

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**FRAGARIA X ANANASSA CABRILLO VE ALBION ÇEŞİDİNDE
FARKLI SICAKLIK KOŞULLARINA KARŞI MOLEKÜLER VE FİZYOLOJİK
YANITLARIN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEVİNGÜL BEYDİLLİ

TEZ DANIŐMANI
PROF. DR. DİLEK ÜNAL

BİLECİK, 2025

10742659

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**FRAGARIA X ANANASSA CABRILLO VE ALBION ÇEŞİDİNDE
FARKLI SICAKLIK KOŞULLARINA KARŞI MOLEKÜLER VE FİZYOLOJİK
YANITLARIN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEVİNGÜL BEYDİLLİ

TEZ DANIŐMANI
PROF. DR. DİLEK ÜNAL

BİLECİK, 2025

10742659

BEYAN

Fragaria X Ananassa 'Cabrillo' Ve 'Albion' Çeşidinde Farklı Sıcaklık Koşullarına Karşı Moleküler Ve Fizyolojik Yanıtların Belirlenmesi adlı yüksek lisans tezinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.			
ALINMIŞTIR	DESTEK	x	ALINMAMIŞTIR
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum; TÜBİTAK			
Desteğin Türü		Proje Numarası	
TÜBİTAK 1002		1230902	
Diğer;.....			
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar		
tarih/sayı:		.../.....	

Öğrenci Adı ve Soyadı

Sevingül BEYDİLLİ

Tarih

.../.../2025

İmza

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında bilgi, destek, yol gösterici yaklaşımı ve her aşamada sağladığı değerli katkılar ile bana rehberlik eden, aynı zamanda akademik gelişimime önemli ölçüde katkı sunan kıymetli danışmanım Prof. Dr. Dilek ÜNAL hocama en içten teşekkürlerimi sunarım. Sayın hocamın yalnızca bilimsel desteğiyle değil; aynı zamanda yapıcı tutumu, teşvik edici yaklaşımı ve çözüm odaklı bakış açısıyla da bu sürecin başarıyla tamamlanmasında önemli bir rolü olmuştur. Bu süreci yalnızca bir akademik çalışma değil, aynı zamanda kişisel bir gelişim yolculuğuna dönüştürdünüz. Desteğinizin yeri bende her zaman ayrı olacaktır.

Çalışmalarım süresince bilgi ve birikimlerini paylaşan, akademik gelişimime katkı sağlayan sayın Doc. Dr. Sinem ÖZTÜRK ERDEM hocama teşekkür ederim.

Bu süreçte birlikte omuz omuza çalıştığım, motivasyonumu diri tutan, paylaştığımız tüm zorluklara rağmen hep yanımda olan sevgili arkadaşlarıma ve laboratuvar ekibime özellikle Aleyna UĞUREL ve Neva KULA arkadaşlarıma içten teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda olan, bana inanan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili anneme; sabrın, anlayışın ve sonsuz desteğin için teşekkür ederim

Proje yürütücüsü **Doç. Dr. Sinem ÖZTÜRK ERDEM** tarafından yürütülen **1230902 nolu ve “*Ulva lactuca* ekstraktlarının çilek çeşitlerinde sıcaklık toleransı üzerine etkilerinin fizyolojik ve moleküler yöntemler ile belirlenmesi”** isimli **TÜBİTAK 1002 Hızlı destek projesi** kapsamında sağlanan maddi destek ile bu tez gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda **TÜBİTAK**'a bilimsel araştırmalara verdikleri değerli katkılarından dolayı teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

Bu tezin hazırlanmasında katkısı bulunan herkese gönülden teşekkür ederim.

Sevingül BEYDİLLİ

2025

ÖZET

FRAGARIA X ANANASSA CABRILLO VE ALBION ÇEŞİDİNDE FARKLI SICAKLIK KOŞULLARINA KARŞI MOLEKÜLER VE FIZYOLOJİK YANITLARIN BELİRLENMESİ

Yüksek bitkilerde sıcaklık stresi toleransındaki genotipik varyasyonların önemli olduğu araştırmalarla gösterilmiş ve bu farklılıklar yaygın olarak çalışılmaktadır. Bu tezde, iki çilek çeşidi olan 'Albion' ve 'Cabrillo'nun yüksek sıcaklık tolerans kapasitelerini, iki farklı sıcaklık rejimi altında (40/30°C veya 50/40°C) fizyolojik ve moleküler analizlerle aydınlatmıştır. Bu çalışma aynı zamanda dört miRNA'nın (*mir172*, *mir164*, *mir159* ve *mir168*) yüksek sıcaklığa yanıt olarak gen ekspresyon seviyelerini araştırmıştır.

Bu çalışma, miR159'un ısıya dayanıklı 'Albion' çeşidinde 50/40°C'de aşağı regüle edildiğini, ısıya duyarlı 'Cabrillo' tipinde ise arttığını bulmuştur. İstatistiksel analiz sonuçları, miR159 ekspresyonu ile artan lipid peroksidasyon oranları arasında pozitif bir korelasyon olduğunu, APX aktivitesi ile ise negatif bir korelasyon gösterdiğini ortaya koymaktadır. Veriler, miR159'un inhibe edilmesinin çilek çeşitlerinin ısı toleransını artırabileceğini öne sürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidant kapasite, Çilek, miRNA, yüksek sıcaklık,

ABSTRACT

DETERMINATION OF MOLECULAR AND PHYSIOLOGICAL RESPONSES TO DIFFERENT TEMPERATURE CONDITIONS IN *FRAGARIA X ANANASSA* CABRILLO AND ALBION CULTIVARS

Research has shown that genotypic variations in temperature stress tolerance are significant in higher plants, leading to widespread study of these differences. This study elucidated the high-temperature tolerance capacities of two strawberry varieties, 'Albion' and 'Cabrillo' through physiological and molecular analyses conducted under two temperature regimes: 40/30°C or 50/40°C. This thesis also investigated gene expression level of four miRNAs (*mir172*, *mir164*, *mir159*, and *mir168*) in response to high-temperature.

This study found that miR159 is downregulated at 50/40 °C in the heat-tolerant 'Albion' variety, while it is increased in the heat-sensitive 'Cabrillo' type. The statistical analysis results indicate a positive correlation between miR159 expression and increased lipid peroxidation rates, while showing a negative correlation with APX activity. The data suggested that inhibiting miR159 could enhance the heat tolerance of strawberry cultivars.

Keywords; Antioxidant capacity, High Temperature, miRNA, Strawberry

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. YÜKSEK SICAKLIK STRESİ.....	3
2.1. Çilek Bitkisinde Sıcaklık Toleransı	4
2.2. ROS ve Antioksidan Sistem	5
3. BİTKİ MİKRORNA'LARI VE STRES YANITLARI.....	6
3.1. Bitkilerde Aşırı Sıcaklık Stresine miRNA Yanıtı.....	8
4. MATERYAL VE YÖNTEM	10
4.1. Bitki Büyümesi ve yüksek sıcaklık Stresi Deney Tasarımı	10
4.2. Morfolojik Ölçümler	11
4.3. Lipid Peroksidasyon Analizi	11
4.4. Pigment İçeriği Ölçümü	11
4.5. Antioksidan Enzim Aktivitesi	11
4.6. MiRNA Ekspresyon Analizi.....	12
4.7. İstatistiksel Analiz	13
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	14
5.1. Yüksek Sıcaklığın Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi	14
5.2. Yüksek Sıcaklığın Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi	16
5.3. Yüksek Sıcaklığın Gen Ekspresyonu Üzerine Etkisi	21
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	22

KAYNAKÇA	25
-----------------------	-----------

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 4. 1. miRNA ekspresyonu için primer listesi (Li ve arkadaşları 2012)	12
Tablo 5. 1. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklık (40/30 °C ve 50/40 °C) koşullarında yetiştirilen <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Albion ve Cabrillo çeşitlerine ait büyüme parametreleri	15
Tablo 5. 2. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklık (40/30 °C ve 50/40 °C) koşullarında yetiştirilen <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Albion ve Cabrillo çeşitlerinin pigment içerikleri	16
Tablo 5. 3. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklık (40/30 °C ve 50/40 °C) koşullarında yetiştirilen <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Albion ve Cabrillo çeşitlerinin antioksidan enzim aktiviteleri	20

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 4. 1.** Denemelerin kurulduğu iklim kabini.....10
- Şekil 4. 2.** Frigo fidelerin kök budaması10
- Şekil 5. 1.** Üç gün maruz kalma sonrasında yüksek sıcaklık stresi altındaki iki çilek çeşidinin morfolojik görünümü. a. Albion kontrol grubu (23/18 °C), b. Albion 40/30 °C grubu, c. Albion 50/40 °C grubu, d. Cabrillo kontrol grubu, e. Cabrillo 40/30 °C grubu, f. Cabrillo 50/40 °C grubu..... 14
- Şekil 5. 2.** Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (50/40 °C) yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo'nun lipid peroksidasyon sonuçları. a. Albion kontrol ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, b. Cabrillo kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, c. Albion ve Cabrillo grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder.18
- Şekil 5. 3.** Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (40/30 ve 50/40 °C) yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo'nun membran hasarı (%) sonuçları. a. Albion kontrol ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, b. Cabrillo kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, c. Albion ve Cabrillo grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder.19
- Şekil 5. 4.** Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (40/30 ve 50/40 °C) yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo'nun miRNA gen ifadesi sonuçları.....21

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ABA: Absisik Asit

ANN: ANNEXİN Genleri

APX: Askorbik Asit

Ca+2: Kalsiyum

CAT: Katalaz

cDNA: Komplemanter DNA

Chla/b: Klorofil a ve b oranı

Chla: Klorofil a (ana fotosentetik pigment)

Chla+b: Toplam Klorofil a ve b

Chlb: Klorofil b (yardımcı fotosentetik pigment)

DNA: Deoksiribonükleik asit

DPB3-1: DNA Polimeraz 3 Alt Birimi B3-1

DRE: Dehidrasyon- Responsif element

DREB2a: Dehidrasyon- Responsif Bağlayıcı Transkripsiyonel Aktivatör 2a

ER: Endoplazmik Retikulum

ET: Etilen

GR: Glutatyon Redüktaz

GRF7: Büyüme Düzenleyici Faktörü

HS: Isı Şoku

HSE: Isı Şoku Elementleri

Hsf: Isı Şoku Faktörleri

HSP: Isı Şoku Proteini

MDA: Melonaldehit

miRNA: Mikro RNA

mRNA: Hedef Mesajcı RNA

PEP: Fosfoenolpirüvat

Pm: Plazma Zarı

POD: Peroksidaz

RNA: Ribonükleik Asit

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SOD: Süperoksit Dismutaz (Hücreyi oksidatif stresten koruyan enzim)

1. GİRİŞ

Yüksek sıcaklık stresi, hücrel metabolizma ve homeostazı bozarak protein denatürasyonu, agregasyonu ve plazma membranı bütünlüğünün kaybına yol açması nedeniyle bitkiler için kritik bir çevresel stres faktörüdür. Orta düzeydeki sıcaklık artışları dahi biyokütle üretimi ve ürün veriminde önemli kayıplara neden olurken, uzun süreli veya aşırı yüksek sıcaklık maruziyeti bitki ölümüyle sonuçlanabilmektedir.

Yüksek sıcaklık stresi, hücrelerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikimine yol açarak oksidatif hasara neden olmaktadır. Antioksidan enzimler, ROS detoksifikasyonunda birincil savunma hattını oluşturarak hücrel homeostazın korunmasında kritik rol oynar (Apel & Hirt, 2004). Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikallerini hidrojen peroksit'e dönüştürerek ilk savunmayı sağlarken, katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) hidrojen peroksitin uzaklaştırılmasında görev alır. Peroksidaz (POD) ise hem ROS detoksifikasyonunda hem de lignin biyosentezinde rol oynar.

Bitkiler, yüksek sıcaklıklara karşı termotolerans kazanmak için çeşitli adaptif stratejiler geliştirmişlerdir. Bu stratejilerden en önemlisi, özellikle ısı-şok proteinlerini (HSP'ler) kodlayan genlerin transkripsiyon düzeyinde artışını içeren moleküler savunma mekanizmalarıdır (Kotak ve ark., 2007; Kesici ve ark., 2020). Bunun yanı sıra çeşitli küçük RNA'ların (siRNA ve miRNA) biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı toleransta önemli roller üstlendikleri bilinmektedir.

MikroRNA'lar (miRNA'lar), hedef mRNA molekülleri ile komplementer sekanslar arasında bağlanma kurarak translasyonel inhibisyon veya transkript parçalanmasına yol açan ve gen ekspresyonunun kontrolünde kritik roller üstlenen düzenleyici molekülerdir (Griffiths-Jones ve ark., 2008; Voinnet, 2009). Bu moleküller, bitki gelişimi ile biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında görev almaktadır (Pegler ve ark., 2019). Özellikle yüksek sıcaklık stresi altında, miRNA aracılı post-transkripsiyonel kontrol önemli bir düzenleme mekanizması olarak öne çıkmaktadır. Farklı bitki türlerinde yapılan araştırmalar, miR156, miR159, miR160, miR164, miR168, miR169 ve miR172 gibi miRNA ailelerinin sıcaklık stresine yanıt olarak diferansiyel ekspresyon gösterdiğini ve bu moleküllerin sırasıyla SPL, MYB, ARF, NAC, AGO ve AP2/ERF transkripsiyon faktörlerini hedefleyerek stres toleransını düzenlediğini ortaya koymuştur (Zhang ve ark., 2019; Pan ve ark., 2017; Lin ve ark., 2018).

