

**T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SOĞUKTA DEPOLAMA ALTINDAKİ ELMADA HORMON
ETKİLEŞİMLERİNİN GEN İFADESİ SEVİYESİNDE
İNCELENMESİ**

Şule TÜRKOĞLU

**Danışman
Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY**

ISPARTA - 2022



© 2022 [Şule TÜRKOĞLU]

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Elma ve Depolama	5
2.2. Etilen	7
2.2.1. Yaprak gelişimi ve etilen	11
2.2.2. Yaprak yaşlanması ve etilen	11
2.2.3. Çiçek gelişimi ve etilen	12
2.2.4. Meyve olgunlaşması ve etilen.....	12
2.3. Oksin	13
2.4. Depolama Sürecinde Transkriptomun İncelenmesiyle Seçilen Hormon Metabolizması İlişkili Genler	17
2.4.1. Ethylene response factors (ERF's).....	17
2.4.1.1. Etilen biyosentezi	20
2.4.1.2. Renk	21
2.4.1.3. Meyve yumuşaması.....	22
2.4.1.4. Lezzet	22
2.4.2. NAC	23
2.4.2.1. Bitki gelişimi ve olgunlaşma.....	24
2.4.2.2. Biyotik ve abiyotik stres.....	26
2.4.3. Aux/IAA (Auxin/indoleacetic acid).....	28
2.4.4. EIN3 (ethylene insensitive 3).....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	34
3.1. Materyal	34
3.2. Yöntem.....	34
3.2.1. Meyveler üzerinde gerçekleştirilen uygulamalar	34
3.2.2. RNA izolasyonu ve cDNA sentezi.....	36
3.2.3. Kantitatif ters transkripsiyon PCR (qRT-PCR)	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1. Gen İfadeleri.....	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	76

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SOĞUKTA DEPOLAMA ALTINDAKİ ELMADA HORMON ETKİLEŞİMLERİNİN GEN İFADESİ SEVİYESİNDE İNCELENMESİ

Şule TÜRKOĞLU

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY

Daha önceki çalışmalarda, meyve olgunlaşmasında yer alması potansiyel oksin/etilen etkileşimine ışık tutulmuş, ancak kısıtlı sayıda bulgu elde edilmiştir. Elmada depolama süresini ve meyve kalitesini arttırmak amacıyla yaygın olarak kullanılan etilen inhibitörü 1-MCP uygulamasıyla belirli gen ifadesi değişimlerinin incelendiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ancak bu süreçte oksin metabolizmasının gen ifadesi seviyesinde incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile, depolama altındaki elmada, farklı depolama dönemlerinde ve farklı hormon/hormon inhibitörü uygulamaları altında transkriptomun incelenmesi yoluyla hasat sonrası olgunlaşma sürecinin ve meyvedeki hormon etkileşimlerinin moleküler düzeyde karşılaştırmalı olarak incelenmesi ve incelenen parametreler dahilinde aydınlatılması hedeflenmiştir. Bu amaçla hasattan sonra 625 ppb 1-MCP (1-metilsiklopropan), 20 mg/L oksin, 0.5 g/L etilen ve 1 µg/L NPA (1-N-naftilfitalamik asit) uygulanan meyveler ve hiçbir hormon/hormon inhibitörü uygulanmamış kontrol grubu meyveleri 6 ay süreyle depolamaya alınmıştır. Depolama süresi boyunca 1. gün, 3. ay ve 6. ayda alınan örneklerden RNA izolasyonu gerçekleştirilmiş, *ERF*, *Aux/IAA*, *NAC* ve *EIN3* genlerinin ifadeleri incelenmiştir.

İfade analizleri sonucunda, oksin ve oksin inhibitörü NPA uygulamasının etilen ile ilişkili bazı *ERF* genlerinin ifadesini arttırdığı görülmüştür. Etilen uygulaması *Aux/IAA* geninin ifadesini 1. günde arttırmış, 3. ayda ve 6. ayda azaltmıştır. Etilen inhibitörü 1-MCP uygulaması ile *Aux/IAA* geninin ifadesi azalmıştır. NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması *Aux/IAA* geninin ifadesini 1. günde ve 6. ayda arttırırken, 3. ayda azaltmıştır. *ERF4* geni ise inhibitörlerin bir arada uygulaması altında ifade göstermemiştir.

Bu çalışmada incelenen parametreler ile elde edilen bulgular, önceki çalışmalarda ışık tutulan potansiyel hormon etkileşiminin varlığını kanıtlar niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Elma, Oksin, Etilen, Hormon inhibitörü, Gen ifadesi

2022, 76 sayfa

ABSTRACT

Master's Thesis

INVESTIGATION OF HORMONAL INTERACTIONS AT GENE EXPRESSION LEVEL IN APPLE UNDER COLD STORAGE

Şule TÜRKOĞLU

**Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Agricultural Biotechnology**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY

Previous studies have shed light on the potential oxin/ethylene interaction involved in fruit ripening, but a limited number of findings have been made. There are several studies examining certain gene expression changes with the application of the ethylene inhibitor 1-MCP (1-methylcyclopropene) in apples. However, there have been no studies examining auxin metabolism at the level of gene expression. With this study, it is aimed to examine the post-harvest ripening process and hormone interactions in the fruit comparatively at the molecular level through the examination of the transcriptome in the apple under storage and to elucidate it within the parameters examined. For this purpose, fruits and control group fruits treated with 1-MCP, auxin, ethylene and NPA (1-N-naphthylthylthamic acid) were stored for 6 months after harvesting, and the expressions of ERF, Aux/IAA, NAC and EIN3 genes were examined on the 1st day, 3rd month and 6th month.

As a result of expression analysis, it was seen that the application of auxin and oxin inhibitor NPA increased the expression of some ERF genes associated with ethylene. Ethylene administration increased the expression of the Aux/IAA gene on day 1 and decreased it at month 3 and month 6. With the administration of the ethylene inhibitor 1-MCP, the expression of the Aux/IAA gene is reduced. However, the ERF4 gene did not show expression under the application of 1-MCP+NPA.

The findings obtained in this study prove the existence of potential hormone interactions, which have been shed light on in previous studies.

Key Words: Apple, Auxin, Ethylene, Hormone inhibitör, Gene expression

2022, 76 pages

TEŐEKKÜR

Tezimin y¼r¼t¼lmesinde desteğini ve emeğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danıőmanım sayın Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY'a, desteklerinden dolayı teőekk¼rlerimi sunarım.

Tezimin gerekleőmesinde 1200285 numaralı proje ile maddi destek sağlayan T¼BİTAK'a teőekk¼r ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Şule T¼RKOęLU
ISPARTA, 2022



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

- Şekil 4.1. Derimi takiben laboratuvara getirilerek çeşitli uygulamalara tabi tutulan ve depolanan Golden Delicious çeşidi elmalar 39
- Şekil 4.2. C: Kontrol uygulaması, E: Etilen uygulaması, M: 1-MCP uygulaması, A: Oksin uygulaması, N: Oksin inhibitörü uygulaması ve N+M: Oksin inhibitörü + 1-MCP uygulaması yapılan örneklerden saflaştırılan total RNA molekülleri..... 39
- Şekil 4.3. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada RAP210 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir 41
- Şekil 4.4. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada AIL5 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir 42
- Şekil 4.5. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada ERF011-like1 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir..... 42
- Şekil 4.6. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada ERF011-like2 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir..... 43
- Şekil 4.7. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada ERF4 gen ifadesi. 1-5 numaralı örnekler 24 saat, 7-11 numaralı örnekler 3 ay ve 13-17 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-5, 7-11 ve 13-17 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir 44
- Şekil 4.8. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada NAC-a gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir 44
- Şekil 4.9. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada NAC-c gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir 45
- Şekil 4.10. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada NAC-c gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol,

oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir.....	45
Şekil 4.11. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada Aux/IAA gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir.....	46
Şekil 4.12. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada EIN3 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir.....	47



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. İfadesi incelenen genler	37
Çizelge 4.1. Saflaştırılan RNA örnekleri için spektrofotometrik ölçümler	40



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1-MCP	1-Metilsiklopropen
2,4-D	2,4-diklorofenoksi asetik asit
ACC	1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit
ACO	ACC oksidaz
ACS	ACC sentaz
AP2/ERF	APETALA2/etilen tepki faktörü
ARF	Oksin yanıt faktörü
Aux/IAA	Oksin/indol-3-asetik asit
AVG	Aminoetoksi-vinilglisin
CTR1	Constitutive Response1
EIN3	Ethylene insensitive3
ERF	Etilen tepki faktörü
FAA	Fenil asetik asit
GR	Green Ripe
GUS	β -glukuronidaz
GWAS	Genom çapında ilişkilendirme
IAA	Indol-3-asetik asit
IBA	Indol bütirik asit
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MeJA	Metil jasmonat
NAA	Naftalin asetik asit
NGS	Yeni nesil dizileme
NOR	Non-ripening
NPA	1-N-naftilfitalamik asit
PCIB	p-klorofenoksi izobütirik asit
PDD	Protein-degradasyon alanı
PRD	Prolin açısından zengin
PSY1	Fitoen sentaz1
RIN	Ripening Inhibitor
RTE1	Reversion To Ethylene Sensitivity1
SAM	S-adenosil-L-metiyonin
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi
SSR	Basit sekans tekrarı
TIR1/AFB	Transport inhibitor response 1/auxin signaling f-box
VOC	Uçucu organik bileşik
WT	Yabani tip

1. GİRİŞ

Elma (*Malus x domestica*), anavatanının Kuzey Anadolu ve Güney Kafkaslar olduğu düşünölen, *Rosaceae* familyasından költürü yapılan bir türdür. Geniş bir yayılma alanı göstermesi ve farklı iklim koşullarında yetiştirilebilmesi sayesinde, pek çok ölkede (Çin, ABD, İnan gibi) ekonomik değere sahiptir. Ölkemizde de Niğde, Isparta, Antalya, Denizli gibi illerde uzun zamandır yetiştiriciliğı yapılan elma, ağaç sayısı ve üretim alanı açısından ılıman iklim meyvelerinin başında yer alır. Elma üretimi ölkemizin hemen her bölgesinde yapılmakla birlikte, en fazla yapıldığı il Isparta'dır ve 2019 yılının toplam elma üretiminin %20'si gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda elma, besin içeriğindeki vitamin ve minerallerden dolayı beslenmede önemli bir yer tutar.

Meyveler olgunlaşma sürecinde geçirdikleri değışimlere göre klimakterik (hasattan sonra olgunlaşmaya devam eden) ve klimakterik olmayan (hasattan sonra olgunlaşmaya devam etmeyen) meyveler olarak 2 gruba ayrılırlar. Klimakterik meyvelerin olgunlaşma sürecinde fizyolojik değışikliklerin koordinasyonu başlıca etilen hormonu tarafından düzenlenir. Olgunlaşma sürecinde etilen seviyesinde artış olur ve bu olgunlaşma süreci hasattan sonra da devam eder. Elma tipik bir klimakterik meyvedir ve klimakterik meyvelere özgü özelliklerin anlaşılmasında model organizma olarak kullanılmaktadır.

Etilen hormonu, tohum çimlenmesi, kök oluşumu, çiçek gelişimi, meyve olgunlaşması, yaşlanma, biyotik ve abiyotik streslere tepkiler dahil olmak üzere bitki yaşam döngüsünün birçok aşamasını düzenler (Lin vd., 2009). Kimyasal yapısı çok basit olmasına karşılık çok düşük konsantrasyonlarda bile bitkilerde etkisi görülür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda harita temelli klonlama ve farklı bitki mutantlarında gen karakterizasyonları ile etilen biyosentezi, sinyal iletimi ve tepki yolaklarında işlevleri olan çok çeşitli genler tanımlanmıştır. Ancak hala çözülmemiş yönler vardır. Etilen aynı zamanda diğere bitki hormonları ile de etkileşime girmektedir. Özellikle oksinlerin meyve oluşumu, olgunlaşma ve yaşlanmada önemli role sahip olduğı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Iqbal vd., 2017).

Oksin, meyve gelişimi için önemli bir diğer fitohormondur. Hücre bölünmesi ve hücre genişlemesinin kontrolü ile meyve boyutuna ve olgunlaşmayla ilgili olaylara dahil olduğu anlaşılmıştır (Devoghalaere vd., 2012). Oksin biyosentez yolağı ve oksin ilişkili genlerin araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ancak bitkilerde oksin üretiminin karmaşıklığından ve farklı dokularda farklı biçimlerde gerçekleştiğinden (Thimann, 1938), ortak bir biyosentez yolağı tanımlanamamıştır.

Meyvelerde hasat sonrası kalite özellikleri mümkün mertebede korunmalıdır. Bunun için depolama koşulları büyük önem taşır. Özellikle klimakterik meyvelerde (domates, elma, avokado gibi) hasat sonrasında devam eden olgunlaşma süreci, meyvelerde kalite özelliklerini olumsuz etkileyerek kayıplara ve pazarlama sınırlamalarına neden olur. Bu kayıpları en aza indirmek için olgunlaşma sürecinin kontrolü, çalışmaların odak noktası olmuştur.

Elma, tipik bir klimakterik meyve örneğidir ve yıl boyunca depolanan elmalarda olgunlaşma ve yaşlanma ile ilgili biyokimyasal değişikliklerin çoğu depolama sürecinde gerçekleşir. Elmanın depolama ömrünü uzatmak için kontrollü atmosfer gibi yöntemlerin yanı sıra son yıllarda 1-metilsiklopropen (1-MCP) adlı sentetik büyüme düzenleyici de depolara eklenmeye başlanmıştır.

1996'da patent alan bu sentetik büyüme düzenleyici, etilen hormonunun bağlandığı reseptörlere bağlanır. Ortamdaki etilen hormonu miktarı ne olursa olsun reseptörler tarafından algılanamaz ve elmalar daha fazla olgunlaşamazlar. Böylece düşük sıcaklık ve 1-MCP altında elmalar uzun süre depolanabilmektedir (Sakar vd., 2014).

Depolama sürecinde yaygın olarak kullanılan etilen inhibitörü 1-MCP varlığında olgunlaşma sürecindeki bazı gen ifadesi değişimlerinin incelendiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. Örneğin; Tadiello vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada 1-MCP uygulanmış elma meyvelerinde, etilen yolunda yer alan *ACS*, *ACO*, *ETR* gibi genlerin ifadelerinin azaldığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada ifadelerinin arttığı belirlenen genler arasında ise *MADS*, *NAC*, *AUX/IAA* ve *ERF* transkripsiyon faktörleri ile fotosentez ilişkili, ışık toplayıcı ve klorofil a/b bağlantılı proteinler bulunmaktadır.

Etilen ve oksinler, meyve yaşlanması sırasında sıkı bir ilişki içindedirler (Iqbal vd., 2017). Yaşlanma sırasında serbest oksin miktarı artar ve etilenin biyosentezinde anahtar enzim olan ACS (ACC sentaz)'ye uyarıcı etki ederek etilen biyosentezini uyarır (Abel ve Theologis, 1996).

Literatürde yer alan bir çalışmada (Busatto vd., 2017), elmada etilen reseptörü seviyesindeki girişim tarafından uyarılan bir transkripsiyonel devre tarafından düzenlenen olası bir etilen/oksin etkileşiminin varlığı ortaya koyulmuştur.

Transkriptom miktarının belirlenmesi, fonksiyonel genomik için esastır. Bu amaçla kullanılan dizileme teknolojilerinde hızlı gelişmeler gerçekleşmiştir. Son yıllarda yeni nesil dizileme (NGS) teknolojileri daha az maliyetli ve yaygın olarak kullanılabilir hale gelmiştir. NGS teknolojilerinden biri olan RNA-seq, transkriptom analizi için güçlü bir araçtır. Bu yöntem sayesinde organizmanın yaşam döngüsünün herhangi bir döneminde hücrelerindeki gen ifadesi seviyeleri, genomik bilgiye ihtiyaç duyulmadan belirlenebilmektedir. RNA-seq verilerinin elde edilmesinin yüksek verimli ve uygun maliyetli olması, transkriptom analizi için kullanılmasında hızlı bir artışa neden olmuştur (Hirsch vd., 2015).

RNA-seq yöntemi ile yapılan hasat sonrası transkriptom analizi çalışmaları kısıtlıdır. Shen vd. (2017) tarafından olgunlaşma ile ilgili anahtar genleri izole etmek ve olgunlaşma mekanizmalarını daha iyi anlamak amacıyla papaya ile yapılan çalışma bunlardan biridir. Çalışma kapsamında eksojen etilen veya 1-MCP uygulanmış papaya meyveleri ile uygulama yapılmamış kontrol grubu meyvelerinin transkriptomları RNA-seq yöntemi ile dizilenmiştir. Hormon yolaklarıyla ilişkili genlerinin ifade sonuçları, depolama sürecinde meyveye uygulanan etilen ve etilen inhibitörü maddelerin hormon etkileşimlerinde önemli etkiye sahip olabileceğini göstermiştir (Shen vd., 2017).

Bu çalışma kapsamında, hasat sonrası altı ay süreyle soğukta depolanan, sırasıyla etilen hormonu, oksin hormonu, etilen inhibitörü 1-MCP, oksin inhibitörü NPA (1-N-naftilfitalamik asit) ve 1-MCP + NPA uygulanmış örnekler ile hiçbir uygulama gerçekleştirilmemiş kontrol örneklerine ait Golden Delicious çeşidi elmalarda, üç farklı depolama döneminde (1. gün, 3. ay ve 6. ay), daha önceden gerçekleştirilmış

olan RNAseq transkriptom analizinin işaret ettiği, Şiddetli gen ifadesi deđiŐimlerini gösteren hormon metabolizması ile ilişkili genlerin ifadelerinin RT-qPCR ile llerek, RNA-seq analizinden elde edilmiş olan verilerin doğrulanması planlanmaktadır. Böylelikle depolama altındaki elmada, farklı depolama dönemlerinde ve farklı hormon/hormon inhibitörü uygulamaları altında transkriptomun incelenmesi yoluyla hasat sonrası olgunlaşma sürecinin ve meyvedeki hormon etkileşimlerinin moleküler düzeyde karşılaştırmalı olarak incelenmesi ve incelenen parametreler dahilinde aydınlatılması hedeflenmektedir.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Elma ve Depolama

Elma; *Malus* cinsine, *Maloideae* alt familyasına ve *Rosaceae* familyasına aittir. 25 ila 30 *Malus* türü vardır. 10 000'den fazla belgelenmiş elma çeşidi olmasına rağmen, ticari elma yetiştiriciliği nispeten daha az sayıda çeşitle sınırlıdır (Korban, 2021). Anavatanı Anadolu'nun da içinde bulunduğu Güney Kafkaslardır. Her iki yarım kürede de ılıman iklim kuşağında yetişir. Elma, -36 °C soğuğa dayanabilir. Sıcak ve kuraktan hoşlanmaz. Toprağı en az 1 m derinlikte, tınlı, tınlı-kumlu olmalıdır. Optimal toprak pH değeri 6-7 olan topraktır (Anonim, 2022). Elma ağaçlarının boyları 2 ile 20 m arasında değişir ve 4 ile 12 yıl arasında değişen gençlik dönemleri vardır (Fischer, 1994). Genel olarak çiçek salkımları, ilk yıl meyve veren sürgünlerde, orta sürgünlerde veya kompakt sürgünlerde gelişir. Çiçek taslaklarının gelişimi genetik, fizyolojik ve çevresel faktörlerden etkilenir (Koutinas vd., 2010). Çiçekler, belirgin bir kral çiçek (5-7 çiçekten oluşur) ile salkımlardan gelişir. Tam çiçek yapısına sahiptir ve tipik olarak beyazdan kırmızıya değişen 5 taç yaprak bulunur. *Malus* ağaçları yaprak dökken veya yarı yaprak dökendir. Yapraklar basit oval biçimindedir. Çapı 3 ile 12 cm arasında değişen çekirdekli meyveler, genellikle 5 karpelli, kırmızı, sarı veya yeşil bir ekzokarp ve beyaz bir mezokarp içerir. Kalıcı kaliks açık veya kapalı olabilir. Pedikül uzunluğu genellikle 1,5 cm'dir ancak 0,5 ile 4 cm arasında değişir (Korban, 2021). Elma genel olarak kendine uyuşmazlık gösterir ve kendi çiçek tozlarıyla tozlandığında çok az meyve bağlanır. Ancak yabancı döllenme ile iyi bir verim alınabilmektedir. Yabancı döllenme %90 arılarla gerçekleştirilir (Anonim, 2022).

Yabani türler *M. Sieversii* (Orta Asya ve Batı Çin), *M. Orientalis* (Kafkasya Bölgesi), *M. Sylvestris* (Avrupa) ve *M. Prunifolia* (Çin), hem kloroplast sekansı hem de mikrosatellit/basit sekans tekrarı (SSR) verileriyle gösterildiği gibi *M. Domestica* ile yakından ilişkilidir ve muhtemelen atalarıdır (Lo ve Donoghue 2012; Nikiforova vd., 2013; Volk vd., 2015; Duan vd., 2017). Elma çeşitlerinin mikrosatellit/SSR verilerine dayanan değerlendirmeleri, elma çeşitlerinde mevcut olan genetik çeşitliliğin, beklenen ve gözlemlenen heterozigotluk ile ölçüldüğü üzere, 1600'lerden günümüze önemli ölçüde değişmediğini ortaya koymuştur (Gross vd., 2014). Çoğu *Malus* türü $2n = 2x = 34$ ile diploiddir, ancak bazıları $2n = 3x = 51$ ile triploid ve diğerleri $2n = 4x =$

68 ile tetraploidlerdir (Höfer ve Meister, 2010). *M. Domestica*, diploid veya triploid olabilir. İkinci durum, şu anda yetiştirilen tüm elmaların %10'unu oluşturur (Korban, 2021).

Elma, besin içeriğinin zenginliği nedeniyle ılıman iklim meyveleri içerisinde en fazla tercih edilen meyvedir. Kalsiyum, fosfor, sodyum, magnezyum, potasyum, silisyum gibi birçok mineral maddelerin yanında organik asitler, doğal aroma bileşenleri ve meyve asitleri içerir. Aynı zamanda A, B1, B2, C ve E vitaminleri bakımından da zengindir. Diğer birçok meyvede olduğu gibi elmada da DNA hasarını ve kanser riskini azaltan değerli antioksidanlar ile yüksek miktarda C vitamini eşdeğer fenolik bileşenler bulunur. Bunların dışında, zengin lif içeriği sayesinde kalın bağırsak faaliyetlerine yardımcı olmasının yanında kilo vermede, kalp hastalıklarında ve kolesterolün kontrolünde etkilidir. Elmanın içeriğindeki bazı kimyasallar Alzheimer ve Parkinson gibi beyin hastalıklarına karşı da koruyucudur. Taze elmada bulunan bazı antioksidanlar, beyin hücrelerini oksidatif stresten kaynaklanan nörotoksiteden korumaktadır (Anonim, 2014).

Amasya, Fuji, Arapkızı, Golden, Goldstar, Brea Burn, Granny Smith, Gala, Starking, Türkiye'de üretilen elma çeşitlerinden bazılarıdır. TÜİK 2019 verilerine göre ülkemizde; elma üretiminin 2/3'ü Isparta, Antalya, Karaman, Kayseri, Niğde, ve Konya illerimizde gerçekleştirilmektedir. Elma üretiminin en fazla yapıldığı ilimiz Isparta'dır. 2019 yılında Isparta'da 732 bin ton elma üretimi ile toplam üretimin %20'si gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2020). 2020 sezonunda ise Isparta'da 931 bin ton elma üretimi gerçekleştirilmiştir (TEPGE, 2021). Ülkemizde yaklaşık 1.7 milyon dekar alanda elma yetiştiriciliği yapılmaktadır. En fazla elma üretim alanı bulunan illerimiz Karaman, Niğde ve Isparta'dır (Anonim, 2020).

Daha önce belirtildiği gibi, klimakterik meyvelerin olgunlaşması ile etilen arasında güçlü bir bağlantı vardır. Bu tür meyvelerin olgunlaşma sürecinde içsel etilen ve solunum seviyelerinde ani bir artış meydana gelir ve meyve olgunlaşır. Bu süreç meyve koparıldıktan sonra da devam eder. Çünkü meyve metabolik olarak halen aktiftir. Güncel araştırmalar, etilen ve oksin etkileşimlerinin meyve olgunlaşma ve yaşlanma süreçlerinde ciddi roller üstlenebileceğini düşündürmektedir. Tipik bir klimakterik meyve örneği olan elmada da olgunlaşma ve yaşlanma ile ilgili

değişiklikler, etilenin etkisiyle depolama sürecinde gerçekleşir. Bu süreç meyvede kalite kayıplarına ve pazarlama sınırlarına neden olur. Bu nedenle, güvenli ve etkili biçimde etilen aktivitesini kontrol etmek, meyve kalitesini muhafaza etme ve meyvenin hasat sonrası raf ömrünü uzatmada önemli bir faktördür. Bu amaç için yaygın olarak bir etilen inhibitörü olan 1-MCP kullanılır. 1-MCP, ürünlerin kalitesini korumaya ve raf ömrünü uzatmaya yarayan, etileni inhibe ederek yaşlanmayı geciktiren bir sentetik madde olarak bilinmektedir. 1-MCP bitkiye uygulandığında etilen reseptörlerine bağlanarak, etilenin bu reseptör bölgesine bağlanmasını engellemekte ve bu sayede etilenle ilişkili biyokimyasal tepkimelerin hızını yavaşlatmaktadır.

Elmanın depolama süresi çeşit ve depolama koşullarına göre değişmekle birlikte iyi bir elma muhafazasında depo sıcaklığının çeşide bağlı olarak 0 °C ile 4 °C, bağıl nemin ise %85-90 olması gerektiği bilinmektedir (Pekmezci, 1975).

2.2. Etilen

Gaz formundaki tek hormon olan etilen, bitkinin yaşam döngüsü boyunca tohum çimlenmesi, çiçeklenme, yaprak ve meyve absiyonu, kök gelişimi, kök ve sürgün büyümesi, meyve olgunlaşması ve yaşlanma gibi birçok yaşam evresine aracılık eder. Aynı zamanda kuraklık, yüksek tuz, patojen saldırısı gibi biyotik ve abiyotik streslere verilen yanıtları düzenler (Chang, 2016). Vejetatif büyüme aşamasındaki bitkiler, çiçekler ve olgunlaşmamış meyveler, strese veya olgunlaşma ile ilgili biyokimyasal değişimlere maruz kalana kadar zar zor saptanabilir seviyelerde etilen üretirler, ardından etilen üretimi mekansal ve zamansal olarak spesifik bir modelde hızlanır. Bugüne kadar analiz edilen tüm vasküler bitkilerde etilen, Yang döngüsü yoluyla sentezlenir (Johnson ve Ecker, 1998). Bitkiler, S-adenosil-L-metiyonin (SAM)'den başlayarak iki aşamalı biyokimyasal bir yolla etilen sentezler. SAM, ACC sentaz (ACS) enzimi tarafından ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit)'ye dönüştürülür. Daha sonra ACC, ACC oksidaz (ACO) enzimi tarafından etilene dönüştürülür (Chang, 2016). ACC sentazın ifadesi, artan etilen üretimine yol açan uyarıcı faktörlerle uyarılır, bu da ACC sentaz aktivitesinin etilen sentezi için hız sınırlayıcı olduğunu gösterir (Johnson ve Ecker, 1998). ACS ve ACO enzimlerinin her

biri, üyeleri kuraklık, yaralanma ve patojen saldırısı gibi çevresel streslere tepki olarak farklı şekillerde ifade edilen bir çoklu gen ailesi tarafından kodlanır (Chang, 2016).

İki farklı etilen biyosentez sistemi tarif edilmiştir. Sistem 1, klimakterik meyvedeki klimakterik öncesi dönemde düşük etilen üretimine karşılık gelir ve klimakterik olmayan meyvenin gelişimi ve olgunlaşması boyunca mevcuttur. Sistem 2, "otokatalitik sentez" olarak adlandırılan ve klimakterik meyveye özgü, otomatik olarak uyarılan büyük bir etilen üretimini ifade eder. Bu nedenle klimakterik meyvelerle klimakterik olmayan meyveler arasındaki etilen ile ilgili temel farklılık, otokatalitik etilen sentezinin varlığı veya yokluğudur (Bouzayen vd., 2009).

