ANKARA ÜNİVERSİTESİ

BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ

DOKTORA TEZİ

YABANİ PANCAR TÜRLERİNDE KURAKLIK VE BNYVV (*Beet Necrotic Yellow Vein Virus* = PANCAR NEKROTİK SARI DAMAR VİRÜSÜ) STRESİ İLE İLİŞKİLİ MİKRO RNA'LARIN TANIMLANMASI

Umut KİBAR

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Ali ERGÜL

Eylül

2020

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının; akademik kural ve etik ilkelere bağlı kalınarak hazırlandığını, çalışmada yararlanılan ve bu çalışma ürünü olmayan bütün bilgiler için kaynak yayınlara atıfta bulunulmuş olduğunu beyan ederim.

Umut KİBAR

İmzası

ÖZET

Doktora Tezi

Yabani Pancar Türlerinde Kuraklık ve BNYVV (*Beet Necrotic Yellow Vein Virus* = Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü) Stresi ile İlişkili Mikro RNA'ların Tanımlanması

Umut KİBAR

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Danışman: Prof. Dr. Ali ERGÜL

Şeker Pancarı (*Beta vulgaris*) ekonomik açıdan değerli, endüstriyel bir kültür bitkisidir. Bununla birlikte kuraklık ve BNYVV (*Beet Necrotic Yellow Vein Virus* = Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü) stresi şeker kalitesini ve şeker verimini olumsuz yönde etkileyerek şeker pancarı yetiştiriciliğini kısıtlamaktadır. Bu stres faktörlerine karşı dayanıklı şeker pancarı çeşitleri geliştirmek için, klasik ıslah metodları ile *Beta vulgaris* ve *Beta maritima* türleri melezlenerek hibrit tohumlar üretilmektedir ancak elde edilen çeşitler yeterli dayanıklılığı gösterememektedir.

Günümüzde, strese karşı dayanıklı bitkiler geliştirmek amacıyla, klasik ıslah çalışmalarına alternatif olarak, dayanıklı türlerin sahip olduğu stres tolerans mekanizmalarının belirlenmesi için kullanılan biyoteknolojik yöntemler ön plana çıkmaktadır. Stres koşullarına karşı bitki tarafından geliştirilen stres yanıtında rol alan mikro RNA'ların (miRNA) tespit edilmesi bu tolerans mekanizmalarının anlaşılmasını sağlayan önemli yöntemler arasındadır.

Bu tez çalışmasında, kuraklık ve virüs stresine karşı toleransa sahip olan yabani pancar türü *Beta corolliflora*'nın, bu stres koşulları altında geliştirdiği miRNA profilinin belirlenmesi amacıyla küçük RNA dizilemesi ve biyoinformatik analizler gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda *Beta corolliflora* örneklerinde, bilinen 211 miRNA ile bugüne kadar bilinmeyen potansiyel 6 miRNA adayı tespit edilerek bu miRNA'ların muhtemel hedef genleri ve ilişkili olabilecekleri yolaklar belirlenmiştir.

2020, 320 sayfa

Anahtar kelimeler: miRNA, BNYVV, kuraklık stresi, virüs stresi, *Beta corolliflora*, *Beta vulgaris*, şeker pancarı.

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

Identification of Micro RNAs Related to Drought and BNYVV (*Beet Necrotic Yellow Vein Virus*) Stress in Wild Beet Species

Umut KİBAR

Ankara University Biotechnology Institute

Supervisor: Prof. Dr. Ali ERGÜL

Sugar Beet (*Beta vulgaris*) is an economically valuable industrial culture plant. However, stress of drought and BNYVV (*Beet Necrotic Yellow Vein Virus*) adversely affects sugar quality and sugar yield, limiting sugar beet growing. In order to develop sugar beet varieties resistant to these stress factors, hybrid seeds are produced by hybridizing *Beta vulgaris* and *Beta maritima* species with classical breeding methods, but the obtained varieties do not show sufficient resistance.

Today, as an alternative to classical breeding studies, biotechnological methods used to determine the stress tolerance mechanisms of resistant species come to the fore in order to develop stress resistant plants. The detection of micro RNA (miRNA) that plays a role in the stress response developed by the plant against stress conditions is one of the important methods to understand these tolerance mechanisms.

In this thesis study, small RNA sequencing and bioinformatical analyzes were carried out in order to determine the miRNA profile developed by the wild beet species *Beta corolliflora*, which has tolerance for drought and virus stress, under these stress conditions. As a result of the research, in the *Beta corolliflora* samples, 211 known miRNAs and 6 potential unknown miRNA candidates have been identified and possible target genes and related pathways of these miRNAs have been identified.

2020, 320 pages

Keywords:: miRNA, BNYVV, drought stress, virus stress, *Beta corolliflora*, *Beta vulgaris*, sugar beet.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktara eğitimim süresince tüm bilgi ve birikimini benimle paylaşan, üzerimdeki emeğini unutamayacağım, akademik desteğin ötesinde ihtiyacım olan her anda desteğini esirgemeyen çok değerli hocam Prof. Dr. Ali ERGÜL'e teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimimde ve biyoinformatiğe ilgimin gelişmesinde büyük emeği olan ve tez izleme komitesi üyeliğinde tezime önemli katkılar sunarak bana yol gösteren değerli hocam Doç. Dr. Bala Gür DEDEOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez izleme komitesi üyesi olarak yaptığı yorumlar ve yönlendirmeler ile tezimin gelişmesinde önemli rol oynayan değerli hocam Prof. Dr. Sümer ARAS'a teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca sunduğu desteğin yanında laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı grup arkadaşım Dr. Canan Yüksel ÖZMEN'e teşekkür ederim.

"*Beta corolliflora* Yabani Pancar Türünden Kuraklık ve BNYVV Virüsü (*Beet Necrotic Yellow Vein Virus* = Şeker Pancarı Nekrotik Sarı Damar Virüsü) ile İlişkili miRNA'ların Tanımlanması" isimli ve 17L0415001 numaralı Bilimsel Araştırma Projesi ile desteklenen tezim için Ankara Üniversitesi'ne ve özellikle Ankara Üniversitesi Biyoteknolji Enstitüsünde görevli tüm akademik ve idari personele teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca benim için ellerinden gelenin fazlasını yapabilmek için çaba harcayan canım annem Hacer HANEDAR'a ve kız kardeşim Sevda KİBAR'a sonsuz teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olarak beni destekleyen canım eşim Emine KİBAR'a gösterdiği sabır ve özveri için teşekkür ederim.

"Başarı, kişinin başlangıç noktası ile ulaştığı yer arasındaki farktır."

Orison Swett Marden

*Bu tez çalışması çocuklarım **Rüzgar KİBAR**'a ve **İlke KiBAR**'a adanmıştır.*

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN ..... **I**

ÖZET ..... **II**

ABSTRACT ..... **III**

TEŞEKKÜR ..... **IV**

İÇİNDEKİLER ..... **VI**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **XVII**

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **XXII**

SİMGELER DİZİNİ ..... **XXVI**

1. GİRİŞ **1**

2. KURAMSAL TEMELLER **3**

2.1. ŞEKER PANCARI (*BETA VULGARİS* L.) **3**

2.2. BİTKİLERDE STRESE YANIT MEKANİZMALARI **5**

2.2.1. BİTKİ HORMONLARI 6

2.2.2. OZMOTİK DÜZENLEME 10

2.2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA 10

2.3. KURAKLIK VE VİRÜS STRESİ **12**

2.3.1. KURAKLIK STRESİ 12

2.3.1.1. Kuraklık Stresi ve Transkripsiyon Faktörleri 13

2.3.1.2. Kuraklık Stresi ile İlişkilendirilmiş Genler 17

2.3.2. VİRÜS STRESİ 18

2.3.2.1. Virüs Stresi ve Bitki Yanıtı 19

2.3.2.2. Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü (BNYVV: *Beet Nectoric Yellow Vein Virus*) 22

2.4. MİKRO RNA (MiRNA) 24

2.4.1. MiRNA BİYOGENEZİ 25

2.4.2. MiRNA VE STRES İLİŞKİSİ 27

2.5. *BETA COROLLİFLORA* VE STRES TOLERANSI 37

3. GEREKÇE VE AMAÇ 41

4. MATERYAL VE YÖNTEM 44

4.1. MATERYAL 44

4.2. YÖNTEM 44

4.2.1. *BETA COROLLİFLORA* TOHUMLARININ ÇİMLENDİRİLMESİ VE BİTKİLERİN ELDE EDİLMESİ 44

4.2.2. KURAKLIK STRESİ UYGULANMASI 47

4.2.3. VİRÜS BULAŞTIRMA İŞLEMİ 47

4.2.4. RNA İZOLASYONU 48

4.2.5. VİRÜS BULAŞIKLIĞININ TESPİT EDİLMESİ 50

4.2.5.1. Eş Zamanlı PZR 50

4.2.5.1.1. cDNA Sentezi 50

4.2.5.1.2. Eş Zamanlı PZR Reaksiyonları 51

4.2.5.1.3. Eş Zamanlı PZR Verilerinin Değerlendirilmesi 53

4.2.6. KÜÇÜK RNA DİZİLEME 53

4.2.6.1. Dizileme Öncesi Kalite Ölçümleri 53

4.2.6.2. Küçük RNA Kütüphanesinin Hazırlanması 54

4.2.6.3. Dizileme Sonrası Kalite Ölçümleri 54
4.2.7. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER 55
4.2.7.1. Adaptör Çıkartma ve Filtreleme 57
4.2.7.2. Küçük RNA'ların Belirlenmesi 58
4.2.7.3. Küçük RNA'ların Haritalanması 59
4.2.7.4. Bilinen miRNA'ların Belirlenmesi 60
4.2.7.5. Bilinen miRNA'ların İfade Analizleri 61
4.2.7.6. Kodlanmayan RNA'ların Sınıflandırılması 62
4.2.7.7. Bilinmeyen Küçük RNA'ların Belirlenmesi 63
4.2.7.8. Hedef Analizleri 64
4.2.7.9. Yolak Analizleri 65
4.2.7.10. Ontoloji Analizleri 66
4.2.8. MİRNA VE HEDEF GEN VALİDASYONU 67
4.2.8.1. miRNA Validasyonu 67
4.2.8.1.1. Eş Zamanlı PZR 68
4.2.8.2. Hedef Genlerin Validasyonu 70
4.2.8.2.1. Eş Zamanlı PZR 70
5. ARAŞTIRMA BULGULARI 74
5.1. RNA İZOLASYONU 74
5.2. VİRÜS BULAŞIKLIĞININ ÖLÇÜMÜ 74
5.3. KÜÇÜK RNA DİZİLEME 76

5.3.1. DİZİLEME ÖNCESİ KALİTE ÖLÇÜMÜ 76
5.3.2. KÜÇÜK RNA DİZİLEMESİNDEN ELDE EDİLEN HAM VERİLER 77
5.3.3. DİZİLEME SONRASI KALİTE ÖLÇÜMÜ 77
5.4. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER 79
5.4.1. KÜÇÜK RNA'LARIN BELİRLENMESİ 79
5.4.2. KÜÇÜK RNA'LARIN HARİTALANMASI 80
5.4.2.1. Kültür pancarı (*Beta vulgaris* L.) Genomuna Haritalama 80
5.4.2.2. *Beta corolliflora* RNA dizileme (RNA-seq) Kontiglerine Haritalama 82
5.4.2.3. Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü (BNYVV) Genomuna Haritalama 83
5.4.3. BİLİNEN MiRNA ANALİZLERİ 85
5.4.3.1. Olgun miRNA Analizleri 87
5.4.3.2. Olgun miRNA İfade Analizi 89
5.4.4. KODLANMAYAN RNA SINIFLANDIRMASI 95
5.4.5. BİLİNMEYEN KÜÇÜK RNA ANALİZLERİ 96
5.4.6. HEDEF ANALİZLERİ 98
5.4.6.1. Bilinen MİRNA'ların Hedef Analizi 98
5.4.6.2. Potansiyel miRNA Adaylarının Hedef Analizi 100
5.4.7. YOLAK ANALİZLERİ 101
5.4.8. ONTOLOJİ ANALİZLERİ 102
5.5. MiRNA VE HEDEF GEN VALİDASYONU 103
5.5.1. MiRNA VALİDASYONU 103
5.5.2. HEDEF GENLERİN VALİDASYONU 106
6. TARTIŞMA VE SONUÇ 111

6.1. TARTIŞMA 111

6.1.1. STRES FAKTÖRLERİNE YÖNELİK ÖNE ÇIKAN MİRNA'LAR 112

6.1.1.1. Virüs Stresine Yönelik Olarak Öne Çıkan miRNA'lar 113

6.1.1.2. Kuraklık Stresine Yönelik Olarak Öne Çıkan miRNA'lar 118

6.1.1.3. Virüs ve Kuraklık Stresine Yönelik Olarak Öne Çıkan miRNA'ların ve Hedef Genlerinin Değerlendirilmesi 119

6.1.2. YOLAKLARLA İLİŞKİLİ TESPİT EDİLEN MİRNA'LAR 125

6.1.2.1. Bitki Hormon Yolakları 126

6.1.2.2. Nişasta ve Sükroz Metabolizma Yolağı 130

6.1.3. POTANSİYEL MİRNA ADAYLARI 133

6.2. SONUÇ 134

KAYNAKLAR 137

EKLER 171

Ek 1: Ham okuma verilerinden adaptör çıkartma işleminde kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü 171

Ek 2: Ham okuma verilerinden adaptör çıkartma ve uzunluk işleminde kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü 172

Ek 3: Adaptör çıkarma ve uzunluk filtreleme işleminden sonra çoklu nükleotid tekrarları içeren dizilerin çıkartılması için kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü 173