Bu tez kapsamında, yüksek sıcaklık stresine karşı farklı tolerans seviyeleri gösteren 'Albion' ve 'Cabrillo' çilek çeşitlerinde moleküler ve biyokimyasal düzeydeki yanıt

mekanizmaları araştırılmıştır. Çalışmanın temel amacı, sıcaklık stresi altında bu iki çeşit arasındaki fizyolojik ve moleküler farklılıkları ortaya koyarak çeşitlere özgü tolerans mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlamaktır. Bu bağlamda, antioksidan savunma sisteminde görev alan SOD, CAT, APX ve POD enzimlerinin aktivite düzeyleri ile literatürde abiyotik stres yanıtında rol oynadığı gösterilen dört farklı miRNA'nın (miR172, miR164, miR159 ve miR168) ekspresyon paternleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Moleküler ve biyokimyasal analizler, fizyolojik parametrelerle (elektrolit sızıntısı, klorofil içeriği, membran stabilitesi) birlikte değerlendirilerek çeşitler arası tolerans farklılıklarının bütüncül bir profili oluşturulmuştur.

2. YÜKSEK SICAKLIK STRESİ

Sıcaklık stresi genellikle bitki büyümesi için optimum sıcaklığın 5-15°C üzerine çıktığında meydana gelmektedir, ancak yüksek sıcaklıkların ürün verimi üzerindeki etkisi, sıcaklık değişiminin yoğunluğu, süresi ve hızı tarafından belirlenmektedir. Genel olarak iki tür yüksek sıcaklık stresi ayırt edilebilir. Çok yüksek sıcaklıkların (optimum sıcaklığın >15°C üzerinde) kısa bir süreliğine genellikle ısı şoku olarak adlandırılır ve respirasyonun artması, fotosistem II'nin fotoinhibisyonu, membran geçirgenliğinin artması, reaktif oksijen türlerinin birikimi, karbonhidrat metabolizmasındaki değişiklikler veya protein denatürasyonu gibi önemli fizyolojik ve metabolik fonksiyonları etkileyerek bitkilerde geniş çaplı hasara neden olabilir (Fragkostefanakis vd., 2015; Fahad vd., 2017; Hasanuzzaman vd., 2013; Mathur vd., 2014). Bununla birlikte, ılımlı yüksek sıcaklıklara (optimum büyüme sıcaklığının 5-10°C üzerine) maruz kalma, benzer etkiler elde etmek için daha uzun bir süre gerektirir (Mesihovic vd., 2016).

Yüksek sıcaklıklar yaprak alanını ve bitki boyunu azaltmakta, sürgün ve kök gelişimini engellemekte (Wahid et al. 2007), fotosentez, stomatal iletkenlik ve transpirasyon oranlarını düşürmektedir (Rai and Kumar 2014). Bu durum bitki içi su kayıplarına neden olmakta (Bita and Gerats 2013) ve aynı zamanda üreme gelişimini yavaşlatmaktadır. Yüksek sıcaklıklar çiçek sayısını, polen canlılığını ve meyve tutumunu azaltarak verimliliği doğrudan düşürmektedir (Li et al. 2018b, a). Yüksek sıcaklıklar ROS birikmesini teşvik ederek çileğin antioksidan savunma sistemlerini aşmakta ve hücrelerde oksidatif hasara neden olmaktadır (Sánchez-Rodríguez et al. 2011).

Yüksek sıcaklık, bitkiler üzerinde çok boyutlu fizyolojik etkiler yaratmaktadır. Protein denatürasyonu ve agregasyonu nedeniyle hücresel metabolizma ve homeostazın bozulması, plazma membran bütünlüğünün kaybına neden olmaktadır. Bu durum, yaprak ve sürgünlerin tutuşması, yapraklarda yanıklık, dallar ve gövdeler üzerinde yanıklar, yaprak yaşlanması, dökülme ve net fotosentezi azaltarak verimi düşürme gibi önemli zararlara yol açmaktadır. Fotosentez sistemine olan etkiler özellikle kritiktir. Yüksek sıcaklıklar, artan fotorespirasyon ve nişasta ile çözümlenen şekerlerin daha yüksek konsantrasyonlarına bağlı olarak CO₂ asimilasyonunda azalmaya neden olmakta, bunun sonucunda organik substratların azalması ve bitki gelişiminin bozulması görülmektedir (Sicher, 2015). Fotosistem II özellikle sıcaklık stresine duyarlıdır ve yüksek sıcaklıklarda fotoinhibisyon meydana gelmektedir. Bu durumda klorofil floresansında azalma, elektron transport zincirinde bozulmalar ve nihayetinde fotosentez kapasitesinde önemli kayıplar yaşanmaktadır.

Bitkilerde yüksek sıcaklık stresinin temel etkilerinden biri, çeşitli ısı şoku proteinlerinin (HSP) devreye girmesidir. Bu HSP'ler, stres durumlarında proteinlerin doğru katlanması ve yapısal bütünlüklerinin korunmasında hayati görevler üstlenen moleküler şaperonlar olarak işlev görürler (Khan and Shahwar 2020).

Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerin büyüme ve gelişim süreçlerinde görev alan birçok genin ifadesini de olumsuz yönde etkilemektedir. Özellikle fotosentez ve karbon bağlama süreçlerinde merkezi rol oynayan Rubisco ve PEP karboksilaz gibi enzimleri kodlayan genlerin ekspresyon düzeyleri bu stres koşulları altında belirgin şekilde düşmektedir (Li et al. 2019).

2.1. Çilek Bitkisinde Sıcaklık Toleransı

Çilek (*Fragaria × ananassa* Duch.), Rosales takımı Rosaceae familyası, *Fragaria* cinsi içerisinde yer almaktadır (Hancock, 1999). Adaptasyon kabiliyetinin iyi olması nedeniyle farklı ekolojik koşullarda yetişebilmesi, taze ya da işlenmiş gıda olarak tüketilmesi ve ekonomik değerinin yüksek olması gibi sebeplerden dolayı son elli yılda dünyada üretimi ve tüketimi hızlı bir artış göstermiştir. Çilek bitkilerinin optimal büyüme aralığının 10-26°C arasında olduğu kabul edilmektedir (Muneer vd., 2017). Yüksek sıcaklıkların (25-30 °C) polen tüpü çimlenmesini, meyve olgunlaşmasını ve kalitesini azalttığı gösterilmiştir (Ledesma ve Sugiyama, 2005; Ledesma ve Kawabata, 2016). Genotipler arasındaki bazı farklılıklar olmasına rağmen, çilek bitkilerinin sıcaklık stresine karşı duyarlı olduğu düşünülmektedir. Ülkemizde çilek yetiştiriciliği açık alanlarda, seralarda ve plastik tünellerde yapılmakta ve bitkiler gelişimlerinin farklı dönemlerinde sık sık yüksek sıcaklıklara maruz kalmaktadırlar. Özellikle Akdeniz bölgesinde sera yetiştiriciliğinde ilkbahar ve yaz döneminde sıcaklıkların çok yükselmesi nedeniyle çilek bitkilerinin zarar görmesi ve ikinci yıla ürün alınmaması söz konusudur.

Anatomik değişiklikler, bitkilerin yapısal organizasyonlarında gerçekleşen modifikasyonları temsil eder ve bu dönüşümler, organizmaların değişken çevre koşullarına adaptasyon sağlayabilmeleri açısından kritik öneme sahiptir. Çilek bitkilerinde yüksek sıcaklık stresi, kapsamlı anatomik ve ultrastrüktürel bozulmalara sebep olmaktadır. Mikroskopik incelemeler sonucunda, ısı stresinin yaprak kalınlığında, epidermal hücre boyutlarında ve palizat mezofil hücre katmanlarının sayısında belirgin azalmalara yol açtığı ve bu durumun fotosentetik aktif yüzey alanını daraltarak fotosentez kapasitesini sınırladığı tespit edilmiştir (Ghnaya et al. 2022). Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerin kloroplastlarında şişkinlik, nişasta granüllerinin erimesi, plasto-globül birikimlerinin artması ve tilakoid sistemlerinin

genişlemesi gibi degeneratif değişikler gözlemlenmekte ve bu durum fotosentetik süreçleri ciddi şekilde engellemektedir. Mitokondriyal yapılarda ise krista organizasyonunda şiddetli dejenerasyon meydana gelirken, çilek kök apekslerinde hücre duvarlarının deformasyona uğradığı ve yapısal bütünlüklerini kaybettiği görülmektedir (Li et al. 2017). Taramalı elektron mikroskopisi teknikleri kullanılarak yapılan analizlerde, ısı stresinin çilek yaprak ve meyve yüzeylerinde çöküntü oluşumu, vezikül formasyonu, kırışıklık ve kütiküler mum tabakasının dışarı sızması şeklinde kendini gösterdiği belirlenmiştir (Santos et al. 2022).

2.2. ROS ve Antioksidan Sistem

Aşırı yüksek sıcaklıklar, bitkilerde hücresel düzeyde tahribata sebep olan ve oksidatif stres süreçlerini başlatan ROS birikimini tetiklemektedir. Bitkisel organizmalar, ROS eliminasyonu ve oksidatif hasarın önlenmesi amacıyla gelişmiş antioksidan koruma sistemlerine sahiptir.

Bitkiler yüksek sıcaklık stres koşullarına karşı koruyucu bir mekanizma olarak SOD, CAT, APX ve GR gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini ve gen ifadelerini artırmaktadır (Hasanuzzaman ve Fujita 2019). Yüksek sıcaklığa maruziyet ayrıca ROS detoksifikasyonunda kritik roller üstlenen glutatyon, askorbik asit, karotenoidler, fenolik bileşikler ve tokoferoller gibi non-enzimatik antioksidan moleküllerin konsantrasyonlarını da etkilemektedir (Meena et al. 2024). Ancak aşırı ROS birikimi antioksidan kapasitenin sınırlarını aşarak proteinlerin, membran lipidlerinin ve nükleik asitlerin oksidatif hasarına yol açabilmektedir. Çilek bitkilerinde yapılan araştırmalar, yüksek sıcaklık stresinin ROS birikiminde artışa neden olurken, paradoks olarak CAT, SOD ve POD gibi temel antioksidan enzimlerin aktivite düzeylerinde düşüşlere sebep olabileceğini ortaya koymaktadır (Rahman et al. 2020). Antioksidan enzim aktivitelerindeki bu azalma, ROS üretimi ile eliminasyonu arasındaki hassas dengeyi bozarak çilek bitkilerinde oksidatif stresin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır (Kesici 2009). Bu süreçte ortaya çıkan oksidatif hasar, bitki büyümesi, gelişimi ve termal tolerans kapasitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Begcy ve Dresselhaus 2018).

3. BİTKİ MİKRORNA'LARI VE STRES YANITLARI

MikroRNA'lar (miRNA'lar), hedef mesajcı RNA (mRNA) molekülleri ile komplementer sekanslar arasında bağlanma kurarak translasyonel inhibisyon veya transkript parçalanmasına yol açan ve böylece gen ekspresyonunun kontrolünde veya baskılanmasında kritik roller üstlenen molekülerdir (Griffiths-Jones ve arkadaşları, 2008; Voinnet, 2009; Ha ve Kim, 2014). Bu miRNA molekülleri karmaşık düzenleyici şebekeleri yönlendirmekte ve bitki gelişimi ile biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında görev alan ökaryotik hücrelerde geniş bir yelpazede biyolojik süreçlere dahil olmaktadır (Pegler ve arkadaşları, 2019; Secic ve arkadaşları, 2021).

Bitkilerde miRNA moleküllerinin belirlenmesi amacıyla hem deneysel hem de biyoinformatik stratejiler uygulanmıştır. İlk aşamalarda, bitkisel miRNA'ların keşfi için direkt klonlama metodolojisi yaygın şekilde kullanılmıştır (Llave ve arkadaşları, 2002; Reinhart ve arkadaşları, 2002). Daha sonraki dönemlerde, miRNA'ların yüksek konservasyon özelliği ve kök-döngü saç tokası yapısı hakkında daha detaylı bilgi edinildikçe, bilinen miRNA'lardan hareketle yeni bitki türlerinde miRNA tanımlaması için biyoinformatik yaklaşımlar geliştirilmiştir (Jones-Rhoades ve Bartel, 2004; Zhang ve arkadaşları, 2005).

Günümüzde, daha sofistike ve ekonomik hale gelen yüksek verimli sekanslama teknolojisi temelinde (Lu ve arkadaşları, 2006), küçük RNA yüksek verimli sekanslaması bitkilerde miRNA tanımlaması ve fonksiyonel analizi için yaygın olarak tercih edilmektedir (Sunkar ve arkadaşları, 2005; Fahlgren ve arkadaşları, 2007; Creighton ve arkadaşları, 2009).

