z., Xu, Z.-S., & Min, D.-H. (2020). Genome-wide identification of GDSL-type esterase/lipase genes in soybean. *Frontiers in Plant Science*, 11, 726.
- Su, L., Li, W., Chen, X., Wang, P., Liu, D., (2024). Proline-rich protein PRPL1 enhances *Panax notoginseng* defence against *Fusarium solani* by regulating reactive oxygen species balance and strengthening the cell wall barrier. *Plant, Cell & Environment* Volume 47, Issue 7 pp. 2375-2393. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pce.14886>
- Sudhagar, A., Kumar, G., & El-Matbouli, M. (2018). Transcriptome analysis based on RNA-Seq in understanding pathogenic mechanisms of diseases and the immune system of fish: A comprehensive review. *Int. J. Mol. Sci.*, 19(1), 245. <https://doi.org/10.3390/ijms19010245>
- Sun, Z., Li, S., Chen, W., Zhang, J., Zhang, L., Sun, W., & Wang, Z. (2021). Plant dehydrins: Expression, regulatory networks, and protective roles. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12619. <https://doi.org/10.3390/ijms222312619>

- Şahin, A. (2020). Nar yetiştiriciliği. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü.
- Tatari, M., Jadidi, E., & Shahmansouri, E. (2020). Study of some physiological responses of different pomegranate (*Punica Granatum* L.) cultivars under drought stress to screen for drought tolerance. *International Journal of Fruit Science*, 20(S2), 1798–1813. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1772177>
- Temiz, M. G. (2009). Nar (*Punica granatum*)'da farklı büyüme düzenleyicilerinin ve farklı eksplant kaynaklarının somatik embriyogenesis üzerine etkileri [Yayımlanmamış yüksek lisans tezi]. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tinebra, I., Scuderi, D., Sortino, G., Mazzaglia, A., & Farina, V. (2021). Pomegranate cultivation in Mediterranean climate: Plant adaptation and fruit quality of ‘Mollar de Elche’ and ‘Wonderful’ cultivars. *Agronomy*, 11(1), 156. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010156>
- TUGEM. (2024). Türkiye ulusal genom merkezi [Kurumsal Web Sitesi]. <https://tugem.tuseb.gov.tr/sayfa/genomik-tip-hakkinda/coklu-omik-profilleme>
- TÜİK. (2025). Bitkisel üretim istatistikleri 2023 [Veritabanı]. Erişim adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2023-49535>
- Ulu, S. (2022). Yeni nesil dizileme yöntemi ile Türk fındığı (*Corylus colurna* l.) ve tombull fındığının (*Corylus avellana* l.) transkriptom analizlerinin yapılması ve karşılaştırılması [Yayımlanmamış doktora tezi]. Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı.
- Usha, T., Middha, S. K., Babu, D., Goyal, A. K., Das, A. J., Saini, D., Sarangi, A., Krishnamurthy, V., Prasannakumar, M. K., Saini, D. K., & Sidhalinghamurthy, K. R. (2022). Genome assembly of Indian *Punica granatum*. *Frontiers in Genetics*, 13, 786825.
- Volschenk, T. (2021). Review: Effect of water deficits on pomegranate tree performance and fruit quality-A review. *Agricultural Water Management*, 246, 106499. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106499>
- Wang, J., Wu, Z. Q., Ma, L., & Gu, C. H. (2020). Complete chloroplast genome sequence of *Punica granatum* ‘Nana’ (Lythraceae) and phylogenetic analysis. *Mitochondrial DNA Part B*, 5(3), 2070–2071. <https://doi.org/10.1080/23802359.2020.1764401>
- Wang, L., Wang, S., Tong, R., Wang, S., Yao, J., Jiao, J., Wan, R., Wang, M., Shi, J., & Zheng, X. (2022). Overexpression of PgCBF3 and PgCBF7 transcription factors from pomegranate enhances freezing tolerance in *Arabidopsis* under the promoter activity positively regulated by PgICE1. *Int. J. Mol. Sci.*, 23(16), 9439. <https://doi.org/10.3390/ijms23169439>
- Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F., & Shu, H. (2012). Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks. *Plant Physiol. Biochem.*, 51, 81–89.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., & Altman, A. (2004). Role of plant heat-shock proteins in abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9, 244–252.
- Wang, Z., Gerstein, M., & Snyder, M. (2009). RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, 10(1), 57–63. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>
- Williamson, J.D., Stoop, J.M.H., Massel, M.O., Conkling, M.A., Pharr, D.M., 1995. Sequence analysis of a mannitol dehydrogenase cDNA from plants reveals a function for the