Etilen bitkiler tarafından, ERS ve ETR adı verilen reseptör proteinler aracılığıyla algılanır. Etilen-reseptör sinyalleşmesi, etilen yanıtlarını baskılar. Bu baskılanma, etilen bağlanması olmadığında meydana gelir ve bir tür serin/treonin protein kinaz olan CONSTITUTIVE RESPONSE1'in (CTR1) reseptör aktivasyonu yoluyla sağlanır. Etilenin reseptörlere bağlanması, CTR1 üzerindeki baskıyı ortadan kaldırır ve sonuç olarak etilen yanıtları ortaya çıkar.

Etilen, 0.01 ile 1.0 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda bile biyolojik olarak aktiftir ve bitkilerde etkisi görülebilir. Elma ve domates gibi klimakterik meyveler, onlarca ppm etilen üretebilmektedir (Chang, 2016). Etilenin klimakterik meyveler üzerindeki hasat sonrası olgunlaşma etkisinin neden olduğu kalite kayıpları ve pazar kısıtlamaları nedeniyle depolama boyunca olgunlaşma sürecinin kontrolü büyük önem taşımaktadır. Bir etilen inhibitörü olan 1-MCP adlı sentetik molekül, etilen reseptörlerine bağlanmak suretiyle etilenin algılanmasını engelleyerek meyvenin olgunlaşma sürecini yavaşlatmaktadır. Bu özelliği nedeniyle 1-MCP depolama sürecinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Tadiello vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada elmadaki klimakterik etkileşimi incelemek amacıyla; etilen inhibitörü olan 1-MCP uygulanarak meyve gelişimi ve olgunlaşması boyunca çeşitli fizyolojik varlıkların (tekstür, uçucu ve polifenolik bileşiklerin içeriği) araştırılması ile birlikte gen ifadesinin kapsamlı bir analizi yapılmıştır. Beklendiği gibi, reseptör seviyesindeki müdahale, etilen yolunda yer alan genlerin (*ACS*, *ACO*, *ETR*) önemli ölçüde baskılanmasını sağlamıştır. Kontrol ve

uygulama yapılan numuneler arasında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin %61.8'inin ifadesinde azalma olmasına rağmen, çoğu transkripsiyon faktörleri ve klorofil mekanizmasında yer alan elementler (ışık-hasat, klorofil a/b bağlayıcı proteinler) tarafından temsil edilen gen setinin %38.2'sinin ifadesinin artması da dikkate değerdir (Tadiello vd., 2016).

Elma olgunlaşması sırasında etilen ve aroma üretimi arasında doğrudan bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Wang vd., 2007). Schaffer vd. (2007) tarafından, aroma üretimi açısından etilen için kontrol noktaları olması muhtemel 17 aday gen tanımlanmıştır. Ancak, meyve kalitesinin tüm bileşenleri etilenin doğrudan kontrolü altında değildir. Olgunlaşan elma meyvesinden iki *MdERF* (etilen tepki faktörü) izole edilmiştir (Wang vd., 2007). Çalışma sonucunda *MdERF2* yalnızca olgunlaşan meyvelerde ifade edilirken, *MdERF1* ağırlıklı olarak olgunlaşan meyvelerde ve meyve olmayan dokularda küçük bir derecede ifade edilmiştir. *MdERF*'lerin transkripsiyonu, etilen sinyalleme sistemi tarafından pozitif olarak düzenlenmiştir.

Klimakterik ve klimakterik olmayan meyvelerin bazı benzer olgunlaşma yollarını paylaştığına dair kanıtlar vardır (Barry ve Giovannoni, 2007). Etilen ve etilen aracılı tepkiler üzerinde yürütülen çalışmalardan ortaya çıkan kanıtlar, etilene karşı duyarlılığın dokulara ve farklı gelişim aşamalarına göre farklılık gösterdiğini ileri sürmüştür. Bunun nedeni etilenin diğer bitki hormonları, metabolitleri ve çevresel sinyallerle olan etkileşimleridir (Alonso ve Stepanova, 2004; Stepanova ve Alonso, 2005; Hall vd., 2007; Kendrick ve Chang, 2008; Yoo vd., 2009). Son araştırmalarla meyvelerin olgunlaşmasını düzenleyen bazı genlerin evrim sürecinde korunduğu açıkça çıkarılmıştır. Ortaya çıkan tablo, hem klimakterik hem de klimakterik olmayan meyvelerde etilene bağımlı ve etilenden bağımsız yolların bir arada var olduğunu açıkça göstermektedir. Meyve gelişimi ve olgunlaşmasının birçok düzenleyicisinin her iki meyve grubunda da ortak olduğu açıkça gösterilmiştir. Çalışmalar, meyve mikro çevresindeki düşük O₂ ve yüksek CO₂'nin etilen biyosentezinin ve solunumun başlamasını ve dolayısıyla meyvenin olgunlaşmasını geciktirebileceğini göstermiştir (Paul vd., 2012).

Bitkiye özgü *APETALA2/etilen tepki faktörü (AP2/ERF)* transkripsiyon faktörleri süper ailesinin bazı üyeleri, etilen sinyal yolağının aşağısında hareket eder ve bitki

alemi boyunca güçlü bir şekilde korunur (Xie vd., 2016). Bu protein ailesinin üyeleri, bitkide büyüme, savunma, çevreye verilen tepki ve hormonların düzenlenmesinde yer alır. Son zamanlarda elde edilen kanıtlar, bu protein ailesinin aynı zamanda renk, doku ve lezzet gibi olgunlaşmış meyvenin kalite özelliklerinde anahtar düzenleyici olduklarını düşündürmüştür. *AP2/ERF* genlerinin etilen biyosentezi ve meyve yaşlanmasındaki olası rolleri, transgenik domates meyvesi ile yapılan çalışmalarla öne sürülmüştür. Bu genlerin etilen biyosentezini düzenlediği mekanizmalar çeşitli meyvelerde yapılan güncel çalışmalar ile netleşmiştir. Kavun *AP2/ERF* transkripsiyon faktörleri üzerine yapılan bir çalışma *CMe-DREB1*'in *CMe-ACS2* promotörünün GCCGAC dizisine güçlü bir şekilde bağlandığını ve *CMe-ACS2* ifadesini aktive ettiğini göstermiştir (Mizuno vd., 2006). Benzer şekilde domateste *LeERF2/TERF2*, *NtACS3* promotöründe bir GCC kutusu ile ve *LeACO3* promotöründe dehidrasyona duyarlı bir element ile etkileşim yoluyla etilen biyosentezini tetikleme kabiliyeti göstermiştir (Zhang vd., 2009).

1-Aminosiklopropan-1-karboksilik asit sentaz (*ACS*), etilen biyosentezinde anahtar enzimdir. Patojen enfeksiyonu, bitki hormonları, yaralanma ve meyve olgunlaşması gibi endojen ve eksojen faktörlere göre farklı *ACS* izogenleri ifade edilmektedir. Önceki çalışmalarda 5 elma *ACS* izogeni izole edilerek ifade modelleri incelenmiştir. *MdACS1* ve *MdACS3* meyvede ifade edilirken, *MdACS5A* ve *MdACS5B* yapraklarda (Harada vd., 2000) ve meyve absisyon bölgelerinde ifade edilmiştir (Li ve Yuan, 2008; Zhu vd., 2008). *MdACS1*'in ağırlıklı olarak klimakterik meyvelerde ifade edildiği gösterilmiştir (Harada vd., 2000). Ayrıca 1-MCP'nin *MdACS1* ifadesini engelleyerek elmada etilen üretimini baskıladığı da önceki çalışmaların bulguları arasındadır (Rupasinghe vd., 2000).

Domates *GREEN RIPE (GR)* ve *Arabidopsis REVERSION TO ETHYLENE SENSITIVITY1 (RTE1)* lokuslarının klonlanmasıyla yeni etilen sinyal bileşenleri keşfedilmiştir (Matas vd., 2009). Domates genomunda en az iki GR benzeri gen bulunur (*GRL1* ve *GRL2*), *Arabidopsis*'te ise *RTE1*'in *RTH* olarak adlandırılan yalnızca bir aile üyesi bulunur. *GR* mutasyonunun karakterizasyonu ile, erken gelişim sırasında ve olgunlaşma boyunca bu genin meyveye özgü ektopik ifadesi ile sonuçlanan, kodlamayan 5'-yukarı akış dizisinin silinmesi açığa çıkarılmıştır. Bu ifadenin, etilen duyarlılığında azalma meydana getirdiği ve bu durumun da, etilen seviyeleri normal

veya yüksek bile olsa olgunlaşma inhibisyonuna sebep olduğu görülmüştür (Barry vd., 2005).

Domateste *MADS box* tipi transkripsiyon faktörünü kodlayan ve olgunlaşmayı kontrol eden *RIN* (Ripening Inhibitor) mutasyonu, meyvede etilen duyarsızlığı sağlar ve raf ömrü uzun çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılmıştır. Aynı zamanda *rin* geninin hem klimakterik hem de klimakterik olmayan meyvelerde olgunlaşmayı kontrol ettiği gösterilmiştir (Matas vd., 2009).

2.2.1. Yaprak gelişimi ve etilen

Yaprak gelişimi, çeşitli çevresel faktörlerden ve endojen hormon sinyallerinden etkilenir. Bu süreç, dokunun mekanik özellikleri, hormonlar ve transkripsiyonel düzenleyiciler tarafından düzenlenmektedir (Iqbal vd., 2017). Etilenin yaprak büyümesi ve gelişimindeki rolü, etilen inhibitörleri kullanılarak fizyolojik olarak ve etilene duyarsız mutantlar veya etilen biyosentezinin anahtar enzimlerinden yoksun transgenik bitkiler kullanılarak genetik olarak doğrulanmıştır (Oh vd., 1997; Bleecker vd., 1998). *Arabidopsis*'te *ETİLEN TEPKİ FAKTÖRÜ5* (*ERF5*) ve *ERF6*'nın yaprak büyümesini çevresel zorluklara karşı iyileştirdiği gözlemlenmiştir (Dubois vd., 2015). Yaprak büyümesinin ve gelişiminin etilene tepkisi, etilen konsantrasyonuna ve türlere bağlıdır (Fiorani vd., 2002; Kawa-Miszczak vd., 2003; Khan, 2005).

2.2.2. Yaprak yaşlanması ve etilen

Etilen, yaprak yaşlanmasının düzenlenmesinde en önemli hormonlardan biridir. Özellikle hassas türlerde yaşlanma sürecini tetikleyebilir. Etilen biyosentezi, yaprak oluşumunun ilk aşamasında daha yüksektir ve yaprak tamamen genişlediğinde olgunluğa ulaşıncaya kadar azalır, daha sonra yaşlanmanın başlamasının erken aşamasında tekrar artar (Iqbal vd., 2017). ACC içeriği sadece yaşlanan yapraklarda artar ve aynı etilen üretimi modelini gösterir (Hunter vd., 1999). Yaprak yaşlanmasının görsel semptomları klorofil bozulmasına bağlı yaprak sararması ve yaprak dökülmesidir (Lewington vd., 1967; Gepstein ve Thimann, 1981).

2.2.3. Çiçek gelişimi ve etilen

Etilen seviyelerindeki değişiklikler, çiçeklenme zamanlamasının düzenlenmesi için farklı sinyalleri birleştiren genetik devreleri etkiler. *Arabidopsis*'te, etilen ile ilişkili mutantlar olan *eto1*, *etr1*, *ein2-1* ve *ein3-1*'in yabani tip (WT) ile karşılaştırması yoluyla, etilenin *Arabidopsis*'te vejetatif büyüme aşamasından üreme aşamasına geçişte düzenleyici rolü keşfedilmiştir (Ogawara vd., 2003). Aşırı etilen üreten mutant *eto1*, etilen biyosentezinin önemli bir enzimi olan 1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit sentazın (ACS) (Woeste vd., 1999) transkripsiyon sonrası düzenlemesini etkileyerek aşırı miktarda etilen üretirken (Guzman ve Ecker, 1990), *ein2-1*, *ein3-1* ve *etr1* mutantları etilene karşı duyarsızdır veya duyarlılığı azalmıştır (Bleecker vd., 1988; Guzman ve Ecker, 1990). Etilen sinyallemedeki bu bozulmalar, WT'ye kıyasla erken veya geç çiçek açan bir fenotipe yol açan hormonal yola büyük veya daha az miktarda etilen sinyali akmasına neden olabilir (Ogawara vd., 2003).

2.2.4. Meyve olgunlaşması ve etilen

Meyvelerin olgunlaşması, meyvelerin rengini, dokusunu, besin değeri kalitesini ve aromasını etkileyen, etilen tarafından düzenlenen çeşitli biyokimyasal ve gelişim yollarının benzersiz bir koordinasyonudur (Barry ve Giovannoni, 2007). Klimakterik meyvelerde olgunlaşma sırasında etilen, klorofil azalmasını, karotenoidlerde veya antosiyaninlerde artışı, şekerler ve uçucu organik bileşiklerin (VOC'LER) biyosentezini içeren sertlik ve renk değişikliklerini düzenler. Etilen sentezinin inhibisyonu VOC üretimini ve dolayısıyla meyvelerin aromasını azaltır. ACS veya ACO için antisens genleri ifade eden transgenik elmaların daha düşük VOC ürettiği ve özellikle en güçlü azalmanın WT ile karşılaştırıldığında 3-4 kat daha düşük olan esterlerde gözlemlendiği bulunmuştur (Dandekar vd., 2004). Aynı davranış ACO antisens kavun (*Cucumis melo*) meyvelerinde de gözlenmiş, esterler inhibe edilmiş ve kontrol bitkilerinden %60-85 daha az olduğu görülmüştür (Bauchot vd., 1998; Flores vd., 2002). Etilenin eksojen uygulaması, VOC evrimini yeniden dönüştürmüştür. Bu sonuç, etilenin uçucu biyosentezinin temel adımlarını engellediğini göstermektedir. 1-MCP ve AVG (Aminoetoksi-vinilglisin) uygulamasıyla yapılan bir çalışma, etilenin VOC biyosentezini doğrudan uçucu biyosentez yolu aracılığıyla ve dolaylı olarak etilen algısı yoluyla düzenlediğini göstermiştir. Etilen biyosentez inhibitörü olan AVG

VOC biyosentezini güçlü bir şekilde azaltırken, etilen eylem inhibitörü olan 1-MCP aldehitlerin evrimini artırmıştır (Valdés vd., 2009).

Etilen artışının geciktirilmesi, hasat sonrası depolamayı uzatmak ve raf ömrünü artırmak için kullanılan en yaygın stratejidir. Etilen biyosentezinin veya etkisinin inhibisyonu genellikle klimakterik meyvelerin raf ömrünün uzamasına yol açar (Iqbal vd., 2017).

2.3. Oksin

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen önemli hormonlardan bir diğeri oksindir ve ilk dölleme sinyaline, hücre bölünmesi ve hücre genişlemesinin kontrolü yoluyla meyve boyutuna ve olgunlaşmayla ilgili olaylara dahil olduğu gösterilmiştir (Devoghalaere vd., 2012). Bitkilerdeki oksin etkisi, oksin taşınması ve metabolizmasının koordinasyonu ile belirlenen hücresele oksin seviyesine bağlıdır (Shin vd., 2015). Oksinler 4 grup altında incelenir; a) indol grubu, b) naftalen grubu, c) fenoksi grubu, d) benzol grubu (Algül vd., 2016). İndol-3-asetik asit (IAA), bitkilerde en aktif ve en iyi bilinen oksindir (Küçük vd., 2019). Günümüzde 4 temel yol ile üretimi bilinmektedir. Bunlar; triptamin monooksijenaz destekli indol-3-asetonitril ve indol-3-asetik asit oluşumu, indol-3-piruvik asit yolu, indol-3 asetamid hidrolaz destekli indol-3-asetik asit oluşumu ve son olarak Trp dekarboksilaz ile triptamin oluşumudur (Taiz vd., 2014).

Oksinin kimyasal yapısının belirlenmesinin ardından, yapı olarak IAA'ya benzeyen birçok kimyasal maddenin bitkiler üzerinde oksine benzer etkileri olduğu görülmüştür. IAA dışındaki en yaygın oksinlerden bazıları; indol bütirik asit (IBA), naftalin asetik asit (NAA), 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) ve fenil asetik asit (FAA)'tir (Algül vd., 2016).

Oksinin bitkilerde hücreden hücreye aktarımı mümkündür. Bitkilerde hücre bölünmesini, büyüme ve gelişmeyi hızlandırıcı etkiye sahiptir. Hücrede osmozu artırdığı, hücrenin su geçirgenliğini kolaylaştırdığı, ayrıca hücre çeperinin genişliğini ve esnekliğini artıran spesifik protein ve RNA yapısındaki enzimlerin üretimini artırarak hücre büyümesine etki ettiği tespit edilmiştir. Bu durum, sert tohum kabuğuna

sahip olan bitkilerde tohumun çimlenme problemlerine çözüm olabilir (Seçer, 1989). Vejetatif olarak çoğaltılan bitkilerde, oksin uygulamasıyla farklı gövde dokularının köklendirilmesinde başarı sağlanmıştır. Kesik bir bitki dokusu oksin ile muamele edildiğinde adventif kök oluşumu gerçekleşir. Bazı bitki türlerine oksin uygulanmasıyla dölleme olmadan partenokarpik meyvelerin elde edilmesi mümkündür. *Solanaceae* familyasına ait çoğu bitkilerin, döllememiş ovaryumlarında meyve tutmasını teşvik ederler (Kumlay ve Eryiğit, 2011). Sürekli yeşil kalması istenen süs bitkilerine ve hasattan önce dökülmeyi engellemek amacıyla narenciye bitkilerine oksin uygulaması yapılabilmektedir. Ancak yüksek miktarda oksin uygulanması ters etki yaparak meyve dökülmesini hızlandırabilir. Yüksek oksin konsantrasyonu aynı zamanda bitkilerde apikal dormansiye (tepe tomurcuğu baskısı) sebep olmaktadır. Oksinler ışığa duyarlı bileşiklerdir ve bitkilerde fototropizma denilen ışığa yönelme hareketine sebep olurlar. 2,4-D gibi bazı sentetik oksinler ise ticari olarak yabancı ot mücadelesinde kullanılmaktadır (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

Oksin yanıt faktörleri (*ARF*), bitkilerde oksin yanıtını düzenleyen transkripsiyon faktörleridir (Luo vd., 2014). Oksin tepki genlerinin ifadesini kontrol etmek için gerekli olan iki tip transkripsiyon faktörü ailesi olduğunu bilinmektedir: birinci tip oksin yanıt faktörü (*ARF*) ailesi ve diğeri oksin/Indol-3-asetik asit (*Aux/IAA*) baskılayıcı ailesidir (Guilfoyle ve Hagen, 2007). *ARF*, *Aux/IAA*, *Gretchen Hagen3* (*GH3*) ve küçük oksin-up RNA (*SAUR*) ailesi üyeleri gibi birincil veya erken oksin yanıtı veren genlerin promotörlerinde TGTCTC oksin yanıt elemanlarına özgülükle bağlanarak oksin yanıt genlerinin ifadesini düzenlemek için bir transkripsiyon faktörü görevi görür (Luo vd., 2014).

Oksin hem vaskülatür yoluyla pasif olarak hem de taşıyıcılar yoluyla aktif olarak taşınır (Zažimalová vd., 2010). En karakteristik oksin taşıma ailesi, akış taşıyıcı PIN ailesidir. İyi çalışılmış bir oksin taşıyıcı protein olan PIN (pin-formed), oksin taşınımında merkezi bir rol oynar (Zažimalová vd., 2010). PIN'in bir IAA (indol-3-asetik asit) taşıyıcısı olarak rolü, *Arabidopsis* (Vernoux vd., 2000), pirinç (Xu vd., 2005) ve mısır (Carraro vd., 2006) gibi çeşitli bitki türlerinde iyi tanımlanmıştır. PIN proteinleri normal bitki gelişimi için de hayati öneme sahiptir. *PINI* genindeki mutasyonların, *Arabidopsis thaliana*'da çiçek parçalarının gelişmediği iğne benzeri organlara yol açtığı ve *PIN* ailesinin üyelerinin, domates meyvesi gelişimi sırasında

yüksek oranda ifade edildiği görülmüştür. Bu da meyve tutumu sırasında bir rolü olduğunu düşündürmüştür (Gälweiler vd., 1998). Oksin taşıyıcılarının işlevi ile meyve dokularında oksinin spesifik dağılımının, meyve gelişimini ve olgunlaşmasını düzenlediği gösterilmiştir (Pattison ve Catala, 2012).

Hormonların bireysel etkileri haricinde birbirleriyle olan etkileşimlerinin, meyve olgunlaşması dahil olmak üzere birçok biyolojik süreci düzenleyen ortak tema olması muhtemeldir. Özellikle oksin ve etilen arasındaki etkileşimin bitkilerdeki çeşitli gelişim programlarını koordineli olarak düzenlediği düşünülmektedir. Örneğin, *Arabidopsis*'te oksin ve etilenin, apikal kanca oluşumunu (Raz ve Ecker, 1999), kök kılı farklılaşmasını (Masucci ve Schiefelbein, 1994), kök kılı uzamasını (Pitts vd., 1998; Rahman vd., 2002), kök büyümesini (Rahman vd., 2001) ve hipokotil fototropizmini (Harper vd., 2000) düzenlediği açıklanırken, pamukta etilenle desteklenen yaprak absisyonunun azaltılmış polar oksin taşınması ile ilişkili olduğu açıklanmıştır (Beyer ve Morgan, 1971).

Li ve Yuan (2008) tarafından yapılan çalışmada; 'Delicious' elmalarda (*Malus x domestica*) meyve absisyonu ve olgunlaşması sırasında meyve korteksinde ve absisyon bölgesinde etilen biyosentezi, etilen algısı ve hücre duvarı bozulması için genlerin ifadeleri incelenmiştir. Meyve etilen üretiminin otokatalitik patlaması ve hızlandırılmış meyve yumuşaması, etilen biyosentezi ile ilgili genlerin (*MdACS* ve *MdACO*) ifadelerinin artmasıyla ilişkilendirilirken, etilen reseptör genlerinin (*MdETR* ve *MdERS*) ifadelerinin azalması, bir etilen sinyal iletim geninin (*MdCTR1*) ifadesinin artması ve meyve korteksindeki hücre duvarı bozulmasına bağlı genlerin (*MdPG* ve *MdEG*) ifadelerinin artması meyve olgunlaşması sırasında meydana gelmiştir. Aminoetoksi-vinilglisin (AVG) veya 1-MCP meyvede etilen üretimini inhibe edip, meyve korteksinde *MdACS1*, *MdACO1*, *MdERS1* ve *MdPG1* ifadesini baskılayarak ve meyve yumuşamasını geciktirirken, naftalin asetik asit (NAA) meyve etilen üretimini artırmış, meyve korteksinde *MdACS1*, *MdACO1*, *MdERS1* ve *MdPG1* ifadesini arttırmış ve meyve yumuşamasını hızlandırmıştır. AVG ve 1-MCP ile meyve dökümü ve *MdACS5A*, *MdACS5B*, *MdACO1*, *MdPG2* ve *MdEG1* genlerinin ifadeleri azaltılmıştır. Ayrıca NAA meyve absisyon bölgesinde *MdPG2* ve *MdEG1* genlerinin ifadesini azaltırken meyve absisyonunu da azaltmıştır. Çalışma sonucunda NAA ve etilenin "Delicious" elmalarda meyve absisyonu ve olgunlaşma sırasında etilen

biyosentezi, etilen algılama ve hücre duvarı bozulması ile ilgili genlerin ifadesini nasıl düzenlediği açığa çıkarılmıştır (Li ve Yuan, 2008).

Kapalı tohumlularda oksin fitohormonları meyve oluşumunda önemli düzenleyici rol oynar. *Aucsia* genleri olarak adlandırılan, oksin sentezinde (DefH9-iaaM) partenokarpik domates çiçek tomurcuklarında farklı şekilde ifade edilen iki yeni gen tanımlanmış ve bu genlerin RNA interferans ile baskılanmasıyla hem üreme hem de vejetatif bitki gelişimindeki rolü açığa çıkarılmıştır. Veriler, *Aucsia* genlerinin, meyve oluşumunu kontrol eden ve domateste oksinle ilgili diğer biyolojik süreçleri etkileyen yeni bir bitki peptid ailesini kodladığını göstermiştir (Molesini vd., 2009).

p-klorofenoksi izobutirik asit (PCIB), bir antioksin olarak bilinir ve inhibisyon mekanizması moleküler düzeyde çok iyi karakterize edilmemesine rağmen yaygın olarak oksinin etkisini inhibe etmek amacıyla kullanılır. Oono vd. (2003)'nin *Arabidopsis*'te yapılan çalışmalarında PCIB'nin indol-3-asetik asit (IAA), 2,4-diklorofenoksiasetik asit ve 1-naftalinasetik asit tarafından uyarılan BA:: β -glukuronidaz (*GUS*) ifadesini inhibe ettiği bildirilmiştir. Kantitatif ters transkripsiyon-PCR ve RNA hibridizasyonu analizleri, PCIB'nin *Aux/IAA* genlerinin oksin kaynaklı transkript birikimini azalttığını göstermiştir. Çalışmanın sonuçları, PCIB'nin *Aux/IAA* protein stabilitesini düzenleyerek oksin sinyal yolunu bozduğunu ve böylece oksinle düzenlenen *Arabidopsis* kök fizyolojisini etkilediğini ortaya koymuştur (Oono vd., 2003).

Oksin ile ilgili genler hakkında, çoğunlukla model türlerdeki çalışmalardan elde edilen önemli bilgiler vardır. Artık mevcut elma genomu ile, elma meyvesinin gelişiminin belirli aşamalarında rol oynayabilecek genleri tanımlamak için oksin ile ilgili genler üzerinde genomik çalışmalar yapmak mümkündür (Devoghlaere vd., 2012).

Oksinin, elma meyvesinin olgunlaşmasının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı öne sürülmüştür, ancak moleküler işlevi ve elma meyvesinin gelişimi sırasında etilen ile etkileşimi büyük ölçüde bilinmemektedir. Literatürdeki bir çalışmada; elma meyve olgunlaşması sırasında oksinin işlevini anlamak için, önceki mikroarray analizinin sonuçlarına dayalı olarak elma genomundan oksin akış taşıyıcısı ve IAA-amido sentetaz kodlayan genler tanımlanmıştır. Bu genlerin ifade desenleri, iki elma çeşidi

için 10-12 haftalık meyve olgunlaşması sırasında qRT-PCR kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda “Golden Delicious” ve “Cripps Pink” çeşitlerinin, farklı olgunlaşma ilerleme modeline sahip olduğu görülmüştür. Sonuçlar, elma meyve korteksindeki oksin seviyesinin dinamiklerinin, etilen biyosentez yolu aktivasyonunun zamanlamasını etkileyen kilit faktörlerden biri olabileceğini ve sonuç olarak elma olgunlaşma ilerlemesinin kontrolüne katkıda bulunduğunu ileri sürmüştür (Shin vd., 2015).

Shin vd. (2016) tarafından yürütülen farklı bir çalışma; elma meyve olgunlaşmasının önceki transkriptom profilinden ve diğer bitki süreçlerinde iyi belgelenmiş oksin-etilen etkileşiminden elde edilen sonuçlara dayanarak, elma meyve olgunlaşması sırasında oksin metabolizması ve etilen biyosentezi arasındaki potansiyel etkileşim hakkında fikir edinmeye çalışmıştır. Hem ‘Minneiska’ hem de ‘Scifresh’ çeşitleri için fizyolojik olgunluktan 2 hafta sonrasına kadar erken olgunlaşma aşamalarını içerecek şekilde haftalık elma meyve örnekleri toplanarak, oksin taşıma, konjugasyon, biyosentez ve yanıtların açıklamalı işlevlerine sahip genler için ifade kalıpları, elma meyve olgunlaşma süreçleri boyunca ve farklı elma meyve dokularında (tohum, çekirdek, korteks ve kabuk) qRT-PCR ile profillenmiştir. Erken meyve gelişimi için oksin gerekli olsa da, spesifik dokudaki elma meyve hücrelerinde biyolojik olarak aktif oksinin zamanında azaltılmasının etilen biyosentezinin aktivasyonu için kritik öneme sahip olduğu görülmüştür. Sonuçlar; oksin taşınımı ve homeostazının düzenlenmesinin, olgunlaşan elma meyvesinde etilen biyosentez yolunun aktivasyon zamanına katkıda bulunabileceğini ve sonuç olarak belirli bir çeşit için olgunlaşma zamanını etkileyebileceğini göstermiştir (Shin vd., 2016).