Bitkisel miRNA tanımlama metodolojilerinin hızlı ilerlemesi sayesinde, bitki türlerinde giderek artan sayıda miRNA keşfedilmiş ve karakterize edilmiştir (Kozomara ve GriffithsJones, 2011; Xu ve arkadaşları, 2016; Pegler ve arkadaşları, 2019). miRBase veri tabanında (<http://www.mirbase.org>, versiyon 22) kaydedilen bilgilere göre, 271 organizmadan deneysel veya hesaplamalı yöntemlerle 38.589 saç tokası prekürsörü ve 48.860 olgun mikroRNA belgelenmiştir. Bu organizmalar içerisinde 70'in üzerinde bitki türü yer almaktadır; bunlar arasında *Arabidopsis thaliana* (326 prekürsör, 428 olgun), *Oryza sativa* (604 prekürsör, 738 olgun), *Zea mays* (174 prekürsör, 325 olgun), *Triticum aestivum* (122 prekürsör, 125 olgun), *Glycine max* (684 prekürsör, 756 olgun), *Solanum tuberosum* (224 prekürsör, 343 olgun), *Nicotiana tabacum* (162 prekürsör, 164 olgun), *Solanum lycopersicum* (112 prekürsör, 147 olgun), *Gossypium raimondii* (296 prekürsör, 296 olgun), *Medicago truncatula* (672 prekürsör, 756 olgun), *Populus trichocarpa* (352 prekürsör, 401 olgun), *Sorghum bicolor* (205 prekürsör,

241 olgun), *Brassica napus* (90 prekürsör, 92 olgun), *Vitis vinifera* (163 prekürsör, 186 olgun) ve diğer türler bulunmaktadır.

Son dönemlerde yapılan artan miRNA araştırmaları, miRNA yönlendirmeli gen ekspresyon düzenlenmesinin bitkilerin çevresel uyarıcılara adaptasyonu için de zorunlu olduğunu ortaya koymuştur (Sun ve arkadaşları, 2019). Abiyotik stres altındaki bitkiler, belirli miRNA'ların ekspresyonunu modüle ederek veya yeni miRNA'lar sentezleyerek çevresel uyarıcılara karşı toleransı güçlendirebilmekte, böylece abiyotik stres koşullarında daha etkin hayatta kalma ve büyüme kapasitesi gösterebilmektedir.

İlgili miRNA'ların ekspresyonunun yukarı veya aşağı yönlü düzenlenmesi farklı stres tipelerine bağlı olarak değişmektedir; belirli miRNA'lar bitkilerde yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, kuraklık, yüksek tuzluluk, oksidasyon ve ağır metaller gibi çeşitli stres faktörleri tarafından da indüklenmektedir (Jian ve arkadaşları, 2010). Stres yanıtı miRNA'lara dayalı araştırmalar, bitki stres direnci ıslahı ve gen ekspresyon mekanizmaları konusunda önemli kavrayış sağlayabilmekte ve bitkilerde adaptif mekanizmaya yeni bir perspektif geliştirmek için güçlü bir yaklaşım oluşturmaktadır.

miRNA'lar tekil veya çoklu çevresel uyarıcılara verdikleri yanıtlarda çeşitlilik gösterdiği gibi, bitkilerde büyüme ve gelişmeye ilişkin düzenleyici işlevleri de oldukça çeşitlidir. miRNA'lar büyüme ve gelişmenin düzenleyici mekanizmalarında önemli roller üstlenmektedir. Yapılan araştırmalar, miRNA'ların bitki çiçeklenme ve çiçek organı gelişimi, yaprak gelişimi, meyve gelişimi ve olgunlaşması, kök gelişimi ve embriyogenez regülasyonunda kritik işlevler üstlendiğini ortaya koymuştur (Lin ve Lai 2013; Gao et al. 2017; Correa et al. 2018; Plotnikova et al. 2019; Siddiqui et al. 2019; Yang et al. 2019).

Yakın zamanda, miRNA'ların ve hedeflerinin tarım bitkilerinde agronomik karakteristikleri düzenlemek için uygulandığını kanıtlayan birkaç önemli bulgu, miRNA'ların bitki boyu, salkım dallanması, kardeşlenme, tane boyutu, meyve kalitesi, ürün verimi, erkek kısırılığı gibi yüksek verim ve iyi kaliteyle ilişkili tarımsal özelliklerin iyileştirilmesinde kritik bir rol oynadığını öne sürmektedir (Wang S. ve arkadaşları, 2012; Zhang Y. C. ve arkadaşları, 2013; Yang ve arkadaşları, 2019).

İlaveten, miRNA bitki sekonder metabolizmasının anahtar düzenleyicisi olabilmektedir. Son bulgular, miRNA'ların flavonoidler, alkaloidler ve azot içeren bileşik biyosentetik yollarını düzenlemede önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Gou ve arkadaşları, 2011; Li ve arkadaşları, 2015; Davoodi Mastakani ve arkadaşları, 2018). şaşırtıcı olmayan bir şekilde,

miRNA aynı zamanda bitki hormonu sinyal iletimi ve metabolik yolların düzenlenmesinde de yer almaktadır (Baek ve arkadaşları, 2013; Guo ve arkadaşları, 2018; Liu ve arkadaşları, 2019). miRNA'lar bir gen ailesinde çoklu hedef gen üyesini düzenleyebilmekte ve spesifik hedef gen de çeşitli bitki büyüme ve gelişme düzenleme süreçlerinde yer alabilmektedir.

3.1. Bitkilerde Aşırı Sıcaklık Stresine miRNA Yanıtı

Küresel ısınma ve iklim dalgalanmaları sonucunda yüksek sıcaklık stresi, bitkilerin büyüme ve gelişim süreçlerini kısıtlayan temel faktörlerden biri haline gelmiştir. Tarımsal üretim sistemlerinin sürdürülebilirliği, yüksek sıcaklık stresinin oluşturduğu tehdit altında bulunmaktadır. Özellikle fotosentez, solunum, azot metabolizması, protein döngüsü, nükleik asit metabolizması ve lipid metabolizmasında ortaya çıkan zararlı etkileri minimize etmek amacıyla, sıcaklığa duyarlı miRNA'lar kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Grover et al. 2013; Zuo et al. 2021; Begum 2022).

Bitkilerde karakterize edilen ilk miRNA'lardan biri olan miR156, yüksek sıcaklığa karşı direnç konusunda pozitif etki göstermekte ve yüksek seviyede aktive edilmektedir. miR156'nın hedefini oluşturan SPL transkripsiyon faktörü geni, sıcaklık stresinin ardından transkripsiyonel düzeyde aşağı yönlü düzenleme göstermektedir (Stief et al. 2014). Benzer şekilde, miR156'nın aşırı ekspresyonu yonca bitkisinin sıcaklık stresine toleransını güçlendirmektedir (Arshad et al. 2020). Muzda yapılan bir araştırma, miR156-SPL modülünün sıcaklık stresini kontrol edebildiğini ve SPL gen ailesinin miR535 ve miR156 tarafından ortak hedefleme aldığını göstermiştir. Çok sayıda miRNA muzlarda yüksek sıcaklık stresine tepki olarak aşağı yönlü düzenleme eğilimi sergilemiş ve genel olarak yüksek sıcaklık stresinin miRNA ekspresyonunu baskılama yönünde etki gösterdiği belirlenmiştir (Zhu et al. 2019). Sıcaklık stresinde görev alan bazı kritik düzenleyici miRNA-hedef modülleri tespit edilmiştir; bunlar miR169-SBP, miR159-MYB, miR156-SBP/SPL, miR172-AP2/ERF, miR164-NAC, miR166-HD zip, miR396-GRF ve miR5381-SAC2 olarak sıralanmaktadır (Zhang et al. 2019).

Daha önemli olan, miRNA'ların ekspresyonuna dayanan düzenleme modelinin sıcaklık stresi koşullarında türe özgü karakteristik göstermesidir. Bu durumun en muhtemel açıklaması, farklı bitki türlerinin değişken çevresel koşullara sahip olmasıdır. Sıcaklık stresi koşullarında miRNA'ların düzenlenmesi için evrensel bir kural belirlemek oldukça güçtür.

Pamukta anther gelişiminin çeşitli kritik evrelerinde farklı miRNA'lar yüksek sıcaklıklara karşı yanıt vermektedir. Bu moleküller arasında sporogenöz hücre proliferasyon evresinde miR2949, miR167 ve miR160; mayotik faz evresinde miR156 ve miR172; mikrospor

salınım döneminde miR156; ve polen olgunlaşma evresinde miR393 ve miR3476 bulunmaktadır. Bu miRNA'lar, sıcaklığa toleranslı ve sıcaklığa hassas pamuk hatlarında strese yanıt veren temel düzenleyiciler olarak işlev görmüştür (Chen J. et al. 2020).

Yüksek sıcaklık koşullarında (35°C) domates stamen ve pistil gelişiminde rol oynayan miRNA'lar üzerine gerçekleştirilen araştırma, miR167, miR396 ve miR482 ailelerinin stamende kayda değer ölçüde eksprese edildiğini, miR159, miR166 ve miR482 ailelerinin ise pistilde eksprese edildiğini saptamıştır (Pan et al. 2017). Bunun yanı sıra, miR393-SITR1 ve miR160-SLARF10/16'nın oksin sinyal yolağının regülasyonunda yer aldığı ve miR398b-SICSD1 ile miR397-LACs'ın ROS aracılı hücre genişlemesi ve hücre bölünmesiyle güçlü bir korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur. Aynı zamanda miR156-SPL, bitkilerde çoklu yanıtları indüklemek için önemli bir düzenleyici olarak öne çıkmakta ve her ikisi de sıcaklık stresi uygulamasıyla aktive edilmektedir (Pan et al. 2017). Orta seviyede yüksek sıcaklıkta (33°C) sıcaklığa toleransta miR156 ile miR396'nın yukarı yönlü düzenlenmiş ekspresyon sergilediği belirlenmiştir (Zhou et al. 2016). Bunun aksine miR168'in aşağı yönlü düzenlenmiş ekspresyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, aşırı yüksek sıcaklığın miRNA ekspresyonunu sınırlama potansiyelinin olduğunu işaret etmektedir.

miR160'ın düzenleyici rolü, sıcaklık stresine adaptasyonda özellikle önemlidir. miR160'ın bir engelleyicisi olan yapay miR160, sıcaklık stresine daha zayıf adaptasyon sergilemiştir. Bunun tam tersi olarak miR160'ın aşırı ekspresyonu, transgenik Arabidopsis'te yüksek sıcaklık toleransı kapasitelerini önemli ölçüde geliştirmiştir. ARF10, ARF16 ve ARF17 dahil olmak üzere miR160'ın hedef genlerinin miRNA'lar tarafından baskılanması, sıcaklık stresi koşullarında yaşamsal devamlılık için sıcaklık şoku proteinlerinin ekspresyonunu düzenlemiştir (Lin et al. 2018).

Diğer bitki türlerinde de sıcaklığa duyarlı miRNA'lar tanımlanmıştır. 38°C sıcaklık stresi uygulamasının ardından çiçekli Çin lahanasında miR156, miR159, miR168, miR171 ve miR1885 tespit edilmiştir (Ahmed et al. 2019). Buğdayda miR156, Tae-miR818, miR169, miR528 ve miR398, sıcaklık stresine tepki olarak aşağı yönlü düzenlenmiştir (Ragupathy et al. 2016). Ayrıca buğdayda antioksidan aktiviteyi ve strese hassas mitokondriyal proteinleri düzenlemede sıcaklığa duyarlı miRNA'ların, miR528 ve miR9662'nin rolü açığa çıkarılmıştır (Ravichandran et al. 2019). Özellikle miR159c ve miR165b, sıcaklık stresine tolerans sağlamada doğrudan veya dolaylı olarak rol almaktadır (Sihag et al. 2021).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Bitki Büyümesi ve yüksek sıcaklık Stresi Deney Tasarımı

Bu araştırmada *F. ananassa* 'Albion' ve 'Cabrillo' çeşitlerinin frigo fideleri bitki materyali olarak kullanılmıştır (Shaw ve Larson 2006). Frigo fideler %0.1'lik Benlate çözeltisine daldırıldıktan sonra toprak, torf ve perlit karışımının eşit oranlarda (1:1:1) bulunduğu 15x13 cm'lik saksılara aktarılmıştır. Fideler, gündüz/gece sıcaklığı 23/18°C, ortalama bağıl nem %65, ışık şiddeti 350 μmol foton m^{-2} s^{-1} ve 16 saat ışık, 8 saat karanlık fotoperiyot koşullarına sahip iklim odasında (Digitech Growth Chamber, PG34-3) yetiştirilmiştir. Fidelere haftalık olarak bitki başına 0.5 g dozunda 20-20-20 NPK bileşik gübresi ile sulama yapılmıştır. Sıcaklık deneyi, 'Albion' ve 'Cabrillo' çilek çeşitleri ile fideler üç yapraklı döneme ulaştığında, üç ayrı zaman aralığında iki farklı sıcaklık koşulu altında gerçekleştirilmiştir. Her deney grubu 21 fideden oluşmuştur. Deney grupları aşağıdaki gibi belirlenmiştir:

a) Kontrol grubu (23/18 °C Gündüz/gece), b) sıcaklık uygulaması (40/30 °C Gündüz/gece), c) sıcaklık uygulaması grubu (50/30 °C Gündüz/gece),

Morfolojik ve fizyolojik analizler için 50/30 °C Gündüz/gece grupları hariç her deneme grubundan 3. ve 5. günlerde hasat yapılmıştır (tüm deneyler üç biyolojik tekrar olarak gerçekleştirilmiştir). miRNA'lara ait gen ekspresyonları, hasadın üçüncü günü sonunda Real-Time PCR kullanılarak belirlenmiştir. Her deneme üç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 4. 1. Denemelerin kurulduğu iklim kabini



Şekil 4. 2. Frigo fidelerin kök budaması

4.2. Morfolojik Ölçümler

Yüksek sıcaklık (40/30 °C ve 50/40 °C) ve normal koşullar (23/18 °C) altında iklim odasında 3 ve 5 gün yetiştirildikten sonra, hasat zamanında her grubun kök, sürgün ve yaprak uzunlukları ölçülmüştür.

