



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BOR TOKSİSİTESİNE YANIT OLARAK BOR
TOLERANSLI *Triticum urartu* GENOTİPİNİN
TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ

Gül Sema UYAR

YÜKSEK LİSANS

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı

Ağustos-2023

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Gül Sema Uyar tarafından hazırlanan “**Bor Toksisitesine Yanıt Olarak Bor Toleranslı *Triticum urartu* Genotipinin Transkriptomik Analizi**” adlı tez çalışması 14/08/23 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Besleme Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Sait GEZGİN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mohd. Kamran KHAN

Üye

Doç. Dr. Abdullah KAHRAMAN

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. ÖMER FARUK YÜKSEL

FBE Müdürü

Bu tez çalışması Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 119O455 nolu 1001 projesi ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Gül Sema UYAR

Tarih: 14.08.2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BOR TOKSİSİTESİNE YANIT OLARAK BOR TOLERANSLI *Triticum urartu* GENOTİPİNİN TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ

Gül Sema UYAR

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mohd. Kamran KHAN

2023, 52 Sayfa

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Mohd. Kamran KHAN

Prof. Dr. Sait GEZGİN

Doç. Dr. Abdullah KAHRAMAN

Bor toksisitesi özellikle kurak ve yarı kurak tarım bölgelerinde buğday ürünüde büyüme ve tane veriminde azalmaya yol açmaktadır. Bu nedenle, bor'a toleranslı buğday çeşitlerinin geliştirilmesi için bor toksisitesine toleransı daha yüksek olan buğday yabani akrabalarının (WWR'ler) incelenmesi ve kullanılması faydalı olacaktır. Ayrıca, bor toksisitesi stres toleransını geliştirmek için WWR'leri verimli bir şekilde kullanmak için, bor toksik büyüme koşulları altında bunlarda meydana gelen transkriptomik değişiklikleri anlamak önemlidir. Bu yaklaşım doğrultusunda, bu çalışmada, bor toksisitesine toleranslı bir *Triticum urartu* genotipinin transkriptomik yanıtı RNA dizileme yoluyla araştırılmış ve RT-qPCR yoluyla B toksisitesi toleransını

düzenlemede rol oynadığı düşünölen bazı genlerinin ekspresyonunu incelenmiştir. Fizyolojik büyüme analizinde, gövde yaş ağırlığı hariç, *T. urartu*, PI662222 genotipinin kök-gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı ve kök-gövde kuru ağırlığı dâhil olmak üzere diğör tüm büyüme parametreleri, kontrol çeşidi Bolal 2973'e kıyasla yüksek bordan (10 mM) daha az etkilenmiştir. Ayrıca, bor toksisitesi, genotipin B tolerans seviyesinden bağımsız olarak gövdelere kıyasla kökler üzerinde daha azaltıcı bir etkiye sahip olmuştur. Moleküler analizde, çalışmada toplam 2.254 yeni gen ve 7402 yeni transkript tanımlanmıştır. İki gövde kütüphanesinde toplam 32.777 genin diferansiyel olarak düzenlenirken, bunlar arasında 654 gende önemli ölçüde diferansiyel ekspresyonu gözlenmiştir. Önemli ölçüde düzenlenmiş bu genlerden 441'inin aşağı düzenlendiğı, 213 genin ise yukarı düzenlendiğı tespit edilmiştir. RT-qPCR analizi için transkriptom dizileme sonuçlarına göre farklı mekanizmalarda yer alan ve önemli ölçüde diferansiyel ekspresyon gösteren dört gen rastgele seçilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında Bor toksik büyüme koşulu altında çalışılan dört gen arasında, α -DOX, GELP, FTSH 9, genleri aşağı regölasyon gösterirken, UXS1 geni yukarı regölasyon göstermiştir. Çalışılan tüm genlerin RT-qPCR yoluyla diferansiyel ekspresyonu, RNA dizileme sonuçlarıyla uyumludur.

Bu tezde tanımlanan B toksisitesi stresine duyarlı aday genlerin tanımlanmasıyla, buğday ve diğör tahıl ürünlerinde gelecekteki omik araştırmaları kolaylaştırılacaktır. Araştırılan tez, *T. urartu* genotipinin bor toksisitesine toleransı ve transkriptomundaki değışiklikler üzerine yapılan ilk araştırmadır. Elde edilen sonuçlar, yüksek bor'a yanıt veren tanımlanmış genlerin bor toksisite toleransı sağlamadaki işlevlerini doğrulamak üzere işlevsel olarak karakterize etmek için transgenik deneylere ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımız, evcilleştirilmiş buğdayın genetik çeşitliliğindeki dar boğazı genişletmek için *T. urartu*'dan farklı genlerin kullanılabileceğini ortaya koyarken, moleküler ıslah veya genetik mühendisliğı aracılığıyla buğdayın yüksek bor konsantrasyonuna toleransını geliştirmeye olanak sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Abiyotik stres, Bor toksisitesi, Buğday, Gen Ekspresyonu, RT-qPCR, Transkriptomik analiz, *Triticum urartu*.

ABSTRACT

MS THESIS

**TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS OF THE BORON TOLERANT *Triticum urartu*
GENOTYPE IN RESPONSE TO BORON TOXICITY**

Gül Sema UYAR

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN SOIL SCIENCE AND PLANT NUTRITION**

Advisor: Asst. Prof. Dr. Mohd. Kamran KHAN

2023, 52 Pages

Jury

Asst. Prof. Dr. Mohd. Kamran KHAN

Prof. Dr. Sait GEZGİN

Assoc. Prof. Dr. Abdullah KAHRAMAN

One of the main problems brought by the increasing population and climate change in today's world is the need for an increased food supply over the years. However, increasing the food supply is getting difficult due to the reduction in crop yields under a continuously changing environment. Thus, it is required to develop new crops with more adaptation toward environmental change. Wild genetic resources are known for their greater adaptation in harsh growth conditions and thus, should be used for the development of genotypes with greater tolerance levels. Wheat is an important agricultural crop whose production is largely affected by excess or deficiency of

mineral elements in the soil. Boron is one of those elements whose toxicity leads to a reduction in growth and grain yield in wheat crop, especially in arid and semi-arid agricultural regions. Thus, it will be beneficial to study and utilize wheat wild relatives (WWRs) with greater boron toxicity tolerance to develop boron-tolerant wheat cultivars. However, to efficiently utilize WWRs for developing boron toxicity stress tolerance, it is important to understand transcriptomic changes occurring in them under boron-toxic growth conditions. In line with this approach, in this study, we explored the transcriptomic response of a boron toxicity-tolerant, *Triticum urartu* genotype, PI662222 via RNA sequencing, and studied the expression of some of its genes that seems to be involved in regulating its B toxicity tolerance via RT-qPCR. In physiological growth analysis, except shoot fresh weight, all the other growth parameters of *T. urartu*, PI662222 genotype including root-shoot length, root fresh weight, and root shoot dry weight were less affected by high boron (10 mM) as compared to check cultivar, Bolal 2973. Moreover, regardless of the genotype's level of boron tolerance, boron toxicity had a greater depleting effect on roots than on shoots. In molecular analysis, total 2,254 novel genes and 7402 novel transcripts were identified in the study. While a total of 32,777 genes were differentially regulated in the two shoot libraries, significant differential regulation was observed in 654 genes. Among these, 213 and 441 genes were up- and down-regulated respectively. Four significantly differentially expressed genes involved in different mechanisms were randomly selected based on transcriptome sequencing results for RT-qPCR analysis. Among the studied four genes, while α -DOX, GELP, and FTSH 9 genes showed downregulation, UXS1 gene showed upregulation under boron toxic growth conditions as compared to Control. The differential expression of all the studied genes via RT-qPCR was in line with the RNA sequencing results.

The future omics research in wheat and other cereal crops will be facilitated by the identification of the putative genes for boron toxicity stress responsiveness found in this thesis. As per the available literature, this was the first study to determine the boron toxicity tolerance of *T. urartu* genotype and changes in its transcriptome. The obtained results suggested the need for more investigation including transgenic experiments to functionally characterize the identified high boron-responsive genes and to confirm their function in conferring B toxicity tolerance. The results directed towards the utilization of several *T. urartu* genes to increase the restricted genetic diversity of cultivated wheat. Molecular breeding or genetic engineering-based techniques can be

employed to effectively utilize the obtained data to increase boron toxicity tolerance in modern wheat cultivars.

Keywords: Abiotic stress, Boron toxicity, Gene Expression, RT-qPCR Transcriptomic analysis, *Triticum urartu*, Wheat.



ÖNSÖZ

“Bor Toksisitesine Yanıt Olarak Bor Toleranslı *Triticum urartu* Genotipinin Transkriptomik Analizi” adlı bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Araştırma süresince danışmanlığımı üstlenerek hem konunun seçilmesinde hem de çalışmanın yürütülmesi sırasında bana her zaman yol gösteren, olumlu tavırlarıyla beni yüreklendiren, zengin bilgi ve deneyimlerinden daima yararlandığım, birlikte çalışmaktan ve öğrencisi olmaktan onur duyduğum değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mohd. Kamran KHAN’a teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince büyük desteği sağlayan her koşulda yanımda olan yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Anamika PANDEY’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi birikimini benimle paylaşan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam S.Ü. Ziraat Fakültesi Dekanı, Sayın Prof. Dr. Sait GEZGİN’e şükranlarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım esnasında beni cesaretlendiren ve tüm uzmanlığıyla yanımda olan, her alanda engin bilgilerini bana aktaran çok kıymetli hocalarım; Prof. Dr. Mehmet HAMURCU ve Prof. Dr. Ali TOPAL’a da ayrıca çok teşekkür ederim. Son olarak, hayatım boyunca aldığım tüm kararları destekleyen, bana güvenen, maddi manevi her konuda dayanağım olan ve umudumu hiç kırmayan, hayattaki en büyük şansım olan babam İlhami UYAR ve annem Nurdan UYAR’a; tez yazımı esnasında yardımcı olan ve tüm fikirlerini benimle paylaşan, her an moralimi yüksek tutmaya çalışan kardeşim, Türkçe Öğretmeni Kevser UYAR’a, daima arkamda duran ve benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Zir. Müh. Merve ÖZBEK’e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Çalışmamda 119O455 nolu proje ile finansal destek sağladığı için TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

Gül Sema UYAR

KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Buğday, Üretimi, İklim Değişikliğinin Etkileri, Evrimi ve Buğdayın Yabancı Akrabaları	4
2.2. <i>Triticum urartu</i> , Coğrafyası, Konumu, Stres temelli çalışmalar	6
2.3. Bor ve Bitkilerdeki Hareketi	9
2.4. Borun Bitki Metabolizmasındaki İşlevi	10
2.5. Bitkilerin Bor Toksisitesi Stresine Tepkileri	11
2.6. RNA Dizileme ve Gen İfadesi	12
2.7. Buğday Bitkilerinde Bor Toksisitesi Stresi Üzerine Çalışmalar	13
2.8. Konunun Önemi ve Tezin Amacı	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Bitki Materyali, Bor Toksisitesinin Uygulanması ve Büyüme Parametrelerinin Ölçümü.....	19
3.2. <i>T. urartu</i> Genotipinin Toplanan Sürgün Örneklerinden RNA İzolasyonu	20
3.3. İzole Edilen Total RNA Örneklerinin Kalite Okumalarının Gerçekleştirilmesi	21
3.4. <i>T. urartu</i> Genotipinin Sürgün Örneklerinin RNA Dizilimi ve Diferansiyel Olarak Eksprese Edilen Genlerin Değerlendirilmesi.....	21
3.5. Kontrol uygulamasında yetiştirilen <i>T. urartu</i> Genotipinin Sürgünlerinden İzole Edilen RNA Örneklerinin Ters Transkripsiyonu ve Bor Toksisite Durumu	22
3.6. RNA Dizileme Sonuçlarından Seçilen Hedef Genlerin Ayrıntıları ve RT-qPCR Tabanlı Ekspresyon Analizi	22
3.7. İstatistiksel Analiz.....	24
4. ARAŞTIRMA SONUÇLAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Bor Toksisitesi Stresi Altında <i>T. urartu</i> , PI662222 ve Bolal 2973'teki Fizyolojik Değişiklikler.....	25
4.2. <i>T. urartu</i> Genotipinden Toplanan Sürgün Örneklerinden İzole Edilen Toplam RNA Örneklerinin Konsantrasyonu ve Kalitesi	27
4.3. RNA Dizilimi ve Sıralı Okumaların Genom Haritalaması (Tüm verilerin tablosu)	28

4.4. <i>T. urartu</i> Sürgünlerinin Yüksek B Altında Diferansiyel Olarak Düzenlenmiş Genler	29
4.5. RT-qPCR Analizi için <i>T. urartu</i> Genotipinden Seçilen Transkriptom Dizileme Sonuçlarına Dayanarak Anlamlı Olarak Farklı Şekilde Eksprese Edilen 4 Genin Seçimi.	30
4.6. TuG1. (<i>T. urartu</i> , 2X), α -DOX - TraesCS3B02G549000- [PREDICTED: <i>Triticum dicoccoides</i> alpha-dioxygenase 1-like (LOC119326475), Transkript Varyantı X1, mRNA].....	31
4.7. TuG2. (<i>T. urartu</i> , 2X), GELP-TraesCS3B02G219300- [PREDICTED: <i>Triticum dicoccoides</i> GDSL esteraz/lipaz At4g10955-like (LOC119275874), mRNA]	33
4.8. TuG3. (<i>T. urartu</i> , 2X), FTSH - TraesCS3B02G252900- [PREDICTED: <i>Triticum dicoccoides</i> ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 9, chloroplastic/mitochondrial (LOC119276292), mRNA]	35
4.9. TuG4. (<i>T. urartu</i> , 2X), UXS1 -TraesCS3B02G388100- [PREDICTED: <i>Triticum dicoccoides</i> UDP-glukuronik asit dekarboksilaz 1-like (LOC119277519), mRNA]	36
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	39
5.1. SONUÇLAR.....	39
5.2. ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
≤	: Küçük eşittir
B	: Bor
°C	: Santigrat
pH	: Hidrojen gücü
ppm	: Parts Per Million
CO ₂	: Karbondioksit
>	: Büyüktür
~	: Yaklaşık
~>	: Büyük Eşittir

Kısaltmalar

μmol m ⁻² s ⁻¹	: mikromol x metrekaare saniye
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
cDNA	: complementary DNA (Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit)
dk	: dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FAO	: Food and Agricultural Organisation
ha	: hektar
mg	: miligram
mg kg ⁻¹	: miligram kilogram
mg L ⁻¹	: miligram Litre
mL	: mililitre
mM	: milimolar
mol m ⁻³	: mol metreküp
mRNA	: mesajcı RNA

PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
ppm	: Parts per million (milyonda bir)
RT-qPCR	: Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction (Eş Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RNA	: Ribonükleik asit
RNaz	: Ribonükleaz
WWR	: Buğday Yabani Akrabası
Ark.	: Arkadaşları
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
µl	: mikrolitre
µM	: mikromolar
TuG1	: <i>Triticum urartu</i> Geni 1
TuG2	: <i>Triticum urartu</i> Geni 2
TuG3	: <i>Triticum urartu</i> Geni 3
TuG4	: <i>Triticum urartu</i> Geni 4
RL	: Kök Uzunluğu
SL	: Gövde Uzunluğu
SFW	: Gövde Yaş Ağırlık
RFW	: Kök Yaş Ağırlık
SDW	: Gövde Kuru Ağırlık
RDW	: Kök Kuru Ağırlık
RNasezap	: RNase Decontamination Solution
rpm	: devir/dakika
RIS	: RNA bütünlük skoru
FPKM	: Her Kilobazlık Bölge Başına Kaç Okuma Düştüğü ve Bu Okuma Sayısının Bir Milyona Bölünmesi
FDR	: Yanlış Veri Oranı
DEG	: Diferansiyel Ekspresyonu gösteren Genler
log₂	: logaritma
dNTP	: DNA Nükleotid Bazları
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
ANOVA	: Varyans Analizi
G	: Genotip

T	: Uygulama
SE	: Standart Sapma
ZnSO₄	: Çinko Sülfat
CoSO₄	: Kobalt Sülfat
NiSO₄	: Nikel Sülfat
CuSO₄	: Bakır Sülfat
SNP	: Sodyum Nitroprusid
MV	: Metil Viologen
ATP	: Adenozim Trifosfat
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid



1. GİRİŞ

Dünya nüfusu 1800 yılında 1 milyardan 2023 yılında 8 milyara yükselmiştir ve 2050 yılında 9,7 milyara yükselmesi beklenmektedir. Türkiye'nin nüfusu 1960-2021 yılları arasında 27,47 milyondan 84,78 milyona yükselmiştir. Dünya nüfusunun 2050 yılında beslenebilmesi için dünya gıda üretiminin yaklaşık %70 oranında artması gerekmektedir. Gelişmekte olan ülkelerdeki üretimin neredeyse iki katına çıkması gerekecektir. Buğday, küresel olarak en yaygın üretilen tahıldır ve üretimi küresel tahıl üretiminin 1/3'ünü oluşturmaktadır ve üç ana küresel tahıl ürününden biridir. Dünya buğday üretiminin yarısından fazlası insan beslenmesine, geri kalanı ise hayvan yemi ve işleme endüstrisinde kullanılmaktadır (Curtis ve ark., 2002) (FAO 2018). 2021 yılında buğday için hasat edilen toplam alan küresel olarak 220 milyon (M) hektardır. Türkiye'de buğday hasat edilen alan 6 Mha, üretim ise 17 milyon tondur. Türkiye'de yetiştirilen tahıllar arasında en yaygın üretimi yapılan buğdaydır ve beslenmedeki öneminden dolayı Türkiye'de de stratejik bir bitki olarak kabul edilmiştir (Gaytancıoğlu, 2007). Türkiye'de yaklaşık olarak tarım topraklarının %43'ünde buğday yetiştiriciliği yapılmaktadır (Arısoy, 2010).

Buğday, küresel gıda kalori ve proteinin beşte birini sağlayarak küresel gıda ve beslenme güvenliğinin sağlanmasında özellikle önemli bir rol oynamaktadır (Dixon, 2007; Shiferaw ve ark., 2013). Küresel buğday üretiminin 2022-2023 pazarlama yılında 781 milyon metrik tonun üzerinde olacağı kaydedilmiştir. Ancak nüfus artışı, mevcut ortalama tüketim seviyelerinde buğday gıda ihtiyacını karşılamak için 2050 yılına kadar yılda 132 milyon mt ek üretim yapılması gerektiği anlamına gelmektedir. Ne yazık ki tarım, iklim değişikliğiyle ilgili artan çevresel kaygılar nedeniyle birçok zorlukla karşı karşıya kalmaktadır. İklim değişikliği, küresel olarak tropikal ve sub-tropikal bölgelerde yetiştirilen tarımsal ürünlerin çoğu için büyük bir tehdittir. Buğday verimliliği, kuraklık, sıcaklık, tuzluluk, yüksek CO₂ ve beslenme yetersizlikleri veya toksisiteleri gibi akut iklim olaylarının tahmin edilemeyen sıklığı nedeniyle tehdit altındadır. Bu faktörler küresel gıda ekonomisini, buğday kalitesini ve verimini ve dünya gıda güvenliğini olumsuz yönde etkilemektedir (Wang ve Frei, 2011; Aprile ve ark., 2013; Sehgal ve ark., 2018) ve bu durum birçok bitki ıslahçısı için temel bir endişe kaynağıdır. Değişen iklim ve CO₂ seviyesi, sıcak hava dalgaları ve yağmur desenleri arasındaki çok yönlü etkileşim sonuçları beraberinde gelecek nesile stabilize buğday kalitesi ve verimi sağlamak için zor koşullar oluşturmaktadır.

Topraktaki bor toksisitesi, özellikle yarı kurak ve kurak tarım bölgelerinde olmak üzere, dünya çapında mahsul verimi için önemli bir abiyotik kısıtlamadır (Khan ve ark.,

2021). B toksik toprakları Avustralya, Şili, Mısır, Macaristan, Hindistan, Irak, İsrail, İtalya, Ürdün, Libya, Malezya, Meksika, Fas, Pakistan, Peru, Rusya, Sırbistan, Suriye, Türkiye ve ABD dâhil olmak üzere farklı ülkelerde rapor edilmiştir (Brđar-Jokanović, 2020). Türkiye'de bor yataklarının bulunduğu Simav dağlarından beslenen İç Anadolu bölgesi ve Gediz nehri çevresindeki ovalar (Salihli, Menemen vb.), Bursa Kemalpaşa ve Iğdır ovalarını kapsayan tarımsal bölgenin %25'i buğday veriminde %50 kayba neden olan B toksisitesinden muzdariptir. Yüksek B, fotosentezi, hücre bölünmesini, hücre duvarı stabilitesini, antioksidan savunma mekanizmalarını ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyerek bitkilerdeki fizyolojik ve moleküler süreçleri bozmaktadır (Papadakis ve ark., 2004; Landi ve ark., 2012; Pandey ve ark., 2020). Stresli bitkilerde bodur kök gelişimi, kloroz ve yaprak uçlarının nekrozu, aşırı B'nin bazı gözle görülür belirtileridir (Cervilla ve ark., 2007; Sakamoto ve ark., 2011; Çatav ve ark., 2018). Düşük veya normal B konsantrasyonu sağlandığında, B' nin bitkilere alımı pasif difüzyon ile gerçekleşirken, borik asit kanalları ve borat ihracatçıları, B noksanlığı ve yüksek B yetiştirme şartları altında bitkilerin hareketine fayda sağlamaktadır (Pandey ve ark., 2020; Khan ve ark., 2023a).

Borik asit veya boratlar, toprakta mobil borun bulunduğu iki formdur. Ancak kök bölgesinden süzülmesi için su gerekmektedir. Kurak ve yarı kurak bölgeler daha az suya sahip olduğundan, B'nin topraktan süzülmesi için gereken su miktarı yetersiz kalmakta ve bu nedenle B üst toprakta birikerek bitkilerde B toksisitesine yol açmakta ve bitkisel üretimi etkilemektedir (Camacho-Cristóbal ve ark., 2008; Tanaka ve Fujiwara, 2008; Khan ve ark., 2023a). B gübrelerinin uygulanması ürünlerdeki B eksikliğini giderebilirken, B toksik toprakların büyük ölçekte yıkanması pratik değildir (Reid ve ark., 2004). Bu nedenle, B toksisitesiyle başa çıkmak için B toksisitesine toleranslı bitki materyali geliştirmekten başka bir seçenek yoktur.