- pathogenesis-related protein ELI3 (salt stress/carbohydrate metabolism/polyols/celery/salicylate). *Plant Biology, Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 92, pp. 7148-7152. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/instance/41296/pdf/pnas01494-0021.pdf>
- Xiang, X. Y., Chen, J., Xu, W. X., Qiu, J. R., Song, L., Wang, J. T., Tang, R., Chen, D., Jiang, C. Z., & Huang, Z. (2021). MfWRKY70 enhances drought and salinity tolerance. *Biomolecules*, 11(2), 327.
- Xiao, X. H., Yang, M., Sui, J. L., Qi, J. Y., Fang, Y. J., Hu, S. N., & Tang, C. R. (2017). The calcium-dependent protein kinase (CDPK) and CDPK-related kinase gene families in *Hevea brasiliensis*—comparison with five other plant species in structure, evolution, and expression. *FEBS Open Bio*, 7(1), 4–24. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12163>
- Xie, S., Lu, X., Zhao, X., & Nie, Q. (2015). Effect of water stress on vegetative growth and nitrogen metabolism of pomegranate seedling. *Acta Horticulturae*, 1089, 63-70.
- Xie, Z., Nolan, T. M., Jiang, H., & Yin, Y. (2019). Review: AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.*, 10, Article 228. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00228>
- Xoconostle-Cazares, B., Ramirez-Ortega, F. A., Flores-Elenes, L., & Ruiz-Medrano, R. (2010). Drought tolerance in crop plants. *American J. Plant Physiol.*, 5(4), 241–256. <https://doi.org/10.3923/ajpp.2010.241.256>
- Yamamoto, Y.T., Zamski, E., Williamson, J.D., Conkling, M.A., Pharr, D.M., 1997. Subcellular localization of celery mannitol dehydrogenase. A cytosolic metabolic enzyme in nuclei. *Plant Physiol.* 115(4):1397–1403. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC158604/#:~:text=Abstract,nuclear%2Dlocalized%20MTD%20is%20unknown.>
- Yang, C., Huang, Y., Lv, P., Antwi-Boasiako, A., Begum, N., Zhao, T., & Zhao, J. (2022). GmNAC12 improves drought tolerance in soybean. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 12029.
- Yang, L., Zhao, Y., Zhang, G., Shang, L., Wang, Q., Hong, S., Ma, Q., & Gu, C. (2022). Identification of CAMTA gene family in *Heimia myrtifolia* and expression analysis under drought stress. *Plants*, 11(22), 3031. <https://doi.org/10.3390/plants11223031>
- Yang, M., Liu, L., Li, M., Huang, Z., & Dong, L. (2025). GuDREB35 regulates drought tolerance in licorice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 306, 141829.
- Yılmaz, C. (2007). *Nar. Hasad Yayıncılık*.
- Yılmaz, C., & Özgüven, A. I. (2009). Türkiye'deki nar genetik kaynakları. III. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu (ss. 608-612).
- Yılmaz, L., Potur, G., Oruç, A., & Aksu, E. (2025). Genetik uygulama ve araştırma ödevi: Omikler ve kullanım alanları. Erişim adresi: https://www.academia.edu/7403983/Omikler_ve_Kullan%C4%B1m_Alanlar%C4%B1 1 (Erişim tarihi: 02.12.2025)
- Yin, K., Cheng, F., Ren, H., Huang, J., Zhao, X., & Yuan, Z. (2024). Insights into the PYR/PYL/RCAR gene family in pomegranates (*Punica granatum* L.): A genome-wide study on identification, evolution, and expression analysis. *Horticulturae*, 10(5), 502. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10050502>
- Yisimayili, Z., & Chao, Z. (2022). A review on phytochemicals, metabolic profiles and pharmacokinetics studies of the different parts (juice, seeds, peel, flowers, leaves and

- bark) of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Food Chemistry*, 395, 133600. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133600>
- Zahedi, S. M., Harf, T., Marjani, M., Vaculík, M., Amini, M., & Sarikhani, S. (2024). Various forms of foliar applied zinc improve drought acclimation in pomegranate: Response of photosynthesis, osmoregulation and antioxidant defense. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. <https://doi.org/10.1007/s42729-024-01694-0>
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Hakimi Meybodi, N. D., Abadía, J., Germ, M., Gholami, R., & Abdelrahman, M. (2022). Evaluation of drought tolerance in three commercial pomegranate cultivars using photosynthetic pigments, yield parameters and biochemical traits as biomarkers. *Agricultural Water Management*, 261, 107357.
- Zamski, E., Guo, W. W., Yamamoto, Y. T., Pharr, D. M., & Williamson, J. D. (2001). Mannitol dehydrogenase promoter regulation in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 47(5), 621–631.
- Zang, L., Zheng, T., Chu, Y., Ding, C., Zhang, W., Huang, Q., & Su, X. (2015). Fasciclin-like arabinogalactan protein gene family in *Populus*. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1140.
- Zhang, H., Yu, Y., Wu, Y., Li, Y., Feng, L., Li, Y., & Xu, S. (2026). Characterization of ENOD93 in sorghum. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 73(1), 1.
- Zhang, J., Huang, D., & Zhao, X. (2021). Evaluation of drought resistance and transcriptome analysis for the identification of drought responsive genes in *Iris germanica*. *Scientific Reports*, 11(1), 16308. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-95633-z>
- Zhang, M., Yuan, B., & Leng, P. (2009). Cloning of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) gene and the role of ABA on fruit ripening. *Plant Signal Behav.*, 4(5), 460–463. <https://doi.org/10.4161/psb.4.5.8542>
- Zhang, Y., Xu, J., Li, R., Ge, Y., Li, Y., & Li, R. (2023). Review: Plants' response to abiotic stress: Mechanisms and strategies. *Int. J. Mol. Sci.*, 24(13), 10915. <https://doi.org/10.3390/ijms241310915>
- Zhu, J., Tang, G., Xu, P., Li, G., Ma, C., Li, P., Jiang, C., Shan, L., & Wan, S. (2022). Genome-wide identification of XTH gene family in peanut. *PeerJ*, 10, e13428. <https://doi.org/10.7717/peerj.13428>
- Zhuang, Y., Zhang, Y., Shi, H., Pang, Y., Feng, X., Fan, W., Chang, D., Lin, H., & Zhou, H. (2025). Calmodulin-binding receptor-like cytoplasmic kinase 3 regulates salt tolerance. *Plant Physiology*. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiae669>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Ayşenur YILDIRIM
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Hayrettin Atmaca Anadolu Lisesi (2016)
Lisans:	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik (2022)
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji (2026)