Ek 4: Adaptör dizileri çıkartılmış ve uzunluk filtrelemesi yapılmış dizilerden en az 5 okumaya sahip dizilerin filtrelenmesine ait ekran görüntüsü 174

Ek 5: Analizlere devam edilen dizilerin *Beta Vulgaris* genomuna haritlanması için kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü 175

Ek 6: Analizlere devam edilen dizilerin *Beta Corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalanması için kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü 176

Ek 7: Bilinen miRNA'ların belirlenmesi amacıyla miRBase anotasyonu sırasında kullanılan türlerin listesi 177

Ek 8: Bilinen miRNA'ların belirlenmesi amacıyla miRBase anotasyonu sırasında kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü 178

Ek 9: Ribosomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA), küçük nüklear RNA (snRNA) ve küçük nükleolar RNA (snoRNA)'ların belirlenmesi için yapılan BLAST'a ait parametrelerin ekran görüntüsü 179

Ek 10: BNYVV genomuna haritalanma için kullanılan parametrelerin ekran görüntüsü. 180

Ek 11: miRNA, öncü RNA, diğer RNA'lar ve *Beta vulgaris*'e ait CDS (coding sequences, kodlanan diziler) dizileri ile yapılan BLAST'a ait parametrelerin ekran görüntüsü 181

Ek 12: Potansiyel miRNA adaylarının muhtemel saç tokası yapılarının belirlenmesi için kullanılan miRCat programına ait parametrelerin ekran görüntüsü 182

Ek 13: Hedef analizlerinde kullanılan psRNATarget web sunucusuna ait parametlerin ekran görüntüsü 183

Ek 14: Hedef olarak belirlenen genlerin ID'leri ile Ensembl plant veritabanından elde edilen cDNA dizilerine ait örnek görüntü (cDNA dizilerinin tamamı CD'de Ek 14 olarak verilmiştir) 184

Ek 15: Yolak analizlerinde kullanılan KEGG-KAAS modülüne ait parametrelerin ekran görüntüsü 185

Ek 16: Dizilemede kullanılan RNA örneklerine ait Tape Station ölçüm değerlerine ait grafikler 186

Ek 17: Dizileme sonrası kalite ölçümlerine ait veriler CD'de Ek 17 olarak verilmiştir 187

Ek 18: Adaptör dizilerin çıkartılması ve dizi uzunluklarının filtrelenmesi, tekrarlı nükleotidlerin çıkartılması, en az 5 okumaya sahip dizilerin saydırılması sonucunda elde edilen verilere ait ekran görüntüsü (Tüm veriler CD'de Ek 18 olarak verilmiştir) 188

Ek 19: Küçük RNA dizilerinin *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri CD'de Ek 19 olarak verilmiştir 189

Ek 20: Küçük RNA dizilerinin *Beta corolliflora* RNA-dizileme (RNA-Seq) kontiglerine haritalama verileri CD'de Ek 20 olarak verilmiştir..... 190

Ek 21: BNYVV genomuna haritalama verileri CD'de Ek 21 olarak verilmiştir 191

Ek 22: miRBase anotasyon sonucunda küçük RNA dizileri ile eşleşen bilinen miRNA'ların olgun (mature), öncü (precursor) ve varyant olarak gruplandırılmasına ait ekran görüntüsü (Anotasyona ait tüm veriler CD'de Ek 22 olarak verilmiştir)..... 192

Ek 23: Küçük RNA dizilerinin miRBase anotasyonu sonucunda eşleştiği olgun miRNA'lar, varyantlar dahil gruplandırılmış ifade değerleri (VR-sRNA göre sıralı) 193

Ek 24: Küçük RNA dizileri ile eşleşen olgun miRNA'ların TPM (transcripts per million) normalizasyon sunucuna göre kontrol ve virüs stresi uygulanmış örneklerde ifade kat değişimleri 200

Ek 25: Küçük RNA dizileri ile eşleşen olgun miRNA'ların TPM (transcripts per million) normalizasyon sunucuna göre kontrol ve kuraklık stresi uygulanmış örneklerde ifade kat değişimleri 209

Ek 26: Küçük RNA dizileri ve gerçekleştirilen BLAST işlemi sonucu elde edilen sınıflandırma CD'de Ek 26 olarak verilmiştir..... 213

Ek 27: BLAST sonucu eşleşme göstermeyen ve saç tokası yapısı analizinde kullanılan diziler CD'de Ek 27 olarak verilmiştir..... 214

Ek 28: miRCat programı ile saç tokası yapısı belirlenen küçük RNA'lar, saç tokası dizileri ve kaynakları..... 215

Ek 29: Bilinmeyen küçük RNA'ların ve saç tokası yapılarının değerlendirilmesi CD'de Ek 29 olarak verilmiştir 227

Ek 30: Saç tokası yapısı belirlenen küçük RNA dizilerinin kodlanmayan RNA'lar ile gerçekleştirilen BLAST sonucu..... 228

Ek 31: Saç tokası dizilerin kodlanmayan RNA'lar ve protein dizileri ile BLAST sonucu 232

Ek 32: miRBase veritabanında kayıtlı miRNA dizileri (V.22) CD'de Ek 32 olarak verilmiştir 244

Ek 33: Saç tokası yapıları bakımından potansiyel miRNA adayı olarak değerlendirilmesine karar verilemeyen küçük RNA ve saç tokası dizileri 245

Ek 34: Saç tokası yapıları bakımından potansiyel miRNA adayı olarak değerlendirilmesine karar verilemeyen küçük RNA'lar ve saç tokası yapıları 246

Ek 35: Bilinen miRNA'lar ile eşleşen dizilerin hedef gen analiz sonuçlarına ait örnek ekran görüntüsü 247

Ek 36: miRBase anotasyonu sonucunda bilinen miRNA (tüm varyantlar dahil) dizileri ile eşleşen küçük RNA dizilerinin hedef genleri CD'de Ek 36 olarak verilmiştir..... 248

Ek 37: Küçük RNA dizileri ile eşleşen olgun miRNA'ların hedef analizi sonuçları..... 249

Ek 38: Bilinen miRNA'lar ile eşleşen dizilerin *Arabidopsis thaliana*'da hedefledikleri genlerin KEGG ortoloji analizi sonucunda etkilendiği belirlenen yolaklar ve gen sayıları CD'de Ek 38 olarak verilmiştir..... 264

Ek 39: Kuraklık stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "amino şeker ve nükleotid şeker metabolizması" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir) 265

Ek 40: Kuraklık stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "glisin,

serin ve threonin metabolizması" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir) 266

Ek 41: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "tüm metabolik yolaklar" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (kırmızı çizgiler etkilenen yolakları ifade etmektedir) 267

Ek 42: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "endositoz yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 268

Ek 43: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "ribozom yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 269

Ek 44: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "splayzozom yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 270

Ek 45: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "viral karsinogenesis" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 271

Ek 46: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "RNA taşıma yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 272

Ek 47: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "bitki

hormon sinyal yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 273

Ek 48: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "termogenesis yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 274

Ek 49: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "oksidatif fosforilasyon" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 275

Ek 50: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "hücre döngüsü" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 276

Ek 51: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "mRNA izleme yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 277

Ek 52: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "protein işlenmesi" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 278

Ek 53: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "transkripsiyon faktörleri" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)..... 279

Ek 54: Gen ontoloji analizi sonuçları (Analizler CD'de Ek 54 olarak verilmiştir) 280

Ek 55: miRNA validasyonunda RT-PCR sonucunda elde edilen ifade seviyelerinin karşılaştırılmasında kullanılan küçük RNA dizilerinin ham ifade değerleri 281

Ek 56: miRNA validasyonu için gerçekleştirilen RT-PCR verileri (Örneklere ait Ct değerleri ortalamaları) 282

Ek 57: miRNA ve hedef gen validasyonu için gerçekleştirilen korelasyon analizleri CD'de Ek 57 olarak verilmiştir 283

Ek 58: Hedef gen validasyonunda RT-PCR sonucunda elde edilen ifade seviyelerinin karşılaştırılmasında kullanılan küçük RNA dizilerinin ham ifade değerleri 284

Ek 59: Hedef gen validasyonu için gerçekleştirilen RT-PCR verileri (Örneklere ait Ct değerleri ortalamaları) 285

Ek 60: Kontrol örneği ile virüs stresi uygulanmış örnekte olgun miRNA ifade farklılık değerlerinin miRNA varyantları ve hedef genlerine göre değerlendirilmesi 286

Ek 61: Kontrol örneği ile virüs stresi uygulanmış örnekte olgun miRNA ifade farklılık değerlerinin miRNA varyantları ve hedef genlerine göre değerlendirilmesi 298

Ek 62: miR390 ve hedef geni TAS3'e ait hedef analizi..... 303

ÖZGEÇMİŞ 304

TEZDEN ÇIKAN YAYINLAR..... 305

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Yıllık toplam alansal yağış normalleri (1981-2010) ve en çok şeker pancarı yetiştirilen iller ve üretimdeki yüzde oranları. 4

Şekil 2.2. ABA sinyal yolağı (73). 7

Şekil 2.3. GA sinyal yolağı (73). 7

Şekil 2.4. Oksin sinyal yolağı (73). 8

Şekil 2.5. Sitokinin sinyal yolağı (73). 9

Şekil 2.6. Etilen sinyal yolağı (73). 9

Şekil 2.7. BNYVV genom yapısı (BNYVV virüsüne ait her bir RNA, 5' cap ve 3' polyA kuyruğu taşımaktadır. MTR: metiltransferaz, HEL: helikaz, PRO: proteinaz, POL: polimeraz (RNA-bağımlı RNA polimeraz), CP: kapsül proteini, ASS: montaj bölgesi, TRA: transmisyon, RT: readthrough protein, TGB: üçlü gen bloğu, CYS: sistein zengin protein, SYM: semptom ifadesi, N:nekroz (237,238)). 23

Şekil 2.8. Bitki miRNA biyogenezi (276). 26

Şekil 4.1. *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait tohumların asitle muamelesi ve binoküler altında embriyoların çıkartılmasına ait genel görünüm. 45

Şekil 4.2. Çimlendirme ortamındaki *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm. 45

Şekil 4.3. Köklendirme ortamındaki *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm. 46

Şekil 4.4 Toprağa şaşırtılmış *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm. 46

Şekil 4.5. Kuraklık stresi uygulanmış *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm. 47

Şekil 4.6. *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipinin virüs bulaşık toprakta genel görünümü. 48

Şekil 4.7. *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipinin virüs bulaştırılmış köklerinin görünümü. 48

Şekil 4.8. Roche Light Cycler LC 480 Eş Zamanlı PZR aleti (Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü SİSBİYOTEK Laboratuvarı). 50

Şekil 4.9. Küçük RNA-dizileme örnek hazırlama basamakları. 54

Şekil 4.10. Analiz basamakları şeması. 57

Şekil 4.11. CLC-GW programında açılan ve filtrelenen dizilere ait örnek ekran görüntüsü. 58

Şekil 4.12. Adaptör çıkartma, uzunluk filtreleme ve en az 5 okumaya sahip dizilerin filtrelenmesi sonucunda analizlere devam edilen dizilerde aynı olan dizilerin ifade sayılarına (count) ait örnek ekran görüntüsü. 59

Şekil 4.13. KN-sRNA'nın *Beta vulgaris*'in kromozom1-scaffold (iskele)-1 dizisine haritalanmasına ait örnek ekran görüntüsü. 60

Şekil 4.14. miRBase anotasyonu sonucunda küçük RNA dizileri ile eşleşen bilinen miRNA'ların olgun (mature), öncü (precursor) ve varyant olarak gruplandırılmasına ait örnek ekran görüntüsü. 61

Şekil 4.15. BLAST işlemine ait örnek ekran görüntüsü. 63

Şekil 4.16. miRCat programının örnek ekran görüntüsü. 64

Şekil 4.17. psRNATarget web sunucusuna ait örnek ekran görüntüsü. 65

Şekil 4.18. KEGG-KAAS web sunucusuna ait örnek ekran görüntüsü. 66

Şekil 4.19. Panther web sunucusuna ait örnek ekran görüntüsü. 67

Şekil 4.20. miRNA'ların cDNA'ya çevrilmesi. 68

Şekil 4.21. Primer dizaynına ait örnek ekran görüntüsü. 71

Şekil 5.1. KN-RNA, VR-RNA, KR-RNA örneklerine ait görüntü (%1'lik agaroz jel). 74

Şekil 5.2. VR-RNA örneğinden sentezlenen cDNA'ya ait örnek görüntü (%1' lik agaroz jel). 75

Şekil 5.3. RNA örneklerine ait TapeStation ölçümlerinin jel görüntüsü A1: ladder, B1: KN-RNA, C1: VR-RNA, D1: KR-RNA. 77

Şekil 5.4. Tüm örneklere ait Q skor dağılımı. 78

Şekil 5.5. KN-RNA örneğine ait okumaların/küçük RNA dizilerinin (KN-sRNA) Q skoru ve GC içeriği. 78

Şekil 5.6. VR-RNA örneğine ait okumaların/küçük RNA dizilerinin (VR-sRNA) Q skoru ve GC içeriği. 79

Şekil 5.7. KR-RNA örneğine ait okumaların/küçük RNA dizilerinin (KR-sRNA) Q skoru ve GC içeriği. 79

Şekil 5.8. Küçük RNA uzunluk dağılımları. 80

Şekil 5.9. *Beta vulgaris* genomuna haritalamaya ait örnek görüntü. 82

Şekil 5.10. VR-sRNA'nın BNYVV genomundaki 5 RNA dizisine haritalanma görüntüsü. 85

Şekil 5.11. Olgun miRNA'lara ait venn diyagramı. 88

Şekil 5.12. Potansiyel miRNA adaylarının saç tokası yapıları. 97

Şekil 5.13. Potansiyel miRNA adaylarının hedef gen analizine ait ektan görüntüsü. 100