Buğdayın yabani akrabaları (WWR) ve bunların mevcut evcil veya kültür formları, farklı biyotik ve abiyotik stres kısıtlamalarına karşı tolerans geliştirmek için muazzam bir potansiyele sahiptir (Khan ve ark., 2022). Bununla birlikte, potansiyellerinden faydalanmak için, belirli stres koşulları altında taranmaları ve toleranslı genotiplerin belirlenmesi gerekmektedir. Böylece bunlar hedeflenen ıslah programlarında kullanılabilir. Ayrıca, farklı stres koşullarına karşı tolerans sağlamada olası rol oynayabilecek genlerin tanımlanması gerekmektedir. Ne yazık ki, bor toksik büyüme koşulları altında WWR'nin değerlendirilmesine ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Emon ve ark., 2012; Khan ve ark., 2021; Pandey ve ark., 2022; Khan ve ark., 2023b). *T. urartu* (diploid, AA), modern durum (*T. turgidum*, AABB) ve ekmeklik (*T. aestivum*, AABBDD) buğdayların A alt

genomunun atasıdır (Dvorák ve ark., 1993; Peng ve ark., 2011). Buğdayda stres tepkilerini incelemek ve modern buğday çeşitlerinde stres toleransı geliştirmek için yararlı olabilecek genlerin keşfi için değerli bir genetik kaynaktır. İlginç bir şekilde stres koşullarına karşı potansiyel bir tolerans kaynağı olarak tanımlanmasına rağmen *T. urartu* bor toksisitesine tolerans açısından kapsamlı bir şekilde taranmamıştır ve bugüne kadar bora toleranslı hiçbir *T. urartu* genotipi tanımlanmamıştır. Ayrıca, mevcut literatüre göre, bor toksik koşulları altında herhangi bir *T. urartu* genotipindeki transkriptomik değişiklikler bugüne kadar çalışılmamıştır. Böylece literatürde bir boşluk oluşmuştur. TÜBİTAK 1001 projesi (Proje No. 119O455) kapsamında, farklı yabani ve ihmal edilmiş buğday türlerini içeren 150'den fazla katılım bor toksisitesi toleransı açısından taranmış ve fizyolojik ve biyokimyasal analiz sonuçlarına dayanarak yüksek B toleranslı bir *T. urartu* genotipi olan PI662222 belirlenmiştir. Bu tezde, bu genotip bor toksisitesi stresi altında moleküler düzeyde daha fazla araştırılmıştır. Bu nedenle tezin amacı, yüksek derecede toksik B ortamında (10 mM B) yetiştirilen B toksisitesine toleranslı bir *T. urartu* genotipi olan PI662222'nin köklerinin transkriptomik tepkisini kontrol (3,1 μ M B) uygulamasına kıyasla belirlemektir. Elde edilen sonuçlar, gelecekteki ıslah programlarında buğdayın B toksisitesine toleransını artırmak için daha fazla çalışılabilecek birkaç *T. urartu* aday genini önermiştir. Literatürdeki eksiklik elde edilen veriler ile tamamlanmakla birlikte, buğdayın B toksisitesine verdiği yanıtın arkasındaki düzenleyici ve moleküler proseslerin anlaşılmasına da katkı sağlamıştır. Belirlenen yüksek Bora duyarlı genlerin fonksiyonel karakterizasyonu, bitkilerde B toksisite toleransını sağlamadaki rollerini belirlemek için gelecekte de yapılması önerilmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Buğday, Üretimi, İklim Değişikliğinin Etkileri, Evrimi ve Buğdayın Yabani Akrabaları

Tahıl türlerinden en yaygın bilinen ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) Poaceae familyasında öncelikle otogam ve yıllık bir tahıl türüdür. Üç alt genom yapısı A, B ve D şeklinde oluşan ve 21 kromozom çiftinden meydana gelen alloheksaploid bir türdür, Genom BBAADD, $2n = 6x = 42$ (Sears, 1952). İnsan ve çiftlik hayvanlarının besin ihtiyaçlarını karşılama da buğdayın ekonomik önemi büyük paya sahiptir. Ayrıca buğday günlük enerji kaynağımızı sağlayarak karbonhidrat beslenmesinde büyük öneme sahiptir. Bununla birlikte, lif, proteinler ve fitokimyasallar, mineraller, vitaminler ve lipitler gibi küçük bileşenler gibi önemli düzeyde ek temel besin maddelerine de sahiptir.

T. aestivum, dünya genelinde yetiştirilen başlıca buğday türüdür ve küresel yıllık üretimin 700 milyon tondan fazlasını kapsamaktadır. Ek olarak, her yıl Akdeniz'i çevreleyen sıcak ve kuru koşullara ve diğer yerlerdeki benzer sıcaklıklara uygun yaklaşık 35–40 milyon ton tetraploid *T. durum* yetiştirilmektedir. Durum buğdayı daha çok makarna yapımında kullanıldığı için makarnalık buğday olarak da adlandırılır. Aynı zaman diliminde 704 ton pirinç ve 874 ton mısır üretim değeri ile buğdayı dünya çapında üretim açısından en önemli üçüncü ürün haline getirmektedir.

Son küresel ısınma, sıcaklık değişkenliği ve aşırılıkları ile yağış modellerinin dağılımını önemli ölçüde değiştirmiştir (Rahmstorf ve Coumou, 2011; Gourdji ve ark., 2013). Bu değişimler, küresel olarak pirinçten sonra en yaygın yetiştirilen tahıl ürünü olan buğday mahsulünün üretim ortamları üzerinde sonuçlar doğurmaktadır (Reyer ve ark., 2013). Sıcaklıktaki her bir derecelik artışla birlikte, küresel buğday üretiminin %6 oranında azalacağı ve hem yere hem de zamana göre daha değişken hale geleceği öngörülmektedir (Asseng ve ark., 2015). Çeşitli araştırmalar, 2030 yılına kadar, tipik bir yıldaki kritik gelişim seviyelerinde aşırı yüksek sıcaklıkların tehdit oluşturduğu küresel buğday yetiştirme alanında iki kat artış ve 2050 yılına kadar risk altındaki alanda üç kattan fazla artış beklememiz gerektiğini göstermiştir. Ayrıca, 2050 yılında dünya nüfusunun 9,1 milyara ulaşacağı ve 2050 yılına kadar toplam tahıl üretiminin artırılması gerekeceği öngörülmektedir.

Buğdayın evrimini ve buğdayın yabani akrabalarının genetik çeşitliliğini anlamak, buğday ıslahı için önemlidir. Türler arası ve tür içi hibridizasyon, poliploidizasyon ve

tekrarlayan buğdayın yabani akrabaların oluşumu, *Triticum* cinsinin evrimine yol açmıştır (Gustafson ve ark., 2009). Buğday (*Triticum spp.*), ~10.000 yıl önce Yakın Doğu Bereketli Hilal'de yetiştirilen ve evcilleştirilen Neolitik kurucu mahsul bitkilerinden biridir (Lev-Yadun ve ark., 2006). Bereketli Hilal'de evcilleştirilmesiyle başlayan ekimi, Norveç, Finlandiya ve Rusya'da 67° K'ye kadar kuzeyde ve Arjantin'de 45° G'ye kadar güneyde, çoğunlukla ılıman bölgelerde ve daha az oranda sub-tropikal ve tropikal habitatlarda yetiştirilen rakipsiz bir yer yelpazesinde dünya çapında yayılmıştır (Feldman ve Millet, 2001). Mac Key, *T. aestivum*'u beş alt türe sahip olarak sınıflandırmıştır; ikisi kavuzlu, ssp. *spelta*, ssp. *macha* ve üçü çıplak taneli, ssp. *aestivum*, ssp. *Compactum* ve ssp. *sphaerococcum* (Mac Key, 1954). Bir yarı yabani tür olan ssp. *tibetanum* hariç tüm alt türler evcilleştirilmiştir, ssp. *tibetanum* muhtemelen Tibet'te yetiştirilmeyen yabani bir buğdaydır (Shao ve ark., 1983).

Şekil 1. Buğday Evriminin Şematik Diyagramı [(Yang ve ark., 2022)'dan uyarlanmıştır]

donörü olarak tanımlanmıştır (Peng ve ark., 2011) (Şekil 1). Bu iki tür melezleşmiş ve yaklaşık 800.000 yıl önce tetraploid yabani gernik buğdayının oluşmasına yol açmıştır (Marcussen ve ark., 2014; Li ve ark., 2022; Yang ve ark., 2023). Yaklaşık 9000 yıl önceki ikinci allopoliploidizasyon olayında, allotetraploid buğdayın A ve B alt genomları, D alt genomunun erkek donörü olan *Ae. tauschii* ile melezlenmiş ve ilk oluşan kabuklu alloheksaploid üretilmiştir (Feldman ve Millet, 2001; Feldman ve Levy, 2015; Yang ve ark., 2023).

Buğdayın evrim ve evcilleştirme sürecinde gelişen bu yabani akrabaları, ıslahçılara çeşitli tarım sistemleri için daha uygun bir genetik altyapıya sahip yeni çeşitler geliştirmeleri için büyük olanaklar sunmaktadır (Glaszmann ve ark., 2010). WWR'lar (yabani buğday türleri), agronomik ve morfolojik özellikler bakımından oldukça çeşitli ve değişken yapıya sahiptir. Bu türlerin farklı ekolojik bölgelerdeki dağılımı, benzersiz özelliklere sahip çeşitli türlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Buğdayın yabani akrabalarındaki genetik çeşitliliği tanımlamak için son otuz yılda çeşitli moleküler işaretleyici sistemleri kullanan çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu nedenle, ataların gen havuzunun kullanılması, yeni üstün ekmeklik buğday çeşitlerinin geliştirilmesi için uygun bir stratejidir. Buğdayın yabani akrabaları modern buğdayla yakından ilişkili olduğundan, bunlar büyük ölçüde abiyotik stres toleransı geliştirmek için ıslah programlarında kullanılmıştır. Bu türler, küresel gıda stoğunun sürdürülmesi için gerekli kritik kaynaklar olarak tanımlanmaktadır (Redden, 2013). Poaceae familyasının Pooideae alt familyasının bir parçası olan Triticeae kabilesi, *Triticum* ve *Aegilops* L cinslerini kapsamaktadır. Bu akrabalar, en önemli tarımsal ürün olan *T. aestivum* L ile bağlantılı olduklarından, buğday ıslah programları için önemli gen havuzları sağlarlar (Bothmer ve ark., 1992). Buğdayın allo-poliploidi, poliploid türlerin yeni ortamlara daha iyi uyum sağlaması ve agronomik özelliklerde daha düşük ploidi derecesine sahip atalarından daha iyi performans göstermesi nedeniyle daha geniş bir alana yayılmasını hızlandırmıştır (Dubcovsky ve Dvorak, 2007). Bu nedenle, çiftçiler tercihlerini bu buğday türlerinden yana kullanıp daha geniş bir üretim alanına yol açarak Bereketli Hilal'den dünyaya yayılmalarını kolaylaştırmıştır.

2.2 *T. urartu*, Coğrafyası, Konumu, Stres temelli çalışmalar

Diploid buğdaylar (AA) en eski kültür bitkisi türlerindendir. *T. urartu* Thumanjan ex Gandilyan ($2n = 2x = 14$, AuAu) ve *T. boeoticum* Boiss ($2n = 2x = 14$, AA) diploid buğday grubunun yabani temsilcileridir.. *T. monococcum* L. ($2n = 2x = 14$, AA) *T. boeoticum*'un

evcilleştirilmiş halidir. Birlikte einkorn buğday grubunu oluştururlar. Türkiye'deki Karacadağ ve Kartal-Karadağ dağları evcilleştirme merkezi olarak tanımlanmıştır (Heun ve ark., 1997; Kilian ve ark., 2007). Buradan siyez buğdayı doğuya (Ermenistan, Gürcistan, İran) ve İstanbul Boğazı üzerinden batıya (Yunanistan ve Orta Avrupa'ya doğru) göç etmiştir. Bir diğer güzergâh ise Mağrip ve İber Yarımadası'na deniz taşımacılığı ile sağlanmıştır. Bu rotalar arkeolojik kanıtların yanı sıra göç rotaları tarafından şekillendirilen siyez gen havuzunun popülasyon yapısı tarafından da desteklenmektedir (Zaharieva ve Monneveux, 2014; Brandolini ve ark., 2016).

T. urartu fenotipik olarak *T. boeoticum*'a benzer ancak genetik olarak ayırt edilebilir farklılıklara sahiptir (Morrison, 1993; Konovalov ve ark., 2010). *T. urartu*, tetra- ve hekzaploid buğdayların A genom donörünü temsil eder (Huang ve ark., 2002). Kardeş türü *T. monococcum*'un ($2n = 2x = 14$; genom $A^m A^m$) aksine, *T. urartu* hiçbir zaman evcilleştirilmemiştir ve daha sonra evcilleştirilecek ilk yabancı formların ortaya çıkmasına katkıda bulunduğu Bereketli Hilal'de hala geniş bir alana yayılmıştır (Özkan ve ark., 2002). *T. urartu* ile *Aegilops*'un Sitopsis bölümünün bir üyesi olan *Ae. speltoides* Tausch'un ($2n = 2x = 14$, BB/GG) yakın bir akrabası arasındaki melezleşme, tetraploid yabancı buğday *T. dicoccoides*'in oluşumunu başlatmıştır. Bu yabancı gernik buğdayı daha sonra evcilleştirilmiş *T. dicoccon*'a dönüşmüştür. Bununla birlikte, gernik soyu tek tetraploid yabancı buğday değildir. *T. araraticum* Jakubz. ($2n = 4x = 28$, GGAuAu) aynı zamanda *T. urartu* ve *Ae. speltoides* arasındaki bağımsız bir melezleşmenin soyundan gelmektedir (Zeibig ve ark., 2021).

Antik *T. urartu* popülasyonu, etkin popülasyon büyüklüğünde (N_e) ~3 000 000'dan ~140 000'e önemli bir azalma yaşamış ve daha sonra Younger Dryas döneminde Doğu Akdeniz kıyı ve Mezopotamya-Transkafkasya popülasyonlarına bölünmüştür (Wang ve ark., 2022b). *T. urartu* popülasyonları Bereketli Hilal'de ortaya çıkar ve Lübnan, Türkiye, Irak, İran ve Transkafkasya'da bulunur. Coğrafi dağılım, biyoklimatik ve topografik kriterlere göre gruplar oluşturarak *T. urartu*'nun genetik çeşitliliğini de şekillendirmiştir (Brunazzi ve ark., 2018). *T. monococcum* L. var. *aegilopoides* (Link) Thell. genomunun makarna ve ekmeklik buğdaylara katkıda bulunduğu inandırıldığı için uzun bir süre *T. urartu*'nun genetik çeşitliliği araştırılmamıştır (Kimber ve Sears, 1987). Bu nedenle, *T. urartu*'dan ziyade *T. monococcum* üzerine daha fazla araştırma yapılmıştır. Ancak *T. urartu*'nun makarnalık ve ekmeklik buğdayın A genomunun atası olduğunun keşfedilmesiyle birlikte araştırmacılar bu türün farklı yönlerini derinlemesine incelemeye başlamıştır. Birçok çalışma, *T. urartu*'nun doğal popülasyonlarının genetik çeşitliliğini bitki mimarisi, başaklanma tarihi ve tane büyüklüğü

gibi agronomik ve kalite özellikleriyle ilişkili olarak ve mikrosatellit belirteçleri kullanarak tanımlamıştır (Wang ve ark., 2017). *T. urartu* için taslak bir genom dizisinin mevcudiyeti (Ling ve ark., 2013), *T. urartu*'nun genetik çeşitliliğini kapsamlı bir şekilde karakterize etme olasılığını ortaya çıkarmakta ve buğday ıslah boru hatlarına dâhil edilmesini teşvik etmektedir. *T. urartu* alelleri daha sonra biyoteknoloji yaklaşımları, amfiploid üretim (Ahmed ve ark., 2014) veya poliploid (Qiu ve ark., 2005) ve diploid buğday (Fricano ve ark., 2014) ile doğrudan hibridizasyon yoluyla kültür buğdayına aktarılabilir. *T. urartu* alelleri, homeologlarını tamamlamak için ekili buğdayda ifade edilmiş ve gelişmiş işlevsellik sağlamıştır (Gao ve ark., 2017). Buğdaydaki moleküler yaklaşımlar, *T. urartu*'nun ekili buğdayda kullanımını hızlandırma vaadi taşımaktadır.

Doğal seçilim altında evrimleşen ve Orta Doğu'daki çeşitli habitatlara adapte olan *T. urartu* popülasyonları, biyotik ve abiyotik streslere karşı direnç ve çeşitli ortamlara tolerans için faydalı aleller barındırmaktadır (Roy ve ark., 2011; Huang ve ark., 2016; Brunazzi ve ark., 2018). Son zamanlarda, külleme direnci, kök pas direnci (Rouse ve Jin, 2011), nişasta sentezi (Song ve ark., 2020) ve tohum depolama proteinleri (Luo ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2015; Luo ve ark., 2021; Shen ve ark., 2021) ile ilgili bir dizi gen *T. urartu*'da karakterize edilmiş ve daha sonra ekili buğdayda kullanılmıştır (Qiu ve ark., 2005; Song ve ark., 2020). *T. urartu* ayrıca gliadin alellerini incelemek için bir model olarak kullanılmıştır (Zhang ve ark., 2015) ve buğday ıslahında kullanım için umut verici çeşitli glutenin alelleri göstermiştir (Cuesta ve ark., 2015). Gharechahi ve ark. (2014), soğuk stres koşullarında yetiştirilen *T. urartu* genotipinde soğuk iklimlendirme ile ilişkili proteinleri tanımlamak için proteomik analiz gerçekleştirmiştir. Yang ve ark. (2014), ısı stresine yanıt olarak *T. urartu*'nun farklı dokularında ısı şoku transkripsiyon faktörleri (Hsfs) genlerinin ekspresyon analizlerini gerçekleştirmiş ve transkript seviyelerinde birkaç kat artış tespit etmiştir. Qiao ve ark. (2019) kadmiyum toksisitesinin *T. urartu* üzerindeki fizyolojik ve moleküler etkilerini gözlemlemiştir. Wang ve ark. (2022a), *T. urartu*'nun MTP8'inin, detoksifikasyon mekanizması olarak fazla Mn'nin hücre içi taşınması ve depolanması yoluyla manganez toleransının düzenlenmesinde rol oynadığını bildirmiştir. *T. urartu*'nun farklı abiyotik stresleri düzenlemedeki rolüne ilişkin gen ifadesine dayalı birkaç çalışma olmasına rağmen, bor toksisitesi stresini kontrol etmedeki rolleri araştırılmamıştır.

2.3 Bor ve Bitkilerdeki Hareketi

Bor (B), bitkilerdeki noksanlığı ve toksisitesi önemli derecede sınırlı bir aralıklığa sahip mikro besin elementi olarak tanımlanır (Khan ve ark., 2022). B, bitkiler tarafından 1 g/g ila 1 mg/g arasında değişen daha düşük miktarlarda gereklidir. Bitkilere B olarak giren borik asit, yüksüz yapısı ve küçük boyutu nedeniyle bitki boyunca serbestçe dağılır ve fosfolipid zarlarını kolayca geçer (Landi ve ark., 2019; Brdar-Jokanović, 2020; Pandey ve ark., 2020). Lipit çift katmanlarının geçirgenliği nedeniyle, daha önce B'nin plazma zarı boyunca pasif difüzyonunun köklerden bor adsorpsiyonunun tek yöntemi olduğuna inanılıyordu. (Khan ve ark., 2023a). Hücre duvarı ile ilgili birkaç genin, bor taşıyıcılarının ve sinyal iletim mekanizmalarının keşfedilmesi nedeniyle, bor elementinin bitkilere girişi yeniden değerlendirilmiştir (Wang ve ark., 2015). Bor toksisitesi toprakta mevcut olduğunda, pasif difüzyon yoluyla bitki kök hücrelerine işlevsellik gösterir. Öte yandan borat ihracatçıları ve borik asit kanalları düşük toprak bor konsantrasyonlarında bor girişini artırır (Stangoulis ve ark., 2001; Miwa ve Fujiwara, 2010). Bor taşıyıcıları sadece bor alımında görev aldığı gibi bor toksisitesi gösteren dokularda da B'un uzaklaştırılmasında görev almaktadır (Schnurbusch ve ark., 2010). Polenlerde ve tohumlarda bulunan taşıyıcılar ve kanallar, terleme oranları düşük olduğunda bile bu dokulardaki hücre içi B seviyelerini korur ve köklerde B alımını ve ksilem içine yüklenmesini destekler (Tanaka ve ark., 2013; Yoshinari ve Takano, 2017). Bor, transpirasyon kuvveti nedeniyle öncelikle bitkinin ksileminden geçer, yaprak uçlarında ve olgun kısımlarda B birikmesine neden olarak nekroz ve klorozla sonuçlanır (WIMMER ve ark., 2003). Sonuçlara göre, B toksisitesi uygulama ortamında yetişen bitkilerde semptomlar çoğunlukla olgun yaprakların kenarlarında gözlenir. B'nin floemdeki sınırlı hareketliliği nedeniyle, bitki vejetatif büyüme sırasında sürekli olarak ona ihtiyaç duyar. Bor fotoasimilat olarak sorbitol içeriği ve sükroza sahip olanlar gibi bazı bitkilerde kompleksler oluşturur ve floemde dolaşarak olgunlaşmamış yapraklarda daha hızlı birikmeye neden olur (Stangoulis ve ark., 2010). Bu tür bitkilerde, B toksisitesi stresinin belirtileri çoğunlukla gövde ölümü, meyve hastalıkları gibi alıcı organlarda ortaya çıkabilir. Kök uzunluğundaki azalma, bor toksisitesinin gözlenebilir bir belirtisidir (Wang ve ark., 2010). Bitkilerde B emilimi stoma iletkenliği ile de ilişkilendirilmiştir (Macho-Rivero ve ark., 2018). B konsantrasyonları, B fazlalığı olduğunda yaprakların kenarları ve uçları ile orta bölümünde ve yaprak sapları arasında büyük farklılıklar gösterebilir. Ayrıca yapraklar, floem sızıntılarından daha fazla bor konsantrasyonuna sahiptir (Brown ve Shelp, 1997). Buğday başağı tamamen yaprak kını ile çevrili olduğu için buğdayda terleme yoluyla su kaybı oranı azalır. Sonuç olarak, ksilemdeki

B'nin bitki başaklarına transmisyonu düşük seviyededir (Rawson, 1996). Floem daha sonra bor ve karbonhidratları taşımaktadır. Bu nedenle B, floem boyunca hareket eder ve bis-Suc borat kompleksini oluşturarak buğdayın Suc'u birincil fotoasimilatları olarak yer değiştirmesini sağlar. Sükroz boşaltma işlemi sırasında B, bu kompleksten kurtulur ve lavabo organlarına gider. Sonuç olarak, buğdayda bis-Suc borat kompleksinin üretimi, bitkinin üreme gelişimini sürdürmek için çok önemli olabilir (Rerkasem ve ark., 2004; Stangoulis ve ark., 2010).