2.4. Depolama Sürecinde Transkriptomun İncelenmesiyle Seçilen Hormon Metabolizması İlişkili Genler

2.4.1. Ethylene response factors (ERF's)

Son yıllarda, etilen sinyal yolunun bileşenlerinin tanımlanmasında muazzam ilerleme kaydedilmiş ve *etilen yanıt faktörü (ERF)* olan aşağı akış transkripsiyonel düzenleyicilerinin aktivasyonuna yol açan lineer bir transdüksiyon yolu ortaya çıkarılmıştır (Ju ve Chang, 2015; Liu vd., 2015). ERF proteinleri, bitki transkripsiyon

faktörlerinin en büyük ailelerinden biri olan *APETALA2/etilen tepki faktörü* (*AP2/ERF*) süper ailesi tarafından kodlanır. Etilen sinyal yolunun sonunda hareket ederek, etilen yanıtının farklı yönlerinin çeşitliliğini ve özgüllüğünü düzenlemek için muhtemelen en uygun konumda bulunurlar (Gao vd., 2020). *ERF*'ler ilk olarak bir GCCbox ile etkileşim yoluyla tütünden tanımlanmıştır [çekirdek sekans AGCCGCC'dir; (Ohme-Takagi ve Shinshi, 1995)]. Çok çeşitli fizyolojik tepkilerde etilenin rolüyle uyumlu olarak, *ERF*'lerin bitki gelişimi, çiçek absisyonu, meyve olgunlaşması ve savunma tepkilerinde önemli roller oynadığı bildirilmiştir (Müller ve Munné-Bosch, 2015; Xie vd., 2016; Gu vd., 2017). Son zamanlarda artan kanıtlar, *ERF*'lerin hem klimakterik hem de klimakterik olmayan meyvelerde pigment sentezi, meyve yumuşaması, lezzet ve aroma oluşumu dahil olmak üzere meyve olgunlaşma süreçlerinin farklı yönlerinde belirli rollere sahip olduğunu göstermiştir (Li vd., 2016a; Xie vd., 2016; Li vd., 2017; Tucker vd., 2017; Zhang ve Li, 2018; Li vd., 2019). Bu, etilenin klimakterik olmayan meyve olgunlaşmasında da bir rol oynayabileceğini düşündürür, ancak alternatif bir açıklama, klimakterik olmayan meyvelerdeki *ERF*'lerin etilenden başka bir faktör tarafından düzenlenmesidir (Gao vd., 2020).

APETALA2/etilen tepki faktörü (*AP2/ERF*) üst ailesi, yaklaşık 60-70 amino asitten oluşan ve DNA bağlanmasında yer alan *AP2/ERF* domaininin varlığı ile tanımlanır. *ERF* alt ailesi, *AP2* ve *RAV* alt ailelerini de içeren *AP2/ERF* üst ailesinin bir parçasıdır. *ERF* ailesi proteinleri tek bir *AP2/ERF* domaini içermesine rağmen *ERF* ailesi üyeleri, *AP2/ERF* domainindeki 14 ve 19 konumlarındaki aminoasitlerin tipine bağlı olarak *ERF* ve *DREB* alt ailelerine de ayrılabilir (Sakuma vd., 2002; Nakano vd., 2006; Pirrello vd., 2012). Etilen sinyal yolunun aşağı akış bileşenleri ve aynı zamanda *AP2/ERF* üst ailesi arasında en büyük ve temsili alt aile olarak, *ERF* alt ailesi üyelerinin rolü, farklı bitki türlerinde geniş çapta çalışılmıştır. Domates, meyve olgunlaşması için bir araştırma modelidir ve domates genomu, yapısal özelliklerine göre dokuz alt bölüme (A–J) ayrılabilen 77 *ERF* içerir (Pirrello vd., 2012; Liu vd., 2016).

Domateste, *LeERF* genleri GCC kutusu DNA bağlama aktivitesine, etilene ve diğer uyarılara farklı tepkilere sahiptir; *LeERF2*, etilen tarafından uyarılmakta ve olgunlaşma inhibe edilmiş mutantlarda baskılanmaktadır (Wu vd., 2002; Tournier vd., 2003). *LeERF1*'in aşırı ifadesinin, meyvenin hasat sonrası ömrünü kısalttığı (Li vd.,

2007) ve *LeERF2*'nin, etilen biyosentez genlerini modüle ederek domates ve tütünde etilen üretimini düzenlediği gösterilmiştir (Zhang vd., 2009); transkripsiyonel düzenleme, *LeERF2*'nin *NtACS3* ve *LeACO3* promotörleri ile etkileşimi ile sağlanmaktadır (Yin vd., 2010). Kivide *AcERF15*'in, etilen tarafından düzenlenen hasat sonrası olgunlaşmada rol oynadığı düşünülen *AcKUP2* promotörüne bağlandığı ve ifadesini desteklediği gösterilmiştir (Shan vd., 2022).

Artan genomik ve fonksiyonel kanıtlar, *ERF* genlerinin çoklu kopyalarla kromozomlar üzerinde kümeler halinde bulunduğunu göstermektedir. *Arabidopsis ERF13* (*AtERF13*), tek bir gen kopyası olarak var olan dikkate değer bir istisnadır. Buna karşılık, tütünün on ve beş *ERF* geninden oluşan iki kümesi vardır (Kajikawa vd., 2017), patatesin sekiz (Cárdenas vd., 2016), domatesin beş (Thagun vd., 2016; Cárdenas vd., 2016), *C. roseus*'un beş (Singh vd., 2020), *Calotropis gigantea*'nın dört (Singh vd., 2020) ve *Gelsemium sempervirens*'in dört (Singh vd., 2020) kümesi bulunduğu açıklanmıştır. Bu jasmonate duyarlı *ERF* gen kümeleri, nikotin ve steroidal glikoalkaloidler gibi doğal ürünlerden artemisinin, vinblastin ve vinkristin gibi farmasötiklere kadar birçok önemli metabolitin biyosentezini kontrol etmektedir (Shoji ve Yuan, 2020).

Shin vd. (2017) tarafından üşüme hasarını önlemede rol oynayan moleküler mekanizmaları daha iyi anlamak için, soğukta depolanan ve etilen reaksiyon inhibitörü olarak 50 µM metil jasmonat (MeJA) ve 1 µL L⁻¹ 1-MCP uygulanan biberlerin transkriptom profil analizi yapılmıştır. MeJA uygulamasının, stres tepkileriyle ilgili peroksidaz ve katalaz genlerinin yanı sıra, *ERF* ailesi ve biberlerde etilen sinyal faktörlerinde yer alan *MAP kinaz*'ın ifadesini arttırdığı görülmüştür. Fonksiyonel analiz; yabani tip bitkilerle karşılaştırıldığında, *ERF1* ifade edilen bitkilerin, soğuk depolama koşulları sırasında daha yüksek bir antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ve oksidatif stresle ilgili ve jasmonik asit sentezi ile ilgili genlerin ifade seviyelerinin arttığını ortaya koymuştur. Ayrıca, uzun süreli soğuk depolama sırasında biberlerde *ERF*'ler ve jasmonik asit biyosentezi gen ifadesi MeJA tarafından arttırılmıştır (Shin vd., 2017).

Literatürde yer alan farklı bir çalışmada; *Arabidopsis*'te bir Çin lahanası *ERF* geninin (*BrERF4*, *Brassica rapa ETİLEN DUYARLI FAKTÖR4*) aşırı ifadesinin tuz ve

kuraklık stresine toleransı artırdığı, ayrıca organ büyümesini ve çiçeklenmeyi geciktirdiği gösterilmiştir (Seo vd., 2010). Ayrıca *Sorbus pohuashanensis*'te *ERF011-like* geninin yüksek sıcaklık stresinde ifadesinin arttığı belirtilmiştir (Pei vd., 2021).

Düşük kabuk sertliği nedeniyle çatlamaya karşı yüksek hassasiyet, karpuz gibi taze meyvelerin tarlada ve hasat sonrası süreçte ciddi verim kayıplarına sebep olur. Kabuk sertliği fenotipini kontrol eden aday gen belirsizliğini korumaktadır. Buna karşılık Liao vd. (2020), ilk kez bulk segregant analizi ile birlikte bir genetik harita aracılığıyla karpuzda kabuk sertliğindeki varyasyonla ilişkili bir *etilene duyarlı transkripsiyon faktörü 4*'ü (*CIERF4*) rapor etmiştir.

Oryza sativa'nın (pirinç) 139 (Sakuma vd., 2002) ve *Arabidopsis*'in 122 (Nakano vd., 2006) tahmin edilen *ERF* genine sahip olmasına rağmen, şimdiye kadar sadece birkaçı karakterize edilmiştir. Domates, erik, kivi ve elmada meyve olgunlaşmasında *ERF* genlerinin rolü bildirilmiştir. Ancak çiçek yaşlanmasında *ERF* genlerinin karakterizasyonu bildirilmemiştir. Liu vd. (2010), petunyada çiçek yaşlanması sırasında 13 *PhERF* genini incelemişlerdir. Petunya çiçeklerinde *PhERF* genlerinin etilen düzenlemesi altında olup olmadığını belirlemek için, kısa süreli eksojen etilen uygulanmıştır. *PhERF1*, *PhERF4*, *PhERF7*, *PhERF8* ve *PhERF12* genlerinin ifadeleri etilen ile uyarıldığı ve 8. saatin sonunda zirveye ulaştığı görülmüştür. Bu sonuçlar petunya çiçek yaşlanma süreçlerinin transkripsiyonel düzenlenmesinde *PhERF* genlerinin rolü olduğu düşüncesini desteklemiştir (Liu vd., 2010).

Klimakterik meyvelerde etilen, meyve olgunlaşma sürecini kontrol eden anahtar düzenleyicidir. Etilen sinyal yolunun son bileşenleri ve etilene duyarlı genleri düzenleyen doğrudan araçlar olarak *ERF*'lerin, farklı etli meyve türlerinde etilen biyosentezi, renk değişimi, meyve yumuşatma ve lezzet oluşumu dahil olmak üzere olgunlaşmanın çeşitli yönlerinde yer aldığı gösterilmiştir (Gao vd., 2020).

2.4.1.1. Etilen biyosentezi

Farklı meyvelerde, birkaç *ERF*'nin etilen biyosentezini düzenleyerek meyve olgunlaşmasına dahil olduğu gösterilmiştir (Gao vd., 2020). Domateste, *SIERF6*'nın ifadesinin azalması, daha yüksek *ACS2* ve *ACO1* ifadesi ile yüksek bir etilen üretimi

ile sonuçlanmıştır (Lee vd., 2012) ve bu durum, *SlERF6*'nın etilen sentezini etkileyen geri besleme yoluyla meyve olgunlaşmasında olumsuz bir rol oynadığını düşündürmüştür. Muz meyvesinin olgunlaşması sırasında *MaERF11*'in, S-adenosil metiyoninden etilen üretiminden sorumlu iki enzim olan *MaACSI* ve *MaACOI*'in promotörlerine bağlanarak aktivitelerini bastırdığı, *MaERF9*'un ise etilen biyosentezini düzenlemek için *MaACOI* promotör bölgesini aktive ettiği rapor edilmiştir (Xiao vd., 2013; Han vd., 2016). Elmada, iki *ERF* üyesi olan *MdERF2* ve *MdERF3*'ün, *MdACSI*'in transkripsiyonunu antagonistik bir şekilde düzenleyerek etilen biyosentezini ve meyve olgunlaşmasını etkilediği gösterilmiştir (Li vd., 2016b; Li vd., 2017). Daha yakın zamanlarda armutta *PpERF24*'ün, *PpACO54*'ün promotörüne bağlanma yoluyla ifadesini düzenleyerek meyve olgunlaşmasına dahil olduğu gösterilmiştir (Hao vd., 2018). Bu sonuçlar, bazı türlerde *ERF*'lerin etilen üretimini düzenleyerek klimakterik meyve olgunlaşmasını kontrol ettiğini göstermiştir.

2.4.1.2. Renk

Renk değişimi meyve olgunlaşmasının önemli göstergelerindedir. Elmada etilen biyosentezinin önemli bir düzenleyicisi olan *MdERF3*, *MdMYB1* tarafından transkripsiyonel olarak düzenlenir ve antosiyanin biyosentezinde yer alır (An vd., 2018). Armutta, *PyERF3*, *Pp4ERF24* ve *Pp12ERF96* dahil olmak üzere birçok *ERF* geninin, meyve olgunlaşması sırasında antosiyanin biyosentezini düzenleyen *MYB114* ve *bHLH3* ile ara bağlantı yoluyla antosiyanin birikimine dahil olduğu bildirilmiştir (Yao vd., 2017; Ni vd., 2019). Domates renginin yeşilden kırmızıya dönüşümü, klorofilin bozulması ve karotenoidlerin birikmesi ile ilişkilidir. Domateste, *SlERF6*'nın, *HSP21* ve *DXS*'nin ifadesini negatif olarak düzenleyerek karotenoid biyosentezini kontrol ettiği gösterilmiştir (Lee vd., 2012). Ayrıca yakın zamanda, daha önce hastalık direncine dahil olduğu gösterilen bir domates *ERF* üyesi olan *Pti4*'ün, meyve olgunlaşması sırasında karotenoid biyosentezini düzenlediği bildirilmiştir (Sun vd., 2018).

2.4.1.3. Meyve yumuşaması

Meyve yumuşaması klimakterik bitkilerde etilen tarafından düzenlenir ve meyve raf ömrünün önemli bir belirleyicisidir. Yumuşama; pektin metilesteraz, poligalakturonaz, ve pektat liyaz gibi enzimleri içeren hücre duvarı bozulmasının ve hücreler arası adezyondaki azalmanın bir sonucudur (Tucker vd., 2017). Farklı bitkilerde bir dizi *ERF*'nin hücre duvarı bozulmasına ve yumuşamaya dahil olduğu gösterilmiştir. Domateste, *SlERF.B3*'ün baskın bir versiyonunun aşırı ifadesi, yumuşama ile ilgili anahtar gen *PG2a*'nın artan ifadesi ile daha hızlı meyve yumuşamasına neden olmuştur (Liu vd., 2014). Bu durum *SlERF.B3*'ün meyve yumuşamasında önemli rolü olduğunu göstermektedir. Hidrojen sülfürün kivi meyvesinin olgunlaşması ve yumuşaması üzerindeki etkisinin moleküler mekanizmasının anlaşılması amacıyla transkriptom analizi yapan Lin vd. (2020)'nin çalışma sonuçlarına göre; hidrojen sülfür, etilen sinyal iletim yolu genlerini etkileyerek kivi meyvesinin olgunlaşmasını ve yaşlanmasını geciktirebilir. Hidrojen sülfür, *etilen reseptörü 2 (ETR2)*, *ERF003*, *ERF5* ve *ERF016*'nın ifadesini inhibe ederken, *ERF4* ve *ERF113*'ün ifadesini arttırmıştır (Lin vd., 2020). Yine kivide, EAR motifi içeren *AdERF9*'un, *AdXET5*'in promotör aktivitesinin baskılanması yoluyla meyve yumuşatmasını düzenlediği gösterilmiştir (Yin vd., 2010). Benzer şekilde, muzda EAR motifi içeren bir *ERF* olan *MaERF11*'in, hücre duvarını değiştiren *MaEXP2/7/8* genlerinin promotörlerine doğrudan bağlanarak ve aktivitesini baskılayarak yumuşamayı düzenlediği gösterilmiştir (Han vd., 2016). Bu çalışmalar, etilenin meyve yumuşamasını *ERF*'ler aracılığıyla düzenlediği hipotezini desteklemektedir (Gao vd., 2020).

2.4.1.4. Lezzet

Bugüne kadar *ERF*'lerin, çözünür şekerlerin ve organik asitlerin metabolizmasına veya aroma oluşumuna dahil olduğunu gösteren çok az kanıt vardır. Bununla birlikte, muzda *MaERF9*'un, aroma oluşumuyla ilgili iki gen olan *MaCAT* ve *MaPDC*'nin ifadesini pozitif olarak düzenlediği gösterilmiş ve bu *ERF*'nin aroma oluşumunda bir rolü olduğu öne sürülmüştür (Feng vd., 2016). Diğer klimakterik meyvelerde çözünür şekerler, organik asit birikimi ve aroma oluşumunun düzenlenmesinde *ERF*'lerin rolü ve etki şekli büyük ölçüde bilinmemektedir.

2.4.2. NAC

NAC (*NAM*, *ATAF1/2* ve *CUC2*) transkripsiyon faktörü ailesi, bitkiye özgü transkripsiyon faktörlerinin en büyük ailelerinden bir diğeridir ve üyeler, meyve olgunlaşması da dahil olmak üzere çeşitli bitki fizyolojik etkinliklerinde yer alır. Farklı bitkilerde *NAC* transkripsiyon faktörü ailesi; ikincil duvar oluşumu ve kalınlaşması (Mitsuda vd., 2005; Mitsuda ve Ohme-Takagi, 2008; Zhong vd., 2008), yan kök gelişimi (Xie vd., 2000; He vd., 2005; Hao vd., 2011), morfolojik gelişim (Mao vd., 2007; Berger vd., 2009; Kato vd., 2010), yaprak yaşlanması (Mao vd., 2017; Ma vd., 2018; Wang vd., 2021), abiyotik ve biyotik stres tepkisi (Meisrimler vd., 2019; Liu vd., 2020; Ren vd., 2021), meyve olgunlaşması (Gao vd., 2018) ve nişasta ve depo protein sentezi (Shen vd., 2021) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. *NAC* kısaltması, başlangıçta belirli bir alanı (*NAC* alanı) içerdiği keşfedilen üç genden türetilmiştir. Bu genler, *NAM* (no apikal meristem), *ATAF1-2* ve *CUC2*'dir (cup-shaped cotyledon) (Souer vd., 1996; Aida vd., 1997). Çeşitli tam bitki genomik dizilerinin mevcudiyeti ile desteklenen kapsamlı araştırmalar, *Arabidopsis*'te 117, pirinçte 151, üzümde 79, narenciyede 26, kavakta 163 ve soya fasulyesi ve tütünde 152 *NAC* geni tanımlamıştır (Nuruzzaman vd., 2013).

Çoğu *NAC* proteini, beş alt bölge (A, B, C, D, E) ve değişken bir C-terminal transkripsiyonel aktivasyon alanı içeren yüksek oranda korunmuş bir N-terminal DNA-bağlama bölgesi içerir (Ooka vd., 2003). Bu alanlar, doğrudan transkripsiyonel aktivatörler olarak hareket edebilir veya transkripsiyonel kontrolün ayarını yapmak için diğer transkripsiyon faktörleri ile etkileşimi kolaylaştırabilir (Migicovsky vd., 2021). Transkripsiyon faktörlerinin dimerizasyonundaki "A" alt bölgesi fonksiyonları, "B" ve "E" proteinlerin ayırt edici işlevlerine sahipken, "C" ve "D" pozitif yüklüdür ve transkripsiyon faktörünün DNA'ya bağlanmasını sağlar (Delessert vd., 2005; Chen vd., 2011; Puranik vd., 2011). *Arabidopsis ANAC019*'un DNA-bağlayıcı *NAC* bölgesinin yapısı, X-ışını kristalografisi ile çözülmüş (Ernst vd., 2004) ve *NAC* domaininin oluşturduğu fonksiyonel dimer, yapısal analizde tanımlanmıştır. Pirinçte strese duyarlı bir *NAC* proteininin (*SNAC1*; *STRESS-RESPONSIVENAC1*) *NAC* alanı yapısı da rapor edilmiştir (Chen vd., 2011) ve *Arabidopsis ANAC019*'un *NAC* alanı ile yapısal benzerliğe sahiptir. *NAC* proteinlerinin C-terminal bölgelerinin oldukça farklı olduğu (Ooka vd., 2003) ve *NAC* proteinlerinin transkripsiyonel aktivasyonu arasında

gözelemlenen düzenleyici farklılıklardan sorumlu olduğu gösterilmiştir (Xie vd., 2000; Yamaguchi vd., 2008; Jensen vd., 2010). Bu proteinlerin farklı C-terminal bölgesi genellikle transkripsiyonel bir aktivatör veya baskılayıcı olarak görev yapan fonksiyonel bir alan olarak çalışır (Tran vd., 2004; Hu vd., 2006; Kim vd., 2007). C-terminal bölgesi büyüktür ve protein bağlama aktivitesine sahiptir (Nuruzzaman vd., 2013).

2.4.2.1. Bitki gelişimi ve olgunlaşma

NAC transkripsiyon faktörleri muz (Shan vd., 2012), şeftali (Pirone vd., 2013), kavun (Ríos vd., 2017), domates (Kumar vd., 2018), ve kayısı (García-Gómez vd., 2019) dahil olmak üzere çeşitli türlerin fenotiplerinin olgunlaşmasında rol oynamaktadır. Çok sayıda transkripsiyon faktörünün etilen biyosentezinde yer aldığı gösterilmiş olmasına rağmen, *SIACS*'ler veya *SIACO*'lar gibi etilen biyosentezinde yer alan anahtar genlerin promotör bölgelerine doğrudan bağlanarak etilen biyosentezini düzenleyebilecek çok azı rapor edilmiştir. Bir *NAC* transkripsiyon faktörü olan *SINAMI*'in, etilen biyosentez yolundaki iki anahtar genin (*SIACS2* ve *SIACS4*) promotörlerine doğrudan bağlanarak ve ifadelerini aktive ederek domates meyvesinin olgunlaşmasının başlangıcını pozitif olarak düzenlediği gösterilmiştir (Gao vd., 2021).

689 elma ile yapılan önceki genom çapında ilişkilendirme (GWAS) çalışmalarında, hasat zamanı ve sertlikle ilişkili bir *NAC* transkripsiyon faktörünün, *NAC18.1*'in kodlama dizisindeki kromozom 3 üzerinde bir tek nükleotit polimorfizmi (SNP) bulunmuştur (Migicovsky vd., 2016). Bu SNP, *NAC18.1* amino asit dizisinin yüksek oranda korunmuş bir konumunda bir aspartat (D) ve tirozin (Y) mutasyonu ile sonuçlanmış ve bu varsayılan SNP D5Y olarak adlandırılmıştır. Daha sonra, birkaç ek germplazm koleksiyonundaki GWAS, *NAC18.1* içeren genomik bölge ile olgunlaşma süresi arasındaki ilişkiyi doğrulamıştır (McClure vd., 2018; Larsen vd., 2019; Jung vd., 2020). Bu durum *NAC18.1* geninin, elmanın olgunlaşma süresine ve sertliğine aracılık ettiğini düşündürmüştür.

Pirinçte tanımlanan, tek bir *NAC* alanına sahip proteinleri kodlayan sekiz *NAC* geninin (*OsNAC1 – OsNAC8*) her birinin dokuya özgü ifade modeli olduğu açıklanmış ve bu

durum, bu ailenin pirincin gelişimini düzenlediğini düşündürmüştür (Kikuchi vd., 2000).

Nohutta, *CarNAC5*'in erken çimlenme sırasında embriyolarda olduğu kadar tohum olgunlaşması sırasında da yüksek seviyelerde ifade edildiği ve *CaNAC*'lerin farklı gelişim aşamalarında çeşitli dokularda yer aldığı gösterilmiştir (Ha vd., 2014). Yenedünya meyvesindeki *EjNAC1*'in, lignin biyosentezi ile ilişkili olduğu (Xu vd., 2015), *Arabidopsis*'teki *AtNAP*'in, *Arabidopsis* silikalarının yaşlanması ile ilgili olduğu açıklanmıştır (Kou vd. 2012). Bir kivi monoterpen sentaz geni olan *AcTPS1*'in bir *NAC* transkripsiyon faktörü tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (Nieuwenhuizen vd., 2015). Son zamanlarda, birkaç *MaNAC* transkripsiyon faktörünün, etilen sinyal yolunun bir bileşeni olan *MaEIL5* bileşeni ile etkileşime girerek muz olgunlaşmasında işlev gördüğü bulunmuştur (Shan vd., 2012). *NAC*-domain transkripsiyon faktörü *NOR* (non-ripening), etilen üretiminin azaldığı olgunlaşmayan bir fenotipe yol açabilir. Domates *SINAC1* ve *SINAC4*, domateslerde karotenoid yol akışında önemli rollere sahip olmasına rağmen (Meng vd., 2016), ifade varyasyonu ile ilişkili sadece birkaç domates olgunlaşması ile ilgili gen değerlendirilmiştir ve meyve olgunlaşması ile ilgili sayısız *NAC* geninin mekanizmaları hala tanımlanmamıştır (Kou vd., 2018). *SNAC4*, gövde ve yapraklarda yüksek oranda ifade edilirken, *SNAC9* ve yaşlı yapraklarda yüksek oranda ifade edilmiştir (Kou vd., 2014).

Domates önemli bir likopen kaynağıdır. Likopen ise olgunlaşmaya eşlik eden meyve kızarması ile ilgilidir. Domates *SINAC1*'in aşırı ifadesi, karotenoid akışını değiştirerek ve temel olarak *PSY1* (Fitoen sentaz 1), *ACS2* (1-aminosiklopropan-karboksilaz sentaz 2) ve *ACO1* (1-aminosiklopropan-karboksilaz oksidaz 1)'in düzenleyici bölgeleri ile etkileşime girerek düzenlenen etilen sentezini azaltarak karotenoidlerde bir düşüşe yol açmaktadır (Ma vd., 2014). *SNAC4* ve *SNAC9* transkripsiyon faktörlerinin işlevleri, *SNAC*'ler susturulmuş meyve elde etmek için virüs kaynaklı gen susturma kullanılarak incelenmiştir. *SNAC*'lerin susturulmasının, azalan etilen üretimi, likopen birikimi ve sarı veya turuncu meyvelerle ilişkili olarak olgunlaşmanın gecikmesine yol açtığı gözlemlenmiştir (Kou vd., 2018).

Cao vd. (2021) tarafından yürütülen çalışmada; şeftalide meyve olgunlaşması sırasında aroma ester üretiminin düzenlenmesini netleştirmek için kapsamlı bir analiz

yapılmıştır. *PpNAC1* transkripsiyon faktörü, ester sentez geni *PpAAT1*'in promotörüne doğrudan bağlanarak transkripsiyonunu uyarmıştır. *PpNAC1*'in ester üretimindeki bu düzenleyici rolü, 30 farklı şeftali çeşidi arasındaki korelasyona, şeftalide geçici ifadeye ve domates meyvelerinde kararlı aşırı ifadeye dayalı olarak doğrulanmıştır. Transkripsiyonel ve epigenetik sonuçlar, aroma ile ilgili esterlerin oluşumunun, birçok meyve türünde *NAC* transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlendiğini göstermiştir (Cao vd., 2021).

Papaya *CpNAC1*'in, promotörlerine doğrudan bağlanma yoluyla *CpPDS2/4* transkripsiyonunu teşvik ederek karotenoid birikiminin pozitif bir düzenleyicisi olarak işlev gördüğü bulunmuştur (Fu vd., 2016). Yine papayada, meyve olgunlaşması ve karotenoid birikimi ilerledikçe, *CpNAC2* ifadesinin arttığı gözlenmiştir (Fu vd., 2017).