4.3. Lipid Peroksidasyon Analizi

200 mg yaprak örneği 2 mL %0,1 (w/v) trikloroasetik asit ile homojenize edildi. 10.000 rpm'de santrifüj edildikten sonra 200 µL homojenata 1 mL %0,5 thiobarbitik asit (%20 trikloroasetik asit içinde) eklendi. 95 °C 1 saat su banyosunda inkübasyonu sağlandı. Ependorfa aktarılan homojenatlar 10.000 g'de santrifüj edilip olup sonrasında 532 ve 600 nm'de spektrofotometre cihazında ölçümü yapıldı. MDA içeriği $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ katsayısı kullanılarak belirlendi (Karabal vd., 2003).

4.4. Pigment İçeriği Ölçümü

Klorofil ve karotenoid içerikleri, fotosentetik kapasite ve bitki sağlığının göstergesi olduğundan analiz edilmiştir. Klorofil içeriği Wellburn (1994)'ün modifiye ettiği yönteme göre yapılmıştır. 500 mg yaprak örneği 10 mL mutlak metanol içinde ekstrakte edilmiştir. Chla, Chlb ve toplam karotenoid içerikleri UV spektrofotometre kullanılarak sırasıyla 666 nm, 653 nm ve 470 nm dalga boylarında kaydedilmiştir. Pigment içeriği hesaplamaları Wellburn (1994) tarafından tanımlanan yöntemlere göre belirlenmiştir.

4.5. Antioksidan Enzim Aktivitesi

Yüz milligram yaprak sıvı azot kullanılarak toz haline getirilmiş ve ardından 1 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve %1 polivinilpirolidon içeren potasyum fosfat tamponu (50 mM; pH 7.0) ile homojenize edilmiştir. Ekstraksiyon sonrasında örnekler 4°C'de 20.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Protein konsantrasyonunu belirlemek için Bradford tekniği (1976) kullanılmıştır. CAT aktivitesi Aebi (1984) tarafından belirlenen metodolojiye göre ölçülmüştür. Reaksiyon, 50 µL enzim ekstraktı ile 1950 mL tampon çözeltisinde (pH 7.0, 50 mM potasyum fosfat ve 30 mM H₂O₂) gerçekleştirilmiştir. Kinetik ölçümler spektrofotometre ile 240 nm'de 180 dakika boyunca yapılmıştır. Dakikada H₂O₂ tüketimi bir enzim birimi olarak ölçülmüştür. APX enzim aktivitesini değerlendirmek için, -80°C'de saklanan 10 µL protein, 0.2 M Tris/HCl, 0.25 mM askorbik asit, 0.5 mM H₂O₂ içeren ve pH 7.8'e ayarlanmış 1 mL APX reaksiyon çözeltisi ile karıştırılarak vortekslenmiştir. Çözelti daha sonra kuvars küvete yerleştirilmiş ve kinetik ölçümler 290 nm'de 3 dakika boyunca, her 15

saniyede bir değer kaydedilerek yapılmıştır (Nakano ve Asada 1981). Glutasyon Redüktaz enzim aktivite analizi Glutasyon Redüktaz Enzim İmmunoassay Kiti (Lot# fr.19.30442) prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir. Mikrotiter plakalarda 20 µL izole edilmiş toplam protein, 20 µL GSSH, 20 µL NADPH ve 50 µL distile su bulunmuştur. Ölçümler 340 nm ELISA Reader kullanılarak 5 dakika süreyle her dakika yapılmıştır.

4.6. MiRNA Ekspresyon Analizi

MiRNA gen ekspresyonu, Chen ve ark. (2005) ve Li ve ark. (2012) tarafından tanımlanan stem-loop primer tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonu sonrasında cDNA sentezi, stem-loop primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Chen et al., 2005; Li et al., 2012). Stem-loop primerler, küçük RNA moleküllerinin özgül ve hassas bir şekilde ters transkribe edilmesini sağlar ve miRNA ekspresyon analizinde standart yöntem olarak kabul edilir. Reaksiyon bileşenleri: 1 µg RNA, 1 µL stem-loop primer, 1 µL dNTP, 4 µL RT Buffer, 1 µL Reverse Transcriptase ve DEPC su ile toplam hacim 20 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. cDNA sentezi sonrasında gen ekspresyon analizi hedef miRNA primerleri kullanılarak yapılmıştır (Tablo 4.2, Li ve ark. 2012). Real-time PCR, 95°C'de 30 saniye denatürasyon ile başlamış, ardından 95°C'de 5 saniye ve 60°C'de 30 saniye olmak üzere 40 siklus uygulanmıştır. Gen ekspresyonu $2^{-\Delta\Delta Ct}$ tekniği kullanılarak ölçülmüştür (Livak, 2001).

Tablo 4. 1. miRNA ekspresyonu için primer listesi

Gen ismi	RT-primer dizisi	PCR primer dizisi
miR164	ctcaactggtgctggtgagtcgcaattcagttgagtgacgctg	Fw: acactccagctgggtggagaagca Rv: aactggtgctgaggag
miR172	ctcaactggtgctggtgagtcgcaattcagttgagatgcagca	Fw: acactccagctgggagaatcttga Rv: aactggtgctgaggag
miR159	ctcaactggtgctggtgagtcgcaattcagttgagtagagctc	Fw: acactccagctgggttggattga Rv: aactggtgctgaggag
miR168	ctcaactggtgctggtgagtcgcaattcagttgagttcccgac	Fw: acactccagctgggtcgttggtg Rv: aactggtgctgaggag
18S rRNA	Oligo d(T)18; random primer (9 mer)	Fw: gtagcatatgctgtct Rv: gaatgatgctgcagcacaagg

Kaynak: (Li ve arkadaşları ,2012)

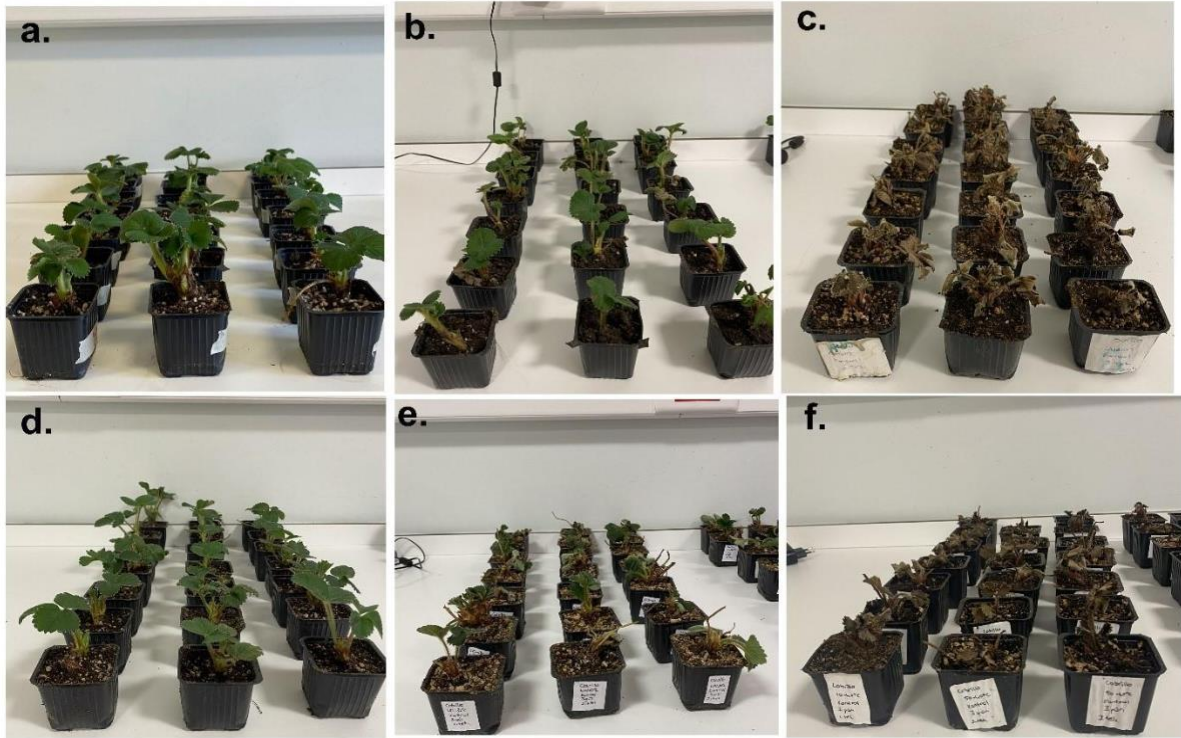
4.7. İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler üç biyolojik ve teknik tekrar olarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analiz eşleştirilmemiş t-testi kullanılarak yapılmış, anlamlılık seviyeleri $p < 0.05$, $p < 0.01$ ve $p < 0.001$ olarak rapor edilmiştir. Grafikler oluşturulmuş ve tek yönlü ANOVA istatistiksel analizi GraphPad Prism 10 yazılımı (GraphPad, ABD) ile gerçekleştirilmiştir.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Yüksek Sıcaklığın Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi

Bu çalışma, yüksek sıcaklık toleransı bakımından farklı kapasitelere sahip iki çilek çeşidinin büyüme parametrelerini incelemiştir (Şekil 5.1.). Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, 'Albion' çeşidinin 40/30 °C (gündüz/gece) koşulları altında sürgün ve kök büyümesinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler görülmemiştir (Tablo 5.1). Buna karşılık, 50/40°C (gündüz/gece) koşullarına maruz bırakılan 'Albion' fideleri 3. güne kadar sürgün büyümesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir. 50/40°C'de yetiştirilen 'Albion' fidelerinin yaprak uzunluğu ve yaprak genişliği kontrol grubuna göre sırasıyla yaklaşık 2.98 ve 1.68 kat daha düşük bulunmuştur.



Şekil 5. 1. Üç gün maruz kalma sonrasında yüksek sıcaklık stresi altındaki iki çilek çeşidinin morfolojik görünümü. a. 'Albion' kontrol grubu (23/18 °C), b. 'Albion' 40/30 °C grubu, c. 'Albion' 50/40 °C grubu, d. 'Cabrillo' kontrol grubu, e. 'Cabrillo' 40/30 °C grubu, f. 'Cabrillo' 50/40 °C grubu.

40/30°C'de 3 ve 5 gün yetiştirilen 'Cabrillo' çeşidi fidelerinin sürgün uzunluğu, 23/18°C'de yetiştirilenlere kıyasla sırasıyla 1.54 ve 1.41 kat daha kısa olmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 3. ve 5. günde hasat edilen gruplarda kök uzunluğu önemli ölçüde azalmış ve sırasıyla 2.28 ve 1.93 kat azalma göstermiştir (Tablo 5.1.). 50/40°C'de yetiştirilen

'Cabrillo' fideleri, kontrol grubuna kıyasla yaprak uzunluğu ve genişliğinde sırasıyla yaklaşık 1.78 kat ve 1.80 kat azalma göstermiştir.

Tablo 5. 1. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklık (40/30 °C ve 50/40 °C) koşullarında yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo' çeşitlerine ait büyüme parametreleri

Albion	Sürgün uzunlu ğu (cm)	Kök uzunluğu (cm)	Yaprak uzunlu ğu (cm)	Yaprak genişliği (cm)
23/18 3. Gün	7.30±1. 28	2.96±0.76	5.95±1.1 5	4.41±0. 98
40/30 3. Gün	8.25±1. 26	3.41±0.55	4.19±1.2 1 ^a	3.33±1. 53
50/40 3. Gün	4.29±0.8 9 ^{ab}	2.93±0.09	2.08±0.9 8 ^{ab}	2.63±0. 67 ^a
23/18 5. Gün	8.72±0. 69 ^a	3.35±0.59	6.58±1.2 3	4.91±1. 18
40/30 5. gün	8.89±1. 67 ^a	3.89±0.96	5.06±0.9 1 ^c	3.44±0. 81 ^c
Cabrillo	Sürgün uzunlu ğu (cm)	Kök uzunluğu (cm)	Yaprak uzunlu ğu (cm)	Yaprak genişliği (cm)
23/18 3. Gün	7.53±0. 80	4.87±0.94	4.13±0.7 9	5.39±0. 81
40/30 3. Gün	4.89±0. 95 ^a	2.14±0.45 ^a	2.98±0.6 9 ^a	3.95±0. 72 ^a
50/40 3. Gün	3.71±0.9 8 ^{ab}	1.84±0.59 ^a	2.32±0.5 7 ^a	3.00±0. 65 ^{ab}
23/18 5. Gün	8.72±0. 89 ^a	5.53±0.98	4.80±0.6 9	6.05±0. 91 ^a
40/30 5. Gün	6.20±0. 77 ^c	2.87±0.90 ^c	3.49±0.9 1 ^c	4.52±0. 93 ^c

a. 'Albion' kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder. b. 'Cabrillo' kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder. c. 'Albion' ve 'Cabrillo' grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder.