2.4. Borun Bitki Metabolizmasındaki İşlevi

Kaliteyi koruma, üretim, geliştirme ve optimum büyüme dahil olmak üzere hemen hemen tüm bitki fonksiyonlar için bor gereklidir (Shireen ve ark., 2018). Çeşitli çalışmalarda, B'nin %95-98'inin yaprakların hücre duvarlarında bulunduğu bildirilmiştir (Hu ve Brown, 1994). Bitki hücrelerinde, iki pektin zincirinin rhamnogalacturonan II'de (RG-II) borat yoluyla kovalent çapraz bağlanmasıyla bir hücre duvarı ağı oluşturulur (Loomis ve Durst, 1991; Funakawa ve Miwa, 2015). Hücre duvarının gözenekliliği ve gerilme mukavemeti bu ağ tarafından kontrol edilir (Ryden ve ark., 2003). Pektin konsantrasyonları, bitkilerin B gereksinimleri ile yakından ilişkilidir (Hu ve ark., 1997). Örneğin, tek çenekliler, hücre duvarlarındaki daha az pektin nedeniyle iki çeneklilere kıyasla daha az B'ye ihtiyaç duyar (Miwa ve Fujiwara, 2010; Brdar-Jokanović, 2020). B'un membran ve hücre iskeletinde de rol oynadığı öne sürülmektedir (Brown ve ark., 2002; Voxeur ve Fry, 2014). B, zar işlevinde yer alır ve iyonların, metabolitlerin ve hormonların transferinin yanı sıra enzim aktivitelerini de etkiler (Goldbach ve Wimmer, 2007). B fenol, azotlu bileşikler ve oksin metabolizmasında, flavonoid ve lignin sentezinde ve şekerlerin membran süresince ilerlemesinde görev alır (Shen ve ark., 1993; Marschner ve Rengel, 2012). Aynı zamanda B'nin hücre uzaması ve bölünmesindeki ehemmiyeti, erken büyüyen dokularda artan ihtiyacı ile ortaya konulmuştur (Dell ve Huang, 1997). B, diğer toprak besin maddelerinin bitkiler tarafından mevcudiyetini ve özümsemesini etkiler. B muamelesinden sonra pamuk yapraklarında, tomurcuklarında ve tohumlarında, makro elementlerin (N, P, K) ve mikro elementlerin (Fe, Cu, Zn) emiliminde ve yeniden dağılımında belirgin bir artış göstermiştir (Ahmed ve ark., 2011). B, hücre bölünmesi (Brown ve Shelp, 1997), transkripsiyon ve translasyon (Dzondo-Gadet ve ark., 2002) ve mikoriza ve baklagillerde azot fiksasyonu (Sonmez ve ark., 2009) dahil olmak üzere farklı kritik faaliyetlerde bulunur.

2.5. Bitkilerin Bor Toksisitesi Stresine Tepkileri

Topraktaki bor toksisitesi, özellikle yarı kurak ve kurak tarım bölgelerinde olmak üzere, dünya çapında mahsul verimi için önemli bir abiyotik kısıtlamadır (Khan ve ark., 2021). B toksik toprakları Avustralya, Şili, Mısır, Macaristan, Hindistan, Irak, İsrail, İtalya, Ürdün, Libya, Malezya, Meksika, Fas, Pakistan, Peru, Rusya, Sırbistan, Suriye, Türkiye ve ABD dâhil olmak üzere farklı ülkelerde rapor edilmiştir (Brdar-Jokanović, 2020). Türkiye'de bor yataklarının bulunduğu Simav dağlarından beslenen İç Anadolu bölgesi ve Gediz nehri çevresindeki ovalar (Salihli, Menemen vb.), Bursa Kemalpaşa ve Iğdır ovalarını kapsayan tarımsal bölgenin %25'i buğday veriminde %50 kayba neden olan B toksisitesinden muzdariptir.

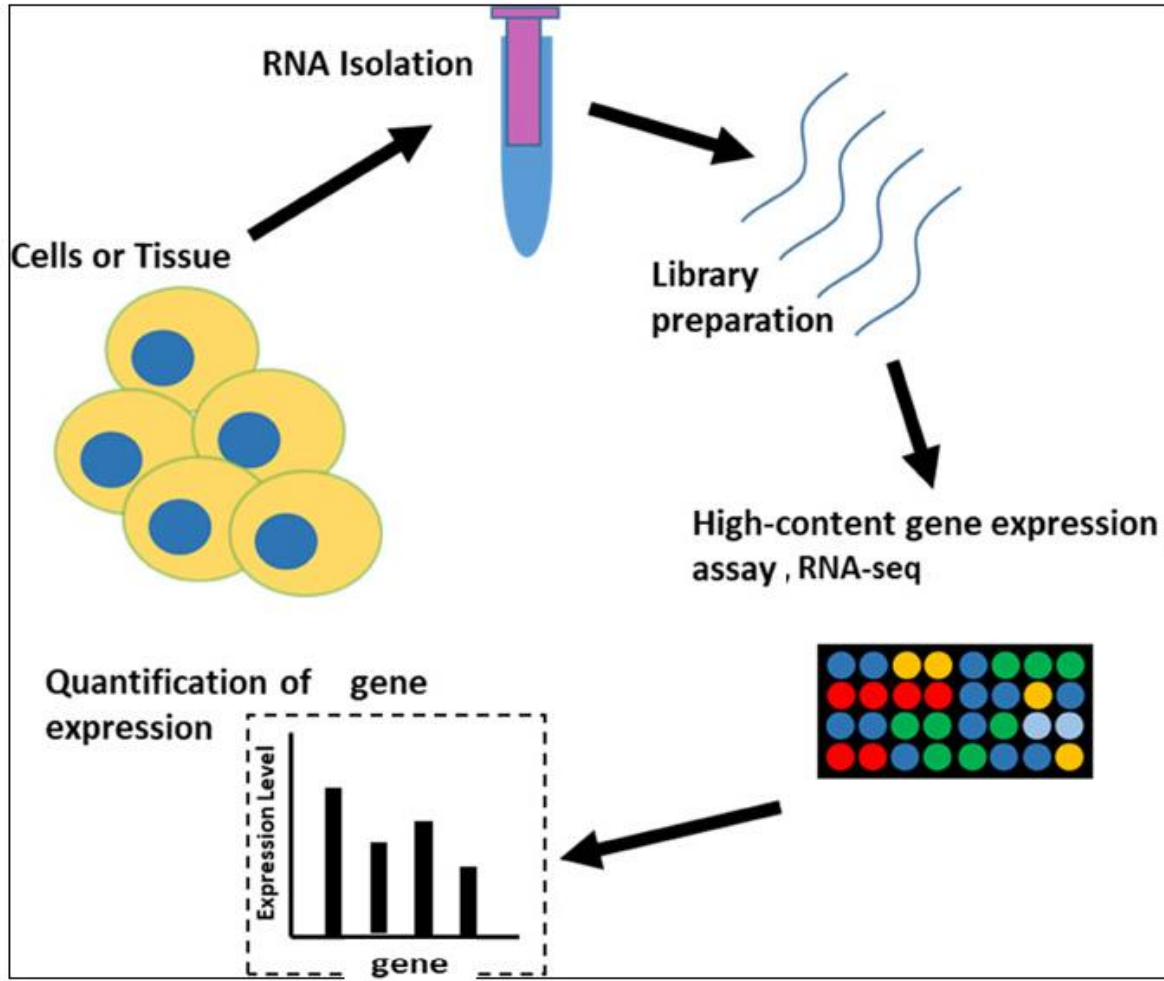
Buğday bitkisinde genel itibarıyla B toksisitesi kloroz şeklinde görülmektedir, yaprakların uçlarında ve kenarlarında lekeler meydana getirir ve genellikle yaşlı yapraklarla sınırlı kalır (Princi ve ark., 2016). İmmobil B türlerinde, B transpirasyon yoluyla ilerledikçe, sararma semptomları yan damarların yakınında daha belirginleşir (Reid ve Fitzpatrick, 2009b). Buğday gibi paralel venasyona sahip tek çenekliler yaprak uçlarında siyah lekeler gösterirken, ağsı venasyona sahip iki çenekliler yaprak kenarlarında B toksisitesi belirtileri gösterir (Sutton ve ark., 2007). Ayrıca B toksisitesi, çapraz bağlanmadaki farklılıklar nedeniyle hücre duvarının büyümesini kısıtlayarak bitkilerin yaprak alanını da azaltmaktadır (Roessner ve ark., 2006). B toksisitesinin kök büyümesi inhibisyonu üzerindeki moleküler yanıtı, su taşıyıcılarının azaltılmış ekspresyonunun yanı sıra hücre duvarı modifikasyonları ve absisik asit sinyalizasyonunda yer alan genlerin artan ekspresyonunu içerir (Aquea ve ark., 2012). Yüksek B, klorofil içeriğindeki azalma, Fv/Fm oranındaki düşüş ve fotosentetik alanın bir sonucu olarak fotosentetik oran üzerinde zararlı bir etkiye sahiptir (Chen ve ark., 2012). Ayrıca, toksik B nedeniyle fotosentezdeki düşüş de toksisitenin seviyesiyle ilişkilidir (Reid ve ark., 2004). Toksik B düzeyinin buğday bitkisi üzerinde bir diğer etkileri kök büyümesi üzerinde sınırlayıcı bir etkiye sahip olduğu, böylece kök dokularında daha fazla B birikimine ve kuru ağırlıkta azalmaya neden olduğu kanıtlanmıştır (Nable, 1988). Buğday köklerinin uç kısımları, apikal kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkiler nedeniyle olgun kök bölgelerine kıyasla B toksisitesinden daha fazla etkilenmektedir (Reid ve ark., 2004). Benzer besin stresleri gibi, yüksek B oksidatif stresi artırarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikmesine ve lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre ölümüne yol açar (Gunes ve ark., 2006). Farklı araştırmalar, duyarlı genotiplere göre toksik düzeyde B uygulamasında toleranslı türlerde gelişmiş antioksidan aktiviteler göstermiş olsa da tam mekanizma belirsizliğini korumaktadır

(Pandey ve ark., 2020). Noksanlığında ise benzer şekilde, B toksisitesi de glutamat dehidrojenaz (GDH) ve azot redüktaz (NR) aktivitelerini etkileyerek azot metabolizmasını kısıtlar (Mahboobi ve ark., 2002). Şekerden nişasta oluşumunun engellenmesi nedeniyle birçok bitki türünde aşırı B arzı nedeniyle sakaroz seviyeleri de bozulur (Princi ve ark., 2016). Yüksek B ayrıca kök ucundaki indirgen şekerleri (RS) de artırır. Buğday ve arpa verim düşüşü sergilemiş ve bor toksisitesinin görsel belirtileri ve verim azalması açısından çeşitler arasında önemli çeşitlilik görülmüştür (Yau ve Ryan, 2008). Ayrıca, değişik B toksisite semptomlarına ve yüksek sürgün bor konsantrasyonlarına rağmen, yüksek B altında stabil verime özgü çeşitler vardır (Avci ve Akar, 2005). Yüksek B uygulama koşullarında yetişen bitkilerin aşırı B'a karşı refleksi genotipe, deneysel yöntem, sıcaklığa, B tedarikinin kapsamına, büyüme aşamasına ve gözlem altındaki bitkilerin organlarına bağlı olmaktadır (Brdar-Jokanović, 2020). Örneğin, buğdayda kökler, yapraklar, saplar ve başaklar toplam bitki B kapsamının %16, %68, %6 ve %10'unu oluşturmaktadır (Subedi ve ark., 1999). Ayrıca buğday bayrak yaprakları, tanelere göre 10 kat daha yüksek içeriğe sahiptir (Campbell ve ark., 2003). Aynı zamanda, laboratuvar şartlarında tarla koşullarına göre bitkiler tarafından daha fazla B alımı görülmektedir (Paull, 1990). Yapılan araştırmalarla birlikte deney çeşidine veya toprak ya da besin çözeltisi B konsantrasyonlarına bakılmaksızın, normalde toleranslı buğday genotiplerinin tüm organlarda daha düşük bor konsantrasyonlarına sahip olduğu düşünülmektedir (Bellaloui ve Brown, 1998; Rehman ve ark., 2006; Nejad ve ark., 2015). Bununla birlikte, en yüksek B konsantrasyonunu gösteren en yüksek B toksisitesine toleranslı buğday genotipleri ile bir dizi çalışma bu hipotezi reddetmiştir (Brdar-Jokanović ve ark., 2013; Khan ve ark., 2021).

2.6 RNA Dizileme ve Gen İfadesi

RNA dizilimi (RNA-seq), RNA'nın varlığını ve miktarını ve dolayısıyla belirli bir zamanda biyolojik bir dokudaki gen ifadesini anlamak için kullanılabilir (Zhang ve ark., 2016). RNA-seq tabanlı genom çapında transkript profili, genlerin, tek nükleotid varyantlarının ve transkript izoformlarının diferansiyel ifadesinin önceden genom dizisi bilgisi gerekmeden tespit edilmesini sağlar (Şekil 2). Bu teknik, farklı ürünlerin B toksisitesi stresine karşı transkriptomik tepkisini anlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Pandey ve ark., 2020). Bu çalışmalar, bor toksisitesi stresine yanıt veren yolların aydınlatılmasını kolaylaştırmakta ve stres toleransı özelliklerindeki genetik varyasyon hakkında bilgi sağlamaktadır. Bir dizi çalışma buğdayda B toksisitesi toleransı konusunu ele almış ve

modern tetraploid ve hekzaploid buğdayda bor toksisitesine toleransla ilişkili farklı şekilde ifade edilen genleri tanımlamış olsa da (Kayıhan ve ark., 2017; Pandey ve ark., 2020), *T. urartu*'nun bor toksisitesine tolerans düzeyi ve bu özellikle ilişkili genler hakkında hiçbir bilgi sunulmamıştır.



Şekil 2. Transkriptomik değişiklikleri anlamak için izlenen yöntem

2.7 Buğday Bitkilerinde Bor Toksisitesi Stresi Üzerine Çalışmalar

Farklı çalışmalar, ortolog B toksisitesine toleranslı arpa genlerinin 5A, 5B ve 5D ve 7B ve 7D buğday kromozomlarında bulunduğunu öne sürmüştür (Sutton ve ark., 2007). Bitkilerin B toksisitesi toleransı ile ilişkili tanımlanmış üç farklı Bo1, Bo2 ve Bo3 geni arasında, 7B kromozomu üzerinde haritalanan Bo1 genellikle ıslah programlarında kullanılmaktadır. 4AL kromozomu üzerinde yer alan ve yüksek B toleransı ile bağlantılı olan

bir başka lokus bugüne kadar tarımsal ıslahta ayrıntılı şekilde incelenmemiştir. Birçok farklı araştırma kaynaklarında tanımlanan B toleranslı genler, güncel çeşitlerin tolerans seviyesini artırmak için markör destekli seleksiyon yoluyla piramit şekline dönüştürülebilir. B'un bir diğer rolü bitkilerdeki işlevselliği borat taşınımı, borik asit kanal kolaylaştırılmış difüzyon ve pasif difüzyon yoluyla meydana gelir (Reid ve Fitzpatrick, 2009a). B, normal B tedariki altında borik asit formunda pasif difüzyon yoluyla bitkilere kolayca nüfuz eder (Stangoulis ve ark., 2001). Bununla birlikte, farklı B taşıyıcıları ve borik asit kanalları, B noksanlığı ve yüksek B koşullarında B hareketinde önemli bir rol oynamaktadır (Nable, 1988; Miwa ve Fujiwara, 2010). Toksik B altında borik asidin taşınması, dokulardan daha yüksek B definasyonuna ve dokularda B birikiminin azalmasına yol açan B taşıyıcıları ve borik asit kanalları aracılığıyla gerçekleştirilir (Miwa ve Fujiwara, 2010). Toksik B uygulaması ile birlikte, NIP5;1, dokularda B taşınmasını yavaşlatmak için aşağı yönde gerçekleştirilir (Tanaka ve ark., 2011). Bununla birlikte, bor toksisitesinin semptomlarını engellemek için plazma membranı intrinsik proteinlerinin (PIP) seviyeleri azalmaktadır (Martinez-Ballesta ve ark., 2008). Buğdayda, üç farklı TaBOR1.1, TaBOR1.2 ve TaBOR1.3 B akış taşıyıcısı, B eksikliğinde daha fazla birikim göstermiştir (Leaungthitikanhachana ve ark., 2013). Bununla birlikte, yüksek B altında, TaBOR1.2'nin yukarı regülasyonu ve TaBOR1.3'ün aşağı regülasyonu ile ifadeleri değişti. Söz edilen genlerin fonksiyonel analizi ekmeklik buğdayda gerçekleştirilmiş olup ve karakterizasyonlarının tetraploid buğdayda yapılması ön şarttır. Ayrıca bu genler dışında, makarnalık ve ekmeklik buğdayda köke özgü üç B taşıyıcı Bot geni (Bot-B5b), (Bot(Tp4A)-B5c) ve (Bot-B5c) raporu sunulmuştur (Pallotta ve ark., 2014). *Aegilops tauschii* katılımlarında Bot-B5b alelinin tanımlanması, *Aegilops*'un B toleransı kaynağı olarak kapsamlı bir şekilde taranmasını önermiştir (Pallotta ve ark., 2014).

Arabidopsis thaliana'da BOR tipi borat taşıyıcıları (BOR1-BOR7) rapor edilmiştir (Yoshinari ve Takano, 2017) ve bunların çoğu düşük B kapsamı altında B hareketini düzenlemektedir. Yüksek B koşullarında BOR1 proteini aşağı doğru düzenlenirken, düşük B altında borat ihracatçısı BOR1 sürgünlerde B işlevini yükseltmektedir (Aibara ve ark., 2018). Bununla birlikte buğdayda, BOR1'in ortologları olan TaBOR2, köklerdeki B düzeyini azaltmak için yukarı regüle edilir ve böylece B toksisitesini ayarlamaktadır (Sutton ve ark., 2007; Miwa ve ark., 2014). Kayihan ve ark. (2017) toksik bor (B) ortamında yetiştirilen iki buğday çeşidinin yaprak ve köklerinin fizyolojik, biyokimyasal ve transkriptomik tepkilerini incelemiştir. Yaprak ve kök dokularında yaptıkları çalışmada, B toksisitesi, bora duyarlı Atay 85 çeşidinde, bora toleranslı Bolal 2973 çeşidine göre protein yıkımı ile ilgili daha fazla geni indüklemiştir. Çalışmalarında transkriptomdaki farklılıklar, yüksek düzeyde metabolik uyum

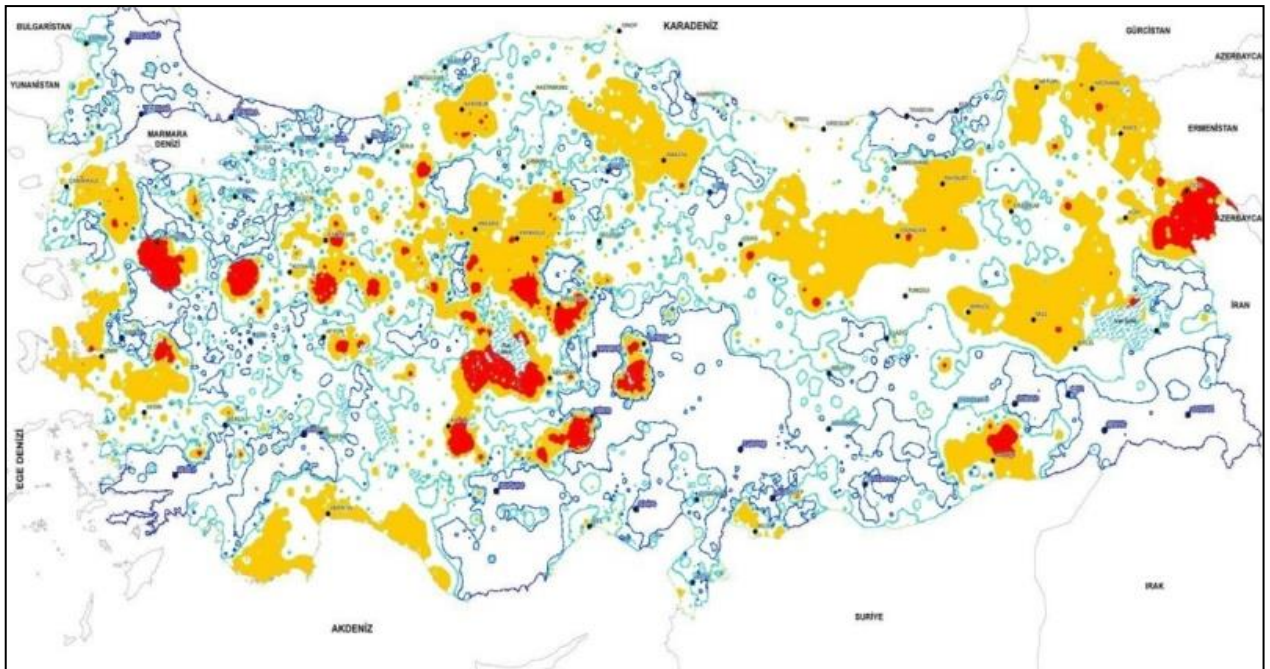
gerektiren hassas çeşitte daha yüksek B birikimine bağlanmıştır. Hormon sinyali, kinazlar, WRKY ve MYB gibi transkripsiyon faktörleri ve reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleme mekanizmalarındaki anahtar enzimlerle ilgili genler, her iki çeşitte de B toksisitesinden farklı şekilde etkilenmiştir. Kayihan ve ark. (2021) yüksek B seviyeleri altındaki performanslarındaki farklılıkları ele almak için iki buğday çeşidi Bolal-2973 (B-toleranslı) ve Atay-85'te (B-duyarlı) miR319, miR172 ve miR398'in ve bunların olası hedef genlerinin posttranskripsiyonel gen regülasyonunu bildirmiştir. Araştırma grubumuzdan, yüksek derecede toksik B ortamında (10 mM B) yetiştirilen hekzaploid bir buğday türü olan B-toksitesine toleranslı *T. zhukovskyi* genotipinin köklerinin transkriptomik tepkisini kontrol (3,1 µM B) uygulamasıyla karşılaştırmalı olarak gözlemlenmiştir (Pandey ve ark., 2022). Çalışmalarında, sırasıyla 1679 ve 4313 yukarı ve aşağı regüle edilmiş gen ile 5992 genin önemli ölçüde diferansiyel olarak ifade edildiği bulunmuştur. Benzer bir şekilde, Khan ve ark. (2023b) RNA dizilimi kullanarak bora toleranslı *T. dicoccum* sürgünlerinde bor toksitesi stresine duyarlı genleri tanımlamıştır. Çalışılan genotipin yüksek B altındaki filizlerinde 450'den fazla gen önemli ölçüde farklı şekilde ifade edilmiştir. Çalışmalarında toplam 3237 yeni gen ve 12.206 yeni transkript belirlenmiştir. AP2-EREBP, MYB ve C3H, B toksitesi altında diferansiyel olarak ifade edilen transkripsiyon faktörlerinin (TF'ler) en yüksek yüzdesine sahip genlerdi. İlginç bir şekilde, KEGG yolağı fotosentez-anten proteinleri en önemli zenginleşmeyi göstermiştir. Yüksek B konsantrasyonunu düzenlemek için diferansiyel olarak ifade edilen bir dizi gen tanımlanmış olsa da bunların ıslah programlarında kullanımı ve tarlada nihai işlevsel analizleri henüz gerçekleşmemiştir.

2.8 Konunun Önemi ve Tezin Amacı

Giriş bölümünde de belirtildiği gibi, topraktaki bor toksitesi, özellikle yarı kurak ve kurak tarım bölgelerinde olmak üzere, dünya çapında mahsul verimi için önemli bir abiyotik kısıtlamadır (Khan ve ark., 2021). B toksik toprak Avustralya, Şili, Mısır, Macaristan, Hindistan, Irak, İsrail, İtalya, Ürdün, Libya, Malezya, Meksika, Fas, Pakistan, Peru, Rusya, Sırbistan, Suriye, Türkiye ve ABD dâhil olmak üzere farklı ülkelerde rapor edilmiştir (Brdar-Jokanović, 2020).