Yenidünya (*eriobotrya japonica*) meyvesi, hasat sonrası soğukta depolanması sırasında (0°C) lignin biriktirir. Soğukta depolama sırasında metabolik süreçlerin incelendiği çalışmada farklı sıcaklık uygulamalarında transkriptom analizi yapılmıştır. *EjPAL2*, *EjCAD1*, *EjCAD3*, *4CL*, *COMT* ve *HCT* gibi lignin biyosentez yolunun anahtar genlerinin, düşük ve yüksek sıcaklık uygulamalarında *AP2*, *MYB* ve *NAC* ailelerine ait bir dizi transkripsiyon faktörü ile ilişkili olarak farklı ifade modeli sergilediği görülmüştür (Liu vd., 2019).

2.4.2.2. Biyotik ve abiyotik stres

NAC transkripsiyon faktörleri ile ilgili raporların çoğu, bu multigen ailesinin sayısız üyesinin, bitki bağışıklık tepkileri ile bağlantılı transkripsiyonel yeniden programlamada rol oynadığını göstermiştir. Bugüne kadar, *NAC* transkripsiyon faktörlerinin, bitkinin doğuştan gelen bağışıklık sisteminin, bazal savunmanın ve sistemik kazanılmış direncin birçok yönünün merkezi bileşenleri olduğu açıktır (Nuruzzaman vd., 2013). *NAC* genlerinin aşırı ifadesinin veya ifadesinin azaltılmasının bitki savunması üzerinde etkileri olduğu birçok örnek vardır, bu gözlemler sinyal yolları ağının bazı bileşenlerinin çözülmesine izin vermiştir (He vd., 2005; Jensen vd., 2007, 2008, 2010).

Stresle uyarılabilen *NAC* genlerinin, abiyotik stres toleransında rol oynadığı gösterilmiştir. Strese duyarlı *NAC* (*SNAC*) genlerini aşırı ifade eden transgenik *Arabidopsis* ve pirinç bitkileri, gelişmiş kuraklık toleransı sergilemiştir. Bu çalışmalar, *SNAC* faktörlerinin abiyotik stres toleransının kontrolünde önemli rollere sahip olduğunu ve bunların aşırı ekspresyonunun biyoteknolojik yaklaşımlar yoluyla stres toleransını iyileştirebileceğini göstermiştir (Nakashima vd., 2012).

Birkaç bilim adamı, brom mozaik virüsü tabanlı bir vektör kaynaklı gen susturma vektörü geliştirmiştir ve bu vektörün arpa, pirinç ve mısırdaki hızlı gen fonksiyon analizi için çok yönlü bir araç olduğu gösterilmiştir (Pacak vd., 2010; van der Linde vd., 2011; Biruma vd., 2012). Pirinç fidelerinde, uygulamadan sonraki farklı günlerde sırasıyla RSV ve RTSV enfeksiyonundan sonra 19 ve 13 *NAC* geninin ifadesi artmıştır (Nuruzaman vd., 2010). Virüs, birkaç fungal elisitör ve bakteri saldırılarına yanıt olarak *NAC* genlerinin ifade seviyesinde artış gözlenmiştir (Wang vd., 2009a,b; Xia vd., 2010a,b).

Bitki stres tepkileri sırasında *NAC* genlerinin sıkı düzenlenmesi, karmaşık sinyal ağlarının kurulmasına katkıda bulunur ve *NAC* genlerinin bitki abiyotik stres tepkilerindeki önemli rolleri, onları stres toleransı kazandırmak için potansiyel adaylar yapar (Nuruzaman vd., 2013).

Transgenik pirinçte, *Os01g66120/OsNAC2/6* ve *Os11g03300/OsNAC10* genlerinin kuraklık ve tuz toleransını arttırdığı (Nakashima vd., 2009; Jeong vd., 2010) ve *Os03g60080/SNAC1*'in kuraklık stresi altında tane verimini (%21-34) arttırdığı bulunmuştur (Hu vd., 2006).

OsOAT'nin strese duyarlı *NAC* transkripsiyon faktörü *SNAC2*'nin doğrudan bir hedefi olduğu ve pirinçte *OsOAT* aşırı ifadesinin önemli ölçüde artan kuraklık ve ozmotik stres toleransı ile sonuçlandığını bildirilmiştir (You vd., 2013).

GmNAC085'i aşırı ifade eden bitkilerin, artan kuraklık toleransı gösterdiği (Le vd., 2011), *GmNAC11*'in aşırı ifadesinin ise, tuz ve mannitol streslerine karşı artan hassasiyete yol açtığı gösterilmiştir (Hao vd., 2011).

Bitkilerde *SNAC2/OsNAC6*, *OsNAC10*, *NTL6*, *TaNAC2a*, *TaNAC4*, *TaNAC4a*, *TaNAC6*, *TaNAC7*, *TaNAC13* ve *TaNTL5* genlerinin ifadeleri düşük sıcaklık ile uyarılmaktadır (Jeong vd., 2010; Xia vd., 2010a; Tang vd., 2012). Aynı zamanda Northern blot ve *SNAC2* promotör aktivite analizleri, *SNAC2* geninin de düşük sıcaklık tarafından uyarıldığını göstermektedir (Nuruzzaman vd., 2013).

Hu vd. (2022), genom çapında bir analiz yaparak pitaya'da (*Hylocereus*) toplam 64 *NAC* (*HuNAC1-HuNAC64*) tanımlamıştır. Bu *HuNAC* genlerinin ifade seviyeleri, qRT-PCR kullanılarak soğuk uygulamaları altında analiz edilmiş, dört *HuNAC* geninin (*HuNAC7*, *HuNAC20*, *HuNAC25* ve *HuNAC30*), soğuk stresi tarafından yüksek oranda uyarıldığı görülmüştür. Aynı çalışmada *HuNAC20* ve *HuNAC25*'i barındıran transgenik *Arabidopsis* bitkileri, soğuk uygulaması altında incelenmiştir. *Arabidopsis*'te *HuNAC20* ve *HuNAC25*'in aşırı ifadesi, soğuğa duyarlı genlerin (*AtRD29A*, *AtCOR15A*, *AtCOR47* ve *AtKINI1*) ifadesinin düzenlenmesi ile birlikte iyon sızıntısını, malondialdehit, H₂O₂ ve O₂⁻ birikimini azaltarak soğuk stresine karşı toleransı önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür (Hu vd., 2022).

Literatürde yer alan farklı bir çalışmada *MaNAC1*'in, muz meyvelerinin soğuğa toleransına olası katılımı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *MaNAC1* promotörünün soğuk stresi ve etilen uygulaması ile aktive edildiği gösterilmiştir (Shan vd., 2014). Bu sonuçlar; *NAC* transkripsiyon faktörlerinin stres tepkilerine dahil olabileceğini göstermektedir. Aynı zamanda *NAC* transkripsiyon faktörü ailesinin düzenleyici aktiviteleri hakkında yeni bilgiler sağlamaktadır.

2.4.3. Aux/IAA (Auxin/indoleacetic acid)

Bitkiler, oksin sinyalini kesin ve hızlı bir şekilde algılayabilir ve yanıt verebilir. Bu yanıt, erken oksin yanıt genleri olarak adlandırılan bir grup geni içerir. Aux/IAA proteinleri, erken oksin yanıt proteinleri olarak iyi bilinir ve ARF (auxin response factor) proteinleri ile transkripsiyonel baskılayıcılar olarak etkileşerek oksin sinyalizasyonuna katılır (Luo vd., 2018). Oksinin, gen transkripsiyonunu düzenleyen kısa ömürlü nükleer proteinler olan AUX/IAA proteinlerinin bozunması yoluyla gen ifadesini düzenlediği bilinmektedir. AUX/IAA proteinleri, oksine yanıt olarak SCF^{TIR1} aracılığıyla parçalanır (Dharmasiri ve Estelle, 2004). ARF ve Aux/IAA proteinleri

birbirine bağlanarak, oksin olmadığında veya oksin seviyesi düşük olduğunda birincil genlerin transkripsiyonunu baskılayan bir heterodimer oluşturur. Böylece oksin yanıtı baskılanır (Luo vd., 2014). Yüksek oksin seviyelerinde bu proteinler, TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE1/AUXIN SIGNALING F-BOX (TIR1/AFB) reseptörleri ile etkileşime girer ve ardından 26S proteazomu yoluyla bozunabilir. Böylelikle serbest kalan ARF'ler oksine yanıt veren genlerin ifadelerini düzenler (Luo vd., 2018).

Çoğu AUX/IAA proteinleri, I – IV alanları olarak adlandırılan dört korunmuş alanı paylaşır. Alan III ve IV, proteinin C-terminal bölgesinde yer alır ve diğer AUX/IAA proteinleri ile homo- ve heterodimerizasyona ve ayrıca alan III ve IV'ü (CTD veya C-terminal alanı olarak da adlandırılır) paylaşan ARF'lerle heterodimerizasyona katılır (Dharmasiri ve Estelle, 2004). *Aux/IAA* genlerinin soya fasulyesinden (Walker ve Key, 1982; Ainley vd., 1988) ilk tanımlanmasının ardından, *Aux/IAA* genlerinin üyeleri bezelye (Theologis vd., 1985), maş fasulyesi (Yamamoto vd., 1992), *Arabidopsis* (Abel vd., 1995), domates (Wang vd., 2005) ve pirinç (Jain vd., 2006) gibi çeşitli bitkilerden izole edilmiştir. *Arabidopsis* genomunda en az 29 *AUX/IAA* geni vardır (Dharmasiri ve Estelle, 2004). Son zamanlarda ise elma genomunda 33 *Aux/IAA* tanımlanmıştır (Li vd., 2022).

Bitkilerdeki *Aux/IAA* gen ailesinin üyeleri, bitki gelişiminin birçok yönünde ve abiyotik strese tepkilerde önemli roller oynayan birincil oksin duyarlı genlerdir. Yakın tarihli bir çalışmada tuza toleranslı elma anacı *M. Zumi* ve tuza duyarlı elma anacı *M. Baccata* ve *M. × domestica* çeşidi 'Fuji'nin tuz toleransı değerlendirilmiş ve köklerinde, sürgün uçlarında ve yapraklarında *MdIAA* genlerinin ifade profilleri incelenmiştir. Sonuçlar; tuz stresine maruz kalan elmalarda tuza duyarlı *MdIAA*'ların çoğunun sırasıyla köklerde, sürgün uçlarında ve yapraklarda 1. Saat, 3. Saat ve 6. Saatte ifadelerinin arttığını göstermiştir (Li vd., 2022).

Domatesten bir *Aux/IAA* geni *SlIAA9*'un ifadesinin azalmasının, domates meyve gelişimi ve yaprak morfogenezinde yer aldığı kanıtlanmıştır (Wang vd., 2005). Üzümde *VvAux/IAA4* geninin, genç yapraklarda ve köklerde yüksek oranda, polen ve dallarda ise düşük seviyelerde ifade edildiği, ayrıca *VvAux/IAA4* ifadesinin tane gelişimi sırasında yükseldiği ve olgunlaşmanın başlangıcından aşırı olgunlaşma aşamasına kadar yavaş yavaş azaldığı bulunmuştur (Çakir vd., 2013).

Liu vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada; sırasıyla *FaAux/IAA1* ve *FaAux/IAA2* olarak adlandırılan iki oksine duyarlı *Aux/IAA* geni çilek meyvesinden izole edilmiş ve karakterize edilmiştir. Ayrıca, iki *FaAux/IAA* geninin meyve gelişimi sırasındaki ifade profilleri ve NAA'nın iki farklı gelişim evresindeki meyve ifadelerine etkisi de araştırılmıştır. Sonuçlar; *FaAux/IAA1* ve *FaAux/IAA2* transkript seviyelerinin meyve gelişiminin erken aşamasında çok yüksek olduğunu ve olgunlaşma aşamasında (beyaz aşamadan sonra) keskin bir şekilde düştüğünü göstermiştir. Ek olarak, büyük yeşil ve beyaz meyve aşamasında uygulanan NAA'nın, *FaAux/IAA1* ve *FaAux/IAA2* transkriptlerinin birikimlerini açıkça arttırdığı görülmüştür. Bu veriler, *FaAux/IAA1* ve *FaAux/IAA2* genlerinin erken meyve gelişimine dahil olduğunu düşündürmüştür (Liu vd., 2011).

Salatalıkta *CsIAA* genlerinin ifadelerinin oksin uyarımı ile ilişkili olup olmadığını araştırmak için, IAA ile muamele edilmiş fidelerde transkript seviyeleri izlenmiş ve ifade desenleri yarı kantitatif ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu ile analiz edilmiştir. Sonuçlar; 11/29 *CsIAA* geninin, IAA ile muamele edilmiş olsun veya olmasın yapraklarda ifade edildiğini ve kontrolle karşılaştırıldığında işlem süresi boyunca, beş *CsIAA* geninin, IAA ile 60 dakikalık uygulamadan sonra düşük ifade gösterdiğini, 11 genin ise ifade edilmediğini göstermiştir (Gan vd., 2013).

Literatürde yer alan bir diğer çalışmada; papayada meyve gelişimi ve olgunlaşmasında yer alan *CpIAA* genlerinin biyolojik fonksiyonlarını anlamak için, farklı aşamalarda *CpIAA* genlerinin ifade profili kantitatif real time PCR kullanılarak analiz edilmiştir. ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit) ve 1-MCP uygulamalarında *CpIAA* genlerinin ifade değişiklikleri, papayanın meyve olgunlaşma süreci sırasında oksin ve etilen arasında bir etkileşim olduğunu ortaya koymuştur (Liu vd., 2017).

2.4.4. EIN3 (ethylene insensitive 3)

Etilen sinyalizasyonu, nispeten küçük genomu, kısa ömrü ve çeşitli mutant havuzları olan genetik model bitki *Arabidopsis thaliana* kullanılarak incelenmiştir (Alonso ve Stepanova, 2004). Transkripsiyon faktörü *EIN3*, *Arabidopsis*'te etilen sinyal yolunun bir parçasıdır (Müller vd., 2003). *EIN2* ve *EIN3* proteinleri etilen sinyalizasyonunda merkezi bir rol oynar ve bu proteinlerin dönüşümünün E3 ligazları tarafından

düzenlenmesi, sinyal yolunun önemli bir adımıdır. EIN3'ü değiştiren iki antagonistik mitojenle aktive olan protein kinaz (*MAPK*) kaskadı, membran reseptörlerinden nüklear transkripsiyon faktörlerine hücre içi sinyalleme aracılığıyla ediliyor gibi görünmektedir (Cho vd., 2012).

EIN3, üç protein alanı içerir: 1) N-terminalinde bir DBD, 2) merkezi bölgede prolin açısından zengin bir alan (PRD) ve 3) C-terminalinde protein-degradasyon alanı (PDD). DBD, bitki transkripsiyon faktörlerine özgüdür ve *Arabidopsis*, tütün, domates, üzüm, pirinç, mısır ve sorgum dahil olmak üzere çeşitli bitki türlerinde evrimsel olarak korunur. PRD alanının, protein-protein etkileşim platformu olarak hareket ettiği düşünülmektedir (Cho vd., 2012). Destekleyici bir kanıt dizisi olarak, PRD'yi içeren EIN3^{Q113}-EIN3^{K257}, maya ikili hibrit analizi kullanılarak bir EIN3 homodimerizasyon alanı olarak tanımlanmıştır (Guo ve Ecker, 2003). EIN3'ün C-terminal bölgesi, bir PDD olarak hizmet ediyor gibi görünmektedir (Yanagisawa vd., 2003). EIN3 protein bozunması, etilene karşı fizyolojik bir antagonist olan glikoz tarafından artırılır (Leon ve Sheen, 2003). Glikoz sinyalinin varlığında, EIN3'ün N-terminal yarısı çekirdekte stabil bir şekilde birikir, ancak EIN3'ün tam uzunluğu ve C-terminal yarısı bozulur, bu da EIN3'ün C-terminal yarısında fonksiyonel bir PDD olduğu görüşünü desteklemektedir (Cho vd., 2012).

EIN3'ün, eksojen etilen uygulaması sonucu biriken bir nüklear protein olduğu bilinmektedir. *EIN3* ifadesi, etilene yanıt olarak transkripsiyonel düzeyde etkilenmez (Yanagisawa vd., 2003), ancak proteini stabilize edilir ve hormona yanıt olarak çekirdekte birikir (Gagne vd., 2004). Çekirdekte biriken EIN3, AYGWAYCT olarak kodlanan ve erken etilen yanıt genlerinin promotörleri içinde yer alan bir promotör elementte DNA-bağlama aktivitesi yoluyla birincil etilene bağımlı transkripsiyonu aktive eder (Yamasaki vd., 2005). Etilen yokluğunda EIN3 proteini negatif düzenleme altındadır. Bitki hücrelerinde sürekli olarak bozunur ve protein stabilitesi, özellikle bozunma sürecinde yer alan EBF1 ve -2 aktivitesi yoluyla 26S proteazom aktivitesinin kontrolü altındadır (Gagne vd., 2004). *EIN3* ailesi üyelerinin her birinin belirli hedef genler üzerinde etki edebilmesi, *EIN3* genlerinin farklı ifadesinin, dokuya özgü etilen tepkilerinden sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Ancak, *EIN3* ailesinin tütündeki (*Nicotiana tabacum*) etilen sinyal yolundaki rolünü araştırmak için izole edilen gen ailesi üyelerinin (*NtEIL*'ler), etilen uygulamasından önce veya sonra yumurtalıktaki

herhangi biri için ifade seviyesinde veya doku spesifikliğinde hiçbir fark bulunmamıştır (Rieu vd., 2003). Bu da doku veya organa özgü etilen tepkilerinin *NtEIL* genlerinin farklı ifadelerinden kaynaklanmadığını göstermiştir.

EIN3'ün DNA bağlama aktivitesinin ve onun yakın homoloğu *EIL1*'in, etilen sinyalinin bir parçası olarak birkaç hedef geni (örn., *ERF1*, *AtERFs*, *ERS1* ve *EBF2*) transkripsiyonel olarak aktive ettiği gösterilmiştir. Bunun aksine, bitki savunma tepkilerine ilişkin *EIN3* işlevi üzerine bir çalışma, bir salisilik asit biyosentez geni *SID2*'nin promotörü ile doğrudan etkileşim yoluyla bir transkripsiyonel baskıyı göstermiştir (Chen vd., 2009).

Salatalıktaki etilen sinyal yolun daha iyi anlaşılması için yapılan *EIN3*'ün (*CsEIN3*) ifade analizinde, *CsEIN3*'ün incelenen tüm organlarda ifade edildiği ve hem erkek hem de dişi çiçeklerde çiçek gelişimi ve olgunlaşması sırasında arttığı bulunmuştur (Bie vd., 2013).

ESE1, *RD29A* ve *COR15A* gibi tuzla ilgili genlerin promotörlerine bağlanır. Biyokimyasal ve moleküler yaklaşımlarla yapılan analizler, *EIN3*'ün fiziksel olarak *ESE1* promotörüne bağlandığını ortaya çıkarmış ve bu, *ESE1*'in *EIN3*'ün bir hedefi olduğunu göstermiştir (Zhang vd., 2011).

EIN3, *ORE1/NAC2* ve ana klorofil katabolik genlerini içeren etilen aracılı klorofil bozunmasının düzenlemesinin rapor edildiği çalışmada, etilen sinyalinin ana pozitif düzenleyicisi olan *EIN3*'ün, ifadelerini aktive etmek için üç ana klorofil katabolik geninin promotörlerine fiziksel olarak bağlanarak klorofil bozulmasını doğrudan teşvik edebildiği gösterilmiştir. Ayrıca, *EIN3*'ün doğrudan bir hedefi olan *ORE1*, aynı zamanda benzer klorofil katabolik gen setinin ifadesini doğrudan aktive ettiği bulunmuştur (Qiu vd., 2015).

Yang vd. (2015), kauçuk ağacında (*Hevea brasiliensis*) dört *EIN3/EIL* genini (*HbEIN3-1* – *HbEIN3-4*) tanımlamıştır. Dokuya özgü ifade profilleri, test edilen dokulardan en az birinde dört *HbEIN3*'ün ifade edildiğini göstermiştir. Dört *HbEIN3* geni, etilen ve jasmonik asit uygulamasına yanıt vermiş ve bu durum *HbEIN3*'lerin

jasmonik asit ve etilen sinyalizasyonuna yanıtta rol oynadığını göstermiştir (Yang vd., 2015).

Hormon inhibitörleri uygulamasıyla olgunlaşma sürecindeki değişikliklerin incelendiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ancak bu süreçte rol aldığı düşünülen potansiyel hormon etkileşimleri ile ilgili bulgular kısıtlıdır. Hasat sonrası olgunlaşma sürecinde transkriptomun incelendiği sayılı çalışmalarla; oksin ve etilen ile ilişkili *Aux/IAA* ve *ERF* gibi transkripsiyon faktörlerinin ifadelerindeki değişimlerden yola çıkarak olası oksin/etilen etkileşiminin varlığına ışık tutulmuş, bu transkripsiyon faktörlerinin hem etilen hem de oksin tarafından kontrol edilebildiğine dair bulgular elde edilmiştir. Bu hormon etkileşimlerinin ve transkripsiyonel devrelerin aydınlatılması için daha fazla araştırma bulgularına ihtiyaç vardır. Bu tez çalışması kapsamında, farklı hormon/hormon inhibitörü uygulanmış örnekler ile hiçbir uygulama gerçekleştirilmemiş kontrol örneklerine ait Golden delicious çeşidi elmalarda farklı depolama dönemlerinde (1. gün, 3. ay, 6. ay) RNAseq transkriptom analizinin işaret ettiği şiddetli gen ifadesi değişimi gösteren hormon metabolizması ilişkili genlerin RT-qPCR ile ifade ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak Golden Delicious elma çeşidi kullanılmıştır. Elmalar, kültürel bakım işlemleri (sulama, gübreleme vb.) muntazam olarak yapılan, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Isparta Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Meyvelerin derimi 23.09.2020 tarihinde gerçekleşmiş ve meyveler soğutmalı araçla Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Derim Sonrası Fizyolojisi Laboratuvarına nakliye edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Meyveler üzerinde gerçekleştirilen uygulamalar

Üzerinde çizik ve ezik benzeri hasar bulunmayan meyveler dikkatle seçilerek altı farklı uygulamaya tabi tutulmuştur. Uygulamalar aşağıda sırasıyla belirtilmiştir.

1. Uygulama (1-MCP): 12 saat süre ile oda koşullarında (21 °C ve % 50-60 oransal nem), kapalı ortamda 625 ppb 1-MCP uygulamasına tabi tutulmuştur. Bu amaçla önceden tablet şeklinde hazırlanan 1-MCP örnekleri, meyvelerin bulunduğu ortamdaki hazır solüsyona ilave edilerek oluşan gazın (1-MCP) meyve dokularına penetrasyonu sağlanmıştır. 1-MCP gaz formunda uygulandığından meyveler, uygulama öncesi 3 dakika süre ile 0.1%'lik Tween 20 içeren saf su çözeltisi içinde bekletilip kurutulmuştur. Böylece diğer uygulamalarda yapılan suya daldırma işlemi burada da gerçekleştirilmiştir.

2. Uygulama (Oksin): Meyveler, oda koşullarında (21 °C ve % 50-60 oransal nem) 3 dakika süre ile 20 mg/L oksin (IAA, Sigma) ve 0.1%'lik Tween 20 içeren çözeltiliye daldırılmıştır. Bu uygulama Li ve Yuan (2008)'nin elmada yaptığı oksin uygulaması modifiye edilerek oluşturulmuştur. Daldırma işleminden sonra meyvelerin, diğer uygulamalarda olduğu gibi 12 saat süre ile oda koşullarında bekletilerek kurumaları sağlanmıştır.

3. Uygulama (Etilen): Meyveler, oda koşullarında (21 °C ve % 50-60 oransal nem) 3 dakika süre ile 0.5 g/L etilen (Etephon çözeltisi, Bayer, Avustralya) ve 0.1%'lik Tween 20 içeren çözeltiliye daldırılmış, bu işlemin ardından 12 saat süreyle oda koşullarında bekletilerek kurumaları sağlanmıştır. Bu uygulama Shen vd. (2017)'in meyvelerde yaptığı etilen uygulaması modifiye edilerek oluşturulmuştur.

4. Uygulama (Oksin inhibitörü): Meyveler, oda koşullarında (21 °C ve % 50-60 oransal nem) 3 dakika süre ile 1 µg/L 1-N-naftilfitalamik asit (NPA, Naptalam, Sigma) ve 0.1%'lik Tween 20 içeren çözeltiliye daldırılmış, bu işlemin ardından 12 saat süreyle oda koşullarında bekletilerek kurumaları sağlanmıştır. Bu uygulama Sussman ve Goldsmith (1981) ile Li vd. (2018)'nin meyvelerde yaptığı NPA uygulaması modifiye edilerek oluşturulmuştur. NPA, 1950'li yıllardan beri bitki gelişimi üzerinde şiddetli etkileri olduğu bilinen ve 80'li yıllarda oksin taşınma inhibitörü olduğu belirlenen sentetik bir fitalamik asit türevidir (Teale ve Palme, 2018).

5. Uygulama (Oksin inhibitörü + 1-MCP): Meyveler önce oda koşullarında (21 °C ve % 50-60 oransal nem) 3 dakika süre ile 1 µg/L 1-N-naftilfitalamik asit (NPA, Naptalam, Sigma) ve 0.1%'lik Tween 20 içeren çözeltiliye daldırılmış, bu işlemin ardından 12 saat süreyle oda koşullarında 1-MCP uygulaması yapılmıştır. Bu süre zarfında diğer uygulamalarda olduğu gibi meyvelerin kuruması sağlanmıştır. Bu uygulama Sussman ve Goldsmith (1981) ve Li vd. (2018)'nin yaptığı NPA uygulaması ile 1-MCP uygulaması kombine edilerek oluşturulmuştur.

6. Uygulama (Kontrol): Kontrol meyveleri diğer tüm uygulamalarda olduğu gibi 3 dakika süreyle 0.1%'lik Tween 20 içeren saf suya daldırılmış, bu işlemin ardından 12 saat süreyle oda koşullarında bekletilerek kurumaları sağlanmıştır.

Uygulamalardan sonra meyveler plastik kasalar içerisinde 0°C ve % 90 ± 5 oransal nem koşullarında 6 ay süreyle depolanmıştır. Depolama süresi boyunca 1. gün, 3. ay ve 6. ay'da alınan örneklerden RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. RNA örnekleri, moleküler analizler gerçekleştirilene kadar -80 °C derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2.2. RNA izolasyonu ve cDNA sentezi

Elma tohumlarından RNA izolasyonu için guanidin-izotiyosiyanat lisis ve silika-membran saflaştırması metotlarına dayalı Rneasy Plant Mini Kit (Qiagen, ABD) bitki mini kiti kullanılmıştır. RNA izolasyonunda her uygulamayı temsilen 6 meyve kullanılmış, tohumlar kılıftan çıkartılarak izolasyon kitinin gereksinimi olan 100 mg doku, uygulamaya ait meyve tohumları rastgele karıştırılarak elde edilmiştir. Saflaştırma işlemini takiben örnekler, Thermo RNase-free Dnase I (Thermo, ABD) ile kullanım kılavuzuna uygun olarak muamele edilerek total RNA molekülleri muhtemel DNA'dan arındırılmış ve ardından Thermo RevertAid FirstStrand cDNA sentez kiti (Thermo, ABD) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen toplam RNA'ların miktarları spektrofotometrik olarak Nanodrop 2000 ile belirlenmiştir. Toplam RNA'ların kaliteleri ise %1'lik agaroz jel elektroforezi ile ayrılıp görüntülenerek saptanmıştır.