5.2. Yüksek Sıcaklığın Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi

Tablo 5.2.'te gösterildiği gibi, 'Albion' çeşidinde 3 ve 5 gün yüksek sıcaklık altında Chla, Chla+b ve Chla/b oranları önemli ölçüde azalmıştır. Ancak, Chlb içeriği 3 ve 5 gün yüksek sıcaklık altında önemli bir değişiklik göstermemiştir. 50/40°C'de yetiştirilen fidelerde Chlb içeriğinde yaklaşık 1.31 kat önemli bir artış gözlenmiştir.

Tablo 5.2.'te gösterildiği gibi 'Cabrillo'ya ait pigment analizi sonuçları sunulmuştur. Yüksek sıcaklık stresi (40/30 °C) altında Chla, Chlb ve Chla/b oranı önemli ölçüde değişmiştir. Chla içeriği 3 ve 5 gün için kontrol gruplarına kıyasla sırasıyla yaklaşık 1.25 ve 1.18 kat artmıştır. Chlb içeriği de 3 ve 5 gün için kontrol gruplarına kıyasla sırasıyla yaklaşık 1.34 ve 1.33 kat artmıştır (Tablo 5.2.). Buna karşılık, 50/40°C'de yetiştirilen fideler Chla içeriğinde yaklaşık 1.7 kat azalma göstermiştir.

Tablo 5. 2.Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklık (40/30 °C ve 50/40 °C) koşullarında yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo' çeşitlerinin pigment içerikleri

Albion	Chla µg.g ⁻¹ FW	Chlb µg.g ⁻¹ FW	Chla+b µg.g ⁻¹ FW	Chla/b	Karotenoid µg.g ⁻¹ FW
23/18-3.gün	2.325±0.03	0.703±0.01	3.028±0.033	3.31±0.05	167.8 2±1.43
40/30-3. Gün	2.12±0.02 ^a	0.653±0.05	2.78±0.02 ^a	3.26±0.03	155.2 1±5.71 ^a
50/40 3. Gün	2.22±0.04 ^{ab}	0.919±0.01 ^{ab}	3.14±0.04 ^b	2.41±0.01 ^{ab}	154.0 2±0.33 ^a
23/18-5. Gün	2.43±0.02	0.826±0.024	3.256±0.033	3.49±0.09 ^a	189.4 2±3.04 ^a
40/30-5. gün	2.21±0.03 ^{ac}	0.792±0.17	2.99±0.09 ^c	2.83±0.04 ^c	179.0 4±0.81 ^c

Cabrillo	Chla µg.g ⁻¹ FW	Chlb µg.g ⁻¹ FW	Chla+b µg.g ⁻¹ FW	Chla/b	Karotenoid µg.g ⁻¹ FW
23/18-3. Gün	2.18±0.03	0.631±0.09	2.81±0.07	3.51±0.56	131.5 9±4.99
40/30-3. Gün	2.73±0.05 ^a	0.844±0.02 ^a	3.601±0.05 ^a	3.27±0.10	226.3 8±1.40 ^a
50/40 3. Gün	1.28±0.05 ^{ab}	0.706±0.03 ^b	1.99±0.07 ^{ab}	1.81±0.01 ^{ab}	15.90 ±1.98 ^{ab}
23/18-5. Gün	2.30±0.07	0.757±0.01	3.06±0.07 ^a	3.04±0.10	178.2 4±3.78 ^a
40/30-5. Gün	2.69±0.04 ^c	1.01±0.09 ^c	3.70±0.12 ^c	2.70±0.18 ^c	231. 47±2.7 ^c

a. 'Albion' kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir,

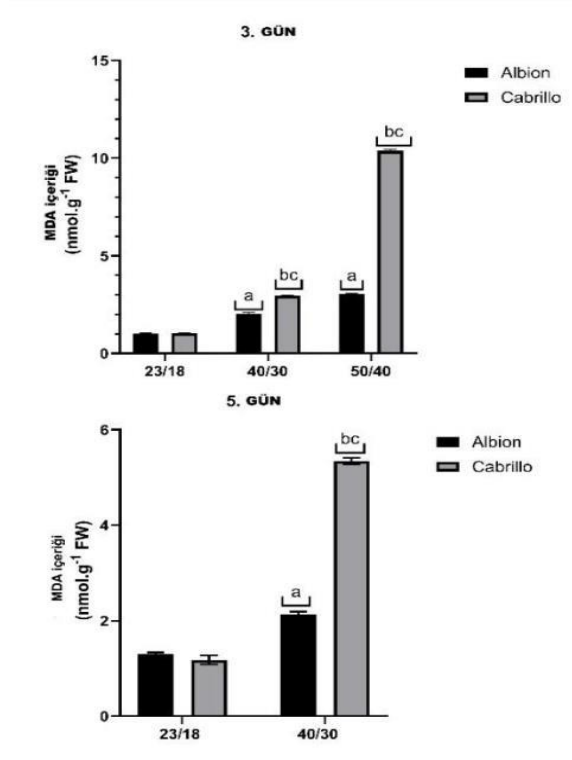
b. 'Cabrillo' kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir,

c. 'Albion' ve 'Cabrillo' grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir.

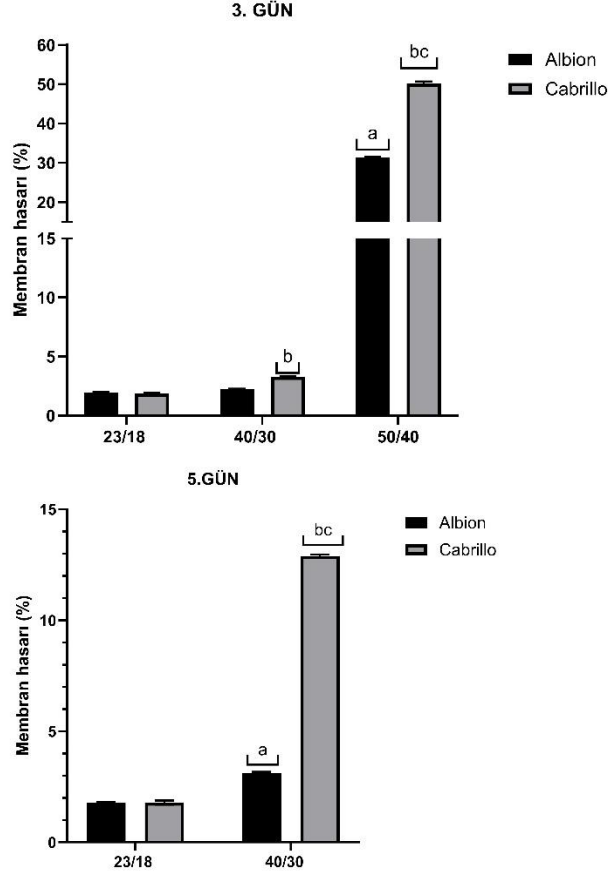
Bu çalışmada, yüksek sıcaklık koşulları altında iki çilek çeşidinde karotenoid içeriğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. 50/30 °C'de 3 gün yetiştirilen 'Cabrillo' çeşidinde karotenoid içeriği kontrole kıyasla 8.28 kat azalmıştır (Tablo 5.2.).

Lipid peroksidasyon sonuçları **Şekil 5.2.**'de gösterilmiştir. Her iki çilek çeşidinde de istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir. Lipid peroksidasyonda en yüksek artış, 50/40 °C'ye 3 gün maruz bırakılan 'Cabrillo' çeşidinde bulunmuştur.

Membran bütünlüğü sonuçları **Şekil 5.3**'te sunulmuştur. Membran bütünlüğü, her iki çilek çeşidinde de 40/30 °C'de maruz kalma süresiyle ilişkili olarak aşamalı bir artış göstermiştir. En yüksek hasar yüzdesi, üç gün boyunca 50/40 °C'ye maruz bırakılan 'Cabrillo' çeşidinde kaydedilmiştir.



Şekil 5. 2. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (50/40 °C) yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo'nun lipid peroksidasyon sonuçları. a. 'Albion' kontrol ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, b. 'Cabrillo' kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, c. 'Albion' ve 'Cabrillo' grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder.



Şekil 5. 3. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (40/30 ve 50/40 °C) yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo'nun membran hasarı (%) sonuçları. a. 'Albion' kontrol ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, b. 'Cabrillo' kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder, c. 'Albion' ve 'Cabrillo' grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı farkı temsil eder.

'Albion' çeşidinde CAT enzim aktivitesi 40/30°C sıcaklık rejimine maruz kaldığında kademeli bir artış sergilemiştir. 40/30°C'de yetiştirilen 'Albion' fidelerinde CAT enzim içeriği 3. günde kontrole kıyasla yaklaşık 1.80 kat artarken, 5 günlük fidelerde 2.07 kat artış gözlenmiştir (Tablo 5.3.). 40/30°C'de yetiştirilen 'Cabrillo' fidelerinde CAT enzim içeriği kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artmıştır. Bu artış 3 ve 5 günlük fidelerde sırasıyla yaklaşık 2.39 ve 1.14 kat ulaşmıştır. Buna karşılık, 50/40°C sıcaklık rejimi altında 'Albion' fidelerinde CAT enzim aktivitesi 1.58 kat azalırken, 'Cabrillo' fideleri kontrollere kıyasla 1.33 kat artış göstermiştir (Tablo 5.3.). GR aktivitesi hem 'Albion' hem de 'Cabrillo' çeşitlerinde 40/30 ve 50/40 °C sıcaklık stresi altında önemli ölçüde artmıştır. 3 günlük 'Albion' fidelerinde APX aktivitesi 40/30°C ve 50/40°C sıcaklık stresi koşulları altında sırasıyla 1.43 kat ve 2.12

kat artış göstermiştir. Buna karşılık, 50/40°C sıcaklık stresine maruz bırakılan 'Cabrillo' fideleri APX aktivitesinde yaklaşık 1.42 kat azalma sergilemiştir (Tablo 5.3.).

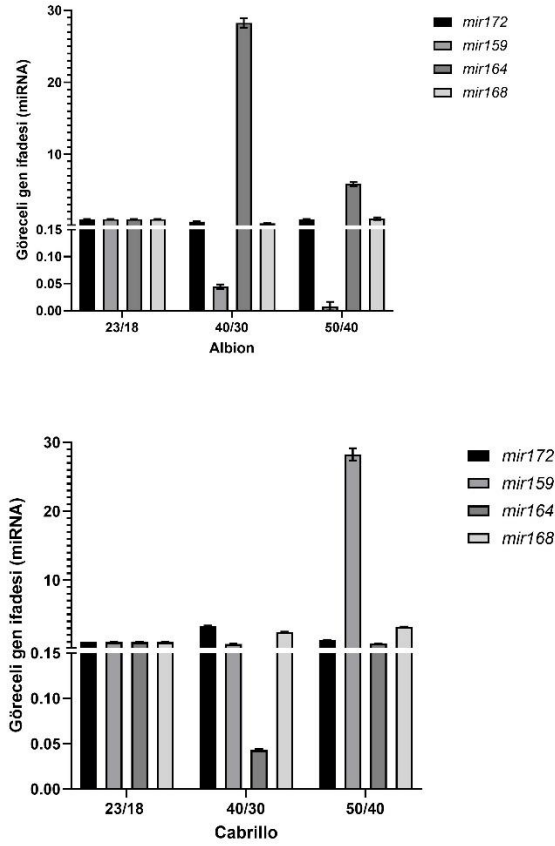
Tablo 5. 3. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklık (40/30 °C ve 50/40 °C) koşullarında yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. Albion ve Cabrillo çeşitlerinin antioksidan enzim aktiviteleri

Albion	CAT (nmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹)	GR (Unit mg ⁻¹ protein)	APX (µmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹)
23/18-3 gün	39.0±0.35	3.67±0.11	232.80±9.52
40/30-3. Gün	70.13±0.59 ^a	17.06±0.57 ^a	334.95±2.23 ^a
50/40-3. Gün	24.71±0.38 ^{ab}	20.66±0.49 ^a	493.95±3.85 ^{ab}
23/18-5. Gün	37.82±0.12	3.12±0.16	243.95±1.46
40/30-5. gün	78.35±0.15 ^c	11.21±0.42 ^c	298.19±0.52
Cabrillo	CAT (nmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹)	GR (Unit mg ⁻¹ protein)	APX (µmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹)
23/18-3. Gün	30.85±0.90	2.55±0.05	265.32±0.84
40/30-3. Gün	73.66±0.67 ^a	5.47±0.17 ^a	273.56±0.65 ^a
50/40-3. Gün	41.18±0.86 ^{ab}	5.89±0.71 ^a	186.95±0.48 ^{ab}
23/18-5. Gün	36.33±0.77	2.78±0.10	194.36±0.92 ^a
40/30-5. Gün	41.51±0.60 ^a	3.33±0.04 ^c	186.53±0.85 ^c

a Albion kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir,
b. Cabrillo kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir,
c. Albion ve Cabrillo grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir.

5.3. Yüksek Sıcaklığın Gen Ekspresyonu Üzerine Etkisi

Bu çalışma, hem 'Albion' hem de 'Cabrillo' çeşitlerinde değişen sıcaklık uygulamalarına yanıt olarak miR172, miR159, miR164 ve miR168'in diferansiyel ekspresyonlarını belirlemiştir. miR164 yüksek sıcaklık stresi altında önemli ölçüde yukarı düzenlenmiş (40/30°C'de 28.25 kat ve 50/40°C'de 5.86 kat), miR159 ekspresyonu ise aşağı düzenlenmiştir (Şekil sırasıyla 1.17 kat ve 12.89 kat).