Şekil 5.14. Ontoloji analizi grafiği. 103

Şekil 5.15. U6 ve Potansiyel miRNA primerlerinin tüm örneklerde amplifikasyon eğrisi grafiği. 103

Şekil 5.16. Virüs stresi uygulanmış örneğe ait validasyon grafiği. 104

Şekil 5.17. Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde validasyon sonucunda miRNA'lardan elde edilen ifade değerleri korelasyon grafiği. 105

Şekil 5.18. Kurak stresi uygulanmış örneğe ait validasyon grafiği. 106

Şekil 5.19. Kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde validasyon sonucunda miRNA'lardan elde edilen ifade değerleri korelasyon grafiği. 106

Şekil 5.20. Hedef gen analizleri için sentezlenen cDNA'lara ait jel görüntüsü (%1' lik agaroz jel). 107

Şekil 5.21. Histon H3.3 genine ait standart eğri, erime eğrisi (melting curve) ve amplifikasyon eğrisi grafiği. 107

Şekil 5.22. Virüs stresi uygulanmış örneğe ait miRNA ve hedef geninin validasyon grafiği. 108

Şekil 5.23. Virüs stresi uygulanmış örnekte miRNA ifade seviyesi ile hedef gen ifade seviyeleri korelasyon grafiği. 109

Şekil 5.24. Kurak stresi uygulanmış örneğe ait miRNA ve hedef geninin validasyon grafiği. 110

Şekil 5.25. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miRNA ifade seviyesi ile hedef gen ifade seviyeleri korelasyon grafiği. 110

Şekil 6.1. Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde tespit edilen miRNA'lar, miRNA-ifade kat değişimleri ve hedef genleri. 114

Şekil 6.2. Virüs stresi sonucu *Beta corolliflora* kök dokusunda belirlenen bilinen olgun miRNA (varyantları dahil) ifade profilleri ile *Beta macrocarpa* yaprak dokusunda belirlenen bilinen olgun miRNA (varyantları dahil) ifade profillerine ait ven diyagramı (+5, kontrol örneğinde ifadesi hiç bulunmayan miRNA'lar). 115

Şekil 6.3. Kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde tespit edilen miRNA'lar, miRNA-ifade kat değişimleri ve hedef genleri. 118

Şekil 6.4. miR162, miR168 ve miR403'ün hedef genleri ve hedef bölgeleri. 122

Şekil 6.5. ABA sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar. 129

Şekil 6.6. Oksin sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar. 129

Şekil 6.7. Giberillin sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar 129

Şekil 6.8. Sitokinin sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar. 130

Şekil 6.9. Nişasta ve sükroz metabolizma yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar 132

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Enzimatik antioksidanlar ve reaksiyon örnekleri. 11

Çizelge 2.2. Önemli transkripsiyon faktörü aileleri ve promotor bölgede pozisyon sıklık matriksine (PFM) dayalı olarak bağlandıkları düzenleyici element diziler. 14

Çizelge 2.3. Önemli bitki virüs cins, tür ve vektörleri (202,204). 19

Çizelge 2.4. Bazı miRNA'lar ve hedef genleri. 28

Çizelge 2.5. Bitki virüsleri ve etkilenen miRNA'lar. 32

Çizelge 4.1. RNA-Primer karışımının hazırlanması. 51

Çizelge 4.2. Ters transkripsiyon (rt, revers transcription) karışımı. 51

Çizelge 4.3. Eş Zamanlı PZR analizlerinde kullanılan Taqman primer/prob çifti dizileri (İ: İleri primer, G: Geri primer). 52

Çizelge 4.4. Taqman primer/prob optimizasyon koşulları. 52

Çizelge 4.5. Küçük RNA dizilemede kullanılan stres-kontrol materyalleri ve RNA örnekleme kodları. 53

Çizelge 4.6. cDNA Sentezi için kullanılan komponentler. 69

Çizelge 4.7. Eş Zamanlı PZR için kullanılan komponentler. 69

Çizelge 4.8. Tasarlanan Eş Zamanlı PZR primerleri. 70

Çizelge 4.9. İfade analizleri için belirlenen hedef gen ID'leri, housekeeping gen olarak seçilen Histon H3.3 ve hedef genlerin ifade analizleri için Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında kullanılan primer dizileri (İ: İleri primer, G: Geri primer). 72

Çizelge 4.10. SYBR Green primer optimizasyon koşulları (Tm: optimize edilen primer bağlanma sıcaklığı). 73

Çizelge 5.1. KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örneklerine ait ait nanodrop (ND-1000) ölçümleri. 74

Çizelge 5.2. VR-RNA örneğinden sentezlenen cDNA'ya ait nanodrop (ND-1000) ölçümü. 75

Çizelge 5.3. BNYVV-RNA1, 2, 3, 4, 5 bölgelerine ait Ct (cycle threshold) değerleri. 75

Çizelge 5.4. RNA örneklerine ait nanodrop ölçümleri. 76

Çizelge 5.5. Küçük RNA dizileme veri özeti. 77

Çizelge 5.6. Trim ve filtreleme sonuçları. 80

Çizelge 5.7. KN-sRNA'nın *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri. 81

Çizelge 5.8. VR-sRNA'nın *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri. 81

Çizelge 5.9. KR-sRNA'nın *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri. 81

Çizelge 5.10. KN-sRNA'nın *Beta corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalama verileri. 83

Çizelge 5.11. VR-sRNA'nın *Beta corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalama verileri. 83

Çizelge 5.12. KR-sRNA'nın *Beta corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalama verileri. 83

Çizelge 5.13. KN-sRNA'nın BNYVV genomuna haritalanma verileri. 84

Çizelge 5.14. VR-sRNA'nın BNYVV genomuna haritalanma verileri. 84

Çizelge 5.15. KR-sRNA'nın BNYVV genomuna haritalanma verileri. 84

Çizelge 5.16. miRBase anotasyon sonuçları. 86

Çizelge 5.17. miRBase anotasyon detayları (olgun, öncü, varyant). 86

Çizelge 5.18. Bilinen miRNA'lar ile eşleşen en fazla ifade değerine sahip küçük RNA dizileri (gruplandırılmamış olgun, öncü ve varyantlar dahil, virüs stresine göre sıralı). 87

Çizelge 5.19. KN-sRNA'da en fazla ifade değerine sahip küçük RNA'ların eşleştiği olgun miRNA'lar (grup 2)..... 88

Çizelge 5.20. VR-sRNA'da en fazla ifade değerine sahip küçük RNA'ların eşleştiği olgun miRNA'lar (grup 2)..... 89

Çizelge 5.21. KR-sRNA'da en fazla ifade değerine sahip küçük RNA'ların eşleştiği olgun miRNA'lar (grup 2)..... 89

Çizelge 5.22. KN-sRNA ve VR-sRNA'ya ait her iki örnekte de ifadesi olan miRNA'ların orjinal ifade değerleri ve normalize edilmiş ifade değerlerine göre kat değişimleri. 90

Çizelge 5.23. KN-sRNA ve KR-sRNA'ya ait her iki örnekte de ifadesi olan miRNA'ların orjinal ifade değerleri ve normalize edilmiş ifade değerlerine göre kat değişimleri. 93

Çizelge 5.24. BLAST sonuçları (okumalar). 96

Çizelge 5.25. Potansiyel miRNA adayları, ifade değerleri ve saç tokası dizileri. 98

Çizelge 5.26. Bilinen miRNA ile eşleşen küçük RNA dizileri ve hedef analizi örnekleri.. 99

Çizelge 5.27. Potansiyel miRNA adaylarının hedef analizi sonuçları. 101

Çizelge 5.28. KEGG ortoloji analizinde öne çıkan yolaklar. 102

Çizelge 5.29. miRNA adaylarının etkilediği hedef genlerin yer aldığı yolaklar. 102

Çizelge 5.30. Virüs stresi uygulanmış örnek için validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve relatif ifade farklılıkları (Ek 55-56). 104

Çizelge 5.31. Kuraklık stresi uygulanmış örnek için validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve relatif ifade farklılıkları (Ek 55-56).105

Çizelge 5.32. Örneklere ait cDNA nanodrop ölçüm değerleri. 107

Çizelge 5.33. Virüs stresi uygulanmış örnek için hedef gen bakımından validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve hedef genlerin relatif ifade farklılıkları (Ek 58-59)..... 108

Çizelge 5.34. Kuraklık stresi uygulanmış örnek için hedef gen bakımından validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve hedef genlerin relatif ifade farklılıkları (Ek 58-59)..... 109

Çizelge 6.1. Bitki hormon sinyal yolağında hedeflenen genler ve hedefleyen miRNA'lar. 127

Çizelge 6.2. Virüs stresi uygulanmış örnekte nişasta ve sükroz metabolizma yolağında hedeflenen genler ve hedefleyen miRNA'lar..... 131

Çizelge 6.3. Potansiyel miRNA adayları, hedef genleri ve ifade değerleri..... 133

SİMGELER DİZİNİ

^{o}C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
ABA	: Absisik Asit
Ar-Ge	: Araştırma-Geliştirme
BLAST	: Temel Yerel Hizalama Arama Aracı
BNYVV	: Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü
BR	: Brassinosteroid
cDNA	: Komplementer/Tamamlayıcı DNA (Complementary DNA)
CDS	: Kodlanan Dizi (Coding Sequence)
CK	: Sitokinin
CO_2	: Karbondioksit
Ct	: Eşik döngü değeri (Cycle threshold)
ddCt	: Delta delta Ct
ddH_2O	: Çift distile su
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotit trifosfat
dT	: Deoksitimin
ELISA	: Enzim-Bağlı İmmüboSorban Yöntem
ET	: Etilen
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
g	: Gram
GA	: Giberillik Asit
H_2O_2	: Hidrojen Peroksit
H_2SO_4	: Sülfürik Asit

HR	: Aşırı Duyarlı Reaksiyon (Hypersensitive Reaction)
IAA	: Oksin
ID	: Kimlik (Identification)
JA	: Jasmonik Asit
Kb	: Kilobaz
kDa	: Kilodalton
L	: Litre
Mb	: Megabaz
mg	: Miligram
miRNA	: Küçük RNA (mikro RNA, micro RNA)
Mix	: Karışım
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
mRNA	: Mesajcı RNA
ng	: Nanogram
NGS	: Yeni Nesil Dizileme
nt	: Nükleotit
Oligo-dT	: Çoklu deoksitimin
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
pmol	: Pikomol
pre-miRNA	: Öncü Küçük RNA (precursor RNA)
pri-miRNA	: Birincil Küçük RNA (primary micro RNA)
r	: Korelasyon katsayısı
RIN	: RNA Bütünlük Sayısı (RNA Integrity Number)
RNA	: Ribo Nükleik Asit

ROS	: Serbest Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı (Rounds Per Minute)
rRNA	: Ribosomal RNA
rt	: Ters transkripsiyon (revers transcription)
SA	: Salisilik Asit
SAR	: Sistemik Kazanılmış Direnç (Systemic Acquired Resistance)
siRNA	: Kısa-müdahele eden RNA (short-interfering RNA)
snoRNA	: Küçük Nükleolar RNA
snRNA	: Küçük Nüklear RNA
Tm	: Erime sıcaklığı
TPM	: Milyon Başına Transkript (Transcripts Per Million)
tRNA	: Transfer RNA
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

1. GİRİŞ

Bitkilerin gelişimini ve büyümesini sınırlayan en önemli etkenler arasında abiyotik ve biyotik stres faktörleri yer almaktadır. Olumsuz ekolojik koşullardan kaynaklanan kuraklık, tuz ve soğuk gibi abiyotik stres faktörleri ile virüs, nematod ve mantar gibi biyotik stres faktörleri bitkilerde verimi ve ürün kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir.

Dünyada ve Türkiye'de tarım sektörünün önemli endüstri bitkileri arasında yer alan şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.), kuraklık ve Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü (BNYVV= *Beet Necrotic Yellow Vein Virus*) stresinden doğrudan etkilenmekte ve bu stres faktörleri pancar verimini, şeker oranını ve şeker kalitesini ciddi oranda azaltmaktadır (1–4). Bu sebeple şeker pancarı yetiştiriciliği kısıtlanmaktadır.

Kuraklık stresine tolerant ve virüs stresine dayanıklı şeker pancarı çeşitlerinin geliştirilmesi amacıyla yapılan melezleme ıslahı çalışmaları daha çok BNYVV stresine karşı dirençli (dayanıklı) hatları ve bunlardan hibrit çeşitleri elde etmeye odaklanmış durumdadır (1,5,6).

Günümüzde BNYVV virüsüne dayanıklılık kaynağı olarak yabani pancarlar kullanılmakta ve hibrit tohumların üretimi, kültür pancarı ile aynı seksiyonda (*Beta* seksiyonu) yer alan *Beta maritima* türünün *Beta vulgaris* L. ile melezlenmesiyle sağlanmaktadır (7,8). Bu melezleme sonucu elde edilen hatlar veya ticari çeşitler ise melezlemede kullanılan genotiplerin dayanıklılığına ve hibrit genomdaki genlerin kantitatif kalıtımına bağlı olarak çoğunlukla kısmi dayanıklılık göstermektedir (9–12). *Corollinae* yabani pancar seksiyonu türlerinden *Beta corolliflora* ise virüs ve abiyotik streslere önemli oranda dayanıklılık gösteren bir türdür (13–19). Ancak *Beta corolliflora*'dan kültür pancarına dayanıklılığın aktarılması için ıslah ile yapılacak genetik rekombinasyonlar farklı seksiyonlar arası melezleme bariyerlerinden dolayı (kromozomlar arası homolojilerdeki noksanlıklar gibi) uzun süren çalışmaları gerektirmekte ve bitki eldesinde sorunlarla (hibrit tohumların zor çimlenmesi, bitkilerin jeneratif aşamaya geçmeden ölmesi vb.) karşılaşılmaktadır (13,20–22).