Türkiye'de bor yataklarının bulunduğu Simav dağları başta olmak üzere Orta Anadolu bölgesi ve Gediz nehri çevresindeki ovalar (Salihli, Menemen vb.), Bursa Kemalpaşa ve Iğdır ovalarını kapsayan tarımsal bölgenin %25'i buğday veriminde %50 kayba neden olan B toksitesinden muzdariptir (Şekil 3). Kurak ve yarı kurak bölgeler daha az suya sahip

olduğundan, B'nin topraktan süzülmesi için gereken su miktarı yetersiz kalmakta ve bu nedenle B üst toprakta birikerek bitkilerde B toksisitesine yol açmakta ve bitkisel üretimi etkilemektedir (Camacho-Cristóbal ve ark., 2008; Tanaka ve Fujiwara, 2008; Khan ve ark., 2021). B gübrelerinin uygulanması ürünlerdeki B eksikliğini giderebilirken, B toksik toprakların büyük ölçekte yıkanması pratik değildir (Reid ve ark., 2004). Bu nedenle, B toksisitesinden muzdarip toprakların ıslahını sağlamak zordur. Bu nedenle, günümüzde B toksisitesiyle başa çıkmak için B toksisitesine toleranslı bitki materyali geliştirmekten başka uygulanabilir bir seçenek yoktur.



Şekil 3. Türkiye'nin toprak B toksisitesinden (sarı) ve çok yüksek toprak B toksisitesinden (kırmızı) muzdarip tarım bölgeleri (<https://www.boren.gov.tr/Sayfa/tarim-bor-arastirma-uygulama-programi/19>).

Ne yazık ki, buğday ıslah programları ekili popülasyonlarda homojenlik sağlamış ve bu da onları B gibi çevresel streslere karşı daha yatkın hale getirmiştir (NEVO ve CHEN, 2010; Fu, 2015). Bu nedenle, günümüzde karşılaşılan en önemli zorluklardan biri, daha iyi bir sürdürülebilirlik için ekili buğday çeşitlerinin B toleranslı yeni çeşitlerle değiştirilmesidir. B toksisitesine toleranslı yeni buğday genotipleri geliştirmek için yeni genetik kaynakların ve bu kaynaklardaki B toleransı sağlamaktan sorumlu potansiyel genlerin belirlenmesi

gerekmektedir. Buğdayın yabani akrabaları ve mevcut evcil veya kültür formları, yeni genlerin ana kaynağı olarak kabul edilir ve farklı biyotik ve abiyotik stres kısıtlamalarına karşı tolerans geliştirmek için bitki ıslah programlarında kullanılmak üzere büyük bir potansiyele sahiptir (Khoury ve ark., 2010; McCouch ve ark., 2013; Khan ve ark., 2022). Yabani buğday ve onun atası olan türlerde B toksisitesi üzerine bazı çalışmalar yapılmış olsa da bunların çoğu sadece deneysel genotiplerin B tolerans seviyesini belirlemiştir (Schnurbusch ve ark., 2008; Emon ve ark., 2012; Emon ve ark., 2015; Khan ve ark., 2021) ve sadece çok azı transkriptom veya gen ifadelerindeki değişikliklere odaklanmıştır (Pandey ve ark., 2022; Khan ve ark., 2023b).

Durum ve ekmeklik buğdayın A genomunun atası olan siyez buğdayı grubuna ait *T. urartu*, *T. monococcum* ile aynı kromozom sayısını, benzer genom boyutunu ve gen içeriğini paylaşmaktadır (Özkan ve ark., 2010). *T. urartu*'nun genomik çalışmaları, poliploid buğday genomlarının yapısını, sürecini ve evrimini araştırmak için yararlı olmuştur. Farklı biyotik ve abiyotik stres toleransı için çeşitli genlerin kaynağı olmuştur. Bununla birlikte, *T. urartu*, bor toksisitesi stres tepkilerinde yer alan genlerin belirlenmesi için bugüne kadar hiç taranmamıştır. Birkaç araştırma buğdayın bor toksisitesine tepkisine odaklanmış ve durum ve ekmeklik buğday katılımlarında bor toleransı ile ilgili farklı şekilde ifade edilen genler (DEG'ler) rapor etmiş olsa da (Kayıhan ve ark., 2017; Pandey ve ark., 2022), hiçbir çalışmada bor-toleranslı bir *T. urartu* genotipi ve B toksisite stresi altında farklı şekilde düzenlenen genleri rapor edilmemiştir.

Bu araştırma alanındaki eksiklik göz önünde bulundurularak, TÜBİTAK 1001 projesi (Proje no. 119O455) kapsamında kapsamlı bir taramadan sonra, bor-toksisitesine toleranslı bir *T. urartu* katılımı, PI662222, tanımlanmıştır. Bu tezin araştırma amacı olarak, bor toksisitesine toleranslı bir *T. urartu* genotipi olan PI662222'nin normal ve toksik B koşulları altında yetiştirilen sürgünlerinin transkriptomunu RNA dizileme veya RT-qPCR yoluyla araştırılarak, B toksisitesine toleransında rol oynayan moleküler mekanizma hakkında bilgi edinilmiştir. Bu deneyin amacı, B toksisitesi stresinde yetişen *T. urartu*'nun transkripsiyonel regülasyonunu, metabolik yollarını ve diferansiyel olarak ifade edilen genlerini (DEG'ler) belirlemektir. Sonuçlar, gelecekteki ıslah programlarında buğdayın B toksisitesine toleransını artırmak için daha fazla araştırılabilecek aday genleri önermekle kalmayacak, aynı zamanda buğdayın B toksisitesine tepkisinin arkasındaki düzenleyici ve moleküler süreçlerin anlaşılmasını da artıracaktır. Bununla birlikte, B toksisitesine tolerans sağlamadaki rollerini doğrulamak amacıyla tanımlanan yüksek B'a duyarlı genleri işlevsel olarak karakterize etmek

için transgenik deneyler ve alt hücresel karakterizasyon dâhil olmak üzere daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması başlamadan önce, TÜBİTAK 1001 (119O455) projesi kapsamında, ABD, Ankara ve İzmir Gen Bankası'ndan elde edilen tohumlar, tohum çoğaltımı için tarlada ve serada yetiştirilmiştir. Ayrıca, farklı yabancı ve dayanıksız buğday türlerini içeren 158 çeşit, Bor toksisitesi toleransı seviyesini belirtmek için taranmıştır ve fizyolojik ve biyokimyasal analizlerin sonuçlarına göre bir yüksek bora toleranslı *T. urartu*, PI662222 genotipi belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında, bu genotip bor toksisite stresi altında moleküler düzeyde detaylı olarak incelenmiştir.

3.1 Bitki Materyali, Bor Toksisitesinin Uygulanması ve Büyüme Parametrelerinin Ölçümü

Bu tezde kullanılan IG44827 [taksonomi *T. urartu* Tumanian ex Gandilyan] olarak da tanımlanan bor toksisitesine toleranslı diploid yabancı buğday genotipi, PI662222, Ürdün, Aţ Tafileh , Jordan'a aittir. Dr. Öğr. Üyesi Anamika Pandey, TÜBİTAK 1001 (No. 119O455) projesinin araştırma çalışmalarını gerçekleştirmek üzere ABD Tarım Bakanlığı-Tarım Araştırma Servisi, National Small Grains Collection (NSGC)'ndan tohum materyalini teslim almıştır. PI662222'nin B toleransının seviyesini tahmin etmek için bor toksisite toleransı ile iyi bilinen Türk hekzaploid buğday çeşidi Bolal 2973 (Mahboobi ve ark., 2001; Pallotta ve ark., 2014) referans çeşit olarak kullanılmıştır. Hidroponik deneyde, bitkiler %45-55 nem, 16/8 h ışık/karanlık foto periyot, 22 ± 10 °C sıcaklık ve 16.000 Lx/gün ışık yoğunluğu ile bir odada yetiştirilmiştir. *T. urartu* genotipi ve Bolal 2973, her ikisinin de üç tekerrürü, hem Kontrol [3.1 µmM B ile 1/5th Hoagland] hem de yüksek Bor (10 mM) konsantrasyonu uygulamasında büyütülmüştür (Şekil 4).

Başlangıçta, tohumlar %5 sodyum hipoklorit ve %75 etanol ve steril damıtılmış su ile sterilize edilmiştir. Yüzeydeki sterilizasyonu tamamladıktan sonra, tohumlar 4-5 saat suda tutulmuştur ve çimlenene kadar 22°C'de karanlıkta kalmıştır. Daha sonra her genotipin çimlenmiş beş fidesinin üç kopyası, iki farklı sette (her uygulama için bir set) 1/5. Hoagland çözeltisi içeren saksılara taşınmıştır. Bu şekilde, bir biyolojik tekerrür beş bitkiden oluşmuştur, ve her uygulama için üç biyolojik tekerrür genotip başına toplam 15 bitkiden oluşmuştur. Bor uygulamaları (Kontrol ve 10 mM) 1/5 Hoagland çözeltisinde 3 günlük büyüme periyodu tamamlandıktan sonra başlatılmıştır. Uygulama 7 gün devam edilmiştir ve üç günde bir Hoagland çözeltisi değiştirilmiştir. Yedi gün sonra bitkiler hasat edilmiş ve

genotiplerin gövde uzunluğu (SL), kök uzunluğu (URL), gövde yaş ağırlığı (SFW), kök yaş ağırlığı (RFW), gövde kuru ağırlığı (SDW) ve kök kuru ağırlığı (RDW) dahil olmak üzere genotiplerin büyüme parametreleri ölçülmüştür. Buna ek olarak, moleküler analiz için, sıvı azot ve RNasezap kullanılarak her iki uygulamadan *T. urartu* genotipinin üç tekerrür alınmış ve RNA izolasyonu için -80 °C'de saklanmıştır.



Şekil 4: Hidroponik sistemde yetişen her iki genotipin bitkileri.

3.2 *T. urartu* Genotipin Toplanan Sürgün Örneklerinden RNA İzolasyonu

T. urartu genotipi PI662222'nin üç tekerrürden yaprak örneklerinin RNA izolasyonu, Pandey ve ark. tarafından sağlanan manuel toplam RNA ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Pandey ve ark., 2022). İlk olarak RNA izolasyonu için kullanılacak olan havan ve topuz DEPC ile 10 saat muamele edilmektedir. DEPC'den çıkarılan havan ve topuz otoklavda steril edildikten sonra kullanılmıştır. -80°C den alınan bir miktar (0.1-0.2 g) örnek havan içerisine koyularak üzerine sıvı azot dökülerek ezme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ezilen bitki örneği 2ml eppendorf tüpüne alınarak üzerine 1000 µL QIAzol-Lysis Reagent konulmuştur. Örnekleri vortex yapıp ve 5 dakika boyunca karanlık ortamda bekletip daha sonra üzerine 200 µL Kloroform ilave edilerek 5 dakika boyunca karanlık ortamda bekletildikten sonra 12000 rpm'de 15 dakika boyunca 4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden çıkarılan örneklerden süpernatant alınarak ve üzerine 500 µL izopropanol koyularak karışım haline getirilmiş ve 5 dakika boyunca karanlık ortamda bekletilmektedir.

Daha sonra 12000 rpm'de 10 dakika boyunca 4°C'de santrifüj edilmektedir. Santrifüjden çıkarılan örneklerin üzerindeki süpernatant dökülerek ve alt kısımda kalan pellet üzerine 500 µL %70'lik etil alkol ilave edilerek 10 dakika boyunca 7500 rpm'de 4°C 'de santrifüj edilmektedir. Santrifüj edilen örneklerden etil alkol dikkatli bir şekilde dökülmüştür ve altında kalan RNA pelleti üzerine 100 µL distile su ilave edilmiştir.

3.3 İzole Edilen Total RNA Örneklerinin Kalite Okumalarının Gerçekleştirilmesi

İzole edilmiş toplam RNA örneklerinin miktar ve kalite ile birlikte RNA bütünlük skoru (RIS) değerleri, sırasıyla bir nanodrop spektrofotometre, %1 agaroz jel ve QIAxcel gelişmiş fragman analizörü kullanılarak değerlendirilmiştir ve daha sonra örnekler -80°C'de saklanmıştır.

3.4 *T. urartu* Genotipinin Sürgün Örneklerinin RNA Dizilimi ve Diferansiyel Olarak Eksprese Edilen Genlerin Değerlendirilmesi

T. urartu PI662222 genotipinin üç biyolojik tekerrürünün tümü kullanılarak ve toplam RNA'larının eşit miktarlarını karıştırarak iki uygulamadan alınan örnekler (kontrol ve yüksek B) RNA dizilimi için hazırlanmıştır. RIN değerleri 7'den yüksek olan örneklerin her ikisi de cDNA kütüphanesi hazırlamak için kullanılmıştır ve hazırlanan numunelerin MGI dizilimi DNBseq platformu (Illumina, San Diego, CA, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

Q20 bazlarının >%97'si ve Q30 bazlarının >%90'ı ile, oligoDT seçimi kullanılarak örnek başına ~96 milyon yüksek kaliteli eşleştirilmiş son okuma geliştirilmiştir. Referans genom haritalaması ve transkriptlerin miktarının belirlenmesi için her iki uygulama örneğinden alınan phred skoru >30 olan yüksek kalitede okumalar, temiz okumalar olarak kaydedilmiştir. Elde edilen temiz okumaları *T. aestivum* referans genomu (IWGSC_CS_RefSeq_v2.1) ile karşılaştırmak için HISAT2 (Spliced Alignment of Transcripts için Hiyerarşik İndeksleme) yazılımı kullanılırken, temiz okumaları referans genlerle karşılaştırmak için Bowtie2 kullanılmıştır. Ek olarak, her örneğin gen ifadesi RSEM kullanılarak değerlendirilmiştir. Cufflinks v2.2.2 yazılımı, genlerin/transkriptlerin ekspresyonunu normalleştirmek için transkriptin her kilobazlık bölge başına kaç okuma düştüğü ve bu okuma sayısının bir milyona bölünmesi (FPKM) yönteminden yararlanılmıştır. Genlerin diferansiyel kat değişimini ve FDR (yanlış veri oranı) değerlerini belirlemek için FPKM değerleri kullanılmıştır. Genlerin daha küçük FDR değerleri, daha yüksek kat değişikliklerini ve önemli ifade farklılıklarını göstermektedir. Önemli ölçüde diferansiyel

olarak eksprese edilen genler (DEG'ler), ayarlanmış p değeri ≤ 0.01 , yanlış veri oranı (FDR) ≤ 0.001 ve $\log_2\text{FoldChange} \geq 1$ olanlardır. iDEG R paketi, iki uygulama altında genlerin diferansiyel ekspresyonunun istatistiksel önemini belirlemek için kullanılmıştır.

3.5 Kontrol ve bor toksik koşullar altında yetiştirilen. Urartu Genotipinin Gövdelerinden İzole Edilen RNA Örneklerinin Ters Transkripsiyonu

Üç biyolojik tekrardan alınan RNA örnekleri ters transkripsiyon yapmak için kullanılmıştır. İzole edilen total RNA'ların cDNA'ya dönüştürülmesi, Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (Roche) ve oligo-dT primerleri kullanılarak mRNA Reverse transkripsiyonu (RT) kit prosedürüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. RNA örneklerinden 1.5 μL alındıktan sonra sırasıyla 25 μM RT primerden 1 μL ve 10.7 μL RNaz-free su eklenerek hacim 13.2 μL 'ye tamamlanmıştır. Bu aşamayı takiben farklı bir eppendorf tüpünde RT miks hazırlanmıştır. RT miksin her bir örnek bileşimi Tablo 3.5.1.'de gösterilmektedir. Her örnek için 13.2 μL 'lik RNA karışımına 6.8 μL RT miks eklenerek toplam hacim 20 μL olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan örneklerin RT reaksiyonu Thermal Cycler cihazında işlemler sırasıyla 55°C'de 30 dk, 85°C'de 5 dk ve 4°C'de tutulmasıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA'lar qRT-PCR analizine kadar -20°C'de depolanmıştır.

Tablo 3.5.1. RT miks bileşenleri

Bileşen	Miktar (μL)
5X TRT arabelleği	4.0
RNaz inhibitörü	0.5
10 μM dNTP miksleri	2.0
Ters Transkriptaz Enzim (RT Enzim)	0.3
Toplam hacim** Bir örnek için miktarı	6.8

3.6 RNA dizileme sonuçlarından seçilen hedef genlerin ayrıntıları ve RT-qPCR Tabanlı Ekspresyon Analizi

Kontrol ile karşılaştırıldığında bor toksisitesi altında anlamlı ekspresyon gösteren dört gen, RNA dizileme sonuçlarından seçilmiş olup ve genlerin diferansiyel ekspresyonunu doğrulamak için RT-qPCR gerçekleştirilmiştir. Hedef genlerin normalizasyonu, referans gen olarak Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz geni (TaGAP) kullanılarak gerçekleştirilmiştir

(Pallotta ve ark., 2014; Kayıhan ve ark., 2017). RT-qPCR için seçilen genler için primerler tasarlamak üzere NCBI Primer-BLAST programı kullanılmıştır (Tablo 3.6.1).

RT-qPCR'ler, Maxima SYBR Green RT-qPCR Master mix (Thermo Scientific) kullanılarak Pandey ve ark. (2022) tarafından tanımlanan malzemeleri ve yöntemleri takiben LightCycler® 96'da (Roche, Almanya) yapılmıştır. PCR Master miksinin bileşimi Tablo 3.6.1. 'de verilmiştir. Her bir örnek için toplam Master miks hacmi 18 µL olarak ayarlanmıştır. Tüm cDNA örneklerinin 1:40 oranında hazırlanmış dilüsyonlarından 2 µL alıp ve 18 µL qPCR miksi ile karıştırıp, toplam hacim 20 µL'ye ayarlanmıştır. Her iki uygulamadan her bir genin qPCR reaksiyonları için üç tekerrür kullanılmıştır. Reaksiyonlar için takip edilen qRT-PCR koşulları Tablo 3.6.2 'de verilmiştir.

Tablo 3.6.1. RT-qPCR analizi için transkriptom dizileme sonuçlarına dayalı olarak *T. urartu* genotipinden seçilen DEG'lerin listesi ve tasarlanan Primerlerin Dizilimleri (*TuG – *T. urartu* Geni)

Gen Kodu	Seçilmiş Gen	Gen Bilgileri	Primer Türü	Sekans (5'→3')
TuG1	TraesCS3B02G549000	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> alpha-dioxygenase (LOC119326475), transkript varyantı X1, mRNA	İleri primer	GGCATGGGTTGAGCCTCT T
			Ters primer	AACCCATGGCTCTGGTAG AA
TuG2	TraesCS3B02G219300	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> GDSL esteraz/lipaz At4g10955 benzeri (LOC119275874), mRNA	İleri primer	AACAGGGAAGTTGAAGG GGA
			Ters primer	CAATTACCAGCCCTCCCC AG
TuG3	TraesCS3B02G252900	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> ATP'ye bağlı çinko metalloproteaz FTSH 9, kloroplastik/mitokondriyal (LOC119276292), mRNA	İleri primer	GCTGAGAAGTGCATCACG CT
			Ters primer	GTTTCCTTTAAACAATGG CGAGGCA
TuG4	TraesCS3B02G388100	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> UDP-glukuronik asit dekarboksilaz 1 benzeri (LOC119277519), mRNA	İleri primer	GCCGCGTGGTTAGCAATT TT
			Ters primer	GCCATCAATCCAGCAACC AG

Tablo 3.6.1. qRT-PCR Master miksi bileşenleri

Bileşen	Miktar (μ L)
10 μ M ön primer	2
10 μ M arka primer	2
Syber green miks	8
RNaz free su	6
Toplam hacim*	18

Tablo 3.6.2. PCR reaksiyon döngüsü

	Sıcaklık ($^{\circ}$ C)	Ramp Hızı ($^{\circ}$ C/s)	Zaman (s)
Tutunma	95	5	600
3Adımda	95	5	10
Amplifikasyon (40-45 Döngü)	50-60*	5	30
	72	5	30
Erime Noktası	50	4	20
	95	0,1	20

3.7 İstatistiksel Analiz

Büyüme parametreleri için, Kontrol ile karşılaştırıldığında 10 mM bor uygulamasının altında ölçülen fizyolojik özelliklerin her birindeki yüzde değişimleri (üç tekerrür dayalı olarak) MS Excel 2010 kullanılarak tahmin edilmiştir. RT-qPCR'de hedef ve referans genlerin ifade düzeyleri ve iki uygulama için ortalamaların ortalama hataları MS excel programı kullanılarak hesaplanmıştır. Erime eğrileri tek tek örneklerin hassasiyetini ortaya çıkardı ve Livak ve Schmittgen (2001) tarafından önerilen DCt yöntemi göreceli nicelleştirmeyi tanımlamak için kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1 B toksisitesi Stresi altında *T. urartu*, PI662222 ve Bolal 2973'teki Fizyolojik Değişiklikler

Birkaç çalışma, buğday genotiplerinin tolerans düzeyini anlamak için kök-gövde büyüme parametrelerinin ölçülmesinin faydasını göstermiştir (Schnurbusch ve ark., 2008; Metwally ve ark., 2012; Coskun ve ark., 2014; Pallotta ve ark., 2014). Çalışmamızda *T. urartu*, PI662222 genotipinin B-toksosite toleransı, B-toksosite toleransı iyi bilinen bir genotip olan kontrol çeşidi Bolal 2973 ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Kontrol çeşidi Bolal ile karşılaştırıldığında *T. urartu* genotipin yapraklarda daha az sararma gözlenmiştir. Gövdenin yaş ağırlığı dışında, tüm büyüme parametrelerinde, PI662222'nin, Bolal 2973'e kıyasla yüksek bor konsantrasyonundan daha az etkilendiği belirlenmiştir (Tablo 4.1.1 ve 4.1.2). Bolal'ın kök uzunluğu ve gövde uzunluğu, kontrole göre yüksek B altında sırasıyla %50 ve %38 azalırken, PI662222'nin kök uzunluğu yalnızca %39 azalmıştır ve gövde uzunluğu yüksek bor altında %8 oranında artmıştır. Aynı şekilde, Bolal'ın kök yaş ağırlığı ve gövde yaş ağırlığında %108 ve %30'luk bir düşüş gözlenmiştir.

Tablo 4.1.1. Kontrol ile karşılaştırıldığında yüksek B (10 mM B) koşullarında yetiştirilen *Triticum urartu* genotipi, PI662222 ve kontrol çeşidi Bolal 2973'ün fizyolojik parametrelerinin Ortalama, Standart Sapma ve Standart Hata Değerleri.