3.2.3. Kantitatif ters transkripsiyon PCR (qRT-PCR)

On farklı elma hormon metabolizması ilişkili gen için, Genome Database For Rosaceae (rosaceae.org) veritabanında bulunan elma genomu dizilim bilgileri kullanılarak, NCBI Primer-BLAST programı yardımıyla primer tasarımı gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması kapsamında ifadeleri incelenen genlerin NCBI Gen Bankası referans dizilim kodları ve *Rosaceae* veritabanında (GDR) temsil edilen gen numaraları Çizelge 3.1'de sunulmuştur. İncelenen genler, tez çalışmasından önce aynı total RNA örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiş olan yeni nesil dizileme (NGS) ile transkriptomun incelenmesi yoluyla belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. İfadesi incelenen genler

Gen Adı	NCBI Gen Bankası Kodu	GDR Kodu	Kullanılan Primer Dizilimi
<i>Aktin</i>	XM_008365636.3	MDP0000752428	İ: GAGCCGTGTTCCCTAGCATT G: ATACCACGCTTGGACTGAGC
Ethylene-responsive transcription factor RAP210	GU732469.1	MD15G1286600	İ: AAGCCTACCCAGACGACAAC G: GAGAGTGCAAAAGGAGGGCT
<i>AP2-like ethylene-responsive transcription factor AIL5</i>	XM_029091051.1	MD13G1252700	İ: GGGGTGAATGTGAGGGTGAG G: CAGTGTCAGCCTGTGTGGAT
<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF011-like1</i>	MG099843.1	MD02G1176200	İ: GACCTGAACAAGATGCCCGA G: TCACATACCTCCCCTACGCA
<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF011-like2</i>	XM_008379796.3	MD08G1096000	İ: AACGCCCTCTTTCTTTCTGAT G: CAGAAGGGCCTCGCAGATAG
<i>Ethylene-responsive transcription factor 4</i>	GU732449.1	MD10G1290400	İ: GCCATCCCCACCCCATATT G: GTTGGCCTGGTCAATCTCA
<i>NAC-a</i>	XM_008376852.3	MD06G1239900	İ: CCGAACGCAAAAACCCTAGC G: CTTTCCCCAGCATCGAGTGT
<i>NAC-b</i>	XM_008362721.3	MD14G1246300	İ: ACGCCAAGATGAATAGGGAGA G: CTGCAGCGGCTTCAAATGTT
<i>NAC-c</i>	XM_008368215.3	MD11G1210600	İ: ACGGTCAGGACTAAACGGTG G: GTTTGGGCAGTCATGCTTGG
<i>AUX_IAA</i>	XM_008339039.3	MD15G1169100	İ: CGGTGGCAGATCAGGTTTCAT G: TGCTCCTCCCATTAATCACTTCT
<i>Ethylene insensitive 3</i>	XM_008359435.3	MD08G1245800	İ: ACCTGTTGGAGTTACGCTGT G: CTAACAAGTCCGGCGGCTAA

Bu çalışmada, farklı uygulamalarla muamele edilerek farklı sürelerle depolanmış elma tohumlarındaki hormon metabolizması ilişkili gen ifadeleri, XM_008365636.3 NCBI GenBank numaralı *Aktin* referans geni kullanılarak normalize edilmiş ve genlerin bağıl kantifikasyonu Biorad CFX Connect Real Time PCR cihazı ve CFX Maestro yazılımı (Biorad, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Tüm çoğaltım reaksiyonları, Biorad iTaq Universal SYBR Green Supermix kullanılarak, kullanıcı klavuzunda belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. PCR koşulları, 95°C’de 30 saniye başlangıç denatürasyonu ile başlamış, daha sonra 40 döngü tekrarlanacak biçimde 95°C’de 5 saniye ve 60°C’de 30 saniye süreyle çoğaltımlar gerçekleştirilmiştir. İfadesi incelenen her gen için, çoğaltım reaksiyonunu takiben 65 – 95°C aralığında 0.5°C’lik artışlarla Melt Curve analizi gerçekleştirilmiş ve çoğaltım ürününün özgüllüğü kontrol edilmiştir. qPCR reaksiyonlarında her uygulama için iki biyolojik, iki teknik tekrar gerçekleştirilmiştir. Genlerin bağıl ifadeleri $2^{-\Delta\Delta C_T}$ yöntemine göre, referans gen ile normalizasyon gerçekleştirilerek belirlenmiştir. Örneklerin ortalama ΔC_T değerleri referansların ortalama ΔC_T değerlerinden çıkartılarak $\Delta\Delta C_T$ değerleri hesaplanmış, daha sonra bu değerler $2^{-\Delta\Delta C_T}$ farklarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

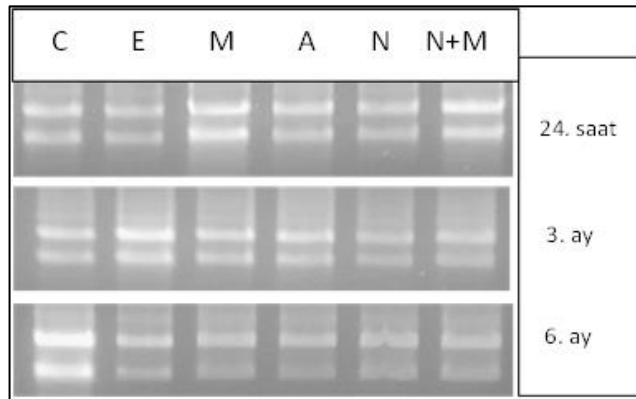
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada farklı depolama döneminde hormon ve hormon inhibitörü uygulamaları altındaki elmada, gen ifadeleri incelenerek, hasat sonrası olgunlaşma süreci ve meyvedeki hormon etkileşimlerinin aydınlatılması hedeflenmiştir. Çalışmada materyal olarak kullanılan Golden Delicious çeşidi elmalar Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Derimi takiben laboratuvara getirilerek çeşitli uygulamalara tabi tutulan ve depolanan Golden Delicious çeşidi elmalar

Çeşitli uygulamalara tabi tutulan örneklerden saflaştırılan total RNA molekülleri Şekil 4.2’de görülmektedir.



Şekil 4.2. C: Kontrol uygulaması, E: Etilen uygulaması, M: 1-MCP uygulaması, A: Oksin uygulaması, N: Oksin inhibitörü uygulaması ve N+M: Oksin inhibitörü + 1-MCP uygulaması yapılan örneklerden saflaştırılan total RNA molekülleri

Safılaştırılan RNA örneklerinin spektrofotometrik ölçüm sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Safılaştırılan RNA örnekleri için spektrofotometrik ölçümler

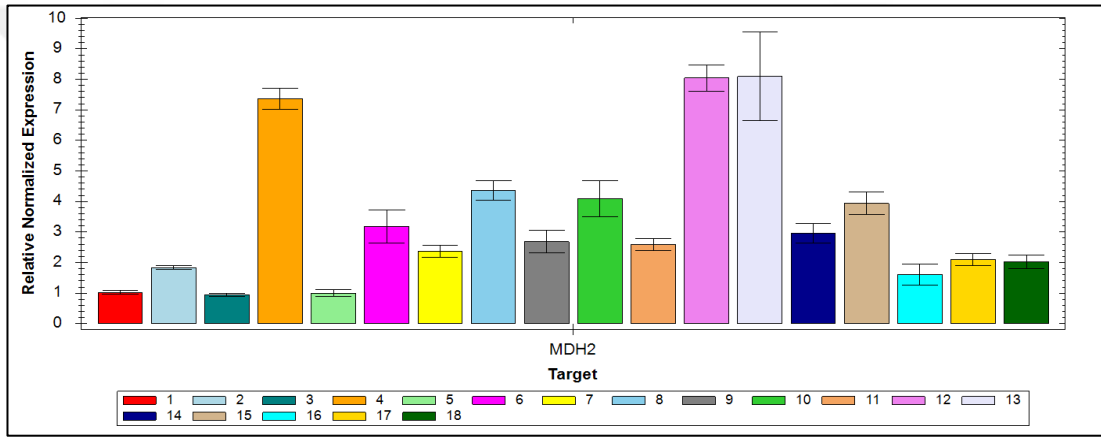
Örnek adı	Yoğunluk (ng/µl)	260/280	260/230
1 C	58	1.4	0.2
1 E	208	2	2
1 M	341	2	1.6
1 A	28	1.6	0.04
1 N	108	1.9	0.4
1 N+M	47	1.6	1
3 C	392	2	2.2
3 E	1352	2	2.5
3 M	1332	2	2.4
3 A	387	2	1.8
3 N	345	2	1.7
3 N+M	1166	2	2.4
6 C	963	1.9	2.1
6 E	114	1.9	0.4
6 M	185	2	0.4
6 A	189	2	0.7
6 N	95	1.9	0.2
6 N+M	197	2	0.9

4.1. Gen İfadeleri

Bu tez çalışması dahilinde; etilen ile ilişkili 5 *ERF*, *EIN3*, oksin ile ilişkili *Aux/IAA* ve 3 *NAC* geni olmak üzere toplam 10 adet genin ifadesi ölçülmüştür.

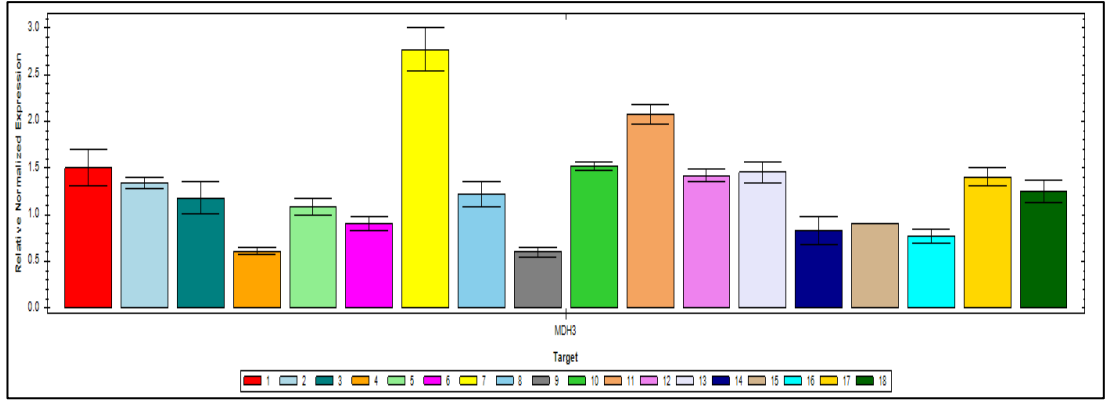
RAP210 geni *ERF* transkripsiyon faktörü ailesinde yer alır ve etilen tarafından uyarılır. *ERF* transkripsiyon faktörleri etilen sinyalizasyonuna dahil olarak, meyvenin çeşitli

olgunlaşma süreçlerinde rol oynamaktadır (Zhang ve Li, 2018; Li vd., 2019). *RAP210* gen ifadesi farklı uygulamalar altında ve farklı depolama sürelerinde sekiz kata ulaşan farklılıklar göstermiştir (Şekil 4.3). 24 saat depolama altındaki örneklerde en yüksek ifade etilen uygulaması altında, 3 ay depolanan örneklerde en yüksek ifade NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması altında, 6. ayda ise en yüksek ifade, kontrol uygulaması altında gözlenmiştir. Üzerinde hiçbir hormon ve hormon inhibitörü uygulaması gerçekleştirilmemiş olan 1, 7 ve 13 numaralı kontrol örneklerinde *RAP210* gen ifadesinin, artan depolama süresiyle orantılı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. En düşük *RAP210* ifadesi gösteren örneklerin tamamı 24 saat depolama altında gözlenmiştir.



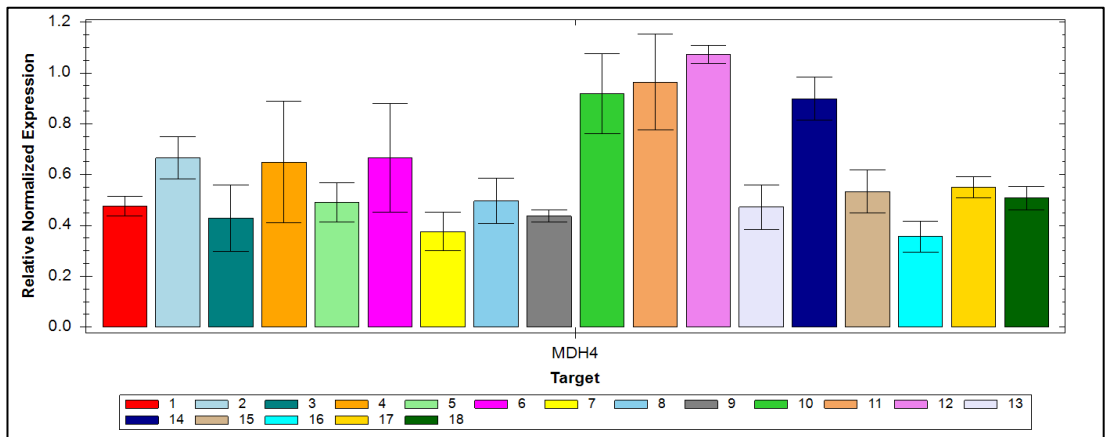
Şekil 4.3. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada *RAP210* gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

AIL5, *AP2-like/ERF* transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesidir ve çiçek gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir (Nole-Wilson vd., 2005). *AIL5* gen ifadesi farklı uygulamalar altında ve farklı depolama dönemlerinde kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında azalma eğiliminde olup 5 kata yakın farklılıklar göstermiştir (Şekil 4.4). Tüm depolama dönemlerinde en yüksek ifade kontrol örneklerinde gözlenmiştir. En düşük ifade 24 saat ve 6 ay depolanan örneklerde etilen uygulamasında, 3 ay depolanan örneklerde ise NPA uygulamasında gözlemlenmiştir. Kontrol örneklerinde en yüksek ifade 3. ayda, en düşük ifade ise 6. ayda görülmüştür.



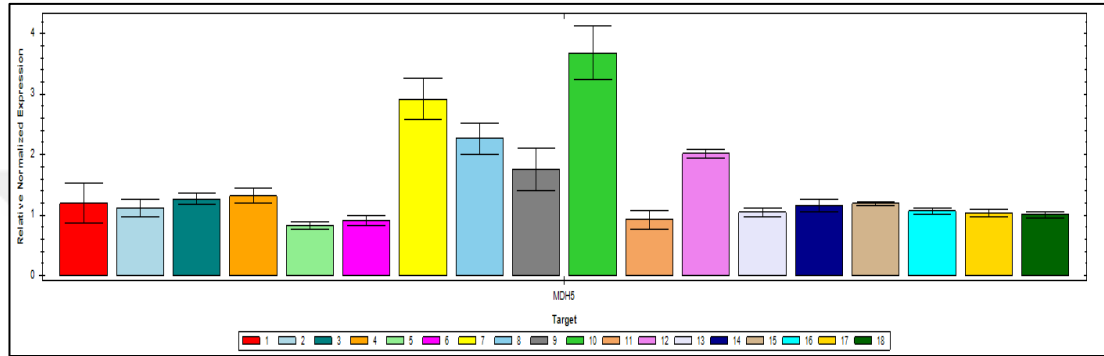
Şekil 4.4. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada AIL5 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

ERF transkripsiyon faktörleri etilen sinyal yolunun sonunda hareket ederek, etilen yanıtının farklı yönlerinin çeşitliliğini ve özgülüğünü düzenlerler (Gao vd., 2020). *ERF011-like* geninin ayrıca yüksek sıcaklık stres tepkisinde etkili olduğu bilinmektedir (Pei vd., 2021). *ERF011-like1* geninde uygulamalar sonucunda üç kata yakın ifade farklılıkları gözlenmiştir (Şekil 4.5). 24 saat ve 3 ay depolanan örneklerde en yüksek ifade NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin birlikte uygulanması altında, 6. ayda en yüksek ifade ise, oksin uygulaması altında görülmüştür. Herhangi bir hormon ve hormon inhibitörü uygulanmamış 1, 7 ve 13 numaralı kontrol örneklerinde en düşük ifade 3. ayda, en yüksek ifade ise 1. günde görülmüştür.



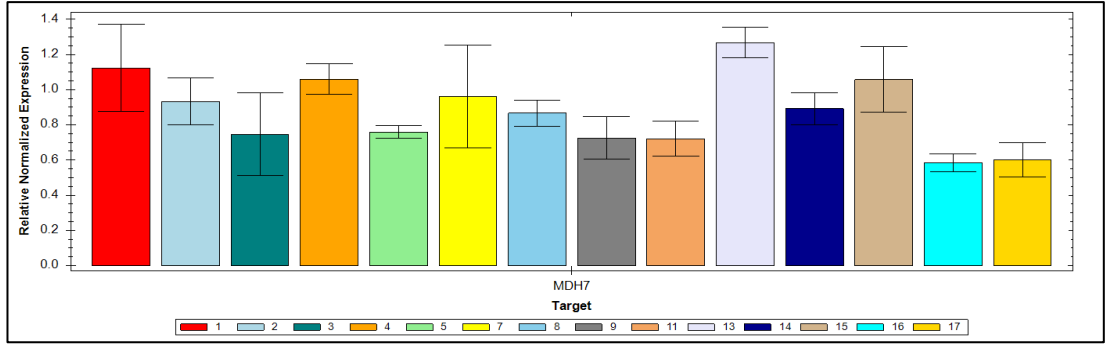
Şekil 4.5. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada ERF011-like1 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

ERF011-like2 geni 24 saat ve 6. ay örneklerinde farklı uygulamalar altında benzer ifadeler gösterirken, 3. ay örneklerinde 2 kata ulaşan ifade farklılıkları göstermiştir (Şekil 4.6). 24 saat ve 3 ay depolanan örneklerde en yüksek ifade etilen uygulamasında, 6 ay depolanan örneklerde ise en yüksek ifade NPA inhibitörü uygulamasında gözlemlenmiştir. Üzerinde herhangi bir hormon ve hormon inhibitörü uygulaması gerçekleştirilmemiş olan kontrol örneklerinde en yüksek ifade 3. ayda, en düşük ifade ise 6. ayda gözlemlenmiştir.



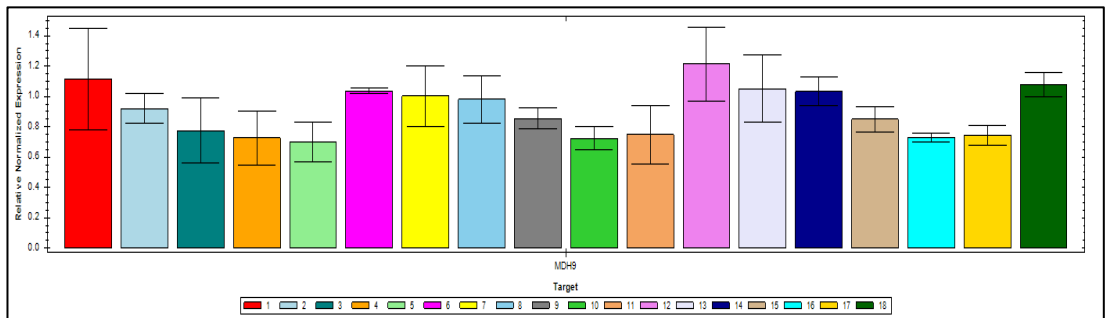
Şekil 4.6. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada *ERF011-like2* gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

ERF4'ün *Arabidopsis*'te kuraklık stresine toleransı arttırdığı, organ büyümesini ve çiçeklenmeyi geciktirdiği (Seo vd., 2010), karpuzda kabuk sertliğiyle ilişkili olduğu bilinmektedir (Liao vd., 2020). Farklı depolama dönemleri ve farklı uygulamalar altında, kontrol grubu örnekleriyle karşılaştırıldığında *ERF4* gen ifadesinin azalma eğiliminde olduğu görülmüştür (Şekil 4.7). Tüm depolama dönemlerinde en yüksek gen ifadesinin kontrol gruplarında olduğu belirlenmiştir. 24 saat depolanan örneklerde NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması altında, 3 ay depolanan örneklerde etilen uygulaması ile NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması altında, 6 ay depolanan örneklerde ise, NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması altında *ERF4* geninin ifade edilmediği gözlemlenmiştir. Kontrol grubu örneklerinde en yüksek ifade 6. ayda, en düşük ifade ise 3. ayda görülmüştür.



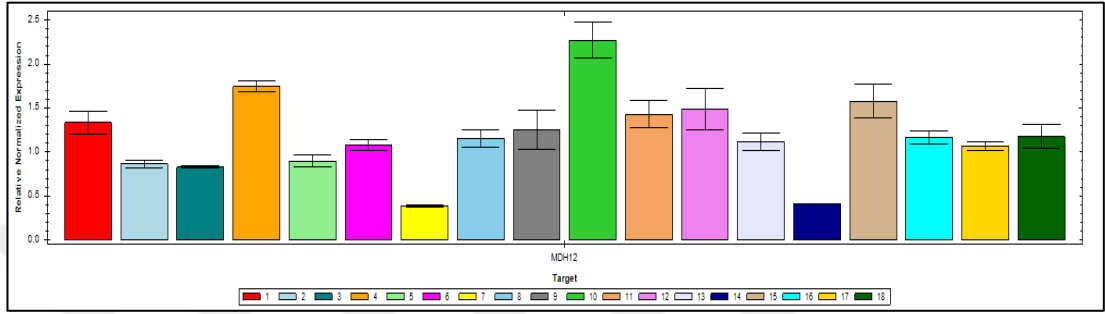
Şekil 4.7. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada ERF4 gen ifadesi. 1-5 numaralı örnekler 24 saat, 7-11 numaralı örnekler 3 ay ve 13-17 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-5, 7-11 ve 13-17 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

NAC transkripsiyon faktörü ailesi; ikincil duvar oluşumu ve kalınlaşması (Mitsuda vd., 2005; Mitsuda ve Ohme-Takagi, 2008), yan kök gelişimi (Hao vd., 2011), morfolojik gelişim (Kato vd., 2010), yaprak yaşlanması (Wang vd., 2021), abiyotik ve biyotik stres tepkisi (Ren vd., 2021), meyve olgunlaşması (Gao vd., 2018) ve nişasta ve depo protein sentezi (Shen vd., 2021) ile ilişkilidir. *NAC-a* gen ifadesi farklı uygulamalar altında ve farklı depolama dönemlerinde kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında çoğunlukla azalma eğilimi göstermiştir (Şekil 4.8). Tüm depolama dönemlerinde etilen hormonu ve 1-MCP inhibitörü uygulaması altında benzer *NAC-a* ifadesi gözlenmiştir. 24 saat depolanan örneklerde en yüksek ifade kontrol örneklerinde, 3 ay ve 6 ay depolanan örneklerde ise en yüksek ifade NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması altında gözlemlenmiştir. Kontrol grubu örneklerinde en yüksek ifade 24 saat örneklerinde, en düşük ifade ise 3. ay örneklerinde gözlenmiştir.



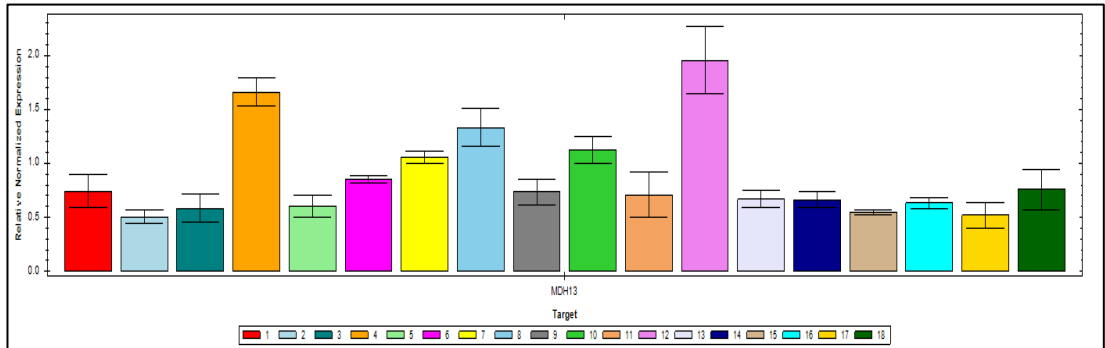
Şekil 4.8. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada *NAC-a* gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

Farklı uygulamalar ve farklı depolama sürelerinde kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında *NAC-b* geni 5 kata yakın ifade farklılıkları göstermiştir (Şekil 4.9). 24 saat ve 3 ay depolanan örneklerde en yüksek ifade etilen uygulamasında gerçekleşirken, 6 ay depolanan örneklerde ise en yüksek ifade NPA inhibitörü uygulamasında gerçekleşmiştir. Kontrol örneklerinde en yüksek ifade 24 saat depolanan örneklerde, en düşük ifade ise 3 ay depolanan örneklerde gözlenmiştir.



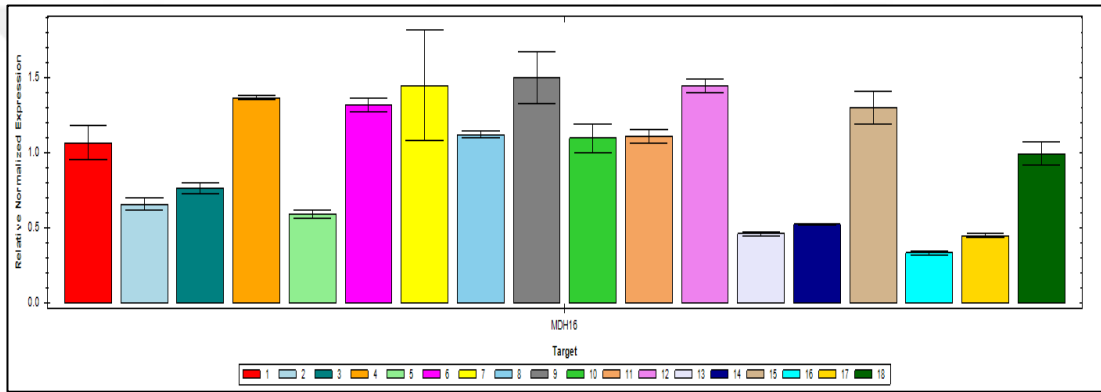
Şekil 4.9. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada *NAC-b* gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

NAC-c geninde uygulamalar sonucunda iki kata kadar ulaşan ifade farklılıkları gözlenmiştir (Şekil 4.10). 24 saat depolama altındaki örneklerde en yüksek ifade etilen uygulamasında, 3 ay depolanan örnekler ile 6 ay depolanan örneklerde ise en yüksek ifade, NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması altında görülmüştür. Genel olarak 6 ay depolanan örneklerin diğer örneklerden daha düşük *NAC-c* ifadesi gösterdiği gözlenmiştir.



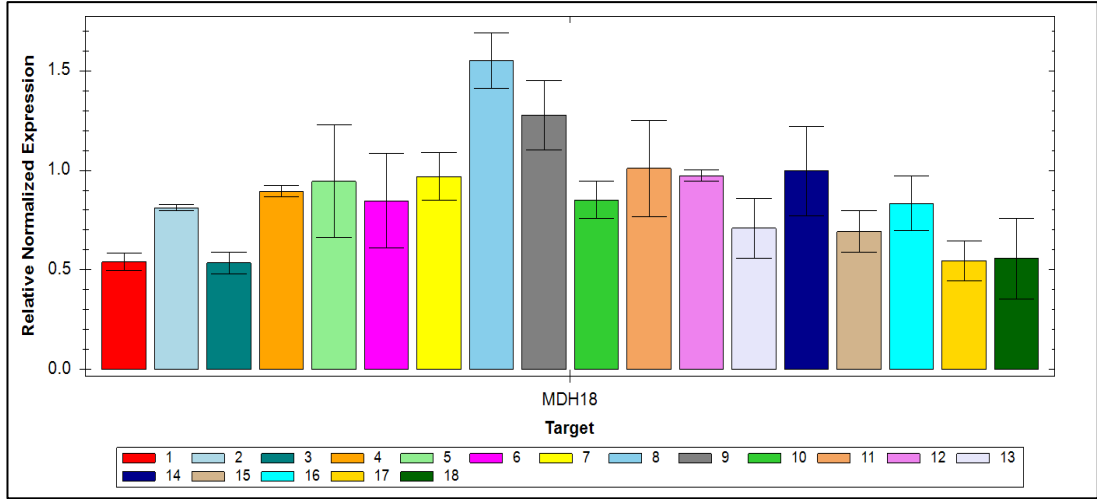
Şekil 4.10. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada *NAC-c* gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

Aux/IAA gen ailesinin üyeleri, bitki gelişiminin birçok yönünde ve abiyotik strese tepkilerde önemli roller oynayan birincil oksin duyarlı genlerdir (Li vd., 2022). *Aux/IAA* gen ifadesi farklı uygulamalar ve farklı depolama sürelerinde 3 kata yakın ifade farklılıkları göstermiştir (Şekil 4.11). 24 saat depolanan örneklerde en yüksek ifade etilen uygulaması altında, 3 ay ve 6 ay depolanan örneklerde ise en yüksek ifade NPA inhibitörü uygulaması altında gözlenmiştir. En düşük ifade gösteren örnekler çoğunlukla 6 ay depolama sırasında gözlemlenmiştir. Etilen uygulaması 24 saat depolanan örneklerde *Aux/IAA* ifadesini arttırmıştır. Kontrol grubu örneklerinde en yüksek ifade 3 ay depolama altında, en düşük ifade ise, 6 ay depolama altında gerçekleşmiştir.