Biyoteknoloji alanında sağlanan gelişmelerle birlikte stres koşullarına daha dayanıklı bitkileri geliştirmek amacıyla uygulanmakta olan klasik ıslah yöntemlerinin yerini, moleküler düzeyde yürütülen fonksiyonel genom araştırmalarının aldığı görülmektedir. Bu

sayede türler arası melezleme bariyerlerinin aşılabilmesi ve ıslah sürelerinin kısaltılması mümkün olmaktadır. Bu gelişmelere paralel olarak DNA ve RNA dizileme platformları da hızla gelişmekte ve strese karşı daha dayanıklı bitkiler elde etmek amacıyla aday genlerin belirlenmesi ve bu genlerin fonksiyonlarının araştırılması kolaylaşmaktadır.

Bitkiler tarafından biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı gen ifade seviyesinin düzenlenmesinde RNA susturma mekanizması önemli rol oynamaktadır. RNA susturma mekanizmasının önemli bir bileşeni olan mikro RNA'lar (miRNA), bir genin transkripsiyonu sonrasında, hedef mRNA'yı parçalayarak ya da hedef mRNA'nın translasyonunu baskılayarak gen ifade seviyesini düzenler (Bölüm 2.4.).

Bu çalışmada, şeker pancarı ıslahı çalışmalarında pratik olarak kullanılmayan, *Beta corolliflora* yabani pancar türünün köklerinde stres koşulları altında kuraklığa tolerant ve Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü'ne dayanıklılıkla ilişkili genom boyutlu miRNA profilinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Bu kapsamda I) *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait tohumların çimlendirilmesi ve bitkiye dönüştürülmesi, II) kuraklık ve BNYVV stresi uygulanması, örneklerin kök dokularından RNA izolasyonu, III) her iki stres koşulu için miRNA dizilemesi ve biyoinformatik analizler gerçekleştirilmiştir.

Kuraklık ve BNYVV stresi uygulanmış *Beta corolliflora* örneklerinde, bilinen ve bilinmeyen miRNA'lar tespit edilerek, strese yanıt veren miRNA'lar ve bu miRNA'ların muhtemel hedef genleri ile ilgili yolaklar belirlenmiştir. Tez bulguları ile *Beta vulgaris*-yabani türler arasında iki strese karşı geliştirilen toleransın miRNA seviyesinde daha iyi anlaşılması hedeflenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. ŞEKER PANCARI (*Beta vulgaris* L.)

Kültür pancarı *Beta vulgaris* L. türü botanik sınıflandırmada *Amaranthaceae/ Chenopodiaceae* familyası, *Betoideae* alt familyası, *Beta* cinsinde yer almaktadır. *Beta* cinsi; *Beta, Corollinae, Nana ve Procumbentes* olmak üzere dört seksiyondan oluşmaktadır (23). *Beta vulgaris,* 2n=18 kromozoma sahip çift çenekli iki yıllık bitkidir. Türün referans genomu Dohm ve arkadaşları (2014) tarafından dizilenmiştir. Dizileme verilerine göre şeker pancarı 567 Mb (megabaz) boyutunda genom büyüklüğüne sahiptir ve diğer bitki türleri ile dizi homolojisi gösteren 27.421 adet protein kodlayan gen belirlenmiştir (24).

Endüstriyel bir bitki olan şeker pancarı tarım sektörünün ekonomik değeri yüksek olan en önemli türleri arasında yer almaktadır. Önceleri özellikle hayvan yemi olarak kullanılan şeker pancarının, şeker kaynağı olarak değerlendirilebileceği 18. yüzyılda keşfedilmiştir[1] (25). Önemli şeker kaynağı şeklinde değerlendirilmeye başlanması ise 19. yüzyılın başlarında mümkün olmuştur (26). Pancardan şeker üreten ilk fabrika 1802 yılında Achard tarafından kurulmuştur. Ülkemizde ise ekonomik boyutlarda üretime 1926 yılında Uşak'ta işletmeye açılan ilk şeker fabrikası ile başlanmıştır (27).

Dünyada üretilen şekerin esas kaynağını oluşturan şeker pancarı ve şeker kamışı üretimi 1960 yılından günümüze 3,5 kat artış göstermiştir (28). Aynı dönemde dünya nüfus artışı ise 2,5 kattır (29). Bu durum şeker tüketiminin hızla arttığını göstermektedir.

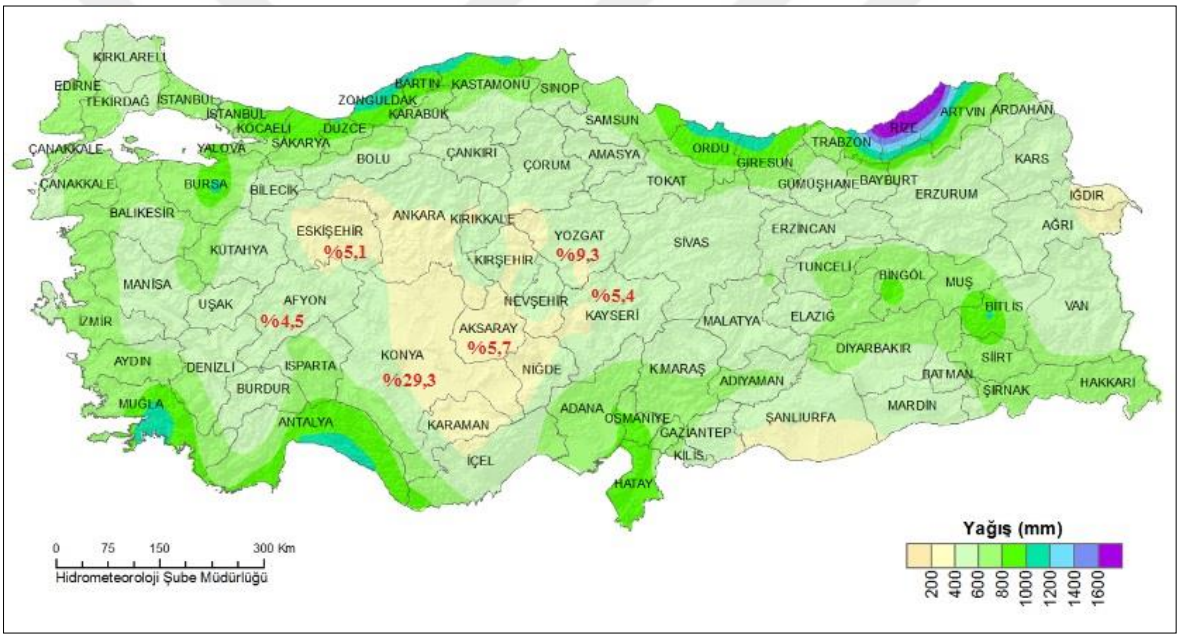
FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) tarafından yayınlanan 2017 yılı verilerine göre dünya şeker kamışı ve şeker pancarı üretimi yaklaşık 2 milyar 140 bin ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin 1 milyar 840 bin tonu (%86'sı) şeker kamışı, 300 bin tonu (%14'ü) ise şeker pancarıdır. Verilere göre Türkiye'nin 2017 yılı şeker pancarı üretimi 21 milyon ton olup, bu miktar dünya şeker pancarı üretiminin %7'sidir. Ülkemiz

[1] 1799 yılında Dr. Scherer tarafından Van Mons'a gönderilen mektupta Berlin Royal Akademisinde yönetici olan Franz Karl Achard tarafından pancar kökünden şeker ekstraktının nasıl yapıldığı anlatılmakta ve bu metin ilgili yayında yer almaktadır.

şeker pancarı üretim miktarı bakımından Rusya, Fransa, Almanya ve Amerika Birleşik Devletlerinin ardından dünyanın en büyük 5. üreticisi konumundadır (28).

TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) tarafından yayınlanan 2018 yılı verilerine göre Türkiye'de yaklaşık şeker pancarı üretimi 19 milyon tondur. En çok şeker pancarı üretilen İller arasında Konya (%29,3), Yozgat (%9,3), Aksaray (%5,7), Kayseri (%5,4) Eskişehir (%5,1) ve Afyonkarahisar (%4,5) yer almaktadır (30).

Şeker pancarı yetiştiriciliğinde kuraklık önemli bir sorundur. Kuraklık sebebiyle şeker veriminde %50'ye ulaşan kayıplar olabilmektedir (2,4). Ülkemizde şeker pancarının yoğun olarak yetiştirildiği yerlerde yıllık ortalama yağış miktarı 400-600 mm arasındadır (31) (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Yıllık toplam alansal yağış normalleri (1981-2010) ve en çok şeker pancarı yetiştirilen iller ve üretimdeki yüzde oranları.

Yetiştirme alanlarına düşen yağış oranları dikkate alındığında, yetiştiricilik için deniz ikliminin hakim olduğu alanların yaklaşık üçte ikilik bölümünde 2-4 defa sulama yapılması gerekirken diğer iklim alanlarının tamamına yakınında 3-6 defa sulama yapılması gerekmektedir (32). Su noksanlığı yetiştiriciliği kısıtlarken, sulama ihtiyacı da üretim maliyetlerini artırmaktadır.

Şeker pancarı su noksanlığı stresine yanıt olarak ürettiği osmoprotektanlar ile kuraklık koşullarına adaptasyon sağlarken, oluşan bileşikler nedeniyle köklerde biriken şeker kalitesi olumsuz etkilenmektedir (33,34). Pancar yetiştiriciliğinde sulama ihtiyacının dolayısıyla sulama giderlerinin azaltılması ve kuraklık stresinden kaynaklanacak ürün kalite kayıplarının azaltılması için farklı stratejilerle (biyoteknoloji, ıslah vb) kurağa dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (35,36).

Pancar yetiştiriciliğinde diğer önemli bir sorun ise kök sakallanması olarak bilinen rizomanya (rhizomania) hastalığıdır. Ülkemizde ve dünyada şeker pancarı yetiştirilen alanların önemli bir bölümü rizomanya hastalığı ile bulaşıktır (37–41). BNYVV'nin sebep olduğu rizomanya hastalığı şeker pancarına ekonomik olarak zarar veren en önemli virüs kaynaklı hastalıktır. Hastalık bitkilerin şeker içeriğinde, kök ve şeker veriminde çok ciddi kayıplara neden olmaktadır (1,3,42).

Kaya (2009), rizomanya hastalığına karşı yapılan kültürel mücadeleyi "virüs bulaşık alanlarda virüs miktarının azaltılması amacıyla soğuk topraklara erken ekim yapılarak, sulama miktarı azaltılarak ve münavebe uygulaması gibi kültürel tedbirler alınarak hastalıkla mücadele edilmeye çalışılmaktadır" şeklinde ifade etmiştir (38,43). Ancak rizomanya hastalığı ile mücadele edebilmek için yeni ve daha etkili genetik kaynakların araştırılması gerekmektedir (44).

2.2. BİTKİLERDE STRESE YANIT MEKANİZMALARI

Bitki stres faktörleri, temel olarak abiyotik ve biyotik stres olmak üzere iki grupta sınıflandırılabilir. Bitkiler yaşamları boyunca çevresel stres koşullarına (abiyotik) ve patojen enfeksiyonu gibi diğer canlıların (biyotik) etkisine maruz kalmaktadır (45). Bitkiler, bu stres faktörlerine yanıt verecek lokal ve sistemik adaptasyon mekanizmalarına sahiptir (46).

Bitkiler, stres faktörlerinin sebep olduğu hasarları azaltmak ve büyüme ve gelişmelerine devam etmek amacıyla, stresin reseptörler ile algılanmasından başlayarak sinyal iletim adımlarıyla, fizyolojik, moleküler ve hücresel adaptasyon sağlayan genlerin ifadesini; transkripsiyonel, post-transkripsiyonel ve post-translasyonel seviyede düzenleyerek uyum sağlayıcı (adaptif) yanıtlar geliştirirler (47–50).

Düşük stres düzeyleri dahi birçok genin ifade seviyesini etkilemektedir (51). Bitkinin bulunduğu farklı stres koşullarında, bitki hormon sinyal yolağı genlerinin, taşıyıcı proteinlerin, önemli metabolik yolak genlerinin ve transkripsiyon faktörlerinin ifade seviyeleri çevresel etkilere yanıt olarak düzenlenmektedir (52,53). Ozmotik düzenleme mekanizması, antioksidan savunma mekanizması, stresle ilişkili genler ve RNA susturma mekanizması strese yanıtta anahtar rol oynamaktadır. Bitkilerde önemli strese yanıt mekanizmaları aşağıdaki başlıklar altında toplanabilir.

2.2.1. BİTKİ HORMONLARI

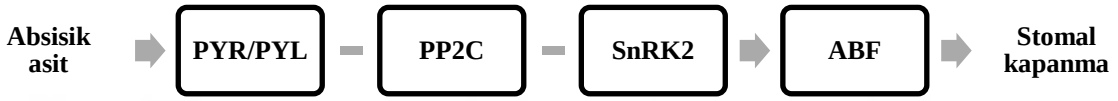
Bitki büyüme ve gelişmesini düzenleyen doğal (endojen) bitki hormonları (bitki büyüme düzenleyicileri: fitohormonlar) absisik asit (ABA), giberillik asit (GA), oksin (IAA), sitokinin (CK) ve etilendir (ET). Diğer bitki hormonları brassinosteroid (BR), jasmonik asit (JA) ve metabolit olarak salisilik asit (SA)'dir (46). Bitki hormon sinyal yolaklarında yer alan genlerin ifade seviyeleri stres koşullarına adaptasyon sağlamak üzere bitki tarafından tekrar düzenlenir (54–57).