		PI662222				Bolal 2973		
		Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması		Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması
Gövde Uzunluğu (cm)	Kontrol	22.00	1.00	0.58		39.17	3.82	2.20
	Yüksek Bor	23.83	2.47	1.42		28.33	1.53	0.88
Kök Uzunluğu (cm)	Kontrol	23.67	2.52	1.45		26.17	1.76	1.01
	Yüksek Bor	17.00	2.29	1.32		17.50	3.77	2.18
Gövde Yaş Ağırlığı (g)	Kontrol	0.15	0.04	0.02		0.50	0.02	0.01
	Yüksek Bor	0.10	0.03	0.02		0.38	0.17	0.10
Kök Yaş Ağırlığı (g)	Kontrol	0.09	0.04	0.03		0.14	0.05	0.03
	Yüksek Bor	0.08	0.03	0.02		0.07	0.02	0.01
Gövde Kuru Ağırlığı (g)	Kontrol	0.019	0.005	0.003		0.053	0.008	0.004
	Yüksek Bor	0.020	0.006	0.003		0.053	0.016	0.009
Kök Kuru Ağırlığı (g)	Kontrol	0.006	0.003	0.002		0.011	0.003	0.002
	Yüksek Bor	0.006	0.001	0.001		0.007	0.001	0.001

Tablo 4.1.2. Kontrol ile karşılaştırıldığında yüksek bor (10 mM B) koşullarında yetiştirilen *T. urartu* genotipi, PI662222 ve kontrol çeşidi Bolal 2973'ün fizyolojik parametrelerindeki yüzde değişim.

Katılımlar	Bolal 2973	PI662222
Özellikler/Türler	<i>Triticum aestivum</i>	<i>Triticum urartu</i>
Gövde Uzunluğu	-38	8
Kök Uzunluğu	-50	-39
Gövde Yaş Ağırlığı	-30	-49
Kök Yaş Ağırlığı	-108	-16
Gövde Kuru Ağırlığı	0	3
Kök Kuru Ağırlığı	-53	-7

Ancak PI62222'de, yüksek bor altındaki bu iki parametrede sırasıyla %16 ve %49'luk bir azalma görülmüştür. Yüksek bor konsantrasyonu, Bolal 2973 çeşidinin kök kuru ağırlığını kontrol koşullara kıyasla %53 azaltırken, PI6222'nin kök kuru ağırlığını yalnızca %7 azaltmıştır. Bolal'ın gövde kuru ağırlığı bor toksisitesi altında ne artış ne de azalma gösterirken, yüksek bor konsantrasyonu PI662222 genotipinin kök kuru ağırlığında %3'lük bir artışa neden olmuştur. Bolal 2973 ile karşılaştırıldığında, yüksek bor, *T. urartu*, PI662222 bitkisinin kök-gövde yaş ağırlığı hariç tüm büyüme parametreleri üzerinde azalan fizyolojik etkiler göstermiştir. Bitki büyüme parametreleri, buğday genotiplerinde bor toleransını tahmin etmek için büyük ölçüde kullanılmaktadır (Torun ve ark., 2006; Schnurbusch ve ark., 2008; Metwally ve ark., 2012; Coskun ve ark., 2014; Pallotta ve ark., 2014; Khan ve ark., 2021; Khan ve ark., 2022; Pandey ve ark., 2022; Khan ve ark., 2023a; Khan ve ark., 2023b). PI662222'nin büyüme parametreleri, kontrol çeşidine kıyasla yüksek bor altında ya artmış ya da daha az azalmıştır. Sonuçlar, çalışmalarda kullanılan kontrol çeşidine kıyasla bor toksisitesinin yabancı veya ihmal edilmiş buğday genotiplerinin büyüme parametreleri üzerinde daha az etkiye sahip olduğunu gösteren önceki deneylere benzerdir (Khan ve ark., 2021; Khan ve ark., 2022).

Kontrol çeşidine kıyasla daha toleranslı *T. urartu* genotipinin gövde uzunluğunda yüksek bor altında bir artış gösteren sonuçlarımız, Schnurbusch ve ark. (2007) ve Pallotta ve ark. (2014) çalışmaları ile desteklenmiştir. Kök-gövde kuru maddesi, genotiplerin çeşitli streslere karşı tolerans düzeyini anlamak için önemli bir kriterdir (Metwally ve ark., 2012; Nejad ve ark., 2015; Khan ve ark., 2021). Kök-gövde biyokütlesi için bizim çalışmamıza

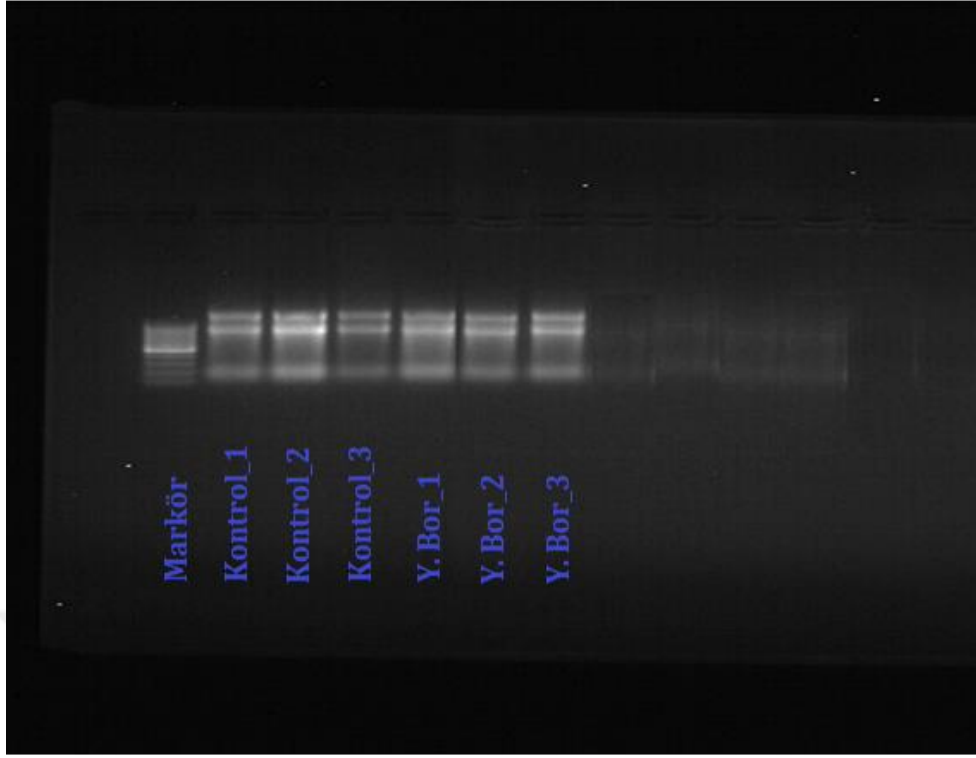
benzer şekilde, Torun ve ark. (2006) toleranslı genotiplerin gövde kuru ağırlığı'sinin, daha az toleranslı genotiplerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Başka bir çalışmada, bor toleranslı *Aegilops* genotipleri, kontrol çeşitlerine kıyasla bor toksisitesi altında gövde kuru ağırlığı ve kök kuru ağırlığında yüksek artış ve daha az azalma göstermiştir (Khan ve ark., 2021). Sonuçlarımızla uyumlu olarak, B toleranslı *T. zhukovskyi* genotipi, kontrol genotipi Bolal ile karşılaştırıldığında kök-gövde kuru maddesi üzerinde bor toksisitesinin çok daha az etkisini göstermiştir (Pandey ve ark., 2022). Hem PI662222'nin hem de kontrol çeşidin kök kuru ağırlığı yüksek bor altında azalmıştır, ancak bor toksisitesi altında kontrol çeşidin gövde kuru ağırlığı hiçbir etki göstermemiştir ve hatta PI662222'ninki artmıştır. Dolayısıyla bu durum genotipin bor tolerans seviyesinden bağımsız olarak bor toksisitesinin kökler üzerinde gövdelere göre daha fazla azaltıcı etkisi olduğunu göstermektedir (Kalayci ve ark., 1998; Pandey ve ark., 2022).

4.2 *T. urartu* genotipinin toplanan gövde örneklerinden izole edilen toplam RNA örneklerinin konsantrasyonu ve kalitesi

Materyal ve yöntemlerde bahsedildiği gibi, her iki uygulamadan *T. urartu* genotipinin üç tekerrür RNA izolasyonu ve ileri moleküler analiz için -80°C'de saklanmıştır. Bu örneklerin RNA izolasyonu metodoloji bölümünde bahsedildiği gibi yapılmış ve izole edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı Tablo 4.2.1. ve 4.2.2'de verilmiştir. Tablo 4.2.1. incelendiğinde A260/A280 oranlarının 1.77-2.20 arasında değiştiği görülmektedir. Yüksek saflıktaki RNA izolasyonunda A260/A280 oranı 1.70-2.25 arasında olması gerekliliği dikkate alınmıştır. Ayrıca, her iki uygulamadan da *T. urartu* genotipi PI662222 gövdelerinin üç tekerrüründen izole edilen RNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü Şekil 4.2.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.2.1. *T. urartu*, PI662222 yaprak örneklerinin RNA konsantrasyonları ve saflık değerleri.

Örnek Kimliği	Örnek Türü	ng/μL	260/280	260/230
1.	Kontrol_tekrarı-1	997	2	2.16
2.	Kontrol_tekrarı-2	802	2.05	1.77
3.	Kontrol_tekrarı-3	759	2.04	2.20
4.	Yüksek B_tekrarı-1	1168	2.07	2.09
5.	Yüksek B_tekrarı-2	616	2	1.98
6.	Yüksek B_tekrarı-3	583	2.01	1.82



Şekil 4.2.1. Agaroz Jel her iki uygulamadan *T. urartu* genotipi, PI662222'nin gövdelerinin üç tekerrüründen izole edilen RNA örnekleri.

Tablo 4.2.2. RNA dizilimi için gönderilen Kontrol ve yüksek bor uygulamalarından *T. urartu* gövdelerinin iki RNA örneğinin RNA Bütünlük Skoru (RIS) değeri

Uygulanacak Bor Dozu	RIS	Toplam Konsantrasyon (ng/μL)
Kontrol	8.0	184.56
Bor (10 mM)	8.5	164.60

4.3 RNA Dizilimi ve Sıralı Okumaların Genom Haritalaması

Her iki uygulama için bor toleranslı PI662222 genotipinin gövdelerinin her biri toplam 15 bitkiden oluşan üç biyolojik tekerrüründen alınan RNA örnekleri karıştırılarak RNA dizileme analizi için Genoks, Ankara'ya gönderilmiştir . Kontrol ve yüksek bor uygulamasından alınan RNA örneklerinin dizilimi, her örnekten ortalama 67 milyon okuma ile toplam 135,26 milyon temiz okuma kaydedilmiştir (Tablo 4.3.1). Kontrol ve uygulama örneklerinde Q20 ve Q30'daki ortalama temiz okumalar sırasıyla %96,5 ve %88.6'dır (Tablo 4.3.1). *T. aestivum* referans genomu (IWGSC_CS_RefSeq_v2.1) iki kütüphaneden 12.60 ve

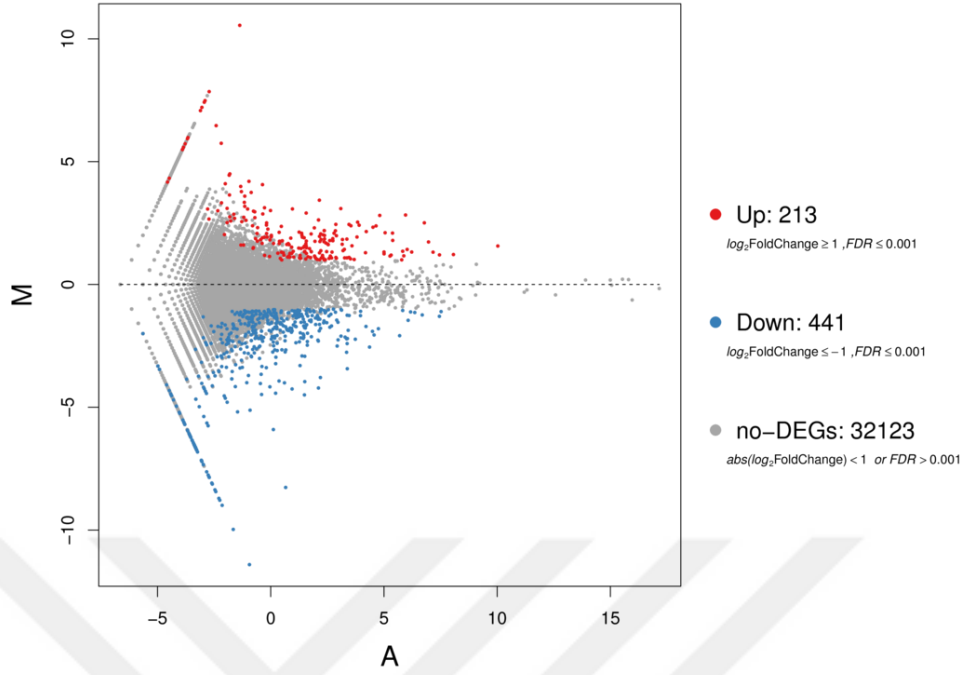
12.15 yüksek kaliteli temiz okuma değerlerine eşlendi ve sırasıyla %4.30 ve %4.02 eşleme oranı kaydedilmiştir (Tablo 4.3.1). Sırasıyla kontrol ve uygulama kütüphanelerinde 26.602 ve 27.981 genin yanı sıra 29.378 ve 30.744 transkript bulunmuştur (Tablo 4.3.1). Yeni genlerin ve transkriptlerin belirlenmesi, RNA diziliminin en önemli avantajlarından biridir. Bu çalışmada, toplam 2.254 özgün gen ve 7.402 transkript belirlenmiştir.

Tablo 4.3.1. Kontrol (3.1 μ M B) ile karşılaştırıldığında yüksek B (10 mM B) koşullarında yetiştirilen *T. urartu* (Tu) gövdelerinin sekanslama verilerinin kalite tahmin sonuçları ve referans genom hizalaması verileri.

Değişkenler/ Örnekler	Tu_Kontrol	Tu_YB_Uygulama	Değişkenler/ Örnekler	Tu_Kontrol	Tu_YB_Uygulama
Toplam Temiz Okuma (M)	56.06	79.2	Eşsiz Genom Haritalama Oranı (%)	36.34	36.64
Toplam Temiz Bazlar (Gb)	5.61	7.92	Toplam Gen Sayısı	26602	27981
Temiz Okumalar Q20 (%)	96.23	96.76	Bilinen Gen Sayısı	25520	26809
Temiz Okumalar Q30 (%)	87.61	89.67	Yeni Gen Numarası	1082	1172
Toplam Genom Haritalama Oranı (%)	12.60%	12.15%	Toplam Transkript Sayısı	29378	30744
Eşsiz Genom Haritalama Oranı (%)	4.30%	4.02%	Bilinen Transkript Numarası	25695	27025
Toplam Genom Haritalama Oranı (%)	68.05	70.34	Yeni Transkript Numarası	3683	3719

4.4 *T. urartu* Gövdelerinin Yüksek Bor Altında Diferansiyel Olarak Düzenlenmiş Genler

İki gövde kütüphanesi, toplam 32.777 genin farklı düzenlemesini göstermiştir. Bunlar arasında, yüksek B koşullarında PI662222'nin gövdesinde 654 gen önemli ölçüde diferansiyel olarak eksprese edilmiştir. Bu önemli ölçüde düzenlenen genlerden 441'inin aşağı regüle edildiği, 213 genin ise yukarı regüle edildiği bulunmuştur (Şekil 4.4.1.).



Şekil 4.4.1. 3.1 μ M B (kontrol) uygulamasına kıyasla *T. urartu* (Tu) genotip PI662222'nin yüksek B (10 mM) ile muamele edilmiş gövdelerinde diferansiyel olarak ifade edilen genleri (mavi ve kırmızı noktalar) gösteren MA çizimi. Y eksen (M) ve X eksen (A), sırasıyla log2 dönüştürülmüş kat değişimini ve log2 dönüştürülmüş ortalama ifade seviyesini gösterir.

4.5 RT-qPCR analizi için *T. urartu* genotipinden seçilen transkriptom dizileme sonuçlarına dayalı olarak önemli ölçüde diferansiyel olarak eksprese edilen 4 genin seçimi.

RNA dizileme sonuçlarına dayanarak, Kontrol ile karşılaştırıldığında yüksek bor koşullarında önemli ölçüde diferansiyel olarak eksprese edilen 4 geni rastgele seçilmiştir ve RT-qPCR yoluyla ekspresyon seviyelerini doğrulanmıştır. Bu genlerin ekspresyonlarındaki kat değişimleri ve RNA dizilimindeki ekspresyonunun anlamlılık derecesini gösteren p değeri Tablo 4.5.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.5.1. RT-qPCR analizi için *T. urartu* genotipinde seçilen transkriptom sekanslama sonuçlarına dayalı DEG listesi. (*TuG – *T. urartu* Geni)

GEN KODU	SEÇİLMİŞ HEDEF GEN	log2 kat değişimi	log10 padj	Kısa gen formu	GEN BİLGİLERİ
TuG1	TraesCS3B02G549000	-14.98	3.57	α -DOX	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> alpha-dioxygenase 1-like (LOC119326475), transcript variant X1, mRNA
TuG2	TraesCS3B02G219300	-14.48	3.14	GELP	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> GDSL esterase/lipase At4g10955-like (LOC119275874), mRNA
TuG3	TraesCS3B02G252900	-13.66	2.26	FTSH9	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 9, chloroplastic/mitochondrial (LOC119276292), mRNA
TuG4	TraesCS3B02G388100	-7.04	1.80	UXS1	PREDICTED: <i>T. dicoccoides</i> UDP-glucuronic acid decarboxylase 1-like (LOC119277519), mRNA

4.6 TuG1. α -DOX - TraesCS3B02G549000- [PREDICTED: *T. dicoccoides* alpha-dioxygenase 1-like (LOC119326475), transkript varyantı X1, mRNA]

TuG1 geni (TraesCS3B02G549000), Kontrol ile karşılaştırıldığında bor toksisitesi stresinde azalmış ekspresyon göstermiştir. Neredeyse ihmal edilebilir bir kat azalması göstermesine rağmen, aşağı regülasyon, ifadede 14,98 kat değişiklik gösterdiği transkriptom dizinlemesinde elde edilen sonuca uygun bulunmuştur. Aşağı regülasyon, TuG1 ifadesinin yüksek bor büyüme koşulları altında etkilendiğini göstermiştir. (Tablo 4.6.1; Şekil 4.6.1.).

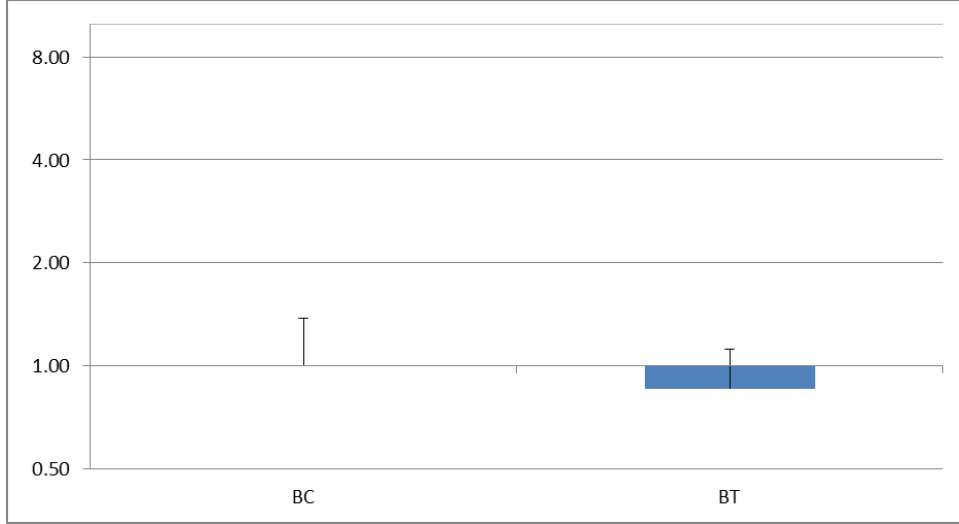
Haem peroksidaz (ailesi) ait protein kodlayan gen TuG1, Kromozom 3B'de (ters sarmal) bulunur. Gen ontolojisi analizinde, bu genin moleküler fonksiyonu peroksidaz aktivitesi, oksidoredüktaz aktivitesi ve hem bağlanması ile ilişkiliyken, bu genin biyolojik süreci yağ asidi biyosentetik süreci, oksidatif strese yanıt, oksilipin biyosentetik süreci ve hücrel oksidan detoksifikasyon ile ilgilidir.

Tu α -DOX1 genlerinin *T. urartu* gövdelerinde hem dizinlemede hem de RT-qPCR sonuçlarında azalan ekspresyonu, bunun boron toksisite toleransını düzenlemedeki olası rolünü ortaya koymuştur. Ağır metal stresi (Koeduka ve ark., 2005), yüksek tuzluluk stresi (Wei ve ark., 2000), otçul saldırısı (Hermsmeier ve ark., 2001), hücre ölümüne aracılık eden hücrel sinyaller (De León ve ark., 2002) ve bakteriyel enfeksiyon (Sanz ve ark., 1998) gibi farklı stres koşullarında bitkilerde α -DOX genlerinin önemli ölçüde diferansiyel ekspresyonu rapor edilmiştir. Bu deneylerin bazıları genlerin yukarı regüle ekspresyon ortaya çıkarırken, bazı aşağı regüle

ekspresyon bildirmiştir. Aynı genotip içindeki ifade tipindeki farklılıklar, çalışılan α -DOX genlerine, hedef dokulara (yapraklar veya kökler) ve stres süresine bağlı olmaktadır. Örneğin, Tirajoh ve ark. (2004), tuzluluk altında domates köklerinde $Le\alpha$ -DOX1, $Le\alpha$ -DOX2 ve $Le\alpha$ -DOX3 dâhil olmak üzere farklı α -DOX genlerinin ifadesini gözlemlemiştir. Tuzluluk stresi, 0,5 saat sonra tüm $Le\alpha$ -DOX izoformlarının ifadesini azaltmıştır. Ancak, 2 saat sonra, sadece $Le\alpha$ -DOX2 ve $Le\alpha$ -DOX3'teki transkript seviyelerini azaltmıştır. Çalışmamızın aksine, $Le\alpha$ -DOX1 8 saat ve 24 saat tuz stresinden sonra köklerde bir artış göstermiştir. Bu fark, çalışmalarında tamamen farklı bitki (domates) veya doku (kök) kullanılmasından kaynaklanabilmektedir. *Arabidopsis thaliana*'da (Saffert ve ark., 2000), çalışmamıza benzer şekilde, $At\alpha$ -DOX1 geninin ifadesi, 50 mM NaCl kaynağı (Theingi Soe Taing Aung) altında aşağı doğru düzenlenmiştir. Ancak 100, 150 ve 200 mM NaCl seviyesi altında upregüle edilmiştir. Ayrıca $At\alpha$ -DOX1 geninin ekspresyonu hem kök hem de gövde dokularında farklı tespit edilmiştir. $At\alpha$ -DOX1 geni 250 mM tuz stresi dışında hiçbir uygulamada gövdelerde ekspresyon edilmezken, köklerde tüm uygulamalarda ifade edilmiştir. Benzer şekilde, Koeduka ve ark. (2005), pirinç yapraklarındaki a -DOX genlerinin ifadesi, stres uygulamalarının türüne ve süresine bağlı olmaktadır. Deneylerinde α -DOX geninin ekspresyonu bakteriyel stres, metil viologen (MV, bir hücre içi süperoksit üretici), sodyum nitroprusid (SNP, bir NO üretici), $CuSO_4$ veya $NiSO_4$ altında artarken, $ZnSO_4$, hidrojen peroksit veya $CoSO_4$ kaynağı altında azalmıştır. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak, Abdeen ve ark. (2010) *Arabidopsis* bitkilerinin DOX1 geninin kuraklık stresi altında 1,1 kat azalmış ifade gösterdiğini bulmuşlardır. Bu tür çalışmalar, α -DOX genlerinin bitkilerde stres toleransı geliştirmede önemli bir role sahip olabileceğini ve daha fazla karakterize edilmesi gerektiğini yönlendirmektedir.