Şekil 5. 4. Normal (23/18 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (40/30 ve 50/40 °C) yetiştirilen *Fragaria x ananassa* cv. 'Albion' ve 'Cabrillo'nun miRNA gen ifadesi sonuçları

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yüksek sıcaklık stresi, bitki gelişimi ve üretkenlik süreçleri üzerinde yaygın bir sınırlayıcı faktördür. Sürgün ve kök uzunluğunda azalma gibi spesifik morfolojik belirtileri tetikler (Muneer vd., 2016). Önceki çalışmalar, çilek çeşitlerine 40/35 °C uygulanmasının yaprak alanı, sürgün biyokütlesi ve yaprak biyokütlesinde düşüşe neden olduğunu göstermiştir (Kadir ve Sidhu 2006). Ancak, yüksek sıcaklığın çilek çeşidi biyokütle verimi ve sürgün büyümesi üzerindeki etkisi genotipe bağlı olarak değişebilmektedir (Kadir ve Sidhu 2006). Bu çalışmada, 'Albion' çeşidinde 40/30 °C koşulları altında sürgün büyümesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmemiştir (Şekil4.1.). Ancak, aynı koşullar altında 'Cabrillo' çeşidinde sürgün büyümesinin azaldığı belirlenmiştir.

İlginç bir şekilde, önceki çalışmalar yüksek sıcaklıkların (30-40 °C) sürgün büyümesini baskılamaktan çok kök gelişimini etkilediğini öne sürmektedir (Kadir vd., 2006). Seymour vd. (2024), sıcaklığa aklimatize olmuş plantletlerde köklerin sürgünlere kıyasla daha yavaş geliştiğini göstermiştir. Calleja-Cabrera vd. (2020) de köklerin yüksek sıcaklıklara maruz kalmasının kök büyümesini baskılayabileceğini ve birinci yan kök sayısını azaltırken ikinci ve üçüncü dereceden yan kök sayısını artırabileceğini göstermiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada 23/18 °C'de yetiştirilen fidelere kıyasla her iki çeşitte de kök gelişimi baskılanmıştır (Tablo 5.1.). Bu durum, sıcaklık uygulaması nedeniyle kök bölgesi sıcaklığındaki artış ve kök sisteminin sürgünlere kıyasla daha hassas olmasına bağlanabilir.

Pigmentlerin konsantrasyonu ve kompozisyonu fotosentez ile yakından ilişkilidir; artan sıcaklık stresi klorofil seviyelerinde azalmaya ve fotosentetik verimlilikte düşüşe yol açar. Önceki çalışmalar, klorofil içeriğindeki azalmanın bir türün çeşitleri arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (Balouchi 2010; Reda ve Mandoura 2011; Kesici vd., 2013; Abdelaal vd., 2021). Klorofil içeriği ayrıca abiyotik strese adaptasyonun önemli bir belirteçidir (Ristic vd., 2007). Bu çalışmada, iki farklı çilek çeşidi klorofil içeriğine göre karşılaştırılarak yüksek sıcaklık tolerans kapasiteleri belirlenmiştir. 'Albion' çeşidinin 40/30 ve 50/40 °C sıcaklıklarında toplam klorofil, klorofil a ve klorofil b içeriği için 'Cabrillo' çeşidinden daha yüksek stabilite seviyeleri koruduğu gözlenmiştir. Çok sayıda çalışma da klorofil degradasyonunun, özellikle klorofil a/b oranının, stres tarafından tetiklenen oksidatif süreçleri tespit etmek için güvenilir bir belirteç olduğunu göstermiştir (Gosavi vd., 2014; Seymour vd., 2024). Tablo 7.2'te belirtildiği gibi, 'Albion' çeşidinde 3 gün yüksek sıcaklık stresi altında klorofil a/b oranı belirgin şekilde değişmemiştir. Ayrıca, önceki çalışmalar klorofil degradasyonunun yüksek sıcaklıklara aklimatize olan bitkilerde olduğu kadar aklimatize

olmayanlarda da gözleendiğini, ancak bu degradasyonun aklimatize bitkilerde daha yavaş bir hızda gerçekleştiğini öne sürmüştür (Gosavi vd., 2014). Benzer şekilde, 'Albion' çeşidi uzun süreli yüksek sıcaklık maruziyetinde (50/40 °C) klorofil a/b oranında azalma göstermiş, ancak bu azalma 'Cabrillo' çeşidinde gözlenen düşüşe kıyasla nispeten daha az dramatik olmuştur (Tablo 5.2). Karotenoidler de reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleme özelliklerine bağlı olarak nonenzimatik antioksidan mekanizmalarda önemli bileşiklerdir. Manafi vd. (2021) çileğin yaprak karotenoid içeriğinin ısı uygulamaları ile önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Xiao vd. (2022) de *F. × ananassa* Duch.'ta yüksek sıcaklık koşulları altında karotenoid içeriğinin azaldığını göstermiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada karotenoid içeriğinin yüksek sıcaklık uygulaması ile arttığı ve çilek çeşitlerinin tolerans kapasitesine bağlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Tablo 5.2.).

Hem enzimatik hem de non-enzimatik hücrel antioksidan mekanizmalar, yüksek sıcaklıklara adaptasyon için hayati öneme sahiptir. Bu antioksidanlar, yüksek sıcaklık stresi sırasında üretilen ROS' lara karşı savunmada önemli bir rol oynar (Chakraborty ve Pradhan vd., 2011; Ergin vd., 2016). CAT, hidrojen peroksiti etkili bir şekilde uzaklaştırmada özellikle önemlidir (Willekens vd., 1997). Araştırma bulguları, CAT enzimlerinin aktivasyonu veya deaktivasyonu ile farklı çeşitlerde gözlenen tolerans seviyeleri arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Almeselmani vd., 2009; Seymour vd., 2024). Benzer şekilde, bu çalışmada maruz kalma süresine bağlı olarak lipid peroksidasyon oranı ve membran hasarı seviyesinin daha düşük olduğu 'Albion' çeşitlerinde CAT, GR ve APX aktivitesinde önemli bir artış gözlenmiştir (Tablo 5.3). Ancak, yüksek sıcaklık altında oksidatif stresin yüksek olduğu 'Cabrillo'da CAT ve APX aktivitesi uygulama süresine bağlı olarak azalmıştır (Tablo 5.3).

MiRNA aracılı post-transkripsiyonel düzenleme, bitkilerin yüksek sıcaklık stresi ile başa çıkmak için kullandığı mekanizmalardan biridir (Zhang vd., 2022). Önceki çalışmalar, miR159, miR164 ve miR172'nin çeşitli bitki türlerinde stres yanıtlarında önemli roller oynadığını göstermektedir. miR159'un yüksek sıcaklıklar altında aşağı düzenlendiği ve miR159-MYB hedef modülünün sıcaklık stresinde önemli bir düzenleyici rol oynayabileceği çalışmalarla ortaya konmuştur (Zhang vd., 2019). Ancak, literatür yüksek sıcaklıklara yanıt olarak miR159'un düzenlenmesi konusunda çelişkili kanıtlar sunmaktadır. (Xin vd. 2010) miR159'un aşağı düzenlendiğini gösterirken, Wang vd. (2012) yüksek sıcaklıklarla 2 saatlik uygulamanın miR159 geninin yukarı düzenlenmesine yol açtığını belirtmiştir. Bu çalışmada, miR159'un ısıya dayanıklı 'Albion' çeşidinde 50/40 °C'de aşağı düzenlendiği, ısıya duyarlı 'Cabrillo' çeşidinde ise yukarı düzenlendiği belirlenmiştir (Şekil 5.4). Bu veriler, miR159'un

baskılanmasının yüksek sıcaklık altında çilek çeşitlerinin tolerans kapasitesini artırabileceğini öne sürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma moleküler ve fizyolojik yanıtlar yoluyla 'Albion' ve 'Cabrillo' çeşitlerinin yüksek sıcaklıklara karşı tolerans kapasitelerini belirlemiştir. 'Cabrillo' çeşidinin sıcaklığa duyarlı olduğu literatürde ilk kez belirtilmiştir.

Fizyolojik değerlendirmeler sonucunda, yüksek sıcaklık uygulamalarında özellikle 'Cabrillo' çeşidinde fotosentetik aktivitenin ve yaprak su içeriğinin 'Albion'a kıyasla daha az etkilendiği, buna bağlı olarak stoma iletkenliği ve klorofil içeriğinin de daha yüksek düzeyde korunduğu belirlenmiştir. Düşük sıcaklık koşullarında ise 'Albion' çeşidinde büyüme hızında ve yaprak canlılığında daha fazla azalma gözlenmiştir. Bu durum, Cabrillo'nun sıcaklık stresine karşı daha dayanıklı bir fizyolojik yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

Biyokimyasal analizler incelendiğinde, sıcaklık değişimleriyle birlikte antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, CAT, GR vb.) anlamlı farklılıklar meydana geldiği görülmüştür. Yüksek sıcaklık altında 'Cabrillo'da CAT ve GR enzim aktivitelerinin belirgin biçimde arttığı, bu artışın oksidatif hasarın azaltılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. 'Albion' çeşidinde ise aynı koşullarda bu enzim aktivitelerinin daha düşük kalması, membran hasarının artmasına ve MDA düzeylerinin yükselmesine neden olmuştur. Düşük sıcaklıkta da benzer şekilde 'Cabrillo'nun biyokimyasal savunma sistemini daha etkin biçimde aktive ettiği görülmüştür.

Gen ekspresyonu analizleri sonuçları, düzenleyici mikroRNA'ların (özellikle miR159) ekspresyon düzeyleri, sıcaklık stresine yanıt olarak çeşitler arasında farklı düzenlenme eğilimleri göstermiştir. Bu sonuçlar, 'Cabrillo' çeşidinin stres koşullarında adaptasyon mekanizmalarını daha etkin biçimde harekete geçirdiğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, sıcaklık stresine karşı 'Cabrillo' çeşidi fizyolojik dayanıklılık, biyokimyasal savunma ve gen ekspresyonu düzenlenmesi açısından 'Albion' çeşidine göre daha toleranslı bulunmuştur. Bu durum, sıcaklık değişimlerinin yarattığı oksidatif stresin yönetiminde 'Cabrillo'nun daha etkin bir antioksidan sistemi ve stresle ilişkili gen ağına sahip olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdelaal, K., AlKahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L., & Künstler, A.** (2021). The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. *Biology*, *10*(6), 520.
- Aebi, H.** (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, *105*, 121-126.
- Ahmed, W., Xia, Y., Zhang, H., Li, R., Bai, G., Siddique, K. H. M.** (2019). Identification of conserved and novel miRNAs responsive to heat stress in flowering Chinese cabbage using high-throughput sequencing. *Sci. Rep.*, *9*, 14922
- Almeselmani, M., Deshmukh, P., & Sairam, R.** (2009). High temperature stress tolerance in wheat genotypes: role of antioxidant defence enzymes. *Acta Agron Hung*, *57*, 1-14.
- Andrási, N., Pettkó-Szandtner, A., & Szabados, L.** (2021). Diversity of plant heat shock factors: regulation, interactions, and functions. *Journal of Experimental Botany*, *72*(5), 1558-1575.
- Arshad, M., Puri, A., Simkovich, A. J., Renaud, J., Gruber, M. Y., Marsolais, F.** (2020). Label-free quantitative proteomic analysis of alfalfa in response to microRNA156 under high temperature. *BMC Genomics*, *21*, 758.
- Baek, D., Kim, M. C., Chun, H. J., Kang, S., Park, H. C., Shin, G.** (2013). Regulation of miR399f transcription by AtMYB2 affects phosphate starvation responses in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, *161*, 362–373.
- Balouchi, H. R.** (2010). Screening wheat parents of mapping population for heat and drought tolerance, detection of wheat genetic variation. *Int J Nucl Quantum Eng*, *4*(6), 431-441.
- Baniwal, S. K., Bharti, K., Chan, K. Y., Fauth, M., Ganguli, A., Kotak, S., ... & Scharf, K. D.** (2007). Heat stress response in plants: a complex game with chaperones and more than twenty heat stress transcription factors. *Journal of Biosciences*, *32*(4), 717-739.
- Begum, S.** (2022). Heat stress and plants: How do plants respond to excess temperature? *In Plant Stress Physiology. IntechOpen.*
- Bradford, M. M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, *72*, 248-254.
- Busch, W., Wunderlich, M., & Schöffl, F.** (2005). Identification of novel heat shock factor-dependent genes and biochemical pathways in Arabidopsis thaliana. *Plant J*, *41*(1), 1-14.
- Calleja-Cabrera, J., Boter, M., Oñate-Sánchez, L., & Pernas, M.** (2020). Root growth adaptation to climate change in crops. *Front. Plant Sci*, *11*, 544.
- Chakraborty, U., & Pradhan, D.** (2011). High temperature-induced oxidative stress in *Lens culinaris*, role of antioxidants and amelioration of stress by chemical pre-treatments. *J. Plant Interact*, *6*(1), 43-52.