Absisik asit (ABA), kuraklık dahil çeşitli stres koşullarına adaptasyon sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Bu streslere karşı geliştirilen yanıtın düzenlenmesinde sinyal aracısı olarak hareket eden endojen bir habercidir (58). Virüs enfeksiyonu ABA tarafından ifadesi uyarılan genleri etkilemektedir (59).

Transpirasyonun düzenlenmesi için gereken stomal kapanma ve yan (lateral) kök gelişiminin baskılanması temel olarak ABA tarafından kontrol edilmektedir (60–62). ABA, tohum olgunlaşmasında, tohum dinlenmesi (dormansi) ve çimlenmesinde rol oynar (63,64). ABA diğer fitohormonlarla birlikte hücre fizyolojik süreçlerinin düzenlenmesinde önemli görevlere sahiptir (65). Bitkilerin kuraklık koşullarına adaptasyon sağlamasında merkezi bir düzenleyici olarak görev yapar. Strese tepki olarak ABA tarafından düzenlenen reaksiyonlar moleküler düzeyde karakterize edilmiştir (66,67).

ABA yolağında (Şekil 2.2.) görevli *PP2C* (protein fosfotaz 2C) geni, etkileşimde olduğu proteinden fosfat grubunu ayırmakta, ABA sinyalini ve bitkinin strese adaptasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. *SnRK2* (sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2) geni ise etkileşimde olduğu proteine fosfat transfer ederek proteinin konformasyonunu ve

fonksiyonunu etkilemektedir. *PP2C, SnRK2* geninin aktivitesini baskılayarak ABA sinyal yolağını engellemiş olur. ABA reseptörleri *PYR/PYL* (pyrabactin resistance 1/like), *PP2C*'nin inhibisyonunu sağlayarak *SnRK2*'nin baskılanmasına engel olur ve ABA sinyal yolağını harekete geçirir. *SnRK2*, ABA sinyalinin düzenlemesinde ve stomal kapanmanın sağlanmasında rol alan *ABF* (ABRE binding factors) transkripsiyon faktörlerini aktive eder. *ABF*, strese yanıt veren genlerin promotor bölgesinde bulunan ABRE (ABA response element, ACGTG) dizisine bağlanarak bu genlerin ifadesini düzenler. Bu düzenleme ile transpirasyon seviyesi azaltılarak adaptasyon geliştirilir (68–72).



Şekil 2.2. ABA sinyal yolağı (73).

Giberillik Asit (GA), bitki gelişiminin farklı aşamalarında görev alan ve bitkinin yaşam döngüsü boyunca hücre bölünmesini sağlayarak büyümeyi destekleyen önemli fitohormonlardan biridir (74). Kuraklık stresine karşı tolerans geliştirilmesinde ve fizyolojik adaptasyonda rol oynar (75,76).

GA yolağında (Şekil 2.3.), GA reseptörü *GID1* (GA insensitive dwarf 1), DELLA proteinine bağlanarak ubikitin-proteazom yolağı aracılığıyla DELLA'nın parçalanmasına (degrade olmasına) sebep olur (77,78). GA yolağındaki DELLA proteinleri, hücre çekirdeğinde yer alan ve büyüme ile ilişkili proteinlerin ifade seviyesini azaltan transkripsiyonel düzenleyicelerdir ve GA'nın negatif düzenleyicileri olarak GA'ya yanıt veren genlerin ifadelerini baskılar. DELLA, hücre büyümesinden sorumlu genleri uyaran transkripsiyon faktörü *PIF4* (phytochrome interacting factor 4) genini baskılayarak GA sinyalinin fonksiyonunu azaltmada anahtar rol oynamaktadır (79–81).

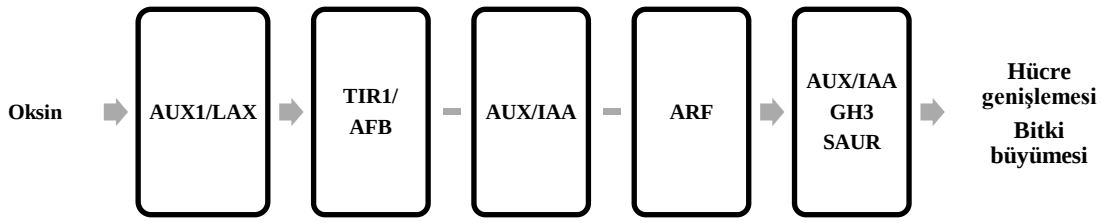


Şekil 2.3. GA sinyal yolağı (73).

Oksin (*AUX/IAA;* Auxin/Indole-3-asetik asit, oksinin ana formu), bitki gelişim süreçlerini düzenlemenin yanında biyotik ve abiyotik strese yanıtta da görev alan bir fitohormondur (82). Hücre bölünmesini ve farklılaşmasını, kök ve sürgünün biçimlendirilmesini etkilemektedir (83–85). Virüs stresi oksine yanıt veren genlerin ifadesini değiştirmektedir (59). ABA tarafından baskılanan lateral köklenme oksin tarafından artırılmaktadır (62,86). Sitokinin ile etkileşim halinde kök meristem doku aktivitesinin düzenlenmesini sağlar (87).

Oksin yolağında (Şekil 2.4.), oksinin hücreler arası hareketi oksin taşıyıcıları (*AUX1/LAX,* auxin resistant 1/like) ile gerçekleşir (88). *TIR1* (transport inhibitor response 1, F-box protein) oksin reseptörü olarak görev yapar. Oksin seviyesine bağlı olarak, negatif düzenleyici olan *AUX/IAA*'nın ubikitin-proteazom yolağı aracılığıyla degrade olmasına sebep olur (89,90). *ARF* (auxin response factor) oksine yanıt veren genlerin promotorlarında yer alan "oksin yanıt element dizisi"ne (AuxRE dizisi, TGTCTC) bağlanarak bu genlerin ifadelerini düzenler. *AUX/IAA* proteinleri ise *ARF* genlerini baskılar (91–93).

Oksin tarafından ifadeleri düzenlenen önemli iki gen grubu *GH3* (gretchen hagen 3) (94) ve *SAUR* (small auxin up rna) genleridir. *GH3*, oksine yanıt olarak abiyotik stres toleransının düzenlenmesinde rol oynar (95,96). *SAUR* genleri ise oksine yanıt veren genlerin en geniş grubu olarak bitki büyüme ve gelişmesini destekler (84,85,97).

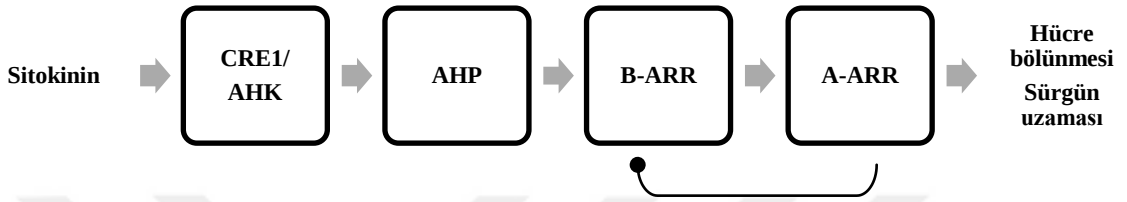


Şekil 2.4. Oksin sinyal yolağı (73).

Sitokinin (CK), bitki büyümesini ve gelişmesini düzenleyen bir fitohormondur. Büyüme bölgesi olan sürgün ucundaki meristem doku gelişimini, hücre çoğalmasını, çiçek büyüklüğünü ve yaprak ömrünü düzenler (55,98). Kök meristem doku aktivitesinin düzenlenmesinde oksin ile etkileşim halindedir (87). Kuraklık stresine yanıtta rol alır (99).

CK yolağında (Şekil 2.5.), *CRE1/AHK* (cytokinin response 1/histidin kinase) transmembran sitokinin reseptörüdür. Çevresel koşulları algılayarak hedef gen ifadesinin

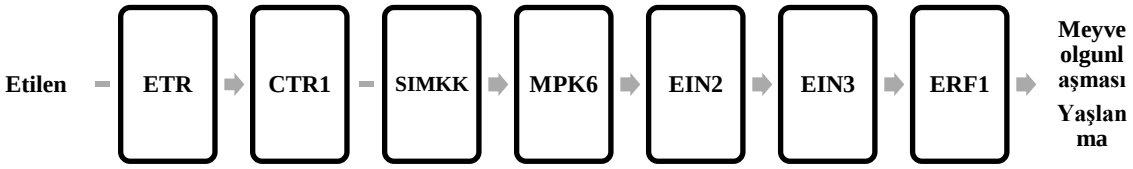
düzenlenmesinde rol alır. *AHP* (histidine containing phosphotransfer peotein)'ye fosfat grubu transfer ederek etkileşime geçer (100,101). *AHP*, sitokinin reseptörü ile DNA'da özel bir diziye ([AG]GATT) bağlanan *ARR* (two-component response regulator) gibi yanıt düzenleyicilere aracılık eder. *Tip-B ARR*'ler sitokinin yanıtı için gerekli transkripsiyonel aktivatörlerdir. *Tip-A ARR*'ler ise negatif geri besleme ile sitokinin tarafından aktif edilen transkripsiyonunun baskılayıcıları olarak görev yapar (99,102,103).



Şekil 2.5. Sitokinin sinyal yolağı (73).

Etilen, patojen yanıtı, tohum çimlenmesi, meyve olgunlaşması, organ yaşlanmasını düzenleyen gaz halindeki bitki hormonudur (104).

Etilen yolağı (Şekil 2.6.), etilenin negatif düzenleyicisi *ETR1* (ethylene response 1) reseptörüne bağlanması ile başlar ve *ETR1*, etilen sinyal iletiminin diğer negatif düzenleyicisi *CTR1* (constitutive triple response 1)'in inaktivasyonuna sebep olarak yolaktaki gen ifade seviyelerinin düzenlenmesini sağlar (105,106). *EIN2* (ethylene insensitive 2) ve *EIN3* (ethylene insensitive 3) etilen sinyal yolağının devamında pozitif düzenleyiciler olarak görev yapar. Etilen reseptörü, etilen sinyaline yanıtta görev alan *EIN2* ile etkileşimdedir (107). *EIN3* ise *ERF1* (ethylene response factor 1)'in promotorunda yer alan PERE (primary ethylene response element) dizisine bağlanarak ifade edilmesini ve etilene yanıtın aktivasyonunu sağlar (108).



Şekil 2.6. Etilen sinyal yolağı (73).

Diğer bitki hormonlarından; brassinosteroid (BR) çimlenme ve kök büyümesi dahil bitki gelişiminde görev alır (109–111). Hücre membran reseptörü *BRI1* (BR insensitive 1) tarafından algılanır, aktive olan sinyal iletim yolağı bitki gelişimi için gerekli genlerin düzenlenmesini sağlar. Sinyal iletimine *BSK* (BR signaling kinases) aracılık eder (112).

Jasmonik asit (JA) ve salisilik asit (SA) patojenlere karşı savunmada öne çıkan bitki hormanlarıdır (113,114). Salisilik asit sistemik kazanılmış direncin (SAR) gelişmesi için gereklidir ve SAR ile ilişkili *PR* (pathogen related) genlerinin ifadelerinin düzenlenmesinde NPR1 (regulatory protein 1) ile birlikte görev yapar (115,116).

2.2.2. OZMOTİK DÜZENLEME

Ozmotik düzenleme, suyun emilimini ve hücresel turgorun düzenlemesini sağlayarak bitki büyümesini olumlu yönde etkiler (117,118). Su noksanlığından kaynaklanan turgor kaybının artması büyümenin baskılanmasına neden olabilir (48). Stres koşullarında büyüme durdurularak bitkinin metabolik aktiviteleri azalır, stresten kaynaklanan hasarın azaltılması için hücrede ozmoprotektan bileşiklerin oranları artar (48,119).

Gregor ve arkadaşları (2012) ozmotik düzenlemenin "hücresel zarları, proteinleri ve enzimleri dehidrasyona (su kaybı) karşı koruyucu işleve sahip osmoprotektanlar ile sağlandığını" ifade etmiştir (117). Glisin betain (GlyBet, glycine betaine), prolin (Pro), ektoin, polyol ve trehaloz (trehalose) gibi etkili osmoprotektanlar ile hücre su kaybına karşı korunarak stres toleransı geliştirilir (119–121).

Ozmotik stres ile önemli osmoprotektanların biyosentizinde yer alan genlerin ifade seviyeleri değişir (122). Hücre içinde glisin betain birikmesi ve prolin üretimi osmotik stres toleransını artırmaktadır (123,124). Benzer şekilde poliamin (polyamin) ve trehaloz seviyelerindeki artışta kuraklık toleransını geliştirir (125,126).

2.2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA

Bitkilerdeki birçok abiyotik ve biyotik stres, hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS, reactive oxygen species) birikmesine sebep olur. Önemli reaktif oksijen türleri; süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_20_2) ve hidroksil radikalleri (OH^-)'dir (127). Bitkiler ROS'un

oluşturduğu stresin önlenmesi amacıyla antioksidan sistemlerin düzenlenmesini sağlayan enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalar geliştirmiştir (118,128).

Enzimatik olmayan antioksidanlar; askorbik asit (ascorbate), tokoferol (tocopherol), karotenoid (carotenoid), glutatyon (glutathione), fenolik bileşikler vd. olarak, enzimatik antioksidanlar ise; süperoksit dismutaz (SOD, superoxide dismutases), askorbat peroksidaz (APX, ascorbate peroxidase), katalaz (CAT, catalase), glutatyon peroksidaz (GPX, glutathione peroxidase) vd. olarak sınıflandırılabilir (129–131).

Hücre hasarına sebep olan ROS seviyelerinin düzenlenmesinde birçok gen görev alır (130). Stresle birlikte antioksidan enzimlerin aktiviteleri artmaktadır (132). Antioksidanlar, oksidatif strese toleransta toksik radikalleri parçalar. Süperoksit radikalleri SOD tarafından hidrojen peroksite dönüştürülürken hidrojen peroksit, APX, GPX ve CAT tarafından parçalanır[2] (Çizelge 2.1.).

SOD ve CAT ifadesindeki artışın strese karşı toleransın gelişmesinde etkili olduğu (133–135) ve kuraklık stresinin APX seviyelerinde önemli değişikliğe sebep olduğu gösterilmiştir (136). GPX, stomal kapanma, çimlenme ve büyümenin baskılanması gibi ABA yanıtını düzenleyen genler ile strese yanıtta görev alan genlerin ifadesini ve kalsiyum kanallarının aktivasyonunu düzenler (137).

ROS üretiminin olumsuz etkilerinin yanında olumlu etkileri de söz konusudur. Apel ve Hint (2004), "stres koşullarında artan ROS seviyesinin toksik etkisini önlemek amacıyla antioksidanların devreye girmesinin yanında, patojenlere karşı savunma veya programlı hücre ölümü gibi süreçlerde sinyal molekülü olarakta ROS üretildiğini" belirtmiştir (138).

Çizelge 2.1. Enzimatik antioksidanlar ve reaksiyon örnekleri.

Enzimatik Antioksidan	**ROS**	**Reaksiyon[2]**
SOD	O_2^-	$2\ H^+ + 2$ superoxide $= H_2O_2 + O_2$
APX	H_2O_2	H_2O_2 + L-ascorbate $= 2\ H_2O$ + L-dehydroascorbate
GPX	H_2O_2	2 glutathione + H_2O_2 = glutathionedisulfide + $2\ H_2O$
CAT	H_2O_2	$2\ H_2O_2 = 2\ H_2O + O_2$

[2] https://www.rhea-db.org

2.3. KURAKLIK VE VİRÜS STRESİ

2.3.1. KURAKLIK STRESİ

Kuraklık dünya çapında tarımsal üretimi sınırlayan önemli çevresel stres faktörleri arasında yer almakta olup, küresel arazi alanlarının %64'ü kuraklık veya su eksikliğinden etkilenmektedir (139,140). Eldem ve arkadaşları (2012) kuraklığı, "bitkinin normal gelişimi için gerek duyduğu su miktarına kısmen erişebilmesi ya da tamamen erişememesi olarak" tanımlamaktadır (141). Kuraklık stresi bitkinin besin ve su ile ilişkisini etkileyerek dokularda su içeriğinin azalması ile turgor kaybına, yaprak alanında küçülmeye, fotosentezin baskılanmasına, membran stabilitesinde azalmaya, kök gelişiminde gerilemeye, oksidatif hasara, büyümenin baskılanmasına ve sonucunda ürün miktarının ve kalitesinin azalmasına sebep olur (4,135,142,143). Kuraklık stresine maruz kalan bitkiler hayatta kalabilmek amacıyla, suyun etkin kullanımı ve kuraklığa tolerans geliştirilmesi ile ilgili olarak; hücresel ve organizma seviyesinde fizyolojik, morfolojik ve moleküler düzeyde adaptasyonlar geliştirmek zorundadır (49,141,144,145). Önemli adaptasyonlar arasında; stomaların kapanmasıyla karbondioksit ($CO_{2)}$ asimilasyonunun azaltılması ve fotosentezin gerekli seviyede sürdürülmesi, iyon dengesinin düzenlenmesi, oksidatif hasarın engellenmesi için antioksidan ve osmolit sentezinde yer alan koruyucu genlerin ifadelerinin düzenlenmesi, suyun aquaporinler ile dokulara dağılımının sağlanması ve hormonal düzenlemeler sayılabilir (48,128,146).

Bitkilerde kuraklık toleransını, Wydra ve arkadaşları (2017) "su noksanlığı durumunda bitki büyümesinin çeşitli aşamalarında kararlı verim elde etme ve üretme yeteneğine" bağlarken (147), Fang ve Xiong (2015) ise "dokuların düşük su potansiyeline karşı direnme gücü ile ilişkili olarak, bitkinin kök ve yaprak özelliklerine, osmotik düzenleme yeteneğine, hormon seviyelerine ve hücre membran dayanıklılığına" bağlamaktadır (148).

Kuraklığa maruz kalan bitki tarafından su kaybının önlenmesi amacıyla verilen ilk tepki stomal kapanmadır. Bu sayede yapraklardan su kaybı azaltılarak, suyun etkin kullanımı ve transpirasyon verimliliği sağlanır (117,118). Stomaların kapatılması su kaybının azaltılmasını sağlarken aynı zamanda CO_2 emilimini de kısıtladığı için fotosentez baskılanır (60). Fotosentezin baskılanması ise bitki büyümesini olumsuz yönde etkilemektedir (149).

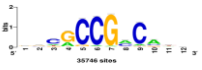
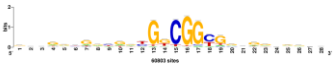
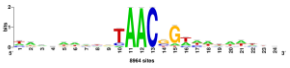
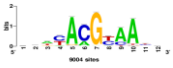
Yapraklardan su kaybının azaltılması ile kuraklığa karşı adaptasyon sağlanırken topraktan suyun alınmasını sağlayan bitki kök sistemi de bu adaptasyonda önemli rol oynar (150). Stres koşullarında kökün canlı kütlesi azalır ve kökler uzayarak köklenme derinliğini artırır (151). Normal koşullarda lateral dallanmalar gösteren kök büyümesi, kuraklık durumunda lateral dallanma yerine toprağın daha alt katmanlarından su almak için birincil kök uzamasına yönelir (152).

2.3.1.1. Kuraklık Stresi ve Transkripsiyon Faktörleri

Bitki tarafından stresin algılanmasıyla birlikte adaptif yanıtta görev alan transkripsiyon faktörlerinin ve strese yanıt veren genlerin ifadeleri düzenlenir (153). Transkripsiyon faktörleri, biyotik ve abiyotik stres koşullarında bitki büyüme ve gelişmesinde rol alan bitki hormon yolaklarındaki genlerin, osmotik strese yanıt veren genlerin ve antioksidan savunmada yer alan genlerin ifade seviyelerini düzenler (54,154–157). Stres koşullarında transkripsiyon faktörleri, genellikle genlerin promotor bölgelerinde bulunan düzenleyici element (CRE, cis-acting regulatory element) dizilerine bağlanarak hedef genin ifadesinin düzenlenmesini sağlar (158).

Yapılan transkriptom çalışmaları strese yanıtta görev alan genlerin promotor bölgelerinde yer alan CRE dizilerinin ve ilişkili transkripsiyon faktörlerinin tanımlanmasını sağlamaktadır (159) Önemli transkripsiyon faktörleri ve bağlandıkları düzenleyici element diziler Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Önemli transkripsiyon faktörü aileleri ve promotor bölgede pozisyon sıklık matriksine (PFM) dayalı olarak bağlandıkları düzenleyici element diziler[3].

Transkripsiyon Faktörü	**Motif**
ABF	
DREB/CBF	
AP2-ERF domain	
ARF (B3 domain)	
MYC (bHLH)	
MYB (bHLH)	
MYB (Tryptophan cluster)	
MYB (HTH)	
NAC (NAC-NAM)	
WRKY	
bZIP	
C2H2 (Zinc Finger)	

[3] **JASPAR:** Açık kaynaklı, pozisyon sıklık matriksine (PFM, position frequency matrice) dayalı transkripsiyon faktör (TF) bağlanma profili veritabanı, http://jaspar.genereg.net/matrix-clusters/plants.

Özellikle osmotik strese yanıt veren genlerin promotor bölgesinde ABRE (ABA response element, ACGTG) ve DRE (dehydration responsive element, A/GCCGAC) gibi CRE dizileri bulunur (160).

ABA sinyal yolağında stres yanıtında görev alan bZIP (basic leucine zipper) protein ailesinin üyesi olan **ABF** (ABRE binding factors), ABRE dizisine bağlanarak, strese yanıt veren genlerin ifadesini düzenler (72). Stres uygulanmış kanola bitkisinde yapılan bir çalışmada, *ABF2* transkripsiyon faktörünün uyarıldığı ve strese yanıt veren genlerin (*RD29B, RAB18 ve KIN2*) ifadesini düzenlediği gösterilmiştir (161).

AP2/ERF (apetala 2/ethylene response factor) transkripsiyon faktörü ailesinin üyesi olan *DREB/CBF* (dehydration responsive element binding/CRT binding factors), DRE dizisine bağlanarak, strese yanıt veren genlerin ifadesini düzenlemektedir (162). *DREB2* transkripsiyon faktörünün kuraklık stresi uygulanmış transgenik pamukta antioksidan genlerin (*SOD, CAT, POD, GST*) ve strese yanıt veren genlerin (*GhERF2, GhNAC3, GhRD22, GhDREB1A, GhDREB1B, GhDREB1C*) ifade seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (156).

Transkripsiyon faktörleri strese yanıt veren genin ifade seviyesini etkilerken, diğer transkripsiyon faktörlerinin ifade seviyelerini de etkileyebilmektedir. Transgenik çeltikte, *EREBP1* (ethylene responsive element binding protein 1) transkripsiyon faktörünün aşırı ifade edilmesinin, önemli transkripsiyon faktörlerinin (*WRKY, NAC*), strese yanıtta rol alan ABA yolağı ile ilişkili *LEA5* (late embryogenesis abundant 5) ve jasmonat biyosentezi ile ilişkili *RERJ1* genlerinin ifade seviyelerini artırarak kuraklık toleransını geliştirdiği belirtilmiştir (163).

MYB, biyotik ve abiyotik strese yanıtta önemli rol oynayan transkripsiyon faktörlerinden bir diğeridir (164). Kuraklık stresinde aşırı ifadesi bitki stres toleransını artırır (165,166). Transgenik çeltikte *MYB6*'nın, oksidatif strese tolerans sağlayan enzimatik antioksidanlardan SOD ve CAT'in aktiviteleri ile osmotik streste görev alan prolin miktarını önemli oranda artırarak bitkinin canlı kalma oranını yükselttiği gözlenmiştir. Ayrıca stres toleransında görev alan önemli genlerin (*OsLEA3, OsDREB2A, OsDREB1A, OsP5CS, SNAC1 ve OsCATA*) ifadeleri artmıştır (165). Dayanıklı mısır ile hassas mısır

çeşitlerine uygulanan kuraklık stresi sonucu, dayanıklı çeşitte, *MYB24* ve *MYB35* transkripsiyon faktörlerinin ifadesinin arttığı gösterilmiştir (167).

Transkripsiyon faktörü **MYC**, kuraklık stresinde, ABA ve JA sinyal yolağı tarafından uyarılan genlerin promotorunda yer alan düzenleyici element (G-box, CACNTG) dizisine bağlanarak bu genlerin ifade seviyelerini etkiler (168–170). *MYC,* DELLA proteinleri ile etkileşime geçerek GA yolağının düzenlenmesinde görev alır (171). *MYB* ile birlikte kuraklık stresine karşı yanıtta görev alan önemli genlerden *RD22*'nin ifadesinin düzenlenmesinde transkripsiyonel aktivitör olarak fonksiyon gösterir (172).

Transkripsiyon faktörü ailelerinin bazı üyelerinin strese yanıtta farklı ifade seviyelerine sahip olduğu görülmektedir. **NAC** transkripsiyon faktörü ailesinin üyelerinden *NAC6* transkripsiyon faktörünün aşırı ifadesinin, transgenik çeltikte, kuraklık stresine yanıt veren genlerin ifadelerini artırarak toleransı geliştirdiği gözlenirken (173), *NAC2* transkripsiyon faktörünün aşırı ifadesinin, ABA yanıtında ve abiyotik streste görev alan önemli genlerden *LEA3, SAPK1* (stress activated protein kinase 1), *SAPK10*, bazı GTPazlar (*RAB21, RAB16C, RAB16D*) ve *SnRK2*'nin ifade seviyelerini düşürerek kuraklık stres toleransını azalttığı gösterilmiştir (174). Aynı türe ait kuraklığa dayanıklı ve kuraklığa hassas bitki çeşitleri, kuraklık stresine tolerans bakımından karşılaştırıldığında NAC transkripsiyon faktörü ailesinin üyesi olan *NAC110*'un ifadesinin arttığı gösterilmiştir (167).

WRKY, bitki hormon yolaklarında ve patojen savunmasında görev alan, farklı stres koşullarında önemli fonksiyonlara sahip çok geniş etkili bir transkripsiyon faktörü ailesidir (175–178). Hedef gende W-box (TTGACC) dizisine bağlanmaktadır. WRKY transkripsiyon faktörü ailesinin bazı üyeleri strese yanıtta rol alan genlerin ifade seviyelerini azaltırken bazıları artırmaktadır.

Transgenik buğdayda *WRKY30*'un aşırı ifadesi strese yanıt genlerinin (*ERF5a, DREB1, DREB3, WRKY19, TIP2* ve *AQP7*) ifadelerini artırmıştır (157). Ancak pamukta yapılan çalışmada kuraklık stresine karşı toleransta önemli rol aldığı belirlenen *GhWRKY33* geninin *Arabidopsis thaliana*'ya aktarılması ile elde edilen transgenik bitkide kuraklıkla ilişkili genlerin (*RD29A, DREB2A, ERD15* ve *SOS2*) ifade seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (179). Kuraklığa dayanıklı ve kuraklığa hassas mısır çeşitleri ile yapılan

çalışmada ise, dayanıklı çeşitte *WRKY20* ve *WRKY64* transkripsiyon faktörlerinin ifadesinin arttığı gösterilmiştir (167).