Şekil 4.11. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada *Aux/IAA* gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

EIN3 transkripsiyon faktörü, etilen sinyal yolunun bir parçasıdır ve etilen sinyalizasyonunda merkezi bir rol oynar (Müller vd., 2003). İfade analizinde *EIN3* gen ifadesinin oksin uygulaması ile artma eğiliminde olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.12). 24 saat depolanan örneklerde en yüksek ifade 1-MCP inhibitörü uygulaması altında, 3 ay ve 6 ay depolanan örneklerde ise en yüksek ifade, oksin uygulaması altında görülmüştür. En yüksek gen ifadeleri 3 ay depolanan örneklerde görülürken, en düşük gen ifadeleri 24 saat ve 6 ay depolanan örneklerde görülmüştür. Kontrol grubu örneklerinde en yüksek *EIN3* ifadesi 3. ayda, en düşük *EIN3* ifadesi 24. saatte gözlenmiştir.



Şekil 4.12. Farklı uygulamalar altında farklı sürelerle depolanan elmada EIN3 gen ifadesi. 1-6 numaralı örnekler 24 saat, 7-12 numaralı örnekler 3 ay ve 13-18 numaralı örnekler 6 ay depolanan örnekleri temsil etmektedir. 1-6, 7-12 ve 13-18 aralığındaki örnekler sırasıyla kontrol, oksin, NPA, etilen, 1-MCP ve 1-MCP+NPA uygulamalarını göstermektedir

Farklı zaman periyotları ile gen ifadelerindeki değişim incelendiğinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmaktadır.

Hormon ve hormon inhibitörü uygulanan meyveler kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; oksin uygulaması, 1. gün örneklerinde *RAP210*, *ERF011-like1* ve *EIN3* geninin ifadesini arttırırken, *AIL5*, *ERF011-like2*, *ERF4*, *NAC-a*, *NAC-b*, *NAC-c* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesini azaltmıştır. 3. ay örneklerinde oksin uygulaması, *RAP210*, *ERF011-like1*, *NAC-b*, *NAC-c* ve *EIN3* genlerinin ifadesini arttırmış, *AIL5*, *ERF011-like2*, *ERF4*, *NAC-a* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesini azaltmıştır. 6. ay örneklerinde ise oksin uygulaması, *ERF011-like1*, *ERF011-like2*, *Aux/IAA* ve *EIN3* genlerinin ifadesini arttırırken, *RAP210*, *AIL5*, *ERF4*, *NAC-a*, *NAC-b* ve *NAC-c* genlerinin ifadesini azaltmıştır.

Oksin inhibitörü NPA uygulaması, 1. gün örneklerinde sadece *ERF011-like2* geninin ifadesini arttırmış, diğerlerinin ifadesini ise azaltmıştır. 3. ay örneklerinde *RAP210*, *ERF011-like1*, *NAC-b*, *Aux/IAA* ve *EIN3* genlerinin ifadesi artmış, *AIL5*, *ERF011-like2*, *ERF4*, *NAC-a* ve *NAC-c* genlerinin ifadesi azalmıştır. 6. ay örneklerinde ise NPA uygulaması *ERF011-like1*, *ERF011-like2*, *NAC-b* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesini arttırmış, *RAP210*, *AIL5*, *ERF4*, *NAC-a*, *NAC-c* ve *EIN3* genlerinin ifadesini ise azaltmıştır.

Etilen uygulaması ile 1. gün örneklerinde, *RAP210*, *ERF011-like1*, *ERF011-like2*, *NAC-b*, *NAC-c*, *Aux/IAA* ve *EIN3* genlerinin ifadesi artmış, *AIL5*, *ERF4* ve *NAC-a* genlerinin ifadesi azalmıştır. 3. ay örneklerinde *RAP210*, *ERF011-like1*, *ERF011-like2*, *NAC-b* ve *NAC-c* genlerinin ifadesi artmış, *AIL5*, *NAC-a*, *Aux/IAA* ve *EIN3* genlerinin ifadesi azalmış, *ERF4* geni ise ifade edilmemiştir. 6. ay örneklerinde ise etilen uygulaması ile *ERF011-like2*, *NAC-b* ve *EIN3* genlerinin ifadesin artarken, *RAP210*, *AIL5*, *ERF011-like1*, *ERF4*, *NAC-a*, *NAC-c* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesi ise azalmıştır.

Etilen inhibitörü 1-MCP uygulaması 1. gün örneklerinde *ERF011-like1* ve *EIN3* genlerinin ifadesini arttırmış, *RAP210*, *AIL5*, *ERF011-like2*, *ERF4*, *NAC-a*, *NAC-b*, *NAC-c* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesini azaltmıştır. 3. ay örneklerinde *RAP210*, *ERF011-like1*, *NAC-b* ve *EIN3* genlerinin ifadesi artmış, *AIL5*, *ERF011-like2*, *ERF4*, *NAC-a*, *NAC-c* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesi ise azalmıştır. 6. ay örneklerinde ise 1-MCP uygulaması, *ERF011-like1* geninin ifadesini arttırmış, diğerlerinin ifadesini ise azaltmıştır.

NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulaması, 1. gün örneklerinde *RAP210*, *ERF011-like1*, *NAC-c*, *Aux/IAA* ve *EIN3* genlerinin ifadesini arttırmış, *AIL5*, *ERF011-like2*, *NAC-a* ve *NAC-b*, genlerinin ifadesini ise azaltmıştır. 3. ay örneklerinde *RAP210*, *ERF011-like1*, *NAC- a*, *NAC-b*, *NAC-c* ve *EIN3* genlerinin ifadesi artmış, *AIL5*, *ERF011-like2* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesi azalmıştır. 6. ay örneklerinde ise *ERF011-like1*, *NAC-a*, *NAC-b*, *NAC-c* ve *Aux/IAA* genlerinin ifadesi artarken, *RAP210*, *AIL5* ve *EIN3* genlerinin ifadesi azalmıştır. Ayrıca *ERF4* geni 24 saat, 3 ay ve 6 ay depolama süreçlerinde ifade göstermemiştir.

Li ve Yuan (2008) ve Shin vd. (2016), elmada hasat sonrası olgunlaşma sürecinde gen ifadesini incelemiştir. Çalışmaların sonuçlarında, oksin uygulamasının etilen ile ilişkili genlerin ifadesini etkilediği görülmüş ve olgunlaşma sürecinde olası bir etilen/oksin etkileşiminin varlığına ışık tutulmuştur. Etilen ve oksin arasındaki etkileşim aynı zamanda *Arabidopsis* (Masucci ve Schiefelbein, 1994; Raz ve Ecker, 1999; Rahman vd., 2001) ve pamukta (Beyer ve Morgan, 1971) da incelenmiştir. Literatüre bakıldığında; hasat sonrası 1-MCP uygulaması altında olgunlaşma sürecindeki gen ifadelerinin incelendiği çalışmalar mevcuttur (Rupasinghe vd., 2000; Tadiello vd.,

2016, Busatto vd., 2017). Ancak bu süreçte oksin metabolizmasının gen ifadesi seviyesinde incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan bu çalışmada, 1-MCP uygulaması *ERF011-like1* geni hariç *ERF* ve *AP2/ERF* genlerinin ifadesini azaltmış, *NAC-b* ve *ERF011-like1* genlerinin ifadesini arttırmıştır. Busatto vd. (2017), elmada hasat sonrası 1-MCP uygulamasının etilen ile ilişkili 1 *ERF* ve *AP2/ERF* genlerinin ifadesini baskıladığını, 1 *ERF* geni, *NAC* geni ve oksin yanıtıyla ilişki *Aux/IAA* geninin ifadesini arttırdığını belirtmiştir. *ERF* genlerinin etilen sinyal yolunda rol aldığı ve etilen ile uyarıldığı düşünüldüğünde, 1-MCP inhibitörü uygulaması ile *ERF* genlerinin ifadesinde gözlenen azaltma beklenen bir bulgudur. Busatto vd. (2017)'nin çalışma bulguları, *Aux/IAA* ifadesinin 1-MCP uygulaması ile arttığını göstermiştir. Farklı olarak bizim bulgularımız *Aux/IAA* ifadesinin 1-MCP uygulaması ile azaldığını göstermektedir. Kısıtlı sayıda gen içeren microarray platformunun kullanıldığı ve yalnızca kontrol ile 1-MCP uygulaması içeren Busatto vd. (2017)'nin çalışmaları ile bizim çalışmamız hasat sonrası olgunlaşma sürecinin incelenmesi kapsamında benzerdir. Bununla birlikte bu çalışma dahilinde RNAseq yöntemi kullanımı nedeniyle tüm transkriptomun aydınlatılması sağlanmış, ayrıca örnekleme zamanı, dalında meyve gelişimini daha kapsamlı inceleyen önceki çalışmalardan farklı olarak hasat sonrasına odaklanmış ve meyveler üzerinde gerçekleştirilen uygulamalar da hormon etkileşimlerini gösterebilecek biçimde seçilmiştir.

Tadiello vd. (2016) tarafından yayınlanan çalışmada, Granny Smith ve Golden Delicious çeşidi elmaların transkriptomu microarray yöntemi ile hasat öncesi 5 farklı meyve gelişim döneminde, hasatta ve hasattan sonraki 1 haftalık dönemde 1-MCP uygulanarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda *MADS*, *NAC*, *AUX/IAA* ve *ERF* genlerinin ifadelerinin arttığı, özellikle *NAC* ve çinko parmak transkripsiyon faktörlerinde kayda değer ifade değişimi gerçekleştiği belirtilmiştir. Benzer şekilde bizim çalışma bulgularımız *ERF011-like1* ifadesinin tüm depolama dönemlerinde, *NAC-b* ifadesinin ise 3 ay depolanan örneklerde arttığını göstermektedir. Bazı araştırmalar *NAC* transkripsiyon faktörleri ve oksin arasında doğrudan bağlantı olduğunu, oksin duyarlı genlerin *NAC* transkripsiyon faktörlerinin hedef genleri arasında bulunduğunu belirtmişlerdir (Xie vd., 2000; Ma vd., 2014). *NAC* transkripsiyon faktörlerinin oksin yolağını etkinleştirerek, oksin ve etilen etkileşimini

başlatabileceği düşünülmektedir. *NAC-b* ifadesinde 3. ayda gözlenen artış bu düşünceyi desteklemektedir. Tadiello vd. (2016) tarafından yürütülen çalışmada, bizim çalışmamıza benzer olarak hasat sonrası olgunlaşma süreci, 1-MCP uygulaması altında transkriptom seviyesinde incelenmiştir. Farklı olarak transkriptom analizi Tadiello vd. (2016) tarafından mikroarray teknolojisi ile gerçekleştirilirken, bu çalışmada yöntem olarak RNAseq analizi kullanılmıştır. Aynı zamanda hasat sonrası örnekleme dönemleri daha uzun tutulmuş, meyveler üzerinde 1-MCP inhibitörünün yanı sıra etilen ve oksin hormonları ile NPA inhibitörü uygulaması da gerçekleştirilmiştir.

Arabidopsis'te *BrERF4* geninin aşırı ifadesinin kuraklık stresine toleransı arttırdığı, organ büyümesini ve çiçeklenmeyi geciktirdiği gösterilmiştir (Seo vd., 2010). Karpuzda kabuk sertliğiyle ilişkili *CIERF4* geni rapor edilmiştir (Liao vd., 2020). Etilen üretimini etkileyerek meyve olgunlaşmasını geciktirdiği bilinen hidrojen sülfür uygulaması ile kivide *ERF4* geninin ifadesinin arttığı gösterilmiştir (Lin vd., 2020). Ancak elma olgunlaşmasında *ERF4* ile ilgili spesifik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışma bulgularımızda etilen inhibitörü 1-MCP uygulamasının *ERF4* ifadesini azalttığı görülmektedir. Ayrıca NPA ve 1-MCP inhibitörlerinin bir arada uygulamasının *ERF4* ifadesini tamamen baskıladığı gözlemlenmiştir.

Salatalıkta yapılan *EIN3*'ün (*CsEIN3*) ifade analizinde, *CsEIN3*'ün incelenen tüm organlarda ifade edildiği ve hem erkek hem de dişi çiçeklerde çiçek gelişimi ve olgunlaşması sırasında arttığı bulunmuştur (Bie vd., 2013). Ancak elmada olgunlaşma sırasında *EIN3* ifadesinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular, *EIN3* geni ifadesinin oksin ve etilen uygulamalarıyla arttığını göstermektedir.

Bu tez çalışmasının da bir parçası olduğu TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında gerçekleştirilen transkriptom analizinin işaret ettiği şiddetli gen ifadesi değişimi gösteren hormon metabolizması ilişkili genler arasında giberellik asit, absisik asit, jasmonik asit gibi hormonların yer almadığı görülmektedir. RNAseq analizi sonuçları, en fazla ifade değişimi gösteren genlerin oksin ve etilen ile ilişkili genler olduğunu göstermektedir.

Uygulamalar sonucunda incelenen genlerin ifadelerinde gözlenen farklılıklar, genin etilen, oksin ve bu hormonları baskılayıcı maddelere tepki verdiğini, bu durum ise genin her iki hormon metabolizması ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışma ile elde edilen bulgular, daha önceki çalışmalarla ışık tutulan olası oksin/etilen etkileşimini desteklemektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada hasat sonrası hormon ve hormon inhibitörü uygulamalarının elma meyvelerinde gen ifadelerine etkisi incelenerek, hasat sonrası olgunlaşma süreci ve meyvedeki hormon etkileşimleri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu tez çalışmasının parçası olduğu Tübitak projesi dahilinde RNAseq yöntemi kullanılarak tüm transkriptom aydınlatılmış, örnekleme periyotlarında, dalında meyve gelişimini kapsamlı olarak inceleyen önceki çalışmalardan farklı olarak hasat sonrası sürece odaklanılmış ve meyveler üzerinde gerçekleştirilen hormon ve hormon inhibitörü uygulamaları, hormon etkileşimlerini gösterebilecek biçimde seçilmiş ve kombine edilmiştir.

Gen ifade analizi sonuçları incelendiğinde, 2 *ERF* (*RAP210*, *ERF011-like1*) geni ile *EIN3* geninin ifadesi oksin uygulaması ile artış gösterirken, oksin inhibitörü NPA uygulaması ile azalma göstermiştir. *NAC-b* gen ifadesinde, 3. ayda oksin ve etilen hormonu uygulaması altında kayda değer bir artış gerçekleşmiştir. Ek olarak etilen uygulaması ile *Aux/IAA* gen ifadesinde gözlenen artış ve NPA+1-MCP uygulaması ile *ERF4* geninde gözlenen baskılanma da kayda değerdir.

RT-qPCR analizi, RNAseq analizini doğrulamak amacıyla gerçekleştirilmiş ve elde edilen gen ifadesi sonuçları, daha önceden gerçekleştirilmiş olan transkriptom analizi sonuçlarıyla yüksek oranda benzerlik göstermiştir. Aynı zamanda elde edilen bulgular, etilen ve oksin sinyalizasyonu ile ilişkili transkripsiyon faktörlerinin hem oksin hem de etilen tarafından kontrol edilebildiğini ve meyvenin olgunlaşma sürecinde rol alması potansiyel oksin ve etilen etkileşiminin varlığını kanıtlar niteliktedir.

KAYNAKLAR

- Abel, S. & Theologis, A. (1996). Early genes and auxin action. *Plant Physiology*, *111*, 9-17. doi:10.1104/pp.111.1.9
- Abel, S., Nguyen, M. D. & Theologis, A. (1995). The PS-IAA4/5-like family of early auxin-inducible mRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Molecular Biology*, *251*, 533-549. doi:10.1006/jmbi.1995.0454.
- Aida, M., Ishida, T., Fukaki, H., Fujisawa, H. & Tasaka, M. (1997). Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. *The Plant Cell*, *9*(6), 841-857. doi:10.1105/tpc.9.6.841
- Ainley, W. M., Walker, J. C., Nagao, R. T. & Key, J. L. (1988). Sequence and characterization of two auxin-regulated genes from soybean. *Journal of Biological Chemistry*, *263*(22), 10658-10666. doi:10.1016/S0021-9258(18)38022-0
- Algül, B. E., Tekintaş, F. E. & Günver Dalkılıç, G. (2016). Bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı ve içsel hormonların biyosentezini artırıcı uygulamalar. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *13*(2), 87-95. doi:10.25308/aduziraat.294100
- Alonso, J. M. & Stepanova, A. N. (2004). The ethylene signaling pathway. *Science*, *306*(5701), 1513-1515. doi:10.1126/science.1104812
- An, J. P., Wang, X. F., Li, Y. Y., Song, L. Q., Zhao, L. L., You, C. X. & Hao, Y. J. (2018). EIN3-LIKE1, MYB1, and ethylene response factor3 act in a regulatory loop that synergistically modulates ethylene biosynthesis and anthocyanin accumulation. *Plant Physiology*, *178*, 808-823. doi:10.1104/pp.18.00068
- Anonim (2014). Elmanın faydaları. <https://isparta.tarimorman.gov.tr/Belgeler/Bas%C4%B1%C4%B1%20Yay%C4%B1nlar%C4%B1m%C4%B1z/Lifletler/G%C3%BCnde%201%20Elma%20Obez%20Olma.pdf>. (Son erişim tarihi: 7.10.2022).
- Anonim (2020). Elma raporu/2019. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası e-Kütüphane. https://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=32410&tipi=38&sube=24. (Son erişim tarihi: 7.10.2022)
- Anonim (2022). Elma yetiştiriciliği. <https://istanbul.tarimorman.gov.tr/Belgeler/KutuMenu/Brosurler/Meyvecilik/elma.pdf>. (Son erişim tarihi: 11.09.2022).
- Barry, C. S. & Giovannoni, J. J. (2007). Ethylene and fruit ripening. *Journal of Plant Growth Regulation*, *26*, 143-159. doi:10.1007/s00344-007-9002-y
- Barry, C. S., McQuinn, R. P., Thompson, A. J., Seymour, G. B., Grierson, D. & Giovannoni, J. J. (2005). Ethylene insensitivity conferred by the green-ripe and

- never-ripe 2 ripening mutants of tomato. *Plant Physiology*, 138(1), 267-275. doi:10.1104/pp.104.057745.
- Bauchot, A. D., Mottram, D. S., Dodson, A. T. & John, P. (1998). Effect of aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase antisense gene on the formation of volatile esters in cantaloupe charentais melon (cv. Védrandais). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4787-4792. doi:10.1021/jf980692z.
- Berger, Y., Harpaz-Saad, S., Brand, A., Melnik, H., Sirding, N., Alvarez, J. P., Zinder, M., Samach, A., Eshed, Y. & Ori, N. (2009). The NAC-domain transcription factor GOBLET specifies leaflet boundaries in compound tomato leaves. *Development*, 136, 823-832. doi:10.1242/dev.031625
- Beyer, E. M. & Morgan, P. W. (1971). The role of ethylene modification of auxin transport. *Plant Physiology*, 48, 208-212. doi:10.1104/pp.48.2.208
- Bie, B. B., Pan, J. S., He, H. L., Yang, X. Q., Zhao, J. L. & Cai, R. (2013). Molecular cloning and expression analysis of the ethylene insensitive3 (EIN3) gene in cucumber (*Cucumis sativus*). *Genetics and Molecular Research*, 12(4), 4179-4191. doi:10.4238/2013.october.7.4
- Biruma, M., Martin, T., Fridborg, I., Okori, P. & Dixelius, C. (2012). Two loci in sorghum with NB-LRR encoding genes confer resistance to *Colletotrichum sublineolum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(6), 1005-1015. doi:10.1007/s00122-011-1764-8
- Bleecker, A. B., Esch, J. J., Hall, A. E., Rodriguez, F. I. & Binder, B. M. (1998). The ethylene-receptor family from *Arabidopsis*: structure and function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 353(1374), 1405-1412. doi:10.1098/rstb.1998.0295.
- Bleecker, A. B., Estelle, M. A., Somerville, C. & Kende, H. (1988). Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 241, 1086-1089. doi:10.1126/science.241.4869.1086
- Bouzayen, M., Latché, A., Nath, P. & Pech, J. C. (2009). Mechanism of fruit ripening. *Plant Developmental Biology – Biotechnological Perspectives*, 1, 319-339. doi:10.1007/978-3-642-02301-9_16
- Busatto, N., Tadiello, A., Trainotti, L. & Costa, F. (2017). Climacteric ripening of apple fruit is regulated by transcriptional circuits stimulated by cross-talks between ethylene and auxin. *Plant Signaling & Behavior*, 12(1). doi:10.1080/15592324.2016.1268312
- Cao, X., Wei, C., Duan, W., Gao, Y., Kuang, J., Liu, M., Chen, K., Klee, H. & Zhang, B. (2021). Transcriptional and epigenetic analysis reveals that NAC transcription factors regulate fruit flavor ester biosynthesis. *The Plant Journal*, 106(3), 785-800. doi:10.1111/tpj.15200

- Cárdenas, P. D., Sonawane, P. D., Pollier, J., Vanden Bossche, R., Dewangan, V., Weithorn, E., Tal, L., Meir, S., Rogachev, I., Malitsky, S., Giri, A. P., Goossens, A., Burdman, S. & Aharoni, A. (2016). GAME9 regulates the biosynthesis of steroidal alkaloids and upstream isoprenoids in the plant mevalonate pathway. *Nature Communications*, 7. doi:10.1038/ncomms10654
- Carraro, N., Forestan, C., Canova, S., Traas, J. & Varotto, S. (2006). ZmPIN1a and ZmPIN1b encode two novel putative candidates for polar auxin transport and plant architecture determination of maize. *Plant Physiology*, 142, 254-264. doi:10.1104/pp.106.080119
- Chang, C. (2016). Q&A: How do plants respond to ethylene and what is its importance? *BMC Biology*, 14(1). doi:10.1186/s12915-016-0230-0
- Chen, H., Xue, L., Chintamanani, S., Germain, H., Lin, H., Cui, H., Cai, R., Zuo, J., Tang, X., Li, X., Guo, H. & Zhou, J. M. (2009). Ethylene insensitive3 and ethylene insensitive3-like1 repress salicylic acid induction deficient2 expression to negatively regulate plant innate immunity in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 21(8), 2527-2540. doi:10.1105/tpc.108.065193
- Chen, Q., Wang, Q., Xiong, L. & Lou, Z. (2011). A structural view of the conserved domain of rice stress-responsive NAC1. *Protein & Cell*, 2(1), 55-63. doi:10.1007/s13238-011-1010-9
- Cho, Y. H., Lee, S. & Yoo, S. D. (2012). EIN2 and EIN3 in ethylene signalling. *Annual Plant Reviews*, 44, 169-187. doi:10.1002/9781119312994.apr0479
- Çakir, B., Kiliçkaya, O. & Olcay, A. C. (2013). Genome-wide analysis of Aux/IAA genes in *Vitis vinifera*: cloning and expression profiling of a grape Aux/IAA gene in response to phytohormone and abiotic stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 365-377. doi:10.1007/s11738-012-1079-7
- Dandekar, A. M., Teo, G., Defilippi, B. G., Uratsu, S. L., Passey, A. J., Kader, A. A., Stow, J. R., Colgan, R. J. & James, D. J. (2004). Effect of down-regulation of ethylene biosynthesis on fruit flavor complex in apple fruit. *Transgenic Research*, 13(4), 373-384. doi:10.1023/b:trag.0000040037.90435.45
- Delessert, C., Kazan, K., Wilson, I. W., Straeten, D. V., Manners, J., Dennis, E. S. & Dolferus, R. (2005). The transcription factor ATAF2 represses the expression of pathogenesis-related genes in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 43(5), 745-757. doi:10.1111/j.1365-313x.2005.02488.x
- Devoghalaere, F., Doucen, T., Guitton, B., Keeling, J., Payne, W., Ling, T. J., Ross, J. J., Hallett, I. C., Gunaseelan, K., Dayatilake, G. A., Diak, R., Breen, K. C., Tustin, D. S., Costes, E., Chagné, D., Schaffer, R. J. & David, K. M. (2012). A genomics approach to understanding the role of auxin in apple (*Malus x domestica*) fruit size control. *BMC Plant Biology*, 12. doi:10.1186/1471-2229-12-7

- Dharmasiri, N. & Estelle, M. (2004). Auxin signaling and regulated protein degradation. *Trends in Plant Science*, 9(6), 302-308. doi:10.1016/j.tplants.2004.04.003
- Duan, N., Bai, Y., Sun, H., Wang, N., Ma, Y., Li, M., Wang, X., Jiao, C., Legall, N., Mao, L., Wan, S., Wang, K., He, T., Feng, S., Zhang, Z., Mao, Z., Shen, X., Chen, X., Jiang, Y., Wu, S., Yin, C., Ge, S., Yang, L., Jiang, S., Xu, H., Liu, J., Wang, D., Qu, C., Wang, Y., Zuo, W., Xiang, L., Liu, C., Zhang, D., Gao, Y., Xu, Y., Xu, K., Chao, T., Fazio, G., Shu, H., Zhong, G. Y., Cheng, L., Fei, Z. & Chen, X. (2017). Genome re-sequencing reveals the history of apple and supports a two-stage model for fruit enlargement. *Nature Communications*, 8(1). doi:10.1038/s41467-017-00336-7
- Dubois, M., Van den Broeck, L., Claeys, H., Van Vlierberghe, K., Matsui, M. & Inzé, D. (2015). The ethylene response factors ERF6 and ERF11 antagonistically regulate mannitol-induced growth inhibition in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 169, 166-179. doi:10.1104/pp.15.00335
- Ernst, H. A., Olsen, A. N., Skriver, K., Larsen, S. & Leggio, L. L. (2004). Structure of the conserved domain of ANAC, a member of the NAC family of transcription factors. *EMBO Reports*, 5(3), 297-303. doi:10.1038/sj.embor.7400093
- Feng, B., Han, Y., Xiao, Y., Kuang, J., Fan, Z., Chen, J. & Lu, W. (2016). The banana fruit Dof transcription factor MaDof23 acts as a repressor and interacts with MaERF9 in regulating ripening-related genes. *Journal of Experimental Botany*, 67(88), 2263-2275. doi:10.1093/jxb/erw032
- Fiorani, F., Bögemann, G. M., Visser, E. J., Lambers, H. & Voeselek, L. A. (2002). Ethylene emission and responsiveness to applied ethylene vary among *Poa* species that inherently differ in leaf elongation rates. *Plant Physiology*, 129(3), 1382-1390. doi: 10.1104/pp.001198
- Fischer, C. (1994). Shortening of the juvenile period in apple breeding. In *Progress in Temperate Fruit Breeding*. (pp. 161-164). doi:10.1007/978-94-011-0467-8_32
- Flores, F., El Yahyaoui, F., de Billerbeck, G., Romojaro, F., Latché, A., Bouzayen, M., Pech, J. C. & Ambid, C. (2002). Role of ethylene in the biosynthetic pathway of aliphatic ester aroma volatiles in Charentais cantaloupe melons. *Journal of Experimental Botany*, 53(367), 201-206. doi:10.1093/jexbot/53.367.201
- Fu, C., Han, Y., Fan, Z., Chen, J., Chen, W., Lu, W. & Kuang, J. (2016). The papaya transcription factor CpNAC1 modulates carotenoid biosynthesis through activating phytoene desaturase genes CpPDS2/4 during fruit ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(27), 5454-5463. doi:10.1021/acs.jafc.6b01020
- Fu, C., Han, Y., Kuang, J., Chen, J. & Lu, W. (2017). Papaya CpEIN3a and CpNAC2 Co-operatively regulate carotenoid biosynthesis-related genes CpPDS2/4,