- Chen, C. F., Ridzon, D. A., Broomer, A. J., Zhou, Z. H., Lee, D. H., Nguyen, J. T., ... & Guegler, K. J.** (2005). Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res*, *33*, 179–187.
- Chen, G., Xu, P., Pan, J., Li, Y., Zhou, J., Kuang, H., & Lian, H.** (2020). Inhibition of FvMYB10 transcriptional activity promotes color loss in strawberry fruit. *Plant Sci*, *298*, 110578.
- Chen, H., Hwang, J. E., Lim, C. J., Kim, D. Y., Lee, S. Y., & Lim, C. O.** (2010). Arabidopsis DREB2C functions as a transcriptional activator of HsfA3 during the heat stress response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *401*(2), 238-244.
- Chen, J., Pan, A., He, S., Su, P., Yuan, X., Zhu, S.** (2020). Different microRNA families involved in regulating high temperature stress response during cotton (*Gossypium hirsutum* L.) anther development. *Int. J. Mol. Sci.*, *21*, 1280
- Correa, J. P. O., Silva, E. M., & Nogueira, F. T. S.** (2018). Molecular control by non-coding RNAs during fruit development: from gynoecium patterning to fruit ripening. *Front. Plant Sci.*, *9*, 1760.
- Creighton, C. J., Reid, J. G., & Gunaratne, P. H.** (2009). Expression profiling of microRNAs by deep sequencing. *Brief. Bioinform.*, *10*, 490–497.
- Davoodi Mastakani, F., Pagheh, G., Rashidi Monfared, S., & Shams-Bakhsh, M.** (2018). Identification and expression analysis of a microRNA cluster derived from preribosomal RNA in *Papaver somniferum* L. and *Papaver bracteatum* L. *PLoS ONE*, *13*, e0199673.
- Dolferus, R.** (2005). The transcription factor ATAF2 represses the expression of pathogenesis-related genes in Arabidopsis. *Plant Journal*, *43*(5), 745-757.
- Du, H., Yang, S. S., Liang, Z., Feng, B. R., Liu, L., Huang, Y. B., & Tang, Y. X.** (2012). Genome-wide analysis of the MYB transcription factor superfamily in soybean. *BMC Plant Biol.*, *12*, 106..
- Ergin, S., Gülen, H., Kesici, M., Turhan, E., Ipek, A., & Köksal, N.** (2016). Effects of high temperature stress on enzymatic and nonenzymatic antioxidants and proteins in strawberry plants. *Turk J Agric For*, *40*(6), 908-917.
- Fahlgren, N., Howell, M. D., Kasschau, K. D., Chapman, E. J., Sullivan, C. M., Cumbie, J. S.** (2007). High-throughput sequencing of Arabidopsis microRNAs: evidence for frequent birth and death of MIRNA genes. *PLoS ONE*, *2*, e219.
- Fragkostefanakis, S., Röth, S., Schleiff, E., & Scharf, K. D.** (2015). Prospects of engineering thermotolerance in crops through modulation of heat stress transcription factor and heat shock protein networks. *Plant, Cell & Environment*, *38*(9), 1881-1895.

- Gao, R., Wang, Y., Gruber, M. Y., & Hannoufa, A.** (2017). miR156/SPL10 modulates lateral root development, branching and leaf morphology in Arabidopsis by silencing AGAMOUS-LIKE 79. *Front. Plant Sci.*, 8, 2226
- Gosavi, G. U., Jadhav, A. S., Kale, A. A., Gadakh, S. R., Pawar, B. D., & Chimote, V. P.** (2014). Effect of heat stress on proline, chlorophyll content, heat shock proteins and antioxidant enzyme activity in sorghum (*Sorghum bicolor*) at seedlings stage. *Indian J. Biotechnol*, 13, 356-363.
- Gou, J. Y., Felippes, F. F., Liu, C. J., Weigel, D., & Wang, J. W.** (2011). Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis by a miR156-targeted SPL transcription factor. *Plant Cell*, 23, 1512–1522.
- Griffiths-Jones, S., Saini, H. K., van Dongen, S., & Enright, A. J.** (2008). miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res.*, 36, D154–D158.
- Grover, A., Mittal, D., Negi, M., & Lavania, D.** (2013). Generating high temperature tolerant transgenic plants: achievements and challenges. *Plant Sci.*, 205–206, 38–47.
- Guérin, C., Roche, J., Allard, V., Ravel, C., Mouzeyar, S., & Bouzidi, M. F.** (2019). Genome-wide analysis, expansion and expression of the NAC family under drought and heat stresses in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS One*, 14(7), e0213390.
- Guo, N., Ye, W. W., Wu, X. L., Shen, D. L., Wang, Y. C., Xing, H.** (2018). Relationships between seed lifespan and other seed traits in 69 desert species from Xinjiang, China. *Sci. Rep.*, 8, 12
- Guo, W., Zhang, J., Xin, M., Peng, H., Hu, Z., Ni, Z., & Du, J.** (2015). The wheat NAC transcription factor TaNAC2L is regulated at the transcriptional and post-translational levels and promotes heat stress tolerance in transgenic Arabidopsis. *PLoS ONE*, 10, e0135667.
- Guo, W., Zhang, J., Zhang, N., Xin, M., Peng, H., Hu, Z., ... & Yao, Y.** (2015). The wheat NAC transcription factor TaNAC2L is regulated at the transcriptional and post-translational levels and promotes heat stress tolerance in transgenic Arabidopsis. *PLoS One*, 10(9), e0135667.
- Ha, M., & Kim, V. N.** (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 15, 509–524
- Hahn, A., Bublak, D., Schleiff, E., & Scharf, K. D.** (2011). Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 chaperones and heat stress transcription factors in tomato. *The Plant Cell*, 23(2), 741-755.
- Haider, S., Rehman, A., Alam, I., & Ahmad, A.** (2021). Molecular mechanisms of plant tolerance to heat stress: current landscape and future perspectives. *Plant Cell Reports*, 40(12), 2247-2271.
- Hayes, S., Schachtschabel, J., Mishkind, M., Munnik, T., Arisz, S. A., Darwish, E., & Kudla, J.** (2021). Hot topic: thermosensing in plants. *Plant, Cell & Environment*, 44(9), 2581-2599.

- Hu, H., Dai, M., Yao, J., Xiao, B., Li, X., Zhang, Q., & Xiong, L.** (2006). Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(35), 12987-12992.
- Jacob, P., Hirt, H., & Bendahmane, A.** (2017). The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnology Journal*, 15(4), 405-414.
- Jian, B., Liu, B., Bi, Y., Hou, W., Wu, C., & Han, T.** (2010). Validation of internal control for gene expression study in soybean by quantitative real-time PCR. *BMC Mol. Biol.*, 11, 63.
- Jin, J., Tian, F., Yang, D. C., Meng, Y. Q., Kong, L., Luo, J., & Gao, G.** (2017a). PlantTFDB 4.0: toward a central hub for transcription factors and regulatory interactions in plants. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D1040-D1045.
- Jin, X., Cao, D., Wang, Z., Ma, L., Tian, K., Liu, Y., ... & Chen, Q.** (2020). Genome-wide identification and expression profile analysis of the NAC transcription factor family in *Glycine max*. *PLoS One*, 15(7), e0235740.
- Jones-Rhoades, M. W., & Bartel, D. P.** (2004). Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Mol. Cell*, 14, 787–799.
- Kadir, S., Sidhu, G., & Al-Khatib, K.** (2006). Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) growth and productivity as affected by temperature. *HortScience*, 41(6), 1423–1430.
- Karabal, E., Yücel, M., & Öktem, H. A.** (2003). Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Sci*, 164(6), 925-933.
- Kerchev, P., Van Der Meer, T., Sujeeth, N., Verlee, A., Stevens, C. V., Van Breusegem, F., et al.** (2020). Molecular priming as an approach to induce tolerance against abiotic and oxidative stresses in crop plants. *Biotechnol. Adv.*, 40, 107503.
- Kesici, M., Gulen, H., Ergin, S., Turhan, E., Ipek, A., & Koksal, N.** (2013). Heat-stress tolerance of some strawberry (*Fragaria × ananassa*) cultivars. *Not Bot Horti Agrobo*, 41, 244-249.
- Kesici, M., Ipek, A., Ersoy, F., Ergin, S., & Gülen, H.** (2020). Genotype-dependent gene expression in strawberry (*Fragaria × ananassa*) plants under high temperature stress. *Biochem Genet*, 58(6), 848-866.
- Kohli, S. K., Handa, N., Sharma, A., Gautam, V., Arora, S., Bhardwaj, R., ... & Ahmad, P.** (2019). ROS signaling in plants under heavy metal stress. *Reactive oxygen species in plants: Boon or bane—revisiting the role of ROS*, 319-347.
- Kotak, S., Vierling, E., Baumlein, H., & Koskull-Döring, P.** (2007). A novel transcriptional cascade regulating expression of heat stress proteins during seed development of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19(1), 182–195.
- Kozomara, A., & Griffiths-Jones, S.** (2011). miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res.*, 39, D152–D157. 2631-2642.

- Ledesma, N. A., & Kawabata, S.** (2016). Responses of two strawberry cultivars to severe high temperature stress at different flower development stages. *Sci Horti*c, 211, 319-327.
- Ledesma, N., & Sugiyama, N.** (2005). Pollen quality and performance in strawberry plants exposed to high-temperature stress. *J Am Soc Horti*c Sci, 130(3), 341-347.
- Li, B., Liu, H. T., Sun, D. Y., & Zhou, R. G.** (2004). Ca²⁺ and calmodulin modulate DNAbinding activity of maize heat shock transcription factor in vitro. *Plant and Cell Physiology*, 45(6), 627-634.
- Li, F., Wang, W., Zhao, N., Xiao, B., Cao, P., Wu, X.**(2015). Regulation of nicotine biosynthesis by an endogenous target mimicry of microRNA in tobacco. **Plant Physiol.**, 169, 1062–1071.
- Li, H., Zhao, X., Dai, H., Wu, W., Mao, W., & Zhang, Z.** (2012). Tissue culture responsive microRNAs in strawberry. *Plant Mol Biol Report*, 30, 1047–1054.
- Li, W. H., Zhong, J. L., Zhang, L. H., Wang, Y., Song, P. H., Liu, W. D., Li, X. G., & Han, D. G.** (2022). Overexpression of a *Fragaria vesca* MYB transcription factor gene (FvMYB82) increases salt and cold tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Int J Mol Sci*, 23(18), 10538.
- Li, Z. G., Long, W. B., Yang, S. Z., Wang, Y. C., & Tang, J. H.** (2018). Signaling molecule methylglyoxal-induced thermotolerance is partly mediated by hydrogen sulfide in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Acta Physiol Plant*, 40, 76.
- Li, Z., Xu, J., Gao, Y., Wang, C., Guo, G., Luo, Y., ... & Xie, Y.** (2018). The synergistic priming effect of exogenous salicylic acid and H₂O₂ on chilling tolerance enhancement during maize (*Zea mays* L.) seed germination. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1153.
- Liao, C. C., Zheng, Y., & Guo, Y.** (2017). MYB30 transcription factor regulates oxidative and heat stress responses through ANNEXINs- mediated cytosolic calcium signaling in *Arabidopsis*. *New Phytol.*, 216, 163–177.
- Lin, J. S., Kuo, C. C., Yang, I. C., Tsai, W. A., Shen, Y. H., Lin, C. C.** (2018). MicroRNA160 modulates plant development and heat shock protein gene expression to mediate heat tolerance in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.*, 9, 68.
- Lin, Y., & Lai, Z.** (2013). Comparative analysis reveals dynamic changes in miRNAs and their targets and expression during somatic embryogenesis in longan (*Dimocarpus longan* Lour.). *PLoS ONE*, 8, e60337.
- Liu, G., Li, X., Jin, S., Liu, X., Zhu, L., Nie, Y., & Zhang, X.** (2014). Overexpression of rice NAC gene SNAC1 improves drought and salt tolerance by enhancing root development and reducing transpiration rate in transgenic cotton. *PLoS One*, 9(1), e86895.
- Liu, H. C., & Charng, Y. Y.** (2013). Common and distinct functions of *Arabidopsis* class A1 and A2 heat shock factors in diverse abiotic stress responses and development. *Plant Physiology*, 163(1), 276-290.