Tablo 4.6.1. RT-qPCR ile TuG1 Geninin Kontrol ile Normalize Edilmiş Farklılık Gen İfadesi Değerleri.

TuG1	Kontrolün Normalleştirilmesi	
	Ortalama İfade	Ortalama Standart Hata
Uygulanacak Bor Dozlari		
Kontrol	1.00	0.38
10 mM B	0.86	0.26



Şekil 4.6.1. TuG1 geninin referans gen TaGAP'a göre Relatif transkript düzeyi . Relatif ifade düzeyi 3 bağımsız tekerrürün ortalamasıdır. Standart sapmaların ortalaması kontrole göre normalize edilmiştir.

4.7 TuG2. GELP-TraesCS3B02G219300- [PREDICTED: *T. dicoccoides* GDSL esteraz/lipaz At4g10955-like (LOC119275874), mRNA]

TuG2. geni (TraesCS3B02G219300), Kontrol ile karşılaştırıldığında Bor toksisitesi stresinde azalmış ifade göstermiştir. Neredeyse ihmal edilebilir bir kat azalması göstermesine rağmen, aşağı regülasyon, ekspresyonda 14,48 kat değişiklik gösterdiği transkriptom dizinlemesinde elde edilen sonuca uygun bulunmuştur. Aşağı regülasyon, TuG2 ifadesinin yüksek B büyüme koşulları altında etkilendiğini göstermiştir. (Tablo 4.7.1.; Şekil 4.7.1.).

GDSL esteraz/lipaz At4g10955 benzeri gen olan TuG2 geni, Fungal lipaz benzeri alan içeren proteini kodlar. Gen, Kromozom 3B'de (ileri sarmal) bulunur ve GDSL esteraz/lipaz protein (GELP) ailesine aittir. Gen ontolojisi analizinde bu genin moleküler fonksiyonu hidrolaz aktivitesi ile ilişkilirken, bu genin biyolojik süreci lipid metabolik süreci ile ilişkilidir.

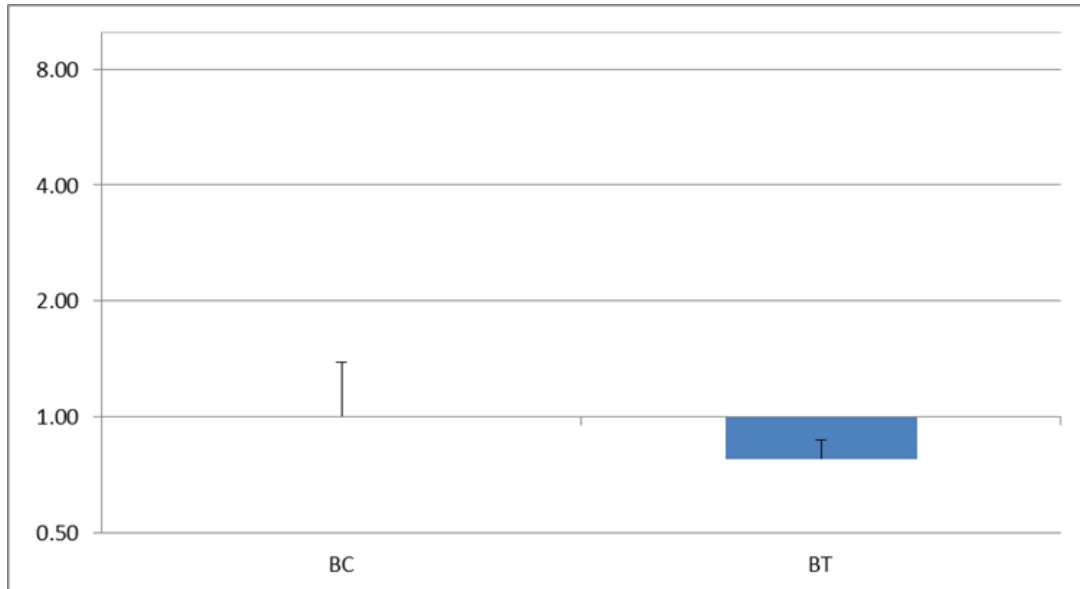
GDSL esteraz/lipazlar (GELP'ler), büyüme, gelişme ve stres tepkilerinde hayati roller oynayan bitkilerde büyük ölçüde dağılmıştır. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak gen, *Xanthomonas translucens* ve *Fusarium graminearum* ile enfekte olmuş buğday yapraklarında, enfeksiyon olmaması durumuna kıyasla sırasıyla 1,9 ve 1,6 kat aşağı regülasyon göstermiştir. Aynı şekilde Ren ve ark. (2021), sakızlı gövde yanığına dayanıklı yabani karpuz çeşidi PI 189225'te (*C. amarus*) sakızlı gövde yanığı direnciyle ilgili 12 GDSL tipi lipazı incelemişler

ve bunlardan 9'unun aşılamadan sonraki ilk saate kıyasla aşılamadan 24 saat sonra önemli ölçüde aşağı regüle edildiğini bulmuşlardır.

Çalışmamızın aksine, GELP biber bitkilerinde Obuda biber virüsü (ObPV) aşılamasından sonra 6 kat yukarı regüle edilmiştir (Kalapos ve ark., 2021). Benzer şekilde, soya fasulyesinde GELP28'in aşırı ekspresyonunun bitkilerde kuraklık toleransını indüklediği rapor edilmiştir (Su ve ark., 2020). Benzer şekilde, aşırı GELP ekspresyonuna sahip soya fasulyesi bitkilerinin de tuz stresine karşı toleranslı olduğu bulunmuştur (Su ve ark., 2020). Bu tür çalışmalar, GELP genlerinin bitkilerde stres toleransı geliştirmede önemli bir role sahip olabileceğini ve daha fazla karakterize edilmesi gerektiğini yönlendirmektedir.

Tablo 4.7.1. RT-qPCR ile TuG2 Geninin Kontrol ile Normalize Edilmiş Farklılık Gen İfadesi Değerleri.

TuG2	Kontrolün Normalleştirilmesi		
Uygulanacak Bor Dozlari	Uygulama Kodu	Ortalama İfade	Ortalama Standart Hata
Kontrol	BC	1.00	0.38
10 mM B	BT	0.78	0.10



Şekil 4.7.1. TuG2 geninin referans gen TaGAP'a göre göreceli Relatif transkript düzeyi. Relatif ifade düzeyi 3 bağımsız tekrarın ortalamasıdır. Standart sapmaların ortalaması kontrole göre normalize edilmiştir.

4.8 TuG3. FTSH - TraesCS3B02G252900- [PREDICTED: *T. dicoccoides* ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 9, chloroplastic/mitochondrial (LOC119276292), mRNA]

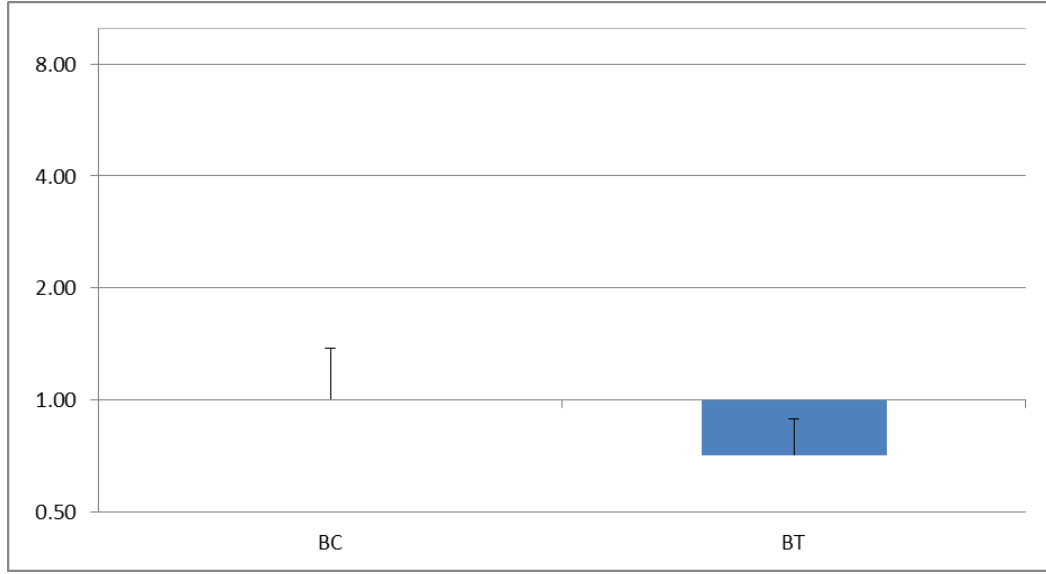
TuG3 geni (TraesCS3B02G252900), Kontrol ile karşılaştırıldığında B toksisitesi altında azalmış ifade göstermiştir. Neredeyse ihmal edilebilir kat azalması göstermesine rağmen, aşağı regülasyon, ifadede 13.66 kat değişiklik gösterdiği transkriptom dizinlemesinde elde edilen sonuca uygun bulunmuştur. Aşağı regülasyon, TuG3 ifadesinin yüksek B büyüme koşulları altında etkilendiğini göstermiştir (Tablo 4.8.1.- Şekil 4.8.1.).

Çalışmamızda yüksek B'da ekspresyonun azaldığını ortaya koyan TuG3 geni, *T. dicoccoides* ATP-bağımlı çinko metalloproteaz FTSH 9 kloroplastik/mitokondriyal (LOC119276292) geninin bir homologudur. Gen, Kromozom 3B'de (ters sarmal) bulunur ve C-terminal bölümünde peptidaz M41 ailesine ve N-terminal bölümünde AAA ATPase ailesine aittir. Gen ontolojisi analizinde bu genin moleküler fonksiyonu, nükleotid bağlanması, ATP'ye bağlı peptidaz aktivitesi, metalloendopeptidaz aktivitesi, ATP bağlanması, peptidaz aktivitesi, metalopeptidaz aktivitesi, hidrolaz aktivitesi ve ATP hidroliz aktivitesi ile ilişkilidir. Benzer şekilde, biyolojik süreci proteoliz ve ısıya tepki ile ilgiliyken, hücresel fonksiyonu sitoplazma, mitokondri, kloroplast tilakoid, kloroplast zarfı, zar ve hücre içi zara bağlı organel ile ilgilidir.

Önceki birkaç çalışma, sonuçlarımızla uyumlu olarak FTSH geninin aşağı regüle edilmiş ifadesini göstermiştir. Çalışmamızla uyumlu olarak gen, *Xanthomonas translucens* ile enfekte olmuş buğday yapraklarında, enfeksiyon olmaması durumuyla karşılaştırıldığında 1.5 kat aşağı regülasyon göstermiştir. Sonuçlarımızla uyumlu olarak ATP bağımlı çinko metalloproteaz FTSH, kloroplastik patates yapraklarında 1 ve 3 günlük soğuk stresi uygulamasından sonra ekspresyonda 0,44 ve 0,27 kat azalma göstermiştir (Li ve ark., 2021). Ancak aynı genotipe 5 ve 7 günlük soğuk uygulamadan sonra ekspresyon 0,77 ve 0,58 kat artmıştır. Sonuçlarımızın aksine, Zhang ve ark. (2014), bu genin, Kontrol'e kıyasla 72 saatlik enfeksiyondan sonra şerit pas enfeksiyonuna yanıt olarak buğday hattı 'te 1,2 kat yukarı regüle edildiğini ortaya çıkarmıştır. Benzer şekilde, nohut genotiplerinde tuzluluk stresine yanıt olarak FTSH proteininin artan ifadesi kaydedilmiştir (Arefian ve ark., 2019). ATP'ye bağımlı çinko metalloproteaz FTSH ailesinin, bitkinin sıcağa ve soğuğa karşı direncine dâhil olduğu bulunmuştur (Luo ve Kim, 2021). Bu tür çalışmalar, ATP'ye bağlı çinko metalloproteaz FTSH 9 genlerinin bitkilerde stres toleransının geliştirilmesinde önemli bir role sahip olabileceğini ve daha fazla karakterize edilmesi gerektiğini yönlendirmektedir.

Tablo 4.8.1. RT-qPCR ile TuG3 Geninin Kontrol İle Normalize Edilmiş Farklılık Gen İfadesi Değerleri.

TuG3	Kontrolün Normalleştirilmesi		
Uygulanacak B Dozlari	Uygulama Kodu	Ortalama İfade	Ortalama Standart Hata
Kontrol	BC	1.00	0.37
10 mM B	BT	0.71	0.18



Şekil 4.8.1. TuG3 geninin referans gen TaGAP'a göre Relatif transkript düzeyi. Relatif ifade düzeyleri 3 bağımsız tekrarın ortalamasıdır. Standart sapmaların ortalaması kontrole göre normalize edilmiştir.

4.9 TuG4. UXS1 -TraesCS3B02G388100- [PREDICTED: *T. dicoccoides* UDP-glukuronik asit dekarboksilaz 1-like (LOC119277519), mRNA]

TuG4 geni (TraesCS3B02G388100), Kontrol ile karşılaştırıldığında bor toksisitesi stresinde ekspresyonu 3 kat artış göstermiştir. Yukarı regülasyon, TuG4 geninin ekspresyonunun bor toksik koşullar altında etkilendiğini göstermektedir. Ancak, bu artan ekspresyon, 7.4 kat azalma gösterdiği transkriptom dizinlemesinde elde edilen sonuçla uyumlu değildir (Tablo 4.9.1.; Şekil 4.9.1.). Transkriptom sıralamasında elde edilen gen ifadesi sonucuyla tutarsızlığı, Fang ve ark. (2015)'nın sonuçlarıyla uyumludur. Bununla

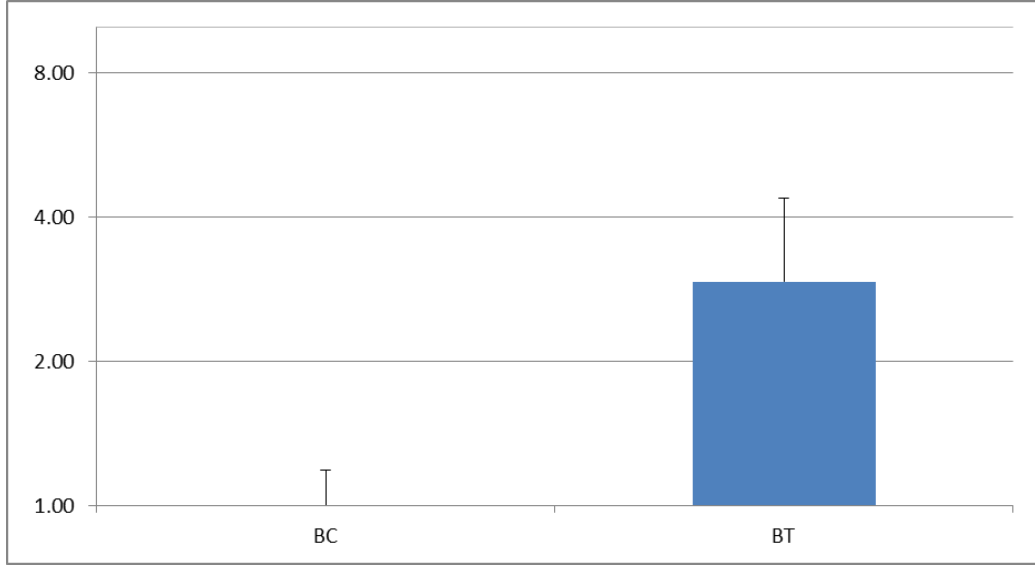
birlikte, bor toksisitesi altındaki bitkilerde gerçek ekspresyon düzeyini anlamak için fonksiyonel karakterizasyonu kesinlikle gereklidir.

Çalışmamızda yüksek bor stresinde yaklaşık üç kat yukarı regülasyon gösteren TuG4 geni, *T. dicoccoides* UDP-glukuronik asit dekarboksilaz 1-like (LOC119277519) (UXS1) geninin bir homologudur. Gen, Kromozom 3B'de (ileri sarmal) bulunur ve NAD(P) bağımlı epimeraz/dehidrataz ailesine ve UDP-glukuronik asit dekarboksilaz alt ailesine aittir. UDP-glukuronik asidin UDP-ksiloza NAD bağımlı dekarboksilasyonu bu gen aracılığıyla katalize edilir ve gen, glikozaminoglikan biyosentezinde birincil tetrasakaritin sentezi için gereklidir. Gen ontoloji analizinde, bu genin moleküler fonksiyonu liyaz aktivitesi, karboksil-liyaz aktivitesi, UDP-glukuronat dekarboksilaz aktivitesi ve NAD⁺ bağlanması ile ilişkilidir. Benzer şekilde biyolojik süreci, UDP-D-ksiloz biyosentetik süreci ve D-ksiloz metabolik süreci ile ilgiliyken, hücresel işlevi, zar ve zarın ayrılmaz bileşeni ile ilgilidir.

Bu genin yüksek bor stresi altında yukarı regülasyon sonuçlarımız, Zhang ve ark. (2014), tarafından elde edilen sonuçlarla uyumludur, burada N9134 buğday hattındaki gen, külleme tarafından yukarı regüle edilmiştir. Bor toleranslı *T. dicoccum*'un UXS1 geni, yüksek bor büyüme koşulu altında üç kat yukarı regülasyon göstermiştir (Khan ve ark., 2023b). Buğday dışında, UXS1 geninin *Phormium tenax* (Bai ve ark., 2017) ve *Iris germanica*'da (Zhang ve ark., 2021) kuraklık stresi altında yukarı regüle edildiği bulunmuştur. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde UXS1 geni de 2 saat ozon stresine maruz kaldığında 1,4 kat yukarı regülasyon göstermiştir (Xu ve ark., 2015). Bu tür çalışmalar, UXS1 geninin bitkilerde stres toleransı geliştirmede önemli bir role sahip olabileceğini ve daha fazla karakterize edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Tablo 4.9.1.RT-qPCR ile TuG4 geninin Kontrol ile Normalize Edilmiş Farklılık Gen İfadesi Değerleri.

TuG4	Kontrolün Normalleştirilmesi		
Uygulanacak Bor Dozlari	Uygulama Kodu	Ortalama İfade	Ortalama Standart Hata
Kontrol	BC	1.00	0.19
10 mM B	BT	2.93	1.45



Şekil 4.9.1. TuG4 geninin referans gen TaGAP'a göre Relatif transkript düzeyi. Relatif ifade düzeyleri 3 bağımsız tekrarın ortalamasıdır. Standart sapmaların ortalaması kontrole göre normalize edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 SONUÇLAR

Farklı biyotik ve abiyotik stresler, modern buğday bitkisinin kalitesini ve üretimini önemli ölçüde kısıtlamaktadır (Khan ve ark., 2023a). Buğday genotiplerinin yıllar boyunca evcilleştirilmesi ve ıslah süreci, genetik varyasyonlarının kaybolmasına neden olarak onları sürekli değişen ortam ve streslere daha yatkın hale getirmektedir (Khan ve ark., 2022). Daha fazla genetik çeşitliliğe sahip yabani buğday türlerinin kullanılması, bu zorluğun üstesinden gelmek için faydalı olabilmektedir. *T. urartu* gibi ataları da dahil olmak üzere yabani buğday türleri, çeşitli biyotik ve abiyotik streslere tolerans sağlayan birkaç geni barındıran daha geniş bir gen havuzuna sahiptir. Yabani buğday türlerinde bulunan genetik çeşitliliğin hedeflenen ıslah programları için kullanılması, ekili buğday çeşitlerinin bor toksisitesi gibi streslere karşı dayanıklılığını artırmaya yardımcı olabilir.

Yabani siyez veya Kırmızı yabani siyez olarak da bilinen *T. urartu*, diploid bir yabani buğday türüdür ve makarnalık ve ekmeklik buğdayın A genom donörüdür. Günümüzde Türkiye, İran, Irak ve Suriye'yi içeren Bereketli Hilal bölgesine özgüdür. Evcilleştirilmiş siyez buğdayının (*T. monococcum*) yakın akrabası olmasının yanı sıra, *T. urartu*, çeşitli agronomik özellikleri ve stres toleransını geliştirmek için buğday ıslah programlarında kullanılabilecek değerli genetik özelliklere sahiptir. *T. urartu*'nun tetraploid ve hekzaploid buğday genotipleri ile türler arası melezlenmesine yönelik birkaç başarılı girişim daha önce rapor edilmiştir (Qiu ve ark., 2005; Rodríguez-Suárez ve ark., 2011).

T. urartu türü, kuraklığa dayanıklılık, külleme direnci ve soğuk stresi toleransı gibi değerli özellikleriyle iyi bilinmesine rağmen (Gharechahi ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2021), dünyada ve Türkiye'de önemli bir tarım sorunu olan toprakta bor toksisitesine karşı dayanıklılığı az araştırılmıştır. Ayrıca, çeşitli araştırmalar buğdayın bor toksisitesine verdiği tepkiye odaklanmış ve makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitlerinde bor toleransı ile ilgili diferansiyel olarak eksprese edilmiş genler (DEG'ler) bildirmiş olsa da (Kayıhan ve ark., 2017; Pandey ve ark., 2022), hiçbir çalışma bor-toleranslı *T. urartu* genotipi ve bor toksisitesi stresi altında diferansiyel olarak ekspresyon olan genleri rapor etmemiştir. Bu tezde, ilk defa, yüksek bor düzeyinin, yüksek bor toleranslı *T. urartu* genotipi olan PI662222'nin büyümesini ve transkriptomunu nasıl etkilediği rapor edilmiştir.

Sonuçlar, *T. urartu* genotipine bor toksisite toleransı sağlamada çeşitli mekanizmaların yer aldığını göstermektedir. Bor toksisitesine toleranslı *T. urartu*, PI662222'de yüksek bor uygulaması altında, iyi bilinen bor toksisitesine toleranslı ekmeklik buğday çeşidi Bolal 2973 ile karşılaştırıldığında yapraklarda daha az sararma gözlenmiştir. Fizyolojik büyüme analizinde gövde yaş ağırlığı hariç *T. urartu*, PI662222 genotipinin kök-gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı ve kök-gövde kuru ağırlığı dâhil diğer tüm büyüme parametreleri Bolal 2973'e göre yüksek bordan (10 mM) daha az etkilenmiştir. Ayrıca genotiplerin bor tolerans seviyesinden bağımsız olarak bor toksisitesi kökleri üzerinde gövdelere göre daha fazla azaltıcı etki göstermiştir.