Osmotik strese tolerans ve antioksidan savunma mekanizmasının gelişmesi bakımından WRKY transkripsiyon faktörleri önemli rol oynamaktadır. Transgenik buğdayda *WRKY30*'un aşırı ifadesi, CAT, SOD ve APX gibi enzimlerin seviyelerini artırarak antioksidan kapasiteyi geliştirmiş ve oksidatif stresin azalmasını sağlamıştır (157). *WRKY70* ve *WRKY54* transkripsiyon faktörleri ile yapılan çalışmada çifte mutant (iki bölge mutasyonu içeren) *Arabidopsis thaliana*'da osmotik strese toleransın arttığı, normal örnekte ise stomal kapanmayı olumsuz etkileyerek osmotik strese yanıtın azaldığı gösterilmiştir (155).

Bitki hormon yolağı ile ilişkili olarak, *Arabidopsis thaliana*'da *WRKY46, WRKY54* ve *WRKY70* transkripsiyon faktörlerinin brassinosteroid (BR) tarafından düzenlenen bitki büyümesini desteklediği ve kuraklıkla ilişkili genleri baskılayarak kuraklık toleransını azalttığı belirtilmiştir (180).

2.3.1.2. Kuraklık Stresi ile İlişkilendirilmiş Genler

Kuraklık ile ilişkilendirilmiş en geniş protein ailelerinden biri olan **LEA** (late embryogenesis abundant) protein ailesinin, bir çok bitki türünde farklı stres koşullarına tolerans sağlanmasında rol aldığı gösterilmiştir (181–183). *Vitis vinifera, Gossypium hirsutum, Gossypium arboreum* ve *Gossypium raimondii* türlerinde yapılan domain taramasına göre LEA proteinlerinin 8-9 gruba ayrıldığı ve en geniş grubun LEA2 olduğu belirlenmiştir (184,185). LEA genleri, kuraklıkla ilişkili olarak NAC, WRKY, AuxRE, MYB, DRE ve ABRE gibi önemli CRE dizileri içerir (185).

Transgenik çeltikte yapılan çalışmalarda, *LEA1* geninin ABA duyarlılığını artırdığı ve stres toleransını geliştirdiği (186), *LEA3* geninin strese karşı toleransta rol aldığı gözlenmiştir (187). Kanoladan izole edilerek *Arabidopsis thaliana'*ya aktarılan *LEA4* geninin kuraklık stresi koşullarında bitki gelişiminde önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (188). Mısırda yapılan diğer bir çalışmada ise *LEA4* geninin eksojen ABA tarafından uyarıldığı ve osmotik strese yanıtta rol aldığı gösterilmiştir (189).

LEA2 grubunun önemli bir üyesi olan ***dehidrin*** (*DHN;* dehydrin) genleri oldukça hidrofilik yapıdadır (190). *Arabidopsis thaliana,* arpa ve üzümde yapılan çalışmalarda dehidrin genlerinin ifadesi ile stres toleransı arasında pozitif ilişki olduğu ve stres koşullarına karşı tolerans geliştirilmesinde rol aldıkları gösterilmiştir (185,190–192).

Dehidrin geninin ifadesi kuraklık seviyesine göre veya dokudan dokuya değişiklik gösterebilmektedir. Zeytinden izole edilerek *Arabidopsis thaliana*'ya aktarılan dehidrin geninin, hafif kuraklık koşullarında, hem yaprakta hem de kökte ifadesinin arttığı ancak daha yüksek kuraklık koşullarında ifadesinin azaldığı gözlenmiştir (193). *Cynodon dactylon*'nın kuraklığa dayanıklı ve kuraklığa hassas çeşitlerinin kuraklığa maruz bırakılmasıyla, her iki çeşidin yaprağında ve kökünde dehidrin geninin ifadesi artarken dayanıklı çeşidin yapraklarında artışın daha fazla olduğu tespit edilmiştir (194).

Kuraklığa dayanıklı ve kuraklığa hassas ayçiçeği çeşitlerine dozu artırılarak kuraklık stresi uygulandığında, dehidrin genlerinin dayanıklı ayçiçeği çeşidinde daha yüksek oranda ifade olduğu gözlenmiştir (195).

2.3.2. VİRÜS STRESİ

Bitki virüsleri dünya çapında ürün kalite ve miktarını azaltarak ciddi ekonomik kayıplara neden olan en önemli patojenler arasındadır (196,197). Csorba ve arkadaşları (2015) virüslerin "sahip oldukları genetik materyalin (RNA veya DNA) kodladığı az sayıda viral protein ile enfeksiyon sürecini yönettiklerini" ve virüslerin "hücreden hücreye yayılımının plasmodesma ile sistemik yayılımlarının ise floem aracılığıyla gerçekleştiğini" ifade etmektedir (197). Virüsler, çoğalmaları ve hareket etmeleri için gerekli viral proteinlerin konakçı ile etkileşime geçirirler ve sistemik yayılımlarını gerçekleştirerek, bitkide; yaprak polaritesinin kaybına, kloroza, nekroza, morfolojinin değişmesine, hücre bölünmesinin kontrolünün ve üreme fonksiyonlarının bozulmasına ve böylece hastalığa sebep olmaktadır (198–201).

Virüslerin transmisyonu hayatta kalmaları için gerekli olan biyolojik döngülerinde önemli bir adımdır (202). Virüslerin çoğu bitki ile ilişkili bir vektör organizma tarafından taşınır. Önemli bitki virüsü vektörleri; Böcekler, nematodlar, parazitler ve akarlar'dır (203). Bazı önemli bitki virüs cins, tür ve vektörleri Çizelge 2.3.'te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Önemli bitki virüs cins, tür ve vektörleri (202,204).

Cins	**Tür**	**Vektör**
Tobamovirus	TMV (*Tobacco mosaic virus, Tütün mozaik virüsü)*	Mekanik
Tospovirus	TSWV (*Tomato spotted wilt virus, Domates lekeli solgunluk virüsü*)	Böcek
Begomovirus	TYLCV (*Tomato yellow leaf curl virus, Domates sarı yaprak kıvırcıklık virüsü*)	Böcek (beyaz sinek)
Cucumovirus	CMV (*Cucumber mosaic virus, Salatalık mozaik virüsü*)	Böcek
Potyvirus	PVY (*Potato virus Y, Patates Y virüsü*)	Böcek
Caulimovirus	CaMV (*Cauliflower mosaic virus, Karnabahar mozaik virüsü*)	Böcek
Begomovirus	ACMV (*African cassava mosaic virus, Afrika manyok mozaik virüsü*)	Böcek (beyaz sinek)
Potyvirus	PPV (*Plum pox virus, Şarka virüsü*)	Böcek
Bromovirus	BMV (*Brome mosaic virus, Brome mozaik virüsü*)	Böcek
Potexvirus	PVX (*Potato virus X, Patates X virüsü*)	Mekanik

2.3.2.1. Virüs Stresi ve Bitki Yanıtı

Virüs enfeksiyonu ile karşılaşan bitkinin strese yanıtta geliştirdiği mekanizmalara; doğal bağışıklık sistemi (HR; hypersensitive reaction, aşırı duyarlı reaksiyon), sistemik kazanılmış direnç (SAR; systemic acquired resistance), ROS aktivitesinin ve stres hormonlarının düzenlenmesi ile antiviral RNA susturma mekanizması örnek olarak verilebilir. Virüsler konakçının savunma mekanizmasını harekete geçirmesine karşın sahip oldukları mekanizmalarla bu savunmaya karşı atak ile cevap verir (205–207).

Virüs stresine karşı geliştirilen HR yanıtı, bitkilerde yaygın olan doğal bağışıklık sisteminin bir parçasıdır ve virüs enfeksiyonunun yayılmasını önlemek için bu bölgedeki hücrelerin ölümü ile enfeksiyon bölgesinin sınırlandırılması olarak tanımlanabilir. Bitkiler hücre yüzeyinde transmembran domain ile LRR (leucine-rich repeat) domain içeren ve hücre içinde nükleotid bağlanma (NB) domaini ile LRR domaini içeren (NB-LRR) çok sayıda immün reseptöre sahiptir. Bu reseptörler patojen efektörlerini tanıyan direnç (*R*, resistance) genleri tarafından kodlanır (208,209). NB-LRR virüslerin ribozomla birleşmesini ve genetik materyallerini transle etmelerini engeller. NB-LLR yanıtı ile viral translasyonun baskılanması RNA-P-cisimcikleri (RNA processing bodies) biyogenez mekanizmasının aşırı şekilde uyarılmasına sebep olur (210). *R* genleri tarafından patojen tespit edildiğinde plasma membranından iyon akışı düzenlenir. Hidroksit ve potasyum

hücre dışına çıkartılırken kalsiyum ve hidrojen iyonları hücre içine alınır. *R* genleri ile sağlanan dirence HR eşlik eder (211). HR süper oksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi ROS üretirken (212,213), patojenin bulaştığı bölgedeki lokal nekroz SA üretimini tetikler. Bu sinyal invazyon olmayan bölgelerde patojen ilişkili (PR, patogen related) genlerin sentezini indükler. Böylece sistemik kazanılmış direnç (SAR) sağlanmaya çalışılır (214).

Virüs enfeksiyonunun bitkide aynı anda birçok mekanizmayı etkilediği görülmektedir. Virüs enfeksiyonu sonrası, transkripsiyon faktörlerinin (*WRKY, NAC, MYB, ZF, AP2/ERF-AP2* vb.), bitki hormon yolaklarında yer alan genlerin (etilen biyosentezi, sitokinin yolağı, oksin yolağı) protein kinaz genlerinin, miRNA biyogenezinde yer alan genlerin (*AGO*; Argonat, *DCL*; dicer like vb), savunma mekanizmasında görevli genlerin (heat shock protein, calmodulin, *NBS-LRR* vb) ve patojen ile ilişkili genlerin (proteaz inhibitörler, peroksidaz, kitinaz vb) ifadelerinde önemli değişiklikler gözlenmektedir (215).

Viral stres ile birlikte oksidatif fosforilasyon (glukoz-6-fosfat 1-dehidrogenaz), protein degredasyonu, katlanması ve modifikasyonu (ubikitin, poliubikitin protein, heat shock cognate 70, *PP2C*), biyotik ve abiyotik stresle ilişkili genler; (kitinaz, patogen related PR1 like protein, heat shock protein 83, heat shock protein 70), sinyal fonksiyonu olan genler (calreticulin, calmodulin) ile transkripsiyon faktörlerinin (*WRKY6*) indüklendiği raporlanmıştır (216).

Farklı bitki türlerinde farklı biyotik stres faktörleri fotosentez ve karbon döngüsünde yer alan genlerin ifadelerini etkilemektedir (217).

Virüs enfeksiyonu bitki transkripsiyon faktörlerinin ifadelerini etkiler (218). Domateste yapılan çalışmada, TYLCV (*Tomato yellow leaf curl virus*) enfeksiyonunun WRKY transkripsiyon faktörünün üzerine etkisi araştırılmış ve altı WRKY üyesinin (*WRKY41, WRKY42, WRKY53, WRKY54, WRKY80 ve WRKY81*) virüs enfeksiyonuna yanıtta görev aldığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu transkripsiyon faktörlerinin biyotik stres yanıtında görev alan *MAPK5* (mitogen activated protein kinase 5) ve *ICS* (isochorismate synthase) gibi genler ile etkileşim halinde olduğu gösterilmiştir (219).

Diğer bir transkripsiyon faktörü ailesi olan NAC genlerinin virüs enfeksiyonuna tepkisinin araştırılması için beş farklı virüs ile enfekte edilmiş çeltik tohumları kullanılmıştır. Mikroarray analizlerine göre enfekteli örneklerin çoğunda OsNAC ailesinden 75 gen farklı şekilde ifade olmuştur. NAC alt gruplarından *NAC22, SND, ONAC2, ANAC34 ve ONAC3*'ın ifadeleri ise tüm virüs enfeksiyonlarında azalmıştır. Virüs semptomlarının şiddeti ile ifadesi artan NAC'ların sayısının orantılı olduğu tespit edilmiştir (220).

Şaperonların önemli bileşeni olan HSP70 (heat shock protein 70), yeni sentezlenen polipeptitlerin katlanması, hatalı katlanan proteinlerin tekrar düzgün bir şekilde katlanması ve proteinlerin yer değiştirmesi gibi fonksiyonlara sahip korunmuş geniş bir gen ailesidir. Virüsler çoğalabilmek için hücresel şaperonlara ihtiyaç duyarlar ve HSP70 virüs kapsül proteini (CP, coat protein) ile etkileşim halindedir (221,222). Bitkilerde viral enfekesiyonla birlikte HSP70 miktarının azaldığı görülmüştür. Domateste yapılan başka bir çalışmada TYLCV (*Tomato yellow leaf curl virus*) enfeksiyonundan sonra yaprak ve kökte zamanla virüse ait kapsül proteininin miktarının arttığı buna karşın konakçı HSP70 protein miktarının azaldığı, enfekte olmayan bitkide HSP70'in çözünür halde olmasına karşın virüs enfeksiyonu ile birlikte çözünmez kütle halinde bulunduğu tespit edilmiştir (221).

Virüs enfeksiyonu antioksidan savunma sisteminin harekete geçirilmesini sağlarken, aynı bitkiye ait hassas ve dayanıklı çeşitler bakımından faklı sonuçlar doğurabilir. Strese dayanıklı ve strese hassas domates hatlarına uygulanan TYLCV (*Tomato yellow leaf curl virus*)'nin; hassas çeşitte ROS içeriğini ve antioksidatif yanıt seviyelerini artırdığı ancak dayanıklı çeşitte savunma mekanizmasının daha az harekete geçtiği ve homeostasisini devam ettirdiği gözlenmiştir. Ayrıca dayanıklı çeşitte nitrojen ve karbon kaynakları da hassas çeşide göre daha az etkilenmiştir. Hassas çeşitte SOD, APX, thioredoxin peroxidase, ferredoxin-nitrite reductase gibi detoksifikasyonda görev alan antioksidanların miktarı artmıştır. Bu sonuç hassas çeşide göre dayanıklı çeşidin virüs stresine karşı daha dengeli davrandığını göstermektedir (223).

Virüs enfeksiyonu ile birlikte bitki stres genlerinin ifadelerinde değişiklik meydana gelir. *Arabidopsis thaliana*'da TuMV (*Turnip mosaic virüs, Şalgam mozaik virüsü*) enfeksiyonu, strese yanıt veren genlerden *GBF3* (G-box binding factor 3) ve *XTR3* (xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 3) genlerinin ifadesini artırırken, oksin yanıtında görev

alan *SAUR* ve etilene yanıtta görev alan transkripsiyon faktörü *RAP2.9* (ethylene responsive transcription factor) genlerinin ifadelerini azalttığı görülmüştür (59).

Bitkiler virüs enfeksiyonuna karşı dirençlerini diğer organizmalar ile destekleyebilirler. Rizobakteriler bitki büyümesini destekleyen bakteri (PGPR) grubudur. Bitkiler simbiyotik ilişkide oldukları rizobakteriler sayesinde virüse karşı daha dirençli olabilmektedir. Tütün bitkisinde PGPR (*Paenibacillus lentimorbus*) ve CMV (*Cucumber mosaic virus*) ile yapılan çalışmada PGPR inokülasyonunun bitkiyi daha sağlıklı duruma getirdiği ve bitkiye virüs yüklenmesini azalttığı tespit edilmiştir. Sadece CMV enfeksiyonlu bitkilerin fotosentetik aktivitesi gerilerken PGPR ve CMV'nin birlikte uygulanması ile fotosentetik aktivitenin arttığı gözlenmiştir. PGPR inokülasyonu önemli antioksidanlardan CAT, SOD ve GPX aktivitesini azaltırken, CMV enfeksiyonlu bitkilerde bu antioksidanların aktivitesi artmakta, PGPR ve CMV'nin birlikte uygulanması ile aktiviteleri tekrar azalmaktadır. Aynı şekilde *PR1* geninin ifadesinin CMV enfeksiyonu ile artmasına karşın, PGPR ve CMV'nin birlikte uygulanması ile ifadesinin azaldığı gösterilmiştir (224).

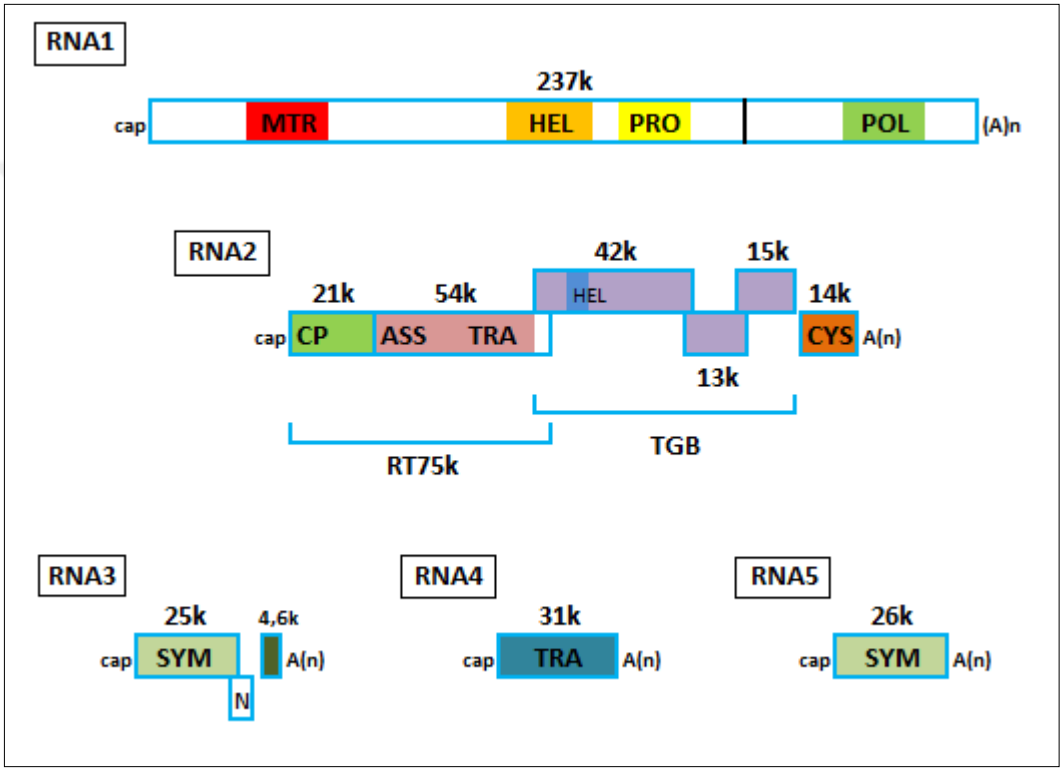
Çapraz korunma mekanizması da virüs stresine karşı toleransta rol oynar. Çapraz korunma, bir virüs tarafından diğer virüsün enfeksiyonunun engellenmesi veya baskılanması olarak tanımlanabilir (225). Transgenik bitkide TMV (*Tobacco mosaic virus*)'nin kapsül proteininin (CP, coat protein) ifade edilmesinin TMV'ye karşı direnç sağladığı gösterilmiştir. CP geninin ifade edildiği fidelerde semptom gelişiminin geciktiği ve transgenik bitkilerin %10 ila %60'ının deneyler süresince semptom geliştirmediği gözlenmiştir (226). Başka bir çalışmada ise tütünde TMV'ün replikazdan sorumlu dizisine ait segmentler PVX (*potato virus X*) vektörüne aktarılarak ifade edilecek şekilde modifiye edilmiştir. Modifiye edilmeyen PVX ile modifiye PVX enfekte edilen tütün yapraklarına TMV aşılanmış ve TMV birikimi ile hasar ölçümleri yapılmıştır. Modifiye PVX enfekte edilen yaprakların hastalıktan yüksek oranda korunduğu gözlenmiştir (227).

2.3.2.2. Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü (BNYVV: *Beet Nectoric Yellow Vein Virus*)

Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü (BNYVV: *Beet Necrotic Yellow Vein Virus*), çubuk şeklinde, zarfsız ve tek (+) zincir RNA virüs olarak Grup 4 virüs kategorisinde yer alan benivirüs cinsi üyesidir (228). 85 ile 390 nm arasında ve 20 nm çapında boyutlarda (229);

1.3 ila 6.7 kb büyüklükte 4 veya 5 segmentli genoma sahiptir (228). Genomik RNA 5' ucunda şapka (cap) ve 3' ucunda poliadenil taşır (230) (Şekil 2.7.).

BNYVV, şeker pancarı köklerine toprak kaynaklı bir fungus olan *Polymyxa betae (Keskin)* (231) aracılığıyla bulaşarak "rizomanya" (rhizomania, kök sakallanması) hastalığına sebep olur (232,233). İlk olarak Canova tarafından 1959 yılında belirlenen (234) rizomanya hastalığı, yapraklarda solma, sararma, kloroz, nekrotik şekilde sarı damarlanma ve dikine büyüme, köklerde saçaklanma semptomları ile tanımlanır (40,235,236).



Şekil 2.7. BNYVV genom yapısı (BNYVV virüsüne ait her bir RNA, 5' cap ve 3' polyA kuyruğu taşımaktadır. MTR: metiltransferaz, HEL: helikaz, PRO: proteinaz, POL: polimeraz (RNA-bağımlı RNA polimeraz), CP: kapsül proteini, ASS: montaj bölgesi, TRA: transmisyon, RT: readthrough protein, TGB: üçlü gen bloğu, CYS: sistein zengin protein, SYM: semptom ifadesi, N:nekroz (237,238)).

BNYVV ilk kez Tamada ve Baba tarafından şeker pancarından izole edilerek tanımlanmıştır (232). BNYVV genomu, RNA1, RNA2, RNA3, RNA4 ve RNA5 olarak 4 veya 5 segmentten oluşur. İlk dört segment farklı izolatlarda yaygın olarak bulunurken, RNA5'in bazı izolatlarda bulunduğu gösterilmiştir (239–242). RNA-1 ve RNA-2, BNYVV'nin replikasyonu, taşınması ve hareketi için gereklidir. RNA1 replikasyondan sorumlu proteinleri içeren büyük bir ORF (open read frame, açık okuma çerçevesi)'ye

sahiptir (243,244). RNA2, kapsül proteini (CP), readthrough proteini (RT), *TGB1, TGB2, TGB3* genleri ile P14 proteini kodlayan altı adet ORF'ye sahiptir (245,246). RT domaini virüsün biraraya gelmesinde ve transmisyonda görev alır (247,248). Transmisyonda, RT domaininin C-terminalinde bulunan KTER motifi önemli rol oynar (246). TGB proteinleri virüsün hücreden hücreye hareket etmesini ve enfeksiyonun yayılmasını sağlar (245,249). RNA2 tarafından kodlanan P14 viral RNA susturma mekanizmasını baskılayıcı olarak görev yapar ve uzak mesafelere harekette rol oynar (250–252). Rizomanya semptomlarının gelişmesi ve virüsün yayılmasında RNA-3 ve RNA-4 görev alır. RNA3 tarafından kodlanan P25 rizomanya semptomları için gereklidir (253,254). RNA4 virüsün köklere girişinde anahtar rol oynamakla birlikte semptomların ilerlemesinde ve köklerde RNA susturma mekanizmasını baskılayıcı olarak etkilidir (255,256). RNA5'in kodladığı P26 proteini patojeniteyi artırır (257). RNA3, RNA4 ve RNA5 dizilerinin farklı kombinasyonlarını taşıyan izolatlarda semptomların daha ciddi olduğu gözlenmiştir (239).

BNYVV virüsü içerdiği RNA kompozisyonuna göre A, B, P ve J tipi olarak sınıflandırılmaktadır (37,39,258).

2.4. MİKRO RNA (miRNA)

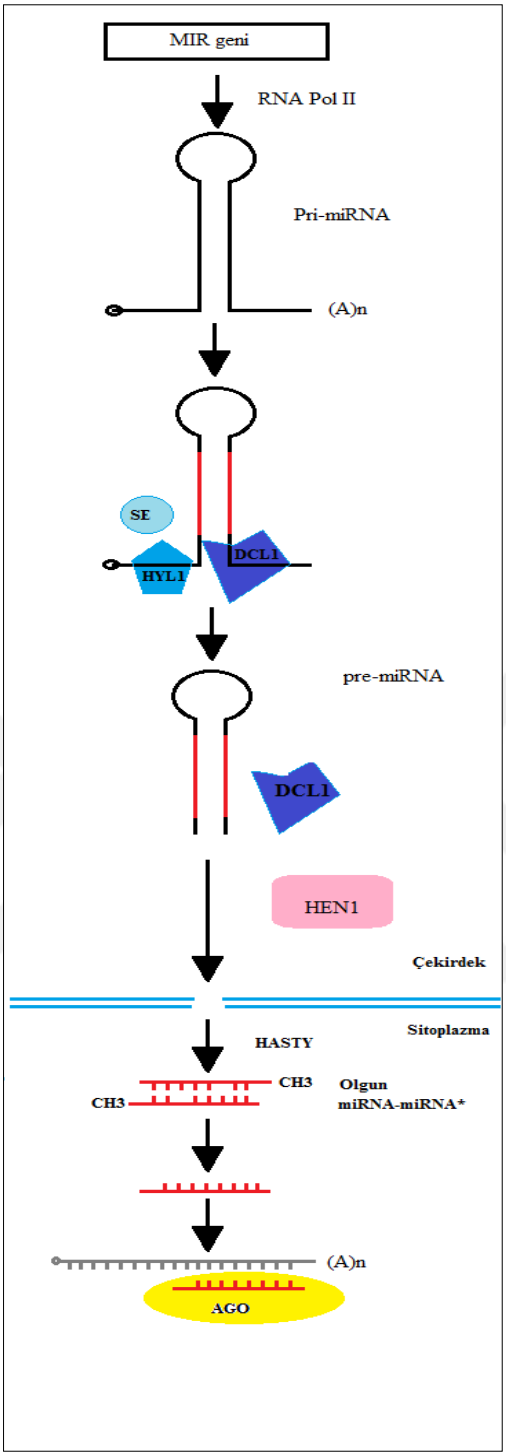
miRNA'lar, transkripsiyon sonrası gen ifadesini düzenleyen, kodlanmayan RNA sınıfında yer alan küçük RNA'lardır. miRNA'ların %95'i 18-24 nükleotid (nt) uzunluğundadır ve ortalama uzunlukları 22 nükleotidtir (259). Komplementerlik esasına göre hedef mRNA'ya bağlanıp, mRNA'yı parçalayarak veya mRNA'nın translasyonunu baskılayarak gen ifadesinin düzenlenmesinde rol alır (260).

Birçoğu bitki türleri arasında korunmuş olan miRNA'lar (261) bitki gelişimindeki önemli görevleri ile birlikte, virüs ve kuraklık stresine karşı bitki tarafından geliştirilen savunmada da rol oynayan RNA susturma mekanizmasının önemli bir üyesidir (262–268). miRNA'lar stresle ilişkili genleri, bu genleri etkileyen transkripsiyon faktörlerini ve bitki hormon yolaklarında yer alan genleri hedef alarak söz konusu genlerin ifadelerini düzenler (266