- Liu, H. H., Tian, X., Li, Y. J., Wu, C. A., & Zheng, C. C.** (2008). Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *RNA*, *14*, 836–843.
- Liu, S., Wang, J., Wang, L., Wang, X., Xue, Y., Wu, P., & Shou, H.** (2009). Adventitious root formation in rice requires OsGNOM1 and is mediated by the OsPINs family. *Cell Research*, *19*(9), 1110-1119.
- Liu, X., Hong, L., Li, X. Y., Yao, Y., Hu, B., & Li, L.** (2019). Improved drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* overexpressing a NAC transcription factor from *Aeluropus litoralis*. *Plant Cell Reports*, *38*(8), 1053-1063.
- Liu, Z., Qanmber, G., Lu, L., Qin, W., Liu, J., Li, J., ... & Yang, Z.** (2018). Genome-wide analysis of BES1 genes in *Gossypium* revealed their evolutionary conserved roles in brassinosteroid signaling. *Science China Life Sciences*, *61*(12), 1566-1582.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D.** (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, *25*(4), 402-408. [h](#)
- Llave, C., Xie, Z., Kasschau, K. D., & Carrington, J. C.** (2002). Cleavage of scarecrow-like mRNA targets directed by a class of *Arabidopsis* miRNA. *Science*, *297*, 2053–2056.
- Lohmann, C., Eggers-Schumacher, G., Wunderlich, M., & Schöffl, F.** (2004). Two different heat shock transcription factors regulate immediate early expression of stress genes in *Arabidopsis*. *Mol Genet Genomic*, *271*(1), 11-21.
- Lu, C., Kulkarni, K., Souret, F. F., Muthuvallappan, R., Tej, S. S., Poethig, R. S., et al.** (2006). MicroRNAs and other small RNAs enriched in the *Arabidopsis* RNA-dependent RNA polymerase-2 mutant. *Genome Res.*, *16*, 1276–1288.
- Lu, M., Ying, S., Zhang, D. F., Shi, Y. S., Song, Y. C., Wang, T. Y., & Li, Y.** (2015). A maize stress-responsive NAC transcription factor, ZmSNAC1, confers enhanced tolerance to dehydration in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports*, *34*(7), 1191-1204.
- Manafi, H., Baninasab, B., Gholami, M., & Talebi, M.** (2021). Nitric oxide induced thermotolerance in strawberry plants by activation of antioxidant systems and transcriptional regulation of heat shock proteins. *J Horti Sci Biotech*, *96*(6), 783–796.
- Maugarny-Calès, A., Hawkins, S., Neutelings, G., Schäfer, U. A., & Ranocha, P.** (2016). Temporal expression pattern of NAC transcription factors suggests a role in regulating secondary cell wall formation in flax stems. *Planta*, *244*(5), 1061-1073.
- Mittler, R., Finka, A., & Goloubinoff, P.** (2012). How do plants feel the heat? *Trends in Biochemical Sciences*, *37*(3), 118-125.
- Muneer, S., Ko, C. H., Wei, H., Chen, Y., & Jeong, B. R.** (2016). Physiological and proteomic investigations to study the response of tomato graft unions under temperature stress. *PLoS One*, *11*(6), e0157439.

- Nuruzzaman, M., Manimekalai, R., Sharoni, A. M., Satoh, K., Kondoh, H., Ooka, H., & Kikuchi, S.** (2010). Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice. *Gene*, 465(1-2), 30-44.
- Ohama, N., Kusakabe, K., Mizoi, J., Zhao, H., Kidokoro, S., Koizumi, S., ... & Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2016). The transcriptional cascade in the heat stress response of Arabidopsis is strictly regulated at the level of transcription factor expression. *The Plant Cell*, 28(1), 181-201.
- Ohama, N., Sato, H., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2017). Transcriptional regulatory network of plant heat stress response. *Trends in Plant Science*, 22(1), 53-65.
- Pan, C., Ye, L., Zheng, Y., Wang, Y., Yang, D., Liu, X.** (2017). Identification and expression profiling of microRNAs involved in the stigma exertion under high-temperature stress in tomato. *BMC Genomics*, 18, 843.
- Pegler, J. L., Oultram, J. M. J., Grof, C. P. L., & Eamens, A. L.** (2019). Profiling the abiotic stress responsive microRNA landscape of Arabidopsis thaliana. *Plants*, 8, 58. d
- Pereira-Santana, A., Rodriguez-Zapata, L. C., Castano, E., Sanchez-Teyer, L. F., & Giglioli-Guivarc'h, N.** (2015). Comparative analysis of NAC transcription factors in pineapple and other plant species: insights into NAC phylogeny and evolution. *PLoS One*, 10(6), e0129270.
- Plotnikova, A., Kellner, M. J., Schon, M. A., Mosiolek, M., & Nodine, M. D.** (2019). MicroRNA dynamics and functions during Arabidopsis embryogenesis. *Plant Cell*, 31, 2929–2946.
- Qu, A. L., Ding, Y. F., Jiang, Q., & Zhu, C.** (2013). Molecular mechanisms of the plant heat stress response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 432(2), 203-207.
- Ragupathy, R., Ravichandran, S., Mahdi, M. S., Huang, D., Reimer, E., Domaratzki, M.,** (2016). Deep sequencing of wheat sRNA transcriptome reveals distinct temporal expression pattern of miRNAs in response to heat, light and UV. *Sci. Rep.*, 6, 39373.
- Ravichandran, S., Ragupathy, R., Edwards, T., Domaratzki, M., & Cloutier, S.** (2019). MicroRNA-guided regulation of heat stress response in wheat. *BMC Genomics*, 20, 488.
- Reda, F., & Mandoura, H. M.** (2011). Response of enzymes activities, photosynthetic pigments, proline to low or high temperature stressed wheat plant (*Triticum aestivum* L.) in the presence or absence of exogenous proline or cysteine. *Int J Acad Res*, 3(4), 108-115.
- Reinhart, B. J., Weinstein, E. G., Rhoades, M. W., Bartel, B., & Bartel, D. P.** (2002). MicroRNAs in plants. *Genes Dev.*, 16, 1616–1626.
- Ristic, Z., Bukovnik, U., Prasad, P. V., & West, M.** (2008). A model for prediction of heat stability of photosynthetic membranes. *Crop Sci*, 48, 1513-1522.
- Saidi, Y., Finka, A., Muriset, M., Bromberg, Z., Weiss, Y. G., Maathuis, F. J., & Goloubinoff, P.** (2009). The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane. *The Plant Cell*, 21(9), 2829-2843.

- Sato, H., Mizoi, J., Tanaka, H., Maruyama, K., Qin, F., Osakabe, Y., ... & Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2014). Arabidopsis DPB3-1, a DREB2A interactor, specifically enhances heat stress-induced gene expression by forming a heat stress-responsive transcriptional complex with NF-Y subunits. *The Plant Cell*, 26(12), 4954-4973.
- Schramm, F., Larkindale, J., Kiehlmann, E., Ganguli, A., English, G., Vierling, E., & von Koskull-Döring, P.** (2008). A cascade of transcription factor DREB2A and heat stress transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of Arabidopsis. *The Plant Journal*, 53(2), 264-274.
- Secic, E., Liber, Z., Ambriovic-Ristov, A., Antunovic Dunić, J., Paradžik, T., Žutic, I., et al.** (2021). Annotation of miRNAs and their targets in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Genes*, 12, 1339.
- Seymour, Z. J., Mercedes, J. F., & Fang, J. Y.** (2024). Effect of heat acclimation on thermotolerance of strawberry plantlets. *Folia Hortic*, 36, 135-147. .
- Shaw, D. V., & Larson, K. D.** (2006). U.S. Patent Application No. 10/769,471.
- Siddiqui, H., Hayat, S., & Bajguz, A.** (2019). Regulation of photosynthesis by brassinosteroids in plants. *Acta Physiol. Plant.*, 40, 59.
- Siddiqui, M. H., Al-Khaishany, M. Y., Al-Qutami, M. A., Al-Whaibi, M. H., Grover, A., Ali, H. M., ... & Bukhari, N. A.** (2018). Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3481.
- Sihag, P., Sagwal, V., Kumar, A., Balyan, P., Mir, R. R., Dhankher, O. P., et al.** (2021). Discovery of miRNAs and development of heat-responsive miRNA-SSR markers for characterization of wheat germplasm for terminal heat tolerance breeding. *Front. Genet.*, 12, 699420.
- Souer, E., van Houwelingen, A., Kloos, D., Mol, J., & Koes, R.** (1996). The no apical meristem gene of *Petunia* is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell*, 85(2), 159-170.
- Stief, A., Altmann, S., Hoffmann, K., Pant, B. D., Scheible, W. R., & Baurle, I.** (2014). Arabidopsis miR156 regulates tolerance to recurring environmental stress through SPL transcription factors. *Plant Cell*, 26, 1792–1807.
- Sun, X., Xu, L., Wang, Y., Luo, X., Zhu, X., Kinuthia, K. B.** (2019). Transcriptome-based gene expression profiling identifies differentially expressed genes critical for salt stress response in radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Cell Rep.*, 38, 207–227.
- Sunkar, R., Girke, T., Jain, P. K., & Zhu, J. K.** (2005). Cloning and characterization of microRNAs from rice. *Plant Cell*, 17, 1397–1411.
- Tunc-Ozdemir, M., Tang, C., Ishka, M. R., Brown, E., Groves, N. R., Myers, C. T., ... & Harper, J. F.** (2013). A cyclic nucleotide-gated channel (CNGC16) in pollen is critical for stress tolerance in pollen reproductive development. *Plant Physiology*, 161(2), 1010-1020.

- Voinnet, O.** (2009). Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, *136*, 669–687.
- von Koskull-Döring, P., Scharf, K. D., & Nover, L.** (2007). The diversity of plant heat stress transcription factors. *Trends in Plant Science*, *12*(10), 452–457.
- Wang, S., Wu, K., Yuan, Q., Liu, X., Liu, Z., Lin, X.** (2012). Control of grain size, shape and quality by OsSPL16 in rice. *Nat. Genet.*, *44*, 950–954.
- Wang, Y., Sun, F., Cao, H., Peng, H. R., Ni, Z. F., Sun, Q. X., & Yao, Y. Y.** (2012). TamiR159 directed wheat TaGAMYB cleavage and its involvement in anther development and heat response. *PLoS ONE*, *7*, e48445.
- Wellburn, A. R.** (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol*, *144*(3), 307–313.
- Wilkins, O., Nahal, H., Foong, J., Provart, N. J., & Campbell, M. M.** (2009). Expansion and diversification of the populus R2R3-MYB family of transcription factors. *Plant Physiol*, *149*, 981–993.
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., ... & Van Camp, W.** (1997). Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. *EMBO J*, *16*(16), 4806–4816.
- Wu, J., Chen, J., Wang, L., & Wang, S.** (2017). Genome-wide investigation of WRKY transcription factors involved in terminal drought stress response in common bean. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 380.
- Xi, J., Qiu, Y., Du, L., & Poovaiah, B. W.** (2012). Plant-specific trihelix transcription factor AtGT2L interacts with calcium/calmodulin and responds to cold and salt stresses. *Plant Science*, *185-186*, 274–280.
- Xi, J., Xu, P., & Xiang, C. B.** (2022). Loss of AtCSLD5, a cellulose synthase-like D5, confers reduced hypocotyl elongation. *Plant Signaling & Behavior*, *17*(1), 2055383.
- Xiao, J., Li, Y., & Jeong, B. R.** (2022). Foliar Silicon Spray to Strawberry Plants during Summer Cutting Propagation Enhances Resistance of Transplants to High Temperature Stresses. *Front. Sustain. Food Syst*, *6*, 938128.
- Xin, M., Wang, Y., Yao, Y., Xie, C., Peng, H., Ni, Z., & Sun, Q.** (2010). Diverse set of microRNAs are responsive to powdery mildew infection and heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biol*, *10*, 123.
- Xu, M., Hu, T., Zhao, J., Park, M. Y., Earley, K. W., Wu, G.** (2016). Developmental functions of miR156-regulated SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL) genes in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet.*, *12*, e1006263
- Yang, J., Zhang, N., Mi, X., Wu, L., Ma, R., Zhu, X., et al.** (2019). Identification of miR159s and their target genes and expression analysis under drought stress in potato. *Comput. Biol. Chem.*, *53PB*, 204–213.

- Yoshida, T., Sakuma, Y., Todaka, D., Maruyama, K., Qin, F., Mizoi, J., ... & Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2008). Functional analysis of an Arabidopsis heat-shock transcription factor HsfA3 in the transcriptional cascade downstream of the DREB2A stress-regulatory system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 368(3), 515-521.
- Yuan, X., Wang, H., Cai, J., Li, D., & Song, F.** (2019). NAC transcription factors in plant immunity. *Phytopathology Research*, 1(1), 1-13.
- Zhang, B. H., Pan, X. P., Wang, Q. L., Cobb, G. P., & Anderson, T. A.** (2005). Identification and characterization of new plant microRNAs using EST analysis. *Cell Res.*, 15, 336–360.
- Zhang, F., Yang, J., Zhang, N., Wu, J., & Si, H.** (2022). Roles of microRNAs in abiotic stress response and characteristics regulation of plant. *Front. Plant Sci*, 13, 919243.
- Zhang, M., An, P., Li, H., Wang, X., Zhou, J., Dong, P.** (2019). The miRNA-mediated post-transcriptional regulation of maize in response to high temperature. *Int J Mol Sci*, 20, 1754.
- Zhang, Y. C., Yu, Y., Wang, C. Y., Li, Z. Y., Liu, Q., Xu, J.** (2013). Overexpression of microRNA OsmiR397 improves rice yield by increasing grain size and promoting panicle branching. *Nat. Biotechnol.*, 31, 848–852.
- Zhou, R., Wang, Q., Jiang, F., Cao, X., Sun, M., Liu, M.** (2016). Identification of miRNAs and their targets in wild tomato at moderately and acutely elevated temperatures by high-throughput sequencing and degradome analysis. *Sci. Rep.*, 6, 33777.
- Zhu, H., Zhang, Y., Tang, R., Qu, H., Duan, X., & Jiang, Y.** (2019). Banana sRNAome and degradome identify microRNAs functioning in differential responses to temperature stress. *BMC Genomics*, 20, 33.
- Zuo, J., Wang, Y., Zhu, B., Luo, Y., Wang, Q., & Gao, L.** (2021). Analysis of the coding and non-coding RNA transcriptomes in response to drought stress in pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.]. *Genomics*, 113, 1230–1242.