Transkripsiyonel profillemeye, birkaç genin diferansiyel regülasyon yoluyla *T. urartu*'da bor toksisite toleransına dâhil olduğu varsayılan fonksiyonel aday genleri başarıyla tanımlamıştır. Hem uygulamalardan hem de Sıralı Okumaların Genom Haritalamasından elde edilen bor toleranslı PI662222 genotipinin gövde RNA Dizilimi, kontrol ve değerlendirme kütüphanelerinde sırasıyla toplam 26.602 ve 27.981 genin yanı sıra 29.378 ve 30.744 transkript sağlamıştır. Ayrıca çalışmada toplam 2.254 yeni gen ve 7402 yeni transkript tanımlanmıştır. İki sürgün kütüphanesi, toplam 32.777 genin farklı düzenlemesini göstermiştir. Bunların arasında 654 gen, yüksek B konsantrasyonunda PI662222'nin sürgünlerinde önemli ölçüde diferansiyel olarak eksprese edilmiştir. Bu önemli ölçüde düzenlenen genlerden 441'inin aşağı regüle edildiği, 213 genin ise yukarı regüle edildiği bulunmuştur. Farklı mekanizmalarda yer alan önemli ölçüde diferansiyel olarak eksprese edilmiş dört gen, RT-qPCR analizi için transkriptom sıralama sonuçlarına göre rastgele seçilmiştir. Çalışılan dört gen arasında α -DOX, GELP, FTSH 9 genleri aşağı regülasyon gösterirken, UXS1 geni Kontrol'e kıyasla B toksik büyüme koşulu altında yukarı regülasyon göstermiştir.

Bor'a toleranslı *T. urartu* genotipi PI662222'de kontrole kıyasla yüksek bor uygulaması altında önemli ölçüde diferansiyel olarak eksprese edilen 654 genin tanımlanması, bu genotipin ve potansiyel genlerinin bor toksisitesi stresi için buğday çeşitlerini iyileştirmede daha fazla incelenmesi ve kullanılması ihtiyacının olduğunu göstermektedir.

5.2 ÖNERİLER

Bu tez çalışması, *T. urartu* genotipinin bor toksisitesine toleransı ve transkriptomundaki değişiklikler üzerine yapılan ilk araştırmadır. En eski yabani buğday türlerinden biri olmasına rağmen, *T. urartu*'nun biyotik ve abiyotik stres toleransları açısından potansiyeli iyi araştırılmamış ve bu nedenle tür, mahsulün ıslahı için yeterince kullanılmamıştır. Modern tetraploid ve hekzaploid buğdayın atası ve A genom donörü olan ve verimli melezler üretme kapasitesi olan, bu çalışmada bildirilen bor'a toleranslı *T. urartu* genotipi PI662222, ıslah programlarında bor toksisite toleransı kaynağı olarak ve buğday bitkisinde daha ileri omik çalışmaları yürütmek için etkili bir şekilde kullanılabilir. Ek olarak, bildirilen yüksek bor'a duyarlı aday genler, bitki yetiştiricileri ve moleküler biyologlar tarafından yüksek verimli buğday çeşitlerinde yüksek bor toleransını birleştirmek için gelecekte kullanılabilir. *T. urartu* genotipinin yüksek bor toleransı üzerine yapılan ilk transkriptomik çalışma olması nedeniyle elde edilen sonuçlara odaklanılmalı ve potansiyel aday genlerin fonksiyonel karakterizasyonu yapılarak yüksek bora'a tolerans sağlamada gen fonksiyonunun aydınlatılması gerekmektedir. Farklı buğday atalarının taranması ve belirli bir strese adaptasyon düzeylerinin belirlenmesi, ıslah programları için verimli genetik kaynaklar sağlayabilir (Khan ve ark., 2021). Ayrıca, yeterince kullanılmayan yabani genotiplerin tolerans sağlamada yer alabilecek genlerini bulmak ve bunları kültür çeşitlerine dâhil etmek, geliştirilecek yeni çeşitlerin stres toleranslarını artırmak için başarılı bir strateji olabilir.

KAYNAKLAR

- Abdeen, A., Schnell, J. ve Miki, B., 2010, Transcriptome analysis reveals absence of unintended effects in drought-tolerant transgenic plants overexpressing the transcription factor ABF3, *BMC genomics*, 11 (1), 69.
- Ahmed, N., Abid, M., Ahmad, F., Ullah, M. A., Javaid, Q. ve Ali, M. A., 2011, Impact of boron fertilization on dry matter production and mineral constitution of irrigated cotton, *Pak J Bot*, 43 (6), 2903-2910.
- Ahmed, S., Bux, H., Rasheed, A., Kazi, A. G., Rauf, A., Mahmood, T. ve Mujeeb-Kazi, A., 2014, Stripe rust resistance in Triticum durum – T. monococcum and T. durum – T. urartu amphiploids, *Australasian Plant Pathology*, 43 (2), 109-113.
- Aibara, I., Hirai, T., Kasai, K., Takano, J., Onouchi, H., Naito, S., Fujiwara, T. ve Miwa, K., 2018, Boron-dependent translational suppression of the borate exporter BOR1 contributes to the avoidance of boron toxicity, *Plant Physiology*, 177 (2), 759-774.
- Aprile, A., Havlickova, L., Panna, R., Marè, C., Borrelli, G. M., Marone, D., Perrotta, C., Rampino, P., De Bellis, L. ve Curn, V., 2013, Different stress responsive strategies to drought and heat in two durum wheat cultivars with contrasting water use efficiency, *BMC genomics*, 14 (1), 1-18.
- Aquea, F., Federici, F., Moscoso, C., Vega, A., Jullian, P., Haseloff, J. ve Arce-Johnson, P., 2012, A molecular framework for the inhibition of Arabidopsis root growth in response to boron toxicity, *Plant Cell Environ*, 35 (4), 719-734.
- Arefian, M., Vessal, S., Malekzadeh-Shafaroudi, S., Siddique, K. H. M. ve Bagheri, A., 2019, Comparative proteomics and gene expression analyses revealed responsive proteins and mechanisms for salt tolerance in chickpea genotypes, *BMC Plant Biology*, 19 (1), 300.
- Arisoy 2010. Türkiye'nin Avrupa Birliği buğday ortak piyasa düzenine uyumunun İç Anadolu Bölgesi üreticilerine olası yansımaları.
- Asseng, S., Ewert, F., Martre, P., Rötter, R. P., Lobell, D. B., Cammarano, D., Kimball, B. A., Ottman, M. J., Wall, G. W. ve White, J. W., 2015, Rising temperatures reduce global wheat production, *Nature climate change*, 5 (2), 143-147.
- Avci, M. ve Akar, T., 2005, Severity and spatial distribution of boron toxicity in barley cultivated areas of Central Anatolia and transitional zones, *Turkish journal of agriculture and forestry*, 29 (5), 377-382.
- Bai, Z.-y., Wang, T., Wu, Y.-h., Wang, K., Liang, Q.-y., Pan, Y.-z., Jiang, B.-b., Zhang, L., Liu, G.-l., Jia, Y. ve Liu, Q.-l., 2017, Whole-transcriptome sequence analysis of differentially expressed genes in Phormium tenax under drought stress, *Scientific Reports*, 7 (1), 41700.
- Bellaloui, N. ve Brown, P. H., 1998, Cultivar differences in boron uptake and distribution in celery (Apium graveolens), tomato (Lycopersicon esculentum) and wheat (Triticum aestivum), *Plant and soil*, 198 (2), 153-158.
- Bothmer, R. V., Seberg, O. ve Jacobsen, N., 1992, Genetic resources in the Triticeae, *Hereditas*, 116 (1-2), 141-150.

- Brandolini, A., Volante, A. ve Heun, M., 2016, Geographic differentiation of domesticated einkorn wheat and possible Neolithic migration routes, *Heredity*, 117 (3), 135-141.
- Brdar-Jokanović, M., Maksimović, I., Kraljević-Balalić, M., Zeremski-Škorić, T., Kondić-Špika, A. ve Kobiljski, B., 2013, Boron concentration vs. content as criterion for estimating boron tolerance in wheat, *Journal of Plant Nutrition*, 36 (3), 470-480.
- Brdar-Jokanović, M., 2020, Boron toxicity and deficiency in agricultural plants, *International journal of molecular sciences*, 21 (4), 1424.
- Brown, P., Bellaloui, N., Wimmer, M., Bassil, E., Ruiz, J., Hu, H., Pfeiffer, H., Dannel, F. ve Römheld, V., 2002, Boron in plant biology, *Plant biology*, 4 (02), 205-223.
- Brown, P. H. ve Shelp, B. J., 1997, Boron mobility in plants, *Plant and soil*, 193 (1-2), 85-101.
- Brunazzi, A., Scaglione, D., Talini, R. F., Miculan, M., Magni, F., Poland, J., Enrico Pè, M., Brandolini, A. ve Dell'Acqua, M., 2018, Molecular diversity and landscape genomics of the crop wild relative *Triticum urartu* across the Fertile Crescent, *The Plant Journal*, 94 (4), 670-684.
- Camacho-Cristóbal, J. J., Rexach, J. ve González-Fontes, A., 2008, Boron in plants: deficiency and toxicity, *Journal of Integrative Plant Biology*, 50 (10), 1247-1255.
- Campbell, B. T., Baenziger, P. S., Gill, K. S., Eskridge, K. M., Budak, H., Erayman, M., Dweikat, I. ve Yen, Y., 2003, Identification of QTLs and Environmental Interactions Associated with Agronomic Traits on Chromosome 3A of Wheat, *Crop Science*, 43 (4), 1493-1505.
- Çatav, Ş. S., Genç, T. O., Kesik Oktay, M. ve Küçükakyüz, K., 2018, Effect of boron toxicity on oxidative stress and genotoxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.), *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 100, 502-508.
- Cervilla, L. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Romero, L. ve Ruiz, J. M., 2007, Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity, *Annals of Botany*, 100 (4), 747-756.
- Chen, L.-S., Han, S., Qi, Y.-P. ve Yang, L.-T., 2012, Boron stresses and tolerance in citrus, *African Journal of Biotechnology*, 11 (22), 5961-5969.
- Coskun, Y., Olgunsoy, P., Karatas, N., Bulut, F. ve Yazar, F., 2014, Mannitol application alleviates boron toxicity in wheat seedlings, *Communications in soil science and plant analysis*, 45 (7), 944-952.
- Cuesta, S., Guzmán, C. ve Alvarez, J. B., 2015, Molecular characterization of novel LMW-i glutenin subunit genes from *Triticum urartu* Thum. ex Gandil, *Theoretical and Applied Genetics*, 128 (11), 2155-2165.
- Curtis, B. C., Rajaram, S. ve Gómez Macpherson, H., 2002, Bread wheat: improvement and production, *Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, p.
- De León, I. P., Sanz, A., Hamberg, M. ve Castresana, C., 2002, Involvement of the Arabidopsis α -DOX1 fatty acid dioxygenase in protection against oxidative stress and cell death, *The Plant Journal*, 29 (1), 61-72.
- Dell, B. ve Huang, L., 1997, Physiological response of plants to low boron, *Plant and soil*, 193 (1), 103-120.

- Dixon, J., 2007, The economics of wheat: research challenges from field to fork, *Wheat Production in Stressed Environments: Proceedings of the 7th International Wheat Conference, 27 November–2 December 2005, Mar del Plata, Argentina*, 9-22.
- Dubcovsky, J. ve Dvorak, J., 2007, Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication, *Science*, 316 (5833), 1862-1866.
- Dvorák, J., Terlizzi, P., Zhang, H. B. ve Resta, P., 1993, The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species, *Genome*, 36 (1), 21-31.
- Dzondo-Gadet, M., Mayap-Nzietchueng, R., Hess, K., Nabet, P., Belleville, F. ve Dousset, B., 2002, Action of boron at the molecular level, *Biological Trace Element Research*, 85 (1), 23-33.
- Emon, R., Gustafson, K., Bebeli, P., Jahiruddin, M., Haque, M., Ross, K. ve Gusafson, J., 2012, Screening Aegilops-Triticum species for Boron tolerance, *Afr J Agr Res*, 7, 1931-1936.
- Emon, R. M., Nevame, A. Y. M., Gustafson, P. J., Haque, M. S., Jahiruddin, M. ve Islam, M. M., 2015, Morpho-Genetic Study and Detection of Boron Toxicity Tolerance of Wild Wheat Genotypes, *Journal of Applied Biotechnology*, 3 (2), 41.
- Fang, W., Zhao, F. a., Sun, Y., Xie, D., Sun, L., Xu, Z., Zhu, W., Yang, L., Zhao, Y., Lv, S., Tang, Z., Nie, L., Li, W., Hou, J., Duan, Z., Yu, Y. ve Yang, X., 2015, Transcriptomic Profiling Reveals Complex Molecular Regulation in Cotton Genic Male Sterile Mutant Yu98-8A, *PloS One*, 10 (9), e0133425.
- FAO 2018. Wheat production statistics FAOSTAT available at: www.fao.org/faostat/en/#data/QCAccessed (August 2018)
- Feldman, M. ve Millet, E., 2001, The contribution of the discovery of wild emmer to an understanding of wheat evolution and domestication and to wheat improvement, *Israel Journal of Plant Sciences*, 49 (sup1), 25-36.
- Feldman, M. ve Levy, A. A., 2015, Origin and evolution of wheat and related Triticeae species, *Alien introgression in wheat: cytogenetics, molecular biology, and genomics*, 21-76.
- Fricano, A., Brandolini, A., Rossini, L., Sourdille, P., Wunder, J., Effgen, S., Hidalgo, A., Erba, D., Piffanelli, P. ve Salamini, F., 2014, Crossability of Triticum urartu and Triticum monococcum wheats, homoeologous recombination, and description of a panel of interspecific introgression lines, *G3 (Bethesda)*, 4 (10), 1931-1941.
- Fu, Y.-B., 2015, Understanding crop genetic diversity under modern plant breeding, *Theoretical and Applied Genetics*, 128 (11), 2131-2142.
- Funakawa, H. ve Miwa, K., 2015, Synthesis of borate cross-linked rhamnogalacturonan II, *Frontiers in Plant Science*, 6, 223.
- Gao, F., Chen, B., Jiao, J., Jia, L. ve Liu, C., 2017, Two novel vesicle-inducing proteins in plastids 1 genes cloned and characterized in Triticum urartu, *PloS One*, 12 (1), e0170439.
- Gaytancıoğlu, S. K. O., 2007, Türkiye’de buğdayda uygulanan tarım politikaları ve trakya bölgesi buğday üreticilerinin sorunları, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4 (3), 249-259.

- Gharechahi, J., Alizadeh, H., Naghavi, M. R. ve Sharifi, G., 2014, A proteomic analysis to identify cold acclimation associated proteins in wild wheat (*Triticum urartu* L.), *Mol Biol Rep*, 41 (6), 3897-3905.
- Glaszmann, J.-C., Kilian, B., Upadhyaya, H. D. ve Varshney, R. K., 2010, Accessing genetic diversity for crop improvement, *Current opinion in plant biology*, 13 (2), 167-173.
- Goldbach, H. E. ve Wimmer, M. A., 2007, Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure?, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170 (1), 39-48.
- Gourdji, S. M., Sibley, A. M. ve Lobell, D. B., 2013, Global crop exposure to critical high temperatures in the reproductive period: historical trends and future projections, *Environmental Research Letters*, 8 (2), 024041.
- Gunes, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bagci, E., Coban, S. ve Sahin, O., 2006, Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity, *Scientia Horticulturae*, 110 (3), 279-284.
- Gustafson, P., Raskina, O., Ma, X. ve Nevo, E., 2009, Wheat Evolution, Domestication, and Improvement, In: *Wheat Science and Trade*, Eds, p. 3-30.
- Hermesmeier, D., Schittko, U. ve Baldwin, I. T., 2001, Molecular Interactions between the Specialist Herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and Its Natural Host *Nicotiana attenuata*. I. Large-Scale Changes in the Accumulation of Growth- and Defense-Related Plant mRNAs, *Plant Physiology*, 125 (2), 683-700.
- Heun, M., Schafer-Pregl, R., Klawan, D., Castagna, R., Accerbi, M., Borghi, B. ve Salamini, F., 1997, Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting, *Science*, 278 (5341), 1312-1314.
- Hu, H. ve Brown, P. H., 1994, Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin (evidence for a structural role of boron in the cell wall), *Plant Physiology*, 105 (2), 681-689.
- Hu, H., Penn, S. G., Lebrilla, C. B. ve Brown, P. H., 1997, Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants (the mechanism of phloem mobility of boron), *Plant Physiology*, 113 (2), 649-655.
- Huang, L., Raats, D., Sela, H., Klymiuk, V., Lidzbarsky, G., Feng, L., Krugman, T. ve Fahima, T., 2016, Evolution and adaptation of wild emmer wheat populations to biotic and abiotic stresses, *Annual review of phytopathology*, 54, 279-301.
- Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, R. ve Gornicki, P., 2002, Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum*/*Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploid wheat, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (12), 8133-8138.
- Kalapos, B., Juhász, C., Balogh, E., Kocsy, G., Tóbiás, I. ve Gullner, G., 2021, Transcriptome profiling of pepper leaves by RNA-Seq during an incompatible and a compatible pepper-tobamovirus interaction, *Scientific Reports*, 11 (1), 20680.
- Kalayci, M., Alkan, A., Cakmak, I., Bayramoğlu, O., Yilmaz, A., Aydin, M., Ozbek, V., Ekiz, H. ve Ozberisoy, F., 1998, Studies on differential response of wheat cultivars to boron toxicity, *Euphytica*, 100 (1-3), 123-129.
- Kayihan, C., Kayihan, D. S. ve Aksoy, E., 2021, Identification and expression profiling of toxic boron-responsive microRNAs and their targets in sensitive and tolerant wheat cultivars, *Turkish journal of agriculture and forestry*, 45 (4), 411-433.

- Kayıhan, C., Öz, M. T., Eyidoğan, F., Yücel, M. ve Öktem, H. A., 2017, Physiological, Biochemical, and Transcriptomic Responses to Boron Toxicity in Leaf and Root Tissues of Contrasting Wheat Cultivars, *Plant Molecular Biology Reporter*, 35 (1), 97-109.
- Khan, M. K., Pandey, A., Hamurcu, M., Avsaroglu, Z. Z., Ozbek, M., Omay, A. H., Elbasan, F., Omay, M. R., Gokmen, F. ve Topal, A., 2021, Variability in physiological traits reveals boron toxicity tolerance in Aegilops species, *Frontiers in Plant Science*, 12, 736614.
- Khan, M. K., Pandey, A., Hamurcu, M., Germ, M., Yilmaz, F. G., Ozbek, M., Avsaroglu, Z. Z., Topal, A. ve Gezgin, S., 2022, Nutrient homeostasis of Aegilops accessions differing in B tolerance level under boron toxic growth conditions, *Biology*, 11 (8), 1094.
- Khan, M. K., Arifuzzaman, M., Pandey, A., Turin, M. T. S., Hamurcu, M., Athar, T., Masuda, M. S., Gokmen Yilmaz, F., Topal, A. ve Gezgin, S., 2023a, Advancement in mitigating the effects of boron stress in wheat, In: *Abiotic Stresses in Wheat*, Eds, p. 329-338.
- Khan, M. K., Pandey, A., Hamurcu, M., Rajpal, V. R., Vyhnanek, T., Topal, A., Raina, S. N. ve Gezgin, S., 2023b, Insight into the Boron Toxicity Stress-Responsive Genes in Boron-Tolerant Triticum dicoccum Shoots Using RNA Sequencing, *Agronomy*, 13 (3).
- Khoury, C., Laliberté, B. ve Guarino, L., 2010, Trends in ex situ conservation of plant genetic resources: a review of global crop and regional conservation strategies, *Genetic resources and crop evolution*, 57 (4), 625-639.
- Kilian, B., Özkan, H., Deusch, O., Effgen, S., Brandolini, A., Kohl, J., Martin, W. ve Salamini, F., 2007, Independent wheat B and G genome origins in outcrossing Aegilops progenitor haplotypes, *Molecular Biology and Evolution*, 24 (1), 217-227.
- Kimber, G. v. ve Sears, E. R., 1987, Evolution in the genus Triticum and the origin of cultivated wheat, *Wheat and wheat improvement*, 13, 154-164.
- Koeduka, T., Matsui, K., Hasegawa, M., Akakabe, Y. ve Kajiwar, T., 2005, Rice fatty acid α -dioxygenase is induced by pathogen attack and heavy metal stress: activation through jasmonate signaling, *Journal of Plant Physiology*, 162 (8), 912-920.
- Konovalov, F. A., Goncharov, N. P., Goryunova, S., Shaturova, A., Proshlyakova, T. ve Kudryavtsev, A., 2010, Molecular markers based on LTR retrotransposons BARE-1 and Jeli uncover different strata of evolutionary relationships in diploid wheats, *Molecular Genetics and Genomics*, 283, 551-563.
- Landi, M., Degl'Innocenti, E., Pardossi, A. ve Guidi, L., 2012, Antioxidant and photosynthetic responses in plants under boron toxicity: a review, *Am. J. Agric. Biol. Sci*, 7 (3), 255-270.
- Landi, M., Margaritopoulou, T., Papadakis, I. E. ve Araniti, F., 2019, Boron toxicity in higher plants: an update, *Planta*, 250 (4), 1011-1032.
- Leaungthitikanhachana, S., Fujibe, T., Tanaka, M., Wang, S., Sotta, N., Takano, J. ve Fujiwara, T., 2013, Differential expression of three BOR1 genes corresponding to different genomes in response to boron conditions in hexaploid wheat (Triticum aestivum L.), *Plant Cell Physiol*, 54 (7), 1056-1063.