CpLCY-e and CpCHY-b during fruit ripening. *Plant and Cell Physiology*, 58(12), 2155-2165. doi:10.1093/pcp/pcx149

- Gagne, J. M., Smalle, J., Gingerich, D. J., Walker, J. M., Yoo, S. D., Yanagisawa, S. & Vierstra, R. D. (2004). Arabidopsis EIN3-binding F-box 1 and 2 form ubiquitin-protein ligases that repress ethylene action and promote growth by directing EIN3 degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(17), 6803-6808. doi:10.1073/pnas.0401698101
- Gälweiler, L., Guan, C., Müller, A., Wisman, E., Mendgen, K., Yephremov, A. & Palme, K. (1998). Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in Arabidopsis vascular tissue. *Science*, 282, 2226-2230. doi:10.1126/science.282.5397.2226
- Gan, D., Zhuang, D., Ding, F., Yu, Z. & Zhao, Y. (2013). Identification and expression analysis of primary auxin-responsive Aux/IAA gene family in cucumber (*Cucumis sativus*). *Journal of Genetics*, 92(3), 513-521. doi: 10.1007/s12041-013-0306-3
- Gao, J., Zhang, Y., Li, Z. & Liu, M. (2020). Role of ethylene response factors (ERFs) in fruit ripening. *Food Quality and Safety*, 4, 15-20. doi:10.1093/fqsafe/fyz042
- Gao, Y., Fan, Z. Q., Zhang, Q., Li, H. L., Liu, G. S., Jing, Y., Zhang, Y. P., Zhu, B. Z., Zhu, H. L., Chen, J. Y., Grierson, D., Luo, Y. B., Zhao, X. D. & Fu, D. Q. (2021). A tomato NAC transcription factor, SINAM1, positively regulates ethylene biosynthesis and the onset of tomato fruit ripening. *The Plant Journal*, 108(5), 1317-1331. doi:10.1111/tpj.15512
- Gao, Y., Wei, W., Zhao, X., Tan, X., Fan, Z., Zhang, Y., Jing, Y., Meng, L., Zhu, B., Zhu, H., Chen, J., Jiang, C. Z., Grierson, D., Luo, Y. & Fu, D. Q. (2018). A NAC transcription factor, NOR-like1, is a new positive regulator of tomato fruit ripening. *Horticulture Research*, 5(1). doi:10.1038/s41438-018-0111-5
- García-Gómez, B. E., Salazar, J. A., Dondini, L., Martínez-Gómez, P. & Ruiz, D. (2019). Identification of QTLs linked to fruit quality traits in apricot (*Prunus armeniaca* L.) and biological validation through gene expression analysis using qPCR. *Molecular Breeding*, 39(2). doi:10.1007/s11032-018-0926-7
- Gepstein, S. & Thimann, K. V. (1981). The role of ethylene in the senescence of oat leaves. *Plant Physiology*, 68(2), 349-354. doi:10.1104/pp.68.2.349
- Gross, B. L., Henk, A. D., Richards, C. M., Fazio, G. & Volk, G. M. (2014). Genetic diversity in *Malus × domestica* (Rosaceae) through time in response to domestication. *American Journal of Botany*, 101(10), 1770-1779. doi:10.3732/ajb.1400297
- Gu, C., Guo, Z. H., Hao, P. P., Wang, G. M., Jin, Z. M. & Zhang, S. L. (2017). Multiple regulatory roles of AP2/ERF transcription factor in angiosperm. *Botanical Studies*, 58. doi:10.1186/s40529-016-0159-1

- Guilfoyle, T. J. & Hagen, G. (2007). Auxin response factors. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(5), 453-460. doi:10.1016/j.pbi.2007.08.014
- Guo, H. & Ecker, J. R. (2003). Plant responses to ethylene gas are mediated by SCFEBF1/EBF2-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. *Cell*, 115(6), 667-677. doi:10.1016/s0092-8674(03)00969-3
- Guzman, P. & Ecker, J. R. (1990). Exploiting the triple response of Arabidopsis to identify ethylene-related mutants. *The Plant Cell*, 2(6), 513-523. doi:10.1105/tpc.2.6.513
- Ha, C. V., Esfahani, M. N., Watanabe, Y., Tran, U. T., Sulieman, S., Mochida, K., Van Nguyen, D. & Tran, L. S. P. (2014). Genome-wide identification and expression analysis of the CaNAC family members in chickpea during development, dehydration and ABA treatments. *Plos One*, 9(12). doi:10.1371/journal.pone.0114107
- Hall, B. P., Shakeel, S. N. & Schaller, G. E. (2007). Ethylene receptors: ethylene perception and signal transduction. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26(2), 118-130. doi:10.1007/s00344-007-9000-0
- Han, Y. C., Kuang, J. F., Chen, J. Y., Liu, X. C., Xiao, Y. Y., Fu, C. C., Wang, J. N., Wu, K. Q. & Lu, W. J. (2016). Banana transcription factor MaERF11 recruits histone deacetylase MaHDA1 and represses the expression of MaACO1 and expansins during fruit ripening. *Plant Physiology*, 171(2), 1070-1084. doi:10.1104/pp.16.00301
- Hao, P. P., Wang, G. M., Cheng, H. Y., Ke, Y. Q., Qi, K. J. & Gu, C. (2018). Transcriptome analysis unravels an ethylene response factor involved in regulating fruit ripening in pear. *Physiologia Plantarum*, 163, 124-135. doi:10.1111/ppl.12671
- Hao, Y. J., Wei, W., Song, Q. X., Chen, H. W., Zhang, Y. Q., Wang, F., Zou, H. F., Lei, G., Tian, A. G., Zhang, W. K., Ma, B., Zhang, J. S. & Chen, S. Y. (2011). Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants. *The Plant Journal*, 68(2), 302-313. doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04687.x
- Harada, T., Sunako, T., Wakasa, Y., Soejima, J., Satoh, T. & Niizeki, M. (2000). An allele of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene (Md-ACS1) accounts for the low level of ethylene production in climacteric fruits of some apple cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 742-746. doi:10.1007/s001220051539
- Harper, R. M., Stowe-Evans, E. L., Luesse, D. R., Muto, H., Tatematsu, K., Watahiki, M. K., Yamamoto, K. & Liscum, E. (2000). The NPH4 locus encodes the auxin response factor ARF7, a conditional regulator of differential growth in aerial Arabidopsis tissue. *The Plant Cell*, 12(5), 757-770. doi:10.1105/tpc.12.5.757

- He, X. J., Mu, R. L., Cao, W. H., Zhang, Z. G., Zhang, J. S. & Chen, S. Y. (2005). AtNAC2, a transcription factor downstream of ethylene and auxin signaling pathways, is involved in salt stress response and lateral root development. *The Plant Journal*, 44(6), 903-916. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02575.x
- Hirsch, C. D., Springer, N. M. & Hirsch, C. N. (2015). Genomic limitations to RNA sequencing expression profiling. *The Plant Journal*, 84(3), 491-503. doi:10.1111/tpj.13014
- Höfer, M. & Meister, A. (2010). Genome size variation in Malus species. *Journal of Botany*, 2010, 1-8. doi:10.1155/2010/480873
- Hu, H., Dai, M., Yao, J., Xiao, B., Li, X., Zhang, Q. & Xiong, L. (2006). Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(35), 12987-12992. doi:10.1073/pnas.0604882103
- Hu, X., Xie, F., Liang, W., Liang, Y., Zhang, Z., Zhao, J., Hu, G. & Qin, Y. (2022). HuNAC20 and HuNAC25, two novel NAC genes from pitaya, confer cold tolerance in transgenic Arabidopsis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4). doi:10.3390/ijms23042189
- Hunter, D. A., Yoo, S. D., Butcher, S. M. & McManus, M. T. (1999). Expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase during leaf ontogeny in white clover. *Plant Physiology*, 120(1), 131-141. doi:10.1104/pp.120.1.131
- Iqbal, N., Khan, N. A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A. & Khan, M. I. (2017). Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.00475
- Jain, M., Kaur, N., Garg, R., Thakur, J. K., Tyagi, A. K. & Khurana, J. P. (2006). Structure and expression analysis of early auxin-responsive Aux/IAA gene family in rice (*Oryza sativa*). *Functional & Integrative Genomics*, 6(1), 47-59. doi:10.1007/s10142-005-0005-0
- Jensen, M. K., Hagedorn, P. H., Torres-Zabala, M., Grant, M. R., Rung, J. H., Collinge, D. B. & Lyngkjaer, M. F. (2008). Transcriptional regulation by an NAC (NAM-ATAF1,2-CUC2) transcription factor attenuates ABA signalling for efficient basal defence towards *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 56, 867-880. doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03646.x
- Jensen, M. K., Kjaersgaard, T., Nielsen, M. M., Galberg, P., Petersen, K., O'shea, C. & Skriver, K. (2010). The Arabidopsis thaliana NAC transcription factor family: structure-function relationships and determinants of ANAC019 stress signalling. *Biochemical Journal*, 426(2), 183-196. doi:10.1042/BJ20091234
- Jensen, M. K., Rung, J. H., Gregersen, P. L., Gjetting, T., Fuglsang, A. T., Hansen, M., Joehnk, N., Lyngkjaer, M. F. & Collinge, D. B. (2007). The HvNAC6 transcription factor: a positive regulator of penetration resistance in barley and

Arabidopsis. *Plant Molecular Biology*, 65, 137-150. doi:10.1007/s11103-007-9204-5

- Jeong, J. S., Kim, Y. S., Baek, K. H., Jung, H., Ha, S. H., Choi, Y. D., Kim, M., Reuzeau, C. & Kim, J. K. (2010). Root-specific expression of OsNAC10 improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions. *Plant Physiology*, 153, 185-197. doi:10.1104/pp.110.154773
- Johnson, P. R. & Ecker, J. R. (1998). The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective. *Annual Review of Genetics*, 32, 227-54. doi:10.1146/annurev.genet.32.1.227
- Ju, C. & Chang, C. (2015). Mechanistic insights in ethylene perception and signal transduction. *Plant Physiology*, 169(1), 85-95. doi:10.1104/pp.15.00845
- Jung, M., Roth, M., Aranzana, M. J., Auwerkerken, A., Bink, M., Denancé, C., Dujak, C., Durel, C. E., Font i Forcada, C., Cantin, C. M., Guerra, W., Howard, N. P., Keller, B., Lewandowski, M., Ordidge, M., Rymenants, M., Sanin, N., Studer, B., Zurawicz, E., Laurens, F., Patocchi, A. & Muranty, H. (2020). The apple REFPOP—a reference population for genomics-assisted breeding in apple. *Horticulture Research*, 7(1). doi:10.1038/s41438-020-00408-8
- Kajikawa, M., Sierro, N., Kawaguchi, H., Bakaher, N., Ivanov, N. V., Hashimoto, T. & Shoji, T. (2017). Genomic insights into the evolution of the nicotine biosynthesis pathway in Tobacco. *Plant Physiology*, 174, 999-1011. doi:10.1104/pp.17.00070
- Kato, H., Motomura, T., Komeda, Y., Saito, T. & Kato, A. (2010). Overexpression of the NAC transcription factor family gene ANAC036 results in a dwarf phenotype in Arabidopsis thaliana. *Journal of Plant Physiology*, 167(7), 571-577. doi:10.1016/j.jplph.2009.11.004
- Kawa-Miszczak, L., Wegrzynowicz-Lesiak, E., Miszczak, A. & Saniewski, M. (2003). Effect of methyl jasmonate and ethylene on leaf growth, anthocyanin accumulation and CO₂ evolution in tulip bulbs. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 11, 59-68.
- Kendrick, M. D. & Chang, C. (2008). Ethylene signaling: new levels of complexity and regulation. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(5), 479-485. doi:10.1016/j.pbi.2008.06.011
- Khan, N. A. (2005). The influence of exogenous ethylene on growth and photosynthesis of mustard (*Brassica juncea*) following defoliation. *Scientia Horticulturae*, 105(4), 499-505. doi:10.1016/j.scienta.2005.02.004
- Kikuchi, K., Ueguchi-Tanaka, M., Yoshida, K. T., Nagato, Y., Matsusoka, M. & Hirano, H. Y. (2000). Molecular analysis of the NAC gene family in rice. *Molecular and General Genetics*, 262(6), 1047-1051. doi:10.1007/pl00008647

- Kim, S. Y., Kim, S. G., Kim, Y. S., Seo, P. J., Bae, M., Yoon, H. K. & Park, C. M. (2007). Exploring membrane-associated NAC transcription factors in Arabidopsis: implications for membrane biology in genome regulation. *Nucleic Acids Research*, 35(1), 203-213. doi:10.1093/nar/gkl1068
- Korban, S. S. (2021). *The Apple Genome*. Cham, Springer.
- Kou, X., Wang, S., Wu, M., Guo, R., Xue, Z., Meng, N., Tao, X., Chen, M. & Zhang, Y. (2014). Molecular characterization and expression analysis of NAC family transcription factors in tomato. *Plant Molecular Biology Reporter*, 32(2), 501-516. doi:10.1007/s11105-013-0655-3
- Kou, X., Watkins, C. B. & Gan, S. S. (2012). Arabidopsis AtNAP regulates fruit senescence. *Journal of Experimental Botany*, 63(17), 6139-6147. doi:10.1093/jxb/ers266
- Kou, X., Zhao, Y., Wu, C., Jiang, B., Zhang, Z., Rathbun, J. R., He, Y. & Xue, Z. (2018). SNAC4 and SNAC9 transcription factors show contrasting effects on tomato carotenoids biosynthesis and softening. *Postharvest Biology and Technology*, 144, 9-19. doi:10.1016/j.postharvbio.2018.05.008
- Koutinas, N., Pepelyankov, G. & Lichev, V. (2010). Flower induction and flower bud development in apple and sweet cherry. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(1), 1549-1558. doi:10.2478/v10133-010-0003-9
- Kumar, R., Tamboli, V., Sharma, R. & Sreelakshmi, Y. (2018). NAC-NOR mutations in tomato Penjar accessions attenuate multiple metabolic processes and prolong the fruit shelf life. *Food Chemistry*, 259, 234-244. doi:10.1016/j.foodchem.2018.03.135
- Kumlay, A. M. & Eryiğit, T. (2011). Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyici maddeler: bitki hormonları. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2), 47-56.
- Küçük, Ç. (2019). Bitki probiyotik bakteriler: bitkiler üzerindeki rolleri ve uygulamalar. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(1), 1-15.
- Larsen, B., Migicovsky, Z., Jeppesen, A. A., Gardner, K. M., Toldam-Andersen, T. B., Myles, S., Ørgaard, M., Petersen, M. A. & Pedersen, C. (2019). Genome-wide association studies in apple reveal loci for aroma volatiles, sugar composition, and harvest date. *The Plant Genome*, 12(2). doi:10.3835/plantgenome2018.12.0104
- Le, D. T., Nishiyama, R., Watanabe, Y., Mochida, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. & Tran, L. S. (2011). Genome-wide survey and expression analysis of the plant-specific NAC transcription factor family in soybean during development and dehydration stress. *Dna Research*, 18(4), 1-14. doi:10.1093/dnares/dsr015

- Lee, J. M., Joung, J. G., McQuinn, R., Chung, M. Y., Fei, Z., Tieman, D., Klee, H. & Giovannoni, J. (2012). Combined transcriptome, genetic diversity and metabolite profiling in tomato fruit reveals that the ethylene response factor SlERF6 plays an important role in ripening and carotenoid accumulation. *The Plant Journal*, 70(2), 191-204. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04863.x
- Leon, P. & Sheen, J. (2003). Sugar and hormone connections. *Trends in Plant Science*, 8(3), 110-116. doi:10.1016/S1360-1385(03)00011-6
- Lewington, R. J., Talbot, M. & Simon, E. W. (1967). The yellowing of attached and detached cucumber cotyledons. *Journal of Experimental Botany*, 18(3), 526-534. doi:10.1093/jxb/18.3.526
- Li, J. & Yuan, R. (2008). NAA and ethylene regulate expression of genes related to ethylene biosynthesis, perception, and cell wall degradation during fruit abscission and ripening in 'Delicious' apples. *Journal of Plant Growth Regulation*, 27, 283-295. doi:10.1007/s00344-008-9055-6
- Li, S., Xie, X., Liu, S., Chen, K. & Yin, X. (2019). Auto- and mutual-regulation between two CitERFs contribute to ethylene-induced citrus fruit degreening. *Food Chemistry*, 299. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125163
- Li, S., Yin, X., Xie, X., Allan, A. C., Ge, H., Shen, S. & Chen, K. (2016a). The Citrus transcription factor, CitERF13, regulates citric acid accumulation via a protein-protein interaction with the vacuolar proton pump, CitVHA-c4. *Scientific Reports*, 6(1). doi:10.1038/srep20151
- Li, T., Jiang, Z., Zhang, L., Tan, D., Wei, Y., Yuan, H., Li, T. & Wang, A. (2016b). Apple (*Malus domestica*) MdERF2 negatively affects ethylene biosynthesis during fruit ripening by suppressing MdACS1 transcription. *The Plant Journal*, 88, 735-748. doi:10.1111/tpj.13289
- Li, X., Li, Y., Mai, J., Tao, L., Qu, M., Liu, J., Shen, R., Xu, G., Feng, Y., Xiao, H., Wu, L., Shi, L., Guo, S., Liang, J., Zhu, Y., He, Y., Baluška, F., Shabala, S. & Yu, M. (2018). Boron alleviates aluminum toxicity by promoting root alkalization in transition zone via polar auxin transport. *Plant Physiology*, 177, 1254-1266. doi:10.1104/pp.18.00188
- Li, X., Xu, Y., Shen, S., Yin, X., Klee, H., Zhang, B. & Chen, K. (2017). Transcription factor CitERF71 activates the terpene synthase gene CitTPS16 involved in the synthesis of E-geraniol in sweet orange fruit. *Journal of Experimental Botany*, 68(17), 4929-4938. doi:10.1093/jxb/erx316
- Li, Y., Wang, L., Yu, B., Guo, J. & Zhao, Y. (2022). Expression analysis of AUX/IAA family genes in apple under salt stress. *Biochemical Genetics*, 60, 1205-1221. doi:10.1007/s10528-021-10158-4
- Li, Y., Zhu, B., Xu, W., Zhu, H., Chen, A., Xie, Y., Shao, Y. & Luo, Y. (2007). LeERF1 positively modulated ethylene triple response on etiolated seedling,

- plant development and fruit ripening and softening in tomato. *Plant Cell Reports*, 26(11), 1999-2008. doi:10.1007/s00299-007-0394-8
- Liao, N., Hu, Z., Li, Y., Hao, J., Chen, S., Xue, Q., Ma, Y., Zhang, K., Mahmoud, A., Ali, A., Malangisha, G. K., Lyu, X., Yang, J. & Zhang, M. (2020). Ethylene-responsive factor 4 is associated with the desirable rind hardness trait conferring cracking resistance in fresh fruits of watermelon. *Plant Biotechnology Journal*, 18, 1066-1077. doi: 10.1111/pbi.13276
- Lin, X., Yang, R., Dou, Y., Zhang, W., Du, H., Zhu, L. & Chen, J. (2020). Transcriptome analysis reveals delaying of the ripening and cell-wall degradation of kiwifruit by hydrogen sulfide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 2280-2287. doi:10.1002/jsfa.10260
- Lin, Z., Zhong, S. & Grierson, D. (2009). Recent advances in ethylene research. *Journal of Experimental Botany*, 60(12), 3311-3336. doi:10.1093/jxb/erp204
- Liu, D., Chen, J. & Lu, W. (2011). Expression and regulation of the early auxin-responsive Aux/IAA expression and regulation of the early auxin-responsive Aux/IAA. *Molecular Biology Reports*, 38(2), 1187-1193. doi:10.1007/s11033-010-0216-x
- Liu, J., Li, J., Wang, H., Fu, Z., Liu, J. & Yu, Y. (2010). Identification and expression analysis of ERF transcription factor genes in petunia during flower senescence and in response to hormone treatments. *Journal of Experimental Botany*, 62(2), 825-840. doi:10.1093/jxb/erq324
- Liu, K., Yuan, C., Feng, S., Zhong, S., Li, H., Zhong, J., Shen, C. & Liu, J. (2017). Genome-wide analysis and characterization of Aux/IAA family genes related to fruit ripening in papaya (*Carica papaya* L.). *BMC Genomics*, 18(1). doi:10.1186/s12864-017-3722-6
- Liu, M., Diretto, G., Pirrello, J., Roustan, J. P., Li, Z., Giuliano, G., Regad, F. & Bouzayen, M. (2014). The chimeric repressor version of an ethylene response factor (ERF) family member, Sl-ERF.B3, shows contrasting effects on tomato fruit ripening. *New Phytologist*, 203, 206-218. doi:10.1111/nph.12771
- Liu, M., Gomes, B. L., Mila, I., Purgatto, E., Peres, L. E., Frasse, P., Maza, E., Zouine, M., Roustan, J. P., Bouzayen, M. & Pirrello, J. (2016). Comprehensive profiling of ethylene response factor expression identifies ripening-associated ERF genes and their link to key regulators of fruit ripening in tomato. *Plant Physiology*, 170, 1732-1744. doi:10.1104/pp.15.01859
- Liu, M., Pirrello, J., Chervin, C., Roustan, J. P. & Bouzayen, M. (2015). Ethylene control of fruit ripening: revisiting the complex network of transcriptional regulation. *Plant Physiology*, 169, 2380-2390. doi:10.1104/pp.15.01361
- Liu, W., Zhang, J., Jiao, C., Yin, X., Fei, Z., Wu, Q. & Chen, K. (2019). Transcriptome analysis provides insights into the regulation of metabolic processes during

postharvest cold storage of loquat (*Eriobotrya japonica*) fruit. *Horticulture Research*, 6(1), 49. doi:10.1038/s41438-019-0131-9

- Liu, X. H., Lyu, Y. S., Yang, W., Yang, Z. T., Lu, S. J. & Liu, J. X. (2020). A membrane-associated NAC transcription factor OsNTL3 is involved in thermotolerance in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 18, 1317-1329. doi:10.1111/pbi.13297
- Lo, E. Y. Y. & Donoghue, M. J. (2012). Expanded phylogenetic and dating analyses of the apples and their relatives (Pyreae, Rosaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(2), 230-243. doi:10.1016/j.ympev.2011.10.005
- Luo, J., Zhou, J. J. & Zhang, J. Z. (2018). Aux/IAA gene family in plants: molecular structure, regulation, and function. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 259. doi:10.3390/ijms19010259
- Luo, X. C., Sun, M. H., Xu, R. R., Shu, H. R., Wang, J. W. & Zhang, S. Z. (2014). Genomewide identification and expression analysis of the ARF gene family in apple. *Journal of Genetics*, 93(3), 785-797. doi:10.1007/s12041-014-0462-0
- Ma, N., Feng, H., Meng, X., Li, D., Yang, D., Wu, C. & Meng, Q. (2014). Overexpression of tomato SINAC1 transcription factor alters fruit pigmentation and softening. *BMC Plant Biology*, 14(1). doi:10.1186/s12870-014-0351-y
- Ma, X., Zhang, Y., Turečková, V., Xue, G. P., Fernie, A. R., Mueller-Roeber, B. & Balazadeh, S. (2018). The NAC transcription factor SINAP2 regulates leaf senescence and fruit yield in tomato. *Plant Physiology*, 177(3), 1286-1302. doi:10.1104/pp.18.00292
- Mao, C., Ding, W., Wu, Y., Yu, J., He, X., Shou, H. & Wu, P. (2007). Overexpression of a NAC-domain protein promotes shoot branching in rice. *New Phytologist*, 176, 288-298. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02177.x
- Mao, C., Lu, S., Lv, B., Zhang, B., Shen, J., He, J., Luo, L., Xi, D., Chen, X. & Ming, F. (2017). A rice NAC transcription factor promotes leaf senescence via ABA biosynthesis. *Plant Physiology*, 174(3), 1747-1763. doi:10.1104/pp.17.00542
- Masucci, J. D. & Schiefelbein, J. W. (1994). The *rhd6* mutation of *Arabidopsis thaliana* alters root-hair initiation through an auxin- and ethylene-associated process. *Plant Physiology*, 106(4), 1335-1346. doi:10.1104/pp.106.4.1335
- Matas, A. J., Gapper, N. E., Chung, M. Y., Giovannoni, J. J. & Rose, J. K. (2009). Biology and genetic engineering of fruit maturation for enhanced quality and shelf-life. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(2), 197-203. doi:10.1016/j.copbio.2009.02.015
- McClure, K. A., Gardner, K. M., Douglas, G. M., Song, J., Forney, C. F., DeLong, J., Fan, L., Du, L., Toivonen, P. M. A., Somers, D. J., Rajcan, I. & Myles, S.

- (2018). A genome-wide association study of apple quality and scab resistance. *The Plant Genome*, 11(1). doi:10.3835/plantgenome2017.08.0075
- Meisrimler, C. N., Pelgrom, A. J., Oud, B., Out, S. & Van den Ackerveken, G. (2019). Multiple downy mildew effectors target the stress-related NAC transcription factor LsNAC069 in lettuce. *The Plant Journal*, 99(6), 1098-1115. doi:10.1111/tpj.14383
- Meng, C., Yang, D., Ma, X., Zhao, W., Liang, X., Ma, N. & Meng, Q. (2016). Suppression of tomato SINAC1 transcription factor delays fruit ripening. *Journal of Plant Physiology*, 193, 88-96. doi:10.1016/j.jplph.2016.01.014
- Migicovsky, Z., Gardner, K. M., Money, D., Sawler, J., Bloom, J. S., Moffett, P., Chao, C. T., Schwaninger, H., Fazio, G., Zhong, G. Y. & Myles, S. (2016). Genome to phenome mapping in apple using historical data. *The Plant Genome*, 9(2). doi:10.3835/plantgenome2015.11.0113
- Migicovsky, Z., Yeats, T. H., Watts, S., Song, J., Forney, C. F., Burgher-MacLellan, K., Somers, D. J., Gong, Y., Zhang, Z., Vrebalov, J., Van Velzen, R., Giovannoni, J. G., Rose, J. K. C. & Myles, S. (2021). Apple ripening is controlled by a NAC transcription factor. *Frontiers in Genetics*, 12. doi:10.3389/fgene.2021.671300
- Mitsuda, N. & Ohme-Takagi, M. (2008). NAC transcription factors NST1 and NST3 regulate pod shattering in a partially redundant manner by promoting secondary wall formation after the establishment of tissue identity. *The Plant Journal*, 56, 768-778. doi:10.1111/j.1365-313x.2008.03633.x
- Mitsuda, N., Seki, M., Shinozaki, K. & Ohme-Takagi, M. (2005). The NAC transcription factors NST1 and NST2 of Arabidopsis regulate secondary wall thickenings and are required for anther dehiscence. *The Plant Cell*, 17, 2993-3006. doi:10.1105/tpc.105.036004
- Mizuno, S., Hirasawa, Y., Sonoda, M., Nakagawa, H. & Sato, T. (2006). Isolation and characterization of three DREB/ERF-type transcription factors from melon (*Cucumis melo*). *Plant Science*, 170(6), 1156-1163. doi:10.1016/j.plantsci.2006.02.005
- Molesini, B., Pandolfini, T., Rotino, G. L., Dani, V. & Spena, A. (2009). Aucsia gene silencing causes parthenocarpic fruit development in tomato. *Plant Physiology*, 149, 534-548. doi:10.1104/pp.108.131367
- Müller, M. & Munné-Bosch, S. (2015). Ethylene response factors: a key regulatory hub in hormone and stress signaling. *Plant Physiology*, 169, 32-41. doi:10.1104/pp.15.00677
- Müller, R., Owen, C., Xue, Z. T., Welander, M. & Stummann, B. (2003). The transcription factor EIN3 is constitutively expressed in miniature roses with differences in postharvest life. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78(1), 10-14. doi:10.1080/14620316.2003.11511575

- Nakano, T., Suzuki, K., Fujimura, T. & Shinshi, H. (2006). Genome-wide analysis of the ERF gene family in Arabidopsis and rice. *Plant Physiology*, *140*, 411-432. doi:10.1104/pp.105.073783
- Nakashima, K., Ito, Y. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2009). Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant Physiology*, *149*(1), 88-95. doi:10.1104/pp.108.129791
- Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012). NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1819*(2), 97-103. doi:10.1016/j.bbagr.2011.10.005
- Ni, J., Bai, S., Zhao, Y., Qian, M., Tao, R., Yin, L., Gao, Y. & Teng, Y. (2019). Ethylene response factors Pp4ERF24 and Pp12ERF96 regulate blue light-induced anthocyanin biosynthesis in 'red zaosu' pear fruits by interacting with MYB114. *Plant Molecular Biology*, *99*, 67-78. doi:10.1007/s11103-018-0802-1
- Nieuwenhuizen, N. J., Chen, X., Wang, M. Y., Matich, A. J., Perez, R. L., Allan, A. C., Green, S. A. & Atkinson, R. G. (2015). Natural variation in monoterpene synthesis in kiwifruit: transcriptional regulation of terpene synthases by NAC and ethylene-insensitive3-like transcription factors. *Plant Physiology*, *167*(4), 1243-1258. doi:10.1104/pp.114.254367
- Nikiforova, S. V., Cavalieri, D., Velasco, R. & Goremykin, V. (2013). Phylogenetic analysis of 47 chloroplast genomes clarifies the contribution of wild species to the domesticated apple maternal line. *Molecular Biology and Evolution*, *30*(8), 1751-1760. doi:10.1093/molbev/mst092
- Nole-Wilson, S., Tranby, T. L. & Krizek, B. A. (2005). Aintegumenta-like (AIL) genes are expressed in young tissues and may specify meristematic or division-competent states. *Plant Molecular Biology*, *57*, 613-628. doi: 10.1007/s11103-005-0955-6
- Nuruzzaman, M., Manimekalai, R., Sharoni, A. M., Satoh, K., Kondoh, H., Ooka, H. & Kikuchi, S. (2010). Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice. *Gene*, *465*(1-2), 30-44. doi:10.1016/j.gene.2010.06.008
- Nuruzzaman, M., Sharoni, A. M. & Kikuchi, S. (2013). Roles of NAC transcription factors in the regulation of biotic and abiotic stress responses in plants. *Frontiers in Microbiology*, *4*. doi:10.3389/fmicb.2013.00248
- Ogawara, T., Higashi, K., Kamada, H. & Ezura, H. (2003). Ethylene advances the transition from vegetative growth to flowering in Arabidopsis thaliana. *Journal of Plant Physiology*, *160*(11), 1335-1340. doi:10.1078/0176-1617-01129
- Oh, S. A., Park, J. H., Lee, G. I., Paek, K. H., Park, S. K. & Nam, H. G. (1997). Identification of three genetic loci controlling leaf senescence in Arabidopsis

thaliana. *The Plant Journal*, 12(3), 527-535. doi:10.1046/j.1365-313x.1997.00527.x

- Ohme-Takagi, M. & Shinshi, H. (1995). Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *The Plant Cell*, 7, 173-182. doi:10.1105/tpc.7.2.173
- Ooka, H., Satoh, K., Doi, K., Nagata, T., Otomo, Y., Murakami, K., Matsubara, K., Osato, N., Kawai, J., Carninci, P., Hayashizaki, Y., Suzuki, K., Kojima, K., Takahara, Y., Yamamoto, K. & Kikuchi, S. (2003). Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. *DNA Research*, 10(6), 239-247. doi:10.1093/dnares/10.6.239
- Oono, Y., Ooura, C., Rahman, A., Aspuria, E. T., Hayashi, K., Tanaka, A. & Uchimiya, H. (2003). p-chlorophenoxyisobutyric acid impairs auxin response in *Arabidopsis* root. *Plant Physiology*, 133(3), 1135-1147. doi:10.1104/pp.103.027847
- Pacak, A., Strozycki, P. M., Barciszewska-Pacak, M., Alejska, M., Lacomme, C., Jarmołowski, A., Szweykowska-Kulińska, Z. & Figlerowicz, M. (2010). The bromo mosaic virus-based recombination vector triggers a limited gene silencing response depending on the orientation of the inserted sequence. *Archives of Virology*, 155(2), 169-179. doi: 10.1007/s00705-009-0556-9
- Pattison, R. J. & Catalá, C. (2012). Evaluating auxin distribution in tomato (*Solanum lycopersicum*) through an analysis of the PIN and AUX/LAX gene families. *The Plant Journal*, 70(4), 585-598. doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04895.x
- Paul, V., Pandey, R. & Srivastava, G. C. (2012). The fading distinctions between classical patterns of ripening in climacteric and non-climacteric fruit and the ubiquity of ethylene—an overview. *Food Scientists & Technologists*, 49(1), 1-21. doi:10.1007/s13197-011-0293-4
- Pei, X., Zhang, Y., Zhu, L., Zhao, D., Lu, Y. & Zheng, J. (2021). Physiological and transcriptomic analyses characterized high temperature stress response mechanisms in *Sorbus pohuashanensis*. *Scientific Reports*, 11(1). doi:10.1038/s41598-021-89418-7
- Pekmezci, M. (1975). *Bazı Önemli Elma ve Armut Çeşitlerinin Solunum Klimakterikleri ve Soğukta Muhafazaları Üzerinde Araştırmalar* (Doçentlik Tezi, Tarım ve Orman Bakanlığı Yayınları).
- Pirona, R., Eduardo, I., Pacheco, I., Da Silva Linge, C., Miculan, M., Verde, I., Tartarini, S., Dondini, L., Pea, G., Bassi, D. & Rossini, L. (2013). Fine mapping and identification of a candidate gene for a major locus controlling maturity date in peach. *BMC Plant Biology*, 13(1), 166. doi:10.1186/1471-2229-13-166
- Pirrello, J., Narasimha Prasad, B. C., Zhang, W., Chen, K., Mila, I., Zouine, M., Latché, A., Pech, J. C., Ohme-Takagi, M., Regad, F. & Bouzayen, M. (2012). Functional analysis and binding affinity of tomato ethylene response factors

- provide insight on the molecular bases of plant differential responses to ethylene. *BMC Plant Biology*, *12*(1), 190. doi:10.1186/1471-2229-12-190
- Pitts, R. J., Cernac, A. & Estelle, M. (1998). Auxin and ethylene promote root hair elongation in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, *16*(5), 553–560. doi:10.1046/j.1365-313x.1998.00321.x
- Puranik, S., Bahadur, R. P., Srivastava, P. S. & Prasad, M. (2011). Molecular cloning and characterization of a membrane associated NAC family gene, SiNAC from foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.]. *Molecular Biotechnology*, *49*(2), 138-150. doi:10.1007/s12033-011-9385-7
- Qiu, K., Li, Z., Yang, Z., Chen, J., Wu, S., Zhu, X., Gao, S., Gao, J., Ren, G., Kuai, B. & Zhou, X. (2015). EIN3 and ORE1 accelerate degreening during ethylene-mediated leaf senescence by directly activating chlorophyll catabolic genes in *Arabidopsis*. *Plos Genetics*, *11*(7). doi:10.1371/journal.pgen.1005399
- Rahman, A., Amakawa, T., Goto, N. & Tsurumi, S. (2001). Auxin is a positive regulator for ethylene-mediated response in the growth of *Arabidopsis* roots. *Plant Cell Physiology*, *42*(3), 301-307. doi:10.1093/pcp/pce035
- Rahman, A., Hosokawa, S., Oono, Y., Amakawa, T., Goto, N. & Tsurumi, S. (2002). Auxin and ethylene response interactions during *Arabidopsis* root hair development dissected by auxin influx modulators. *Plant Physiology*, *130*(4), 1908-1917. doi:10.1104/pp.010546
- Raz, V. & Ecker, J. R. (1999). Regulation of differential growth in the apical hook of *Arabidopsis*. *Development*, *126*, 3661-3668. doi:10.1242/dev.126.16.3661
- Ren, Y., Huang, Z., Jiang, H., Wang, Z., Wu, F., Xiong, Y. & Yao, J. (2021). A heat stress responsive NAC transcription factor heterodimer plays key roles in rice grain filling. *Journal of Experimental Botany*, *72*(8), 2947-2964. doi:10.1093/jxb/erab027
- Rieu, I., Mariani, C. & Weterings, K. (2003). Expression analysis of five tobacco EIN3 family members in relation to tissue-specific ethylene responses. *Journal of Experimental Botany*, *54*(391), 2239-2244. doi:10.1093/jxb/erg240
- Ríos, P., Argyris, J., Vegas, J., Leida, C., Kenigswald, M., Tzuri, G., Troadec, C., Bendahmane, A., Katzir, N., Picó, B., Monforte, A. J. & Garcia-Mas, J. (2017). ETHQV6.3 is involved in melon climacteric fruit ripening and is encoded by a NAC domain transcription factor. *The Plant Journal*, *91*(4), 671-683. doi:10.1111/tpj.13596
- Rupasinghe, H. P., Murr, D. P., Paliyath, G. & Skog, L. (2000). Inhibitory effect of 1-MCP on ripening and superficial scald development in ‘McIntosh’ and ‘Delicious’ apples. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *75*(3), 271-276. doi:10.1080/14620316.2000.11511236

- Sakar, E., Ünver, H. & Taş, A. A. (2014). Meyvelerde 1-MCP (1-methylcyclopropene)'nin kullanım olanakları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 18(1), 47-54.
- Sakuma, Y., Liu, Q., Dubouzet, J. G., Abe, H., Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2002). DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression. *Biochemical and Biophysical*, 290, 998-1009. doi:10.1006/bbrc.2001.6299
- Schaffer, R. J., Friel, E. N., Souleyre, E. J., Bolitho, K., Thodey, K., Ledger, S., Bowen, J. H., Ma, J. H., Nain, B., Cohen, D., Gleave, A. P., Crowhurst, R. N., Janssen, B. J., Yao, J. L. & Newcomb, R. D. (2007). A genomics approach reveals that aroma production in apple is controlled by ethylene predominantly at the final step in each biosynthetic pathway. *Plant Physiology*, 144(4), 1899-1912. doi:10.1104/pp.106.093765
- Seçer, M. (1989). Doğal büyüme düzenleyicilerin (bitkisel hormonların) bitkilerdeki fizyolojik etkileri ve bu alanda yapılan araştırmalar. *Derim*, 6(3), 109-124.
- Seo, Y. J., Park, J. B., Cho, Y. J., Jung, C., Seo, H. S., Park, S. K., Nahm, B. H. & Song, J. T. (2010). Overexpression of the ethylene-responsive factor gene BrERF4 from Brassica rapa increases tolerance to salt and drought in Arabidopsis plants. *Molecules and Cells*, 30, 271-277. doi:10.1007/s10059-010-0114-z
- Shan, N., Zhang, Y., Xu, Y., Yuan, X., Wan, C., Chen, C., Chen, J. & Gan, Z. (2022). Ethylene-induced potassium transporter AcKUP2 gene is involved in kiwifruit postharvest ripening. *BMC Plant Biology*, 22. doi:10.1186/s12870-022-03498-9
- Shan, W., Kuang, J. F., Lu, W. J. & Chen, J. Y. (2014). Banana fruit NAC transcription factor MaNAC1 is a direct target of MaICE1 and involved in cold stress through interacting with MaCBF1. *Plant, Cell and Environment*, 37(9), 2116-2127. doi:10.1111/pce.12303
- Shan, W., Kuang, J., Chen, L., Xie, H., Peng, H., Xiao, Y., Li, X., Chen, W., He, Q., Chen, J. & Lu, W. (2012). Molecular characterization of banana NAC transcription factors and their interactions with ethylene signalling component EIL during fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 63(14), 5171-5187. doi:10.1093/jxb/ers178
- Shen, L., Luo, G., Song, Y., Xu, J., Ji, J., Zhang, C., Gregová, E., Yang, W., Li, X., Sun, J., Zhan, K., Cui, D., Liu, D. & Zhang, A. (2021). A novel NAC family transcription factor SPR suppresses seed storage protein synthesis in wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 19(5), 992-1007. doi:10.1111/pbi.13524
- Shen, Y. H., Lu, B. G., Feng, L., Yang, F. Y., Geng, J. J., Ming, R. & Chen, X. J. (2017). Isolation of ripening-related genes from ethylene/1-MCP treated

- papaya through RNA-seq. *BMC Genomics*, 18(1). doi:10.1186/s12864-017-4072-0
- Shin, S. Y., Park, M. H., Choi, J. W. & Kim, J. G. (2017). Gene network underlying the response of harvested pepper to chilling stress. *Journal of Plant Physiology*, 219, 112-122. doi:10.1016/j.jplph.2017.10.002
- Shin, S., Lee, J., Rudell, D., Evans, K. & Zhu, Y. (2015). Transcript profiles of auxin efflux carrier and IAA-amido synthetase genes suggest the role of auxin on apple (*Malus × domestica*) fruit maturation patterns. *American Journal of Plant Sciences*, 6(5), 620-632. doi:10.4236/ajps.2015.65067
- Shin, S., Lee, J., Rudell, D., Evans, K. & Zhu, Y. (2016). Transcriptional regulation of auxin metabolism and ethylene biosynthesis activation during apple (*Malus x domestica*) fruit maturation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 655–666. doi:10.1007/s00344-015-9568-8
- Shoji, T. & Yuan, L. (2020). ERF gene clusters: working together to regulate metabolism. *Trends in Plant Science*, 26(1), 23-32. doi:10.1016/j.tplants.2020.07.015
- Singh, S. K., Patra, B., Paul, P., Liu, Y., Pattanaik, S. & Yuan, L. (2020). Revisiting the ORCA gene cluster that regulates terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *Plant Science*, 293. doi:10.1016/j.plantsci.2020.110408
- Souer, E., van Houwelingen, A., Kloos, D., Mol, J. & Koes, R. (1996). The no apical meristem gene of petunia is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell*(85), 159-170. doi:10.1016/s0092-8674(00)81093-4
- Stepanova, A. N. & Alonso, J. M. (2005). Ethylene signaling and response pathway a unique signaling cascade with a multitude of inputs and outputs. *Physiologia Plantarum*, 123, 195-206. doi:10.1111/j.1399-3054.2005.00447.x
- Sun, Y., Liang, B., Wang, J., Kai, W., Chen, P., Jiang, L., Du, Y. & Leng, P. (2018). SlPTi4 affects regulation of fruit ripening, seed germination and stress responses by modulating ABA signaling in tomato. *Plant and Cell Physiology*, 59(10), 1956-1965. doi:10.1093/pcp/pcy111
- Sussman, M. R. & Goldsmith, M. H. (1981). The action of specific inhibitors of auxin transport on uptake of auxin and binding of N-1-naphthylphthalamic acid to a membrane site in maize coleoptiles. *Planta*, 152, 13-18. doi:10.1007/bf00384978
- Tadiello, A., Longhi, S., Moretto, M., Ferrarini, A., Tononi, P., Farneti, B., Busatto, N., Vrhovsek, U., Molin, A. D., Avanzato, C., Biasioli, F., Cappelin, L., Scholz, M., Velasco, R., Trainotti, L., Delledonne, M. & Costa, F. (2016). Interference with ethylene perception at receptor level sheds light on auxin and transcriptional circuits associated with the climacteric ripening of apple fruit

- (*Malus x domestica* Borkh.). *The Plant Journal*, 88(6), 963-975. doi:10.1111/tpj.13306
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M. & Murphy, A. (2014). *Plant Physiology and Development* (6. Baskı). Sinauer.
- Tang, Y., Liu, M., Gao, S., Zhang, Z., Zhao, X., Zhao, C., Zhang, F. & Chen, X. (2012). Molecular characterization of novel TaNAC genes in wheat and overexpression of TaNAC2a confers drought tolerance in tobacco. *Physiologia Plantarum*, 144(3), 210-224. doi:10.1111/j.1399-3054.2011.01539.x
- Teale, W. & Palme, K. (2018). Naphthylphthalamic acid and the mechanism of polar auxin transport. *Journal of Experimental Botany*, 69(2), 303-312. doi:10.1093/jxb/erx323
- TEPGE (2021). Tarım Ürünleri Piyasaları-Elma. Tarımsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Ankara.
- Thagun, C., Imanishi, S., Kudo, T., Nakabayashi, R., Ohyama, K., Mori, T., Kawamoto, K., Nakamura, Y., Katayama, M., Nonaka, S., Matsukura, C., Yano, K., Ezura, H., Saito, K., Hashimoto, T. & Shoji, T. (2016). Jasmonate-responsive ERF transcription factors regulate steroidal glycoalkaloid biosynthesis in tomato. *Plant and Cell Physiology*, 57(5), 961-975. doi:10.1093/pcp/pcw067
- Theologis, A., Huynh, T. V. & Davis, R. W. (1985). Rapid induction of specific mRNAs by auxin in pea epicotyl tissue. *Journal of Molecular Biology*, 183(1), 53-68. doi:10.1016/0022-2836(85)90280-3
- Thimann, K. V. (1938). Hormones and the analysis of growth. *Plant Physiology*, 13(3), 437-449. doi:10.1104/pp.13.3.437
- Tournier, B., Sanchez-Ballesta, M. T., Jones, B., Pesquet, E., Regad, F., Latche, A., Pech, J. C. & Bouzayen, M. (2003). New members of the tomato ERF family show specific expression pattern and diverse DNA-binding capacity to the GCC box element. *FEBS Letters*, 550, 149-154. doi:10.1016/s0014-5793(03)00757-9
- Tran, L. S., Nakashima, K., Sakuma, Y., Simpson, S. D., Fujita, Y., Maruyama, K., Fujita, M., Seki, M., Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2004). Isolation and functional analysis of Arabidopsis stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought-responsive cis-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter. *The Plant Cell*, 16(9), 2481-2498. doi:10.1105/tpc.104.022699
- Tucker, G., Yin, X., Zhang, A., Wang, M., Zhu, Q., Liu, X., Xie, X., Chen, K. & Grierson, D. (2017). Ethylene† and fruit softening. *Food Quality and Safety*, 1(4), 253-267. doi:10.1093/fqsafe/fyx024

- Valdés, H., Pizarro, V., Campos-Vargas, R., Infante, R. & Defilippi, B. G. (2009). Effect of ethylene inhibitors on quality attributes of apricot cv. Modesto and Patterson during storage. *Chilean Journal Of Agricultural Research*, 69(2), 134-144. doi:10.4067/s0718-58392009000200002
- Van der Linde, K., Kastner, C., Kumlehn, J., Kahmann, R. & Doehlemann, G. (2011). Systemic virus-induced gene silencing allows functional characterization of maize genes during biotrophic interaction with *Ustilago maydis*. *New Phytologist*, 189(2), 471-483. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03474.x
- Vernoux, T., Kronenberger, J., Grandjean, O., Laufs, P. & Traas, J. (2000). PIN-formed 1 regulates cell fate at the periphery of the shoot apical meristem. *Development*, 127, 5157-5165. doi: 10.1242/dev.127.23.5157
- Volk, G. M., Henk, A. D., Baldo, A., Fazio, G., Chao, C. T. & Richards, C. M. (2015). Chloroplast heterogeneity and historical admixture within the genus *Malus*. *American Journal Of Botany*, 12(7), 1198-1208. doi:10.3732/ajb.1500095
- Walker, J. C. & Key, J. L. (1982). Isolation of cloned cDNAs to auxin-responsive poly(A)+RNAs of elongating soybean hypocotyl. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(23), 7185-7189. doi:10.1073/pnas.79.23.7185
- Wang, A., Tan, D., Takahashi, A., Zhong Li, T. & Harada, T. (2007). MdERFs, two ethylene-response factors involved in apple fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 58(13), 3743-3748. doi:10.1093/jxb/erm224
- Wang, H. L., Zhang, Y., Wang, T., Yang, Q., Yang, Y., Li, Z., Li, B., Wen, X., Li, W., Yin, W., Xia, X., Guo, H. & Li, Z. (2021). An alternative splicing variant of PtRD26 delays leaf senescence by regulating multiple NAC transcription factors in *Populus*. *The Plant Cell*, 33(5), 1594-1614. doi:10.1093/plcell/koab046
- Wang, H., Jones, B., Li, Z., Frasse, P., Delalande, C., Regad, F., Chaabouni, S., Latché, A., Pech, J. C. & Bouzayen, M. (2005). The tomato Aux/IAA transcription factor IAA9 is involved in fruit development and leaf morphogenesis. *The Plant Cell*, 17(10), 2676-2692. doi:10.1105/tpc.105.033415
- Wang, X., Basnayake, B. M. V. S., Zhang, H., Li, G., Li, W., Virk, N., Mengiste, T. & Song, F. (2009a). The Arabidopsis ATAF1, a NAC transcription factor, is a negative regulator of defense responses against necrotrophic fungal and bacterial pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(10), 1227-1238. doi:10.1094/mpmi-22-10-1227
- Wang, X., Goregaoker, S. P. & Culver, J. N. (2009b). Interaction of the tobacco mosaic virus replicase protein with a NAC domain transcription factor is associated with the suppression of systemic host defenses. *Journal Of Virology*, 83(19), 9720-9730. doi: 10.1128/JVI.00941-09
- Woeste, K. E., Ye, C. & Kieber, J. J. (1999). Two Arabidopsis mutants that overproduce ethylene are affected in the posttranscriptional regulation of 1-

aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase. *Plant Physiology*, 119(2), 521-530. doi:10.1104/pp.119.2.521

- Wu, K., Tian, L., Hollingworth, J., Brown, D. C. & Miki, B. (2002). Functional analysis of tomato Pti4 in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 128, 30-37. doi:10.1104/pp.010696
- Xia, N., Zhang, G., Liu, X. Y., Deng, L., Cai, G. L., Zhang, Y., Wang, X. J., Zhao, J., Huang, L. L. & Kang, Z. S. (2010a). Characterization of a novel wheat NAC transcription factor gene involved in defense response against stripe rust pathogen infection and abiotic stresses. *Molecular Biology Reports*, 37(8), 3703-3712. doi:10.1007/s11033-010-0023-4
- Xia, N., Zhang, G., Sun, Y. F., Zhu, L., Xu, L. S., Chen, X. M., Liu, B., Yu, Y. T., Wang, X. J., Huang, L. L. & Kang, Z. S. (2010b). TaNAC8, a novel NAC transcription factor gene in wheat, responds to stripe rust pathogen infection and abiotic stresses. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74(5-6), 394-402. doi:10.1016/j.pmpp.2010.06.005
- Xiao, Y., Chen, J., Kuang, J., Shan, W., Xie, H., Jiang, Y. & Lu, W. (2013). Banana ethylene response factors are involved in fruit ripening through their interactions with ethylene biosynthesis genes. *Journal of Experimental Botany*, 64(8), 2499-2510. doi:10.1093/jxb/ert108
- Xie, Q., Frugis, G., Colgan, D. & Chua, N. H. (2000). Arabidopsis NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. *Genes & Development*, 14(23), 3024-3036. doi:10.1101/gad.852200
- Xie, X., Yin, X. & Chen, K. (2016). Roles of APETALA2/ethylene-response factors in regulation of fruit quality. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 35(2), 120-130. doi:10.1080/07352689.2016.1213119
- Xu, M., Zhu, L., Shou, H. & Wu, P. (2005). A PIN1 family gene, OsPIN1, involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice. *Plant and Cell Physiology*, 4(10), 1674-1681. doi:10.1093/pcp/pci183
- Xu, Q., Wang, W., Zeng, J., Zhang, J., Grierson, D., Li, X., Yin, X. & Chen, K. (2015). A NAC transcription factor, EjNAC1, affects lignification of loquat fruit by regulating lignin. *Postharvest Biology and Technology*, 102, 25-31. doi:10.1016/j.postharvbio.2015.02.002
- Yamaguchi, M., Kubo, M., Fukuda, H. & Demura, T. (2008). Vascular-related NAC-domain7 is involved in the differentiation of all types of xylem vessels in Arabidopsis roots and shoots. *The Plant Journal*, 55(4), 652-664. doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03533.x
- Yamamoto, K. T., Mori, H. & Imaseki, H. (1992). cDNA cloning of indole-3-acetic acid-regulated genes: Aux22 and SAUR from mung bean (*Vigna radiata*) hypocotyl tissue. *Plant Cell Physiology*, 33(1), 93-97. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a078225

- Yamasaki, K., Kigawa, T., Inoue, M., Yamasaki, T., Yabuki, T., Aoki, M., Seki, E., Matsuda, T., Tomo, Y., Terada, T., Shirouzu, M., Tanaka, A., Seki, M., Shinozaki, K. & Yokoyama, S. (2005). Solution structure of the major DNA-binding domain of *Arabidopsis thaliana* ethylene-insensitive3-like3. *Journal of Molecular Biology*, 348(2), 253-264. doi:10.1016/j.jmb.2005.02.065
- Yanagisawa, S., Yoo, S. D. & Sheen, J. (2003). Differential regulation of EIN3 stability by glucose and ethylene signalling in plants. *Nature*, 425, 521-525. doi:10.1038/nature01984
- Yang, Z. P., Li, H. L., Guo, D. & Peng, S. Q. (2015). Identification and characterization of the EIN3/EIL gene family in *Hevea brasiliensis*. *Tree Genetics & Genomes*, 11(3), 51. doi:10.1007/s11295-015-0877-7
- Yao, G., Ming, M., Allan, A. C., Gu, C., Li, L., Wu, X., Wang, R., Chang, Y., Qi, K., Zhang, S. & Wu, J. (2017). Map-based cloning of the pear gene MYB114 identifies an interaction with other transcription factors to coordinately regulate fruit anthocyanin biosynthesis. *The Plant Journal*, 92(3), 437-451. doi:10.1111/tpj.13666
- Yin, X., Allan, A. C., Chen, K. & Ferguson, I. B. (2010). Kiwifruit EIL and ERF genes involved in regulating fruit ripening. *Plant Physiology*, 153(3), 1280-1292. doi:10.1104/pp.110.157081
- Yoo, S., Cho, Y. & Sheen, J. (2009). Emerging connections in the ethylene signaling network. *Trends in plant science*, 14(5), 270-279. doi:10.1016/j.tplants.2009.02.007
- You, J., Zong, W., Li, X., Ning, J., Hu, H., Li, X., Xiao, J. & Xiong, L. (2013). The SNAC1-targeted gene OsSRO1c modulates stomatal closure and oxidative stress tolerance by regulating hydrogen peroxide in rice. *Journal of Experimental Botany*, 64(2), 569-583. doi:10.1093/jxb/ers349
- Zažímalová, E., Murphy, A. S., Yang, H., Hoyerová, K. & Hošek, P. (2010). Auxin transporters—why so many?. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(3). doi:10.1101/cshperspect.a001552
- Zhang, L., Li, Z., Quan, R., Li, G., Wang, R. & Huang, R. (2011). An AP2 Domain-containing gene, ESE1, targeted by the ethylene signaling component EIN3 is important for the salt response in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 157, 854-865. doi: 10.1104/pp.111.179028
- Zhang, Z. & Li, X. (2018). Genome-wide identification of AP2/ERF superfamily genes and their expression during fruit ripening of Chinese jujube. *Scientific Reports*, 8(1). doi:10.1038/s41598-018-33744-w
- Zhang, Z., Zhang, H., Quan, R., Wang, Q. C. & Huang, R. (2009). Transcriptional regulation of the ethylene response factor LeERF2 in the expression of ethylene biosynthesis genes controls ethylene production in tomato and tobacco. *Plant Physiology*, 150, 365-377. doi:10.1104/pp.109.135830

Zhong, R., Lee, C., Zhou, J., McCarthy, R. L. & Ye, Z. H. (2008). A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 20, 2763-2782. doi:10.1105/tpc.108.061325

Zhu, H., Beers, E. P. & Yuan, R. (2008). Aminoethoxyvinylglycine inhibits fruit abscission induced by naphthaleneacetic acid and associated relationships with expression of genes for ethylene biosynthesis, perception, and cell wall degradation in 'Delicious' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133(6), 727-734. doi:10.21273/JASHS.133.6.727



ÖZGEÇMİŞ