- Lev-Yadun, S., Gopher, A. ve Abbo, S., 2006, How and when was wild wheat domesticated?, *Science*, 313 (5785), 296-297.
- Levy, A. A. ve Feldman, M., 2022, Evolution and origin of bread wheat, *Plant Cell*, 34 (7), 2549-2567.
- Li, H., Luo, W., Ji, R., Xu, Y., Xu, G., Qiu, S. ve Tang, H., 2021, A comparative proteomic study of cold responses in potato leaves, *Heliyon*, 7 (2), e06002.
- Li, L.-F., Zhang, Z.-B., Wang, Z.-H., Li, N., Sha, Y., Wang, X.-F., Ding, N., Li, Y., Zhao, J. ve Wu, Y., 2022, Genome sequences of five Sitopsis species of Aegilops and the origin of polyploid wheat B subgenome, *Molecular plant*, 15 (3), 488-503.
- Ling, H.-Q., Zhao, S., Liu, D., Wang, J., Sun, H., Zhang, C., Fan, H., Li, D., Dong, L. ve Tao, Y., 2013, Draft genome of the wheat A-genome progenitor Triticum urartu, *Nature*, 496 (7443), 87-90.
- Livak, K. J. ve 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.
- Loomis, W. D. ve Durst, R. W., 1991, Boron and cell walls, *Current topics in plant biochemistry and physiology: Proceedings of the... Plant Biochemistry and Physiology Symposium held at the University of Missouri, Columbia (USA)*.
- Luo, G., Zhang, X., Zhang, Y., Yang, W., Li, Y., Sun, J., Zhan, K., Zhang, A. ve Liu, D., 2015, Composition, variation, expression and evolution of low-molecular-weight glutenin subunit genes in Triticum urartu, *BMC Plant Biology*, 15 (1), 1-14.
- Luo, G., Shen, L., Song, Y., Yu, K., Ji, J., Zhang, C., Yang, W., Li, X., Sun, J. ve Zhan, K., 2021, The MYB family transcription factor TuODORANT1 from Triticum urartu and the homolog TaODORANT1 from Triticum aestivum inhibit seed storage protein synthesis in wheat, *Plant Biotechnology Journal*, 19 (9), 1863-1877.
- Luo, S. ve Kim, C., 2021, Current Understanding of Temperature Stress-Responsive Chloroplast FtsH Metalloproteases, *International journal of molecular sciences*, 22 (22), 12106.
- Mac Key, J., 1954, Mutation breeding in polyploid cereals, *Acta Agriculturae Scandinavica*, 4 (1), 549-557.
- Macho-Rivero, M. A., Herrera-Rodríguez, M. B., Brejcha, R., Schäffner, A. R., Tanaka, N., Fujiwara, T., González-Fontes, A. ve Camacho-Cristóbal, J. J., 2018, Boron toxicity reduces water transport from root to shoot in Arabidopsis plants. Evidence for a reduced transpiration rate and expression of major PIP aquaporin genes, *Plant and Cell Physiology*, 59 (4), 841-849.
- Mahboobi, H., Yucel, M. ve Öktem, H. A., 2001, CELL WALL URONIC ACID CONCENTRATIONS OF RESISTANT AND SENSITIVE CULTIVARS OF WHEAT AND BARLEY UNDER BORON TOXICITY, *Journal of Plant Nutrition*, 24 (12), 1965-1973.
- Mahboobi, H., Yücel, M. ve Öktem, H. A., 2002, Nitrate reductase and glutamate dehydrogenase activities of resistant and sensitive cultivars of wheat and barley under boron toxicity, *Journal of Plant Nutrition*, 25 (8), 1829-1837.
- Marcussen, T., Sandve, S. R., Heier, L., Spannagl, M., Pfeifer, M., International Wheat Genome Sequencing Consortium, Jakobsen, K. S., Wulff, B. B., Steuernagel, B. ve

- Mayer, K. F., 2014, Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat, *Science*, 345 (6194), 1250092.
- Marschner, P. ve Rengel, Z., 2012, Nutrient availability in soils, In: Marschner's mineral nutrition of higher plants, Eds: Elsevier, p. 315-330.
- Martinez-Ballesta, M. d. C., Bastías, E., Zhu, C., Schäffner, A. R., González-Moro, B., González-Murua, C. ve Carvajal, M., 2008, Boric acid and salinity effects on maize roots. Response of aquaporins ZmPIP1 and ZmPIP2, and plasma membrane H⁺-ATPase, in relation to water and nutrient uptake, *Physiologia Plantarum*, 132 (4), 479-490.
- McCouch, S., Baute, G. J., Bradeen, J., Bramel, P., Bretting, P. K., Buckler, E., Burke, J. M., Charest, D., Cloutier, S., Cole, G., Dempewolf, H., Dingkuhn, M., Feuillet, C., Gepts, P., Grattapaglia, D., Guarino, L., Jackson, S., Knapp, S., Langridge, P., Lawton-Rauh, A., Lijua, Q., Lusty, C., Michael, T., Myles, S., Naito, K., Nelson, R. L., Pontarollo, R., Richards, C. M., Rieseberg, L., Ross-Ibarra, J., Rounsley, S., Hamilton, R. S., Schurr, U., Stein, N., Tomooka, N., van der Knaap, E., van Tassel, D., Toll, J., Valls, J., Varshney, R. K., Ward, J., Waugh, R., Wenzl, P. ve Zamir, D., 2013, Feeding the future, *Nature*, 499 (7456), 23-24.
- Metwally, A., El-Shazoly, R. ve Hamada, A. M., 2012, Effect of boron on growth criteria of some wheat cultivars, *J. Biol. Earth Sci*, 2 (1), B1-B9.
- Miwa, K. ve Fujiwara, T., 2010, Boron transport in plants: co-ordinated regulation of transporters, *Annals of Botany*, 105 (7), 1103-1108.
- Miwa, K., Aibara, I. ve Fujiwara, T., 2014, Arabidopsis thaliana BOR4 is upregulated under high boron conditions and confers tolerance to high boron, *Soil science and plant nutrition*, 60 (3), 349-355.
- Morrison, L., 1993, Triticum-Aegilops systematics: taking an integrative approach, *Biodiversity and wheat improvement.*, 59-66.
- Nable, R. O., 1988, Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism, *Plant and soil*, 112 (1), 45-52.
- Nejad, S. G., Savaghebi, G., Farahbakhsh, M., Amiri, R. M. ve Rezaei, H., 2015, Tolerance of some wheat varieties to boron toxicity, *Cereal Research Communications*, 43 (3), 384-393.
- Nevo, E. ve Chen, G., 2010, Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement, *Plant, Cell & Environment*, 33 (4), 670-685.
- Özkan, H., Brandolini, A., Schäfer-Pregl, R. ve Salamini, F., 2002, AFLP analysis of a collection of tetraploid wheats indicates the origin of emmer and hard wheat domestication in southeast Turkey, *Molecular Biology and Evolution*, 19 (10), 1797-1801.
- Özkan, H., Tuna, M., Kilian, B., Mori, N. ve Ohta, S., 2010, Genome size variation in diploid and tetraploid wild wheats, *AoB PLANTS*, 2010.
- Pallotta, M., Schnurbusch, T., Hayes, J., Hay, A., Baumann, U., Paull, J., Langridge, P. ve Sutton, T., 2014, Molecular basis of adaptation to high soil boron in wheat landraces and elite cultivars, *Nature*, 514 (7520), 88-91.

- Pandey, A., Khan, M. K., Hamurcu, M., Yilmaz, F. G. ve Gezgin, S., 2020, Boron Toxicity: An Insight on Its Influence on Wheat Growth, In: Metal Toxicology Handbook, Eds: CRC Press, p. 417-432.
- Pandey, A., Khan, M. K., Hamurcu, M., Brestic, M., Topal, A. ve Gezgin, S., 2022, Insight into the Root Transcriptome of a Boron-Tolerant *Triticum zhukovskyi* Genotype Grown under Boron Toxicity, *Agronomy*, 12 (10).
- Papadakis, I. E., Dimassi, K. N., Bosabalidis, A. M., Therios, I. N., Patakas, A. ve Giannakoula, A., 2004, Boron toxicity in 'Clementine' mandarin plants grafted on two rootstocks, *Plant Science*, 166 (2), 539-547.
- Paull, J. G., 1990, Genetic studies on the tolerance of wheat to high concentrations of boron.
- Peng, J. H., Sun, D. ve Nevo, E., 2011, Domestication evolution, genetics and genomics in wheat, *Molecular Breeding*, 28, 281-301.
- Princi, M. P., Lupini, A., Araniti, F., Longo, C., Mauceri, A., Sunseri, F. ve Abenavoli, M. R., 2016, Boron Toxicity and Tolerance in Plants, 115-147.
- Qiao, K., Liang, S., Wang, F., Wang, H., Hu, Z. ve Chai, T., 2019, Effects of cadmium toxicity on diploid wheat (*Triticum urartu*) and the molecular mechanism of the cadmium response, *Journal of hazardous materials*, 374, 1-10.
- Qiu, Y., Zhou, R., Kong, X., Zhang, S. ve Jia, J., 2005, Microsatellite mapping of a *Triticum urartu* Tum. derived powdery mildew resistance gene transferred to common wheat (*Triticum aestivum* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 1524-1531.
- Rahmstorf, S. ve Coumou, D., 2011, Increase of extreme events in a warming world, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (44), 17905-17909.
- Rawson, H., 1996, The developmental stage during which boron limitation causes sterility in wheat genotypes and the recovery of fertility, *Functional Plant Biology*, 23 (6), 709-717.
- Redden, R., 2013, New approaches for crop genetic adaptation to the abiotic stresses predicted with climate change, *Agronomy*, 3 (2), 419-432.
- Rehman, S., Park, T. I., Kim, Y. J., Seo, Y. W. ve Yun, S. J., 2006, Inverse relationship between boron toxicity tolerance and boron contents of barley seed and root, *Journal of Plant Nutrition*, 29 (10), 1779-1789.
- Reid, R. ve Fitzpatrick, K., 2009a, Influence of Leaf Tolerance Mechanisms and Rain on Boron Toxicity in Barley and Wheat, *Plant Physiology*, 151 (1), 413-420.
- Reid, R. ve Fitzpatrick, K. L., 2009b, Redistribution of boron in leaves reduces boron toxicity, *Plant signaling & behavior*, 4 (11), 1091-1093.
- Reid, R. J., Hayes, J. E., Post, A., Stangoulis, J. C. R. ve Graham, R. D., 2004, A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants, *Plant, Cell & Environment*, 27 (11), 1405-1414.
- Ren, Y., Li, M., Guo, S., Sun, H., Zhao, J., Zhang, J., Liu, G., He, H., Tian, S., Yu, Y., Gong, G., Zhang, H., Zhang, X., Alseekh, S., Fernie, A. R., Scheller, H. V. ve Xu, Y., 2021, Evolutionary gain of oligosaccharide hydrolysis and sugar transport enhanced carbohydrate partitioning in sweet watermelon fruits, *Plant Cell*, 33 (5), 1554-1573.

- Rerkasem, B., Nirantrayagul, S. ve Jamjod, S., 2004, Increasing boron efficiency in international bread wheat, durum wheat, triticale and barley germplasm will boost production on soils low in boron, *Field Crops Research*, 86 (2-3), 175-184.
- Reyer, C. P., Leuzinger, S., Rammig, A., Wolf, A., Bartholomeus, R. P., Bonfante, A., De Lorenzi, F., Dury, M., Gloning, P. ve Abou Jaoudé, R., 2013, A plant's perspective of extremes: terrestrial plant responses to changing climatic variability, *Global change biology*, 19 (1), 75-89.
- Rodríguez-Suárez, C., Ramírez, M. C., Martín, A. ve Atienza, S. G., 2011, Applicability of chromosome-specific SSR wheat markers for the introgression of *Triticum urartu* in durum wheat breeding programmes, *Plant Genetic Resources*, 9 (3), 439-444.
- Roessner, U., Patterson, J. H., Forbes, M. G., Fincher, G. B., Langridge, P. ve Bacic, A., 2006, An investigation of boron toxicity in barley using metabolomics, *Plant Physiol*, 142 (3), 1087-1101.
- Rouse, M. ve Jin, Y., 2011, Stem rust resistance in A-genome diploid relatives of wheat, *Plant Disease*, 95 (8), 941-944.
- Roy, S. J., Tucker, E. J. ve Tester, M., 2011, Genetic analysis of abiotic stress tolerance in crops, *Current opinion in plant biology*, 14 (3), 232-239.
- Ryden, P., Sugimoto-Shirasu, K., Smith, A. C., Findlay, K., Reiter, W.-D. ve McCann, M. C., 2003, Tensile properties of Arabidopsis cell walls depend on both a xyloglucan cross-linked microfibrillar network and rhamnogalacturonan II-borate complexes, *Plant Physiology*, 132 (2), 1033-1040.
- Saffert, A., Hartmann-Schreier, J., Schön, A. ve Schreier, P., 2000, A dual function alpha-dioxygenase-peroxidase and NAD(+) oxidoreductase active enzyme from germinating pea rationalizing alpha-oxidation of fatty acids in plants, *Plant Physiol*, 123 (4), 1545-1552.
- Sakamoto, T., Inui, Y. T., Uraguchi, S., Yoshizumi, T., Matsunaga, S., Mastui, M., Umeda, M., Fukui, K. ve Fujiwara, T., 2011, Condensin II alleviates DNA damage and is essential for tolerance of boron overload stress in Arabidopsis, *The Plant Cell*, 23 (9), 3533-3546.
- Sanz, A., Moreno, J. I. ve Castresana, C., 1998, PIOX, a new pathogen-induced oxygenase with homology to animal cyclooxygenase, *Plant Cell*, 10 (9), 1523-1537.
- Schnurbusch, T., Collins, N. C., Eastwood, R. F., Sutton, T., Jefferies, S. P. ve Langridge, P., 2007, Fine mapping and targeted SNP survey using rice-wheat gene colinearity in the region of the Bo1 boron toxicity tolerance locus of bread wheat, *Theoretical and Applied Genetics*, 115 (4), 451-461.
- Schnurbusch, T., Langridge, P. ve Sutton, T., 2008, The Bo1-specific PCR marker AWW5L7 is predictive of boron tolerance status in a range of exotic durum and bread wheats, *Genome*, 51 (12), 963-971.
- Schnurbusch, T., Hayes, J., Hrmova, M., Baumann, U., Ramesh, S. A., Tyerman, S. D., Langridge, P. ve Sutton, T., 2010, Boron Toxicity Tolerance in Barley through Reduced Expression of the Multifunctional Aquaporin HvNIP2;1 *Plant Physiology*, 153 (4), 1706-1715.
- Sears, E., 1952, Homoeologous chromosomes in *Triticum aestivum*.

- Sehgal, A., Sita, K., Siddique, K. H. M., Kumar, R., Bhogireddy, S., Varshney, R. K., HanumanthaRao, B., Nair, R. M., Prasad, P. V. V. ve Nayyar, H., 2018, Drought or/and Heat-Stress Effects on Seed Filling in Food Crops: Impacts on Functional Biochemistry, Seed Yields, and Nutritional Quality, *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Shao, Q.-Q., Li, C.-S. ve Basang, C., 1983, Semi-wild wheat from Xizang (Tibet), *Proceedings of the sixth International Wheat Genetics Symposium/edited by Sadao Sakamoto*.
- Shen, L., Luo, G., Song, Y., Xu, J., Ji, J., Zhang, C., Gregová, E., Yang, W., Li, X. ve Sun, J., 2021, A novel NAC family transcription factor SPR suppresses seed storage protein synthesis in wheat, *Plant Biotechnology Journal*, 19 (5), 992-1007.
- Shen, Z., Liang, Y. ve Shen, K., 1993, Effect of boron on the nitrate reductase activity in oilseed rape plants, *Journal of Plant Nutrition*, 16 (7), 1229-1239.
- Shiferaw, B., Smale, M., Braun, H.-J., Duveiller, E., Reynolds, M. ve Muricho, G., 2013, Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security, *Food Security*, 5, 291-317.
- Shireen, F., Nawaz, M. A., Chen, C., Zhang, Q., Zheng, Z., Sohail, H., Sun, J., Cao, H., Huang, Y. ve Bie, Z., 2018, Boron: Functions and Approaches to Enhance Its Availability in Plants for Sustainable Agriculture, *Int J Mol Sci*, 19 (7).
- Song, Y., Luo, G., Shen, L., Yu, K., Yang, W., Li, X., Sun, J., Zhan, K., Cui, D. ve Liu, D., 2020, TubZIP28, a novel bZIP family transcription factor from *Triticum urartu*, and TabZIP28, its homologue from *Triticum aestivum*, enhance starch synthesis in wheat, *new phytologist*, 226 (5), 1384-1398.
- Sonmez, O., Aydemir, S. ve Kaya, C., 2009, Mitigation effects of mycorrhiza on boron toxicity in wheat (*Triticum durum*) plants, *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 37 (2), 99-104.
- Stangoulis, J., Tate, M., Graham, R., Bucknall, M., Palmer, L., Boughton, B. ve Reid, R., 2010, The Mechanism of Boron Mobility in Wheat and Canola Phloem *Plant Physiology*, 153 (2), 876-881.
- Stangoulis, J. C. R., Reid, R. J., Brown, P. H. ve Graham, R. D., 2001, Kinetic analysis of boron transport in *Chara*, *Planta*, 213 (1), 142-146.
- 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. ve Min, D.-H., 2020, Genome-Wide Identification, Evolution, and Expression of GDGL-Type Esterase/Lipase Gene Family in Soybean, *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Subedi, K., Gregory, P. ve Gooding, M., 1999, Boron accumulation and partitioning in wheat cultivars with contrasting tolerance to boron deficiency, *Plant and soil*, 214 (1), 141-152.
- Sutton, T., Baumann, U., Hayes, J., Collins, N. C., Shi, B. J., Schnurbusch, T., Hay, A., Mayo, G., Pallotta, M., Tester, M. ve Langridge, P., 2007, Boron-toxicity tolerance in barley arising from efflux transporter amplification, *Science*, 318 (5855), 1446-1449.
- Tanaka, M. ve Fujiwara, T., 2008, Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants, *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 456, 671-677.

- Tanaka, M., Takano, J., Chiba, Y., Lombardo, F., Ogasawara, Y., Onouchi, H., Naito, S. ve Fujiwara, T., 2011, Boron-dependent degradation of NIP5;1 mRNA for acclimation to excess boron conditions in Arabidopsis, *Plant Cell*, 23 (9), 3547-3559.
- Tanaka, N., Uraguchi, S., Saito, A., Kajikawa, M., Kasai, K., Sato, Y., Nagamura, Y. ve Fujiwara, T., 2013, Roles of Pollen-Specific Boron Efflux Transporter, OsBOR4, in the Rice Fertilization Process, *Plant and Cell Physiology*, 54 (12), 2011-2019.
- Tirajoh, A., Aung, T. S. T., McKay, A. B. ve Plant, A. L., 2004, Stress-responsive α -dioxxygenase expression in tomato roots, *Journal of Experimental Botany*, 56 (412), 713-723.
- Torun, A. A., Yazici, A., Erdem, H. ve ÇAKMAK, İ., 2006, Genotypic variation in tolerance to boron toxicity in 70 durum wheat genotypes, *Turkish journal of agriculture and forestry*, 30 (1), 49-58.
- Voxeur, A. ve Fry, S. C., 2014, Glycosylinositol phosphorylceramides from Rosa cell cultures are boron-bridged in the plasma membrane and form complexes with rhamnogalacturonan II, *The Plant Journal*, 79 (1), 139-149.
- Wang, B.-L., Shi, L., Li, Y.-X. ve Zhang, W.-H., 2010, Boron toxicity is alleviated by hydrogen sulfide in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings, *Planta*, 231 (6), 1301-1309.
- Wang, F., Qiao, K., Wang, H., Wang, H. ve Chai, T., 2022a, MTP8 from *Triticum urartu* Is Primarily Responsible for Manganese Tolerance, *International journal of molecular sciences*, 23 (10), 5683.
- Wang, N., Yang, C., Pan, Z., Liu, Y. ve Peng, S. a., 2015, Boron deficiency in woody plants: various responses and tolerance mechanisms, *Frontiers in Plant Science*, 6.
- Wang, X., Luo, G., Yang, W., Li, Y., Sun, J., Zhan, K., Liu, D. ve Zhang, A., 2017, Genetic diversity, population structure and marker-trait associations for agronomic and grain traits in wild diploid wheat *Triticum urartu*, *BMC Plant Biology*, 17 (1), 1-17.
- Wang, X., Hu, Y., He, W., Yu, K., Zhang, C., Li, Y., Yang, W., Sun, J., Li, X., Zheng, F., Zhou, S., Kong, L., Ling, H., Zhao, S., Liu, D. ve Zhang, A., 2022b, Whole-genome resequencing of the wheat A subgenome progenitor *Triticum urartu* provides insights into its demographic history and geographic adaptation, *Plant Commun*, 3 (5), 100345.
- Wang, Y. ve Frei, M., 2011, Stressed food–The impact of abiotic environmental stresses on crop quality, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 141 (3-4), 271-286.
- Wei, J.-Z., Tirajoh, A., Effendy, J. ve Plant, A. L., 2000, Characterization of salt-induced changes in gene expression in tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots and the role played by abscisic acid, *Plant Science*, 159 (1), 135-148.
- Wimmer, M. A., Mühling, K. H., Lauchli, A., Brown, P. H. ve GOLDBACH, E., 2003, The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves, *Plant, Cell & Environment*, 26 (8), 1267-1274.
- Xu, E., Vaahtera, L., Hõrak, H., Hinch, D. K., Heyer, A. G. ve Brosché, M., 2015, Quantitative trait loci mapping and transcriptome analysis reveal candidate genes regulating the response to ozone in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell Environ*, 38 (7), 1418-1433.

- Yang, F., Zhang, J., Liu, Q., Liu, H., Zhou, Y., Yang, W. ve Ma, W., 2022, Improvement and Re-Evolution of Tetraploid Wheat for Global Environmental Challenge and Diversity Consumption Demand, *International journal of molecular sciences*, 23 (4), 2206.
- Yang, W., Li, J., Liu, D., Sun, J., He, L. ve Zhang, A., 2014, Genome-wide analysis of the heat shock transcription factor family in 'Triticum urartu' and 'Aegilops tauschii', *Plant Omics*, 7 (5), 291-297.
- Yang, Y., Cui, L., Lu, Z., Li, G., Yang, Z., Zhao, G., Kong, C., Li, D., Chen, Y., Xie, Z., Chen, Z., Zhang, L., Xia, C., Liu, X., Jia, J. ve Kong, X., 2023, Genome sequencing of Sitopsis species provides insights into their contribution to the B subgenome of bread wheat, *Plant Communications*, 4 (4), 100567.
- Yau, S. K. ve Ryan, J., 2008, Boron Toxicity Tolerance in Crops: A Viable Alternative to Soil Amelioration, *Crop Science*, 48 (3), 854.
- Yoshinari, A. ve Takano, J., 2017, Insights into the Mechanisms Underlying Boron Homeostasis in Plants, *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Zaharieva, M. ve Monneveux, P., 2014, Cultivated einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*): the long life of a founder crop of agriculture, *Genetic resources and crop evolution*, 61, 677-706.
- Zeibig, F., Kilian, B. ve Frei, M., 2021, The grain quality of wheat wild relatives in the evolutionary context, *Theoretical and Applied Genetics*, 1-20.
- Zhang, H., Yang, Y., Wang, C., Liu, M., Li, H., Fu, Y., Wang, Y., Nie, Y., Liu, X. ve Ji, W., 2014. Large-scale transcriptome comparison reveals distinct gene activations in wheat responding to stripe rust and powdery mildew. *BMC genomics* 15, 898. Erişim Adresi, <http://europepmc.org/abstract/MED/25318379>
- Zhang, J., Wang, J., Jiang, W., Liu, J., Yang, S., Gai, J. ve Li, Y., 2016, Identification and Analysis of NaHCO₃ Stress Responsive Genes in Wild Soybean (*Glycine soja*) Roots by RNA-seq, *Front Plant Sci*, 7, 1842.
- Zhang, J., Huang, D., Zhao, X. ve Zhang, M., 2021, Evaluation of drought resistance and transcriptome analysis for the identification of drought-responsive genes in *Iris germanica*, *Scientific Reports*, 11 (1), 16308.
- Zhang, Y., Luo, G., Liu, D., Wang, D., Yang, W., Sun, J., Zhang, A. ve Zhan, K., 2015, Genome-, transcriptome- and proteome-wide analyses of the gliadin gene families in *Triticum urartu*, *PloS One*, 10 (7), e0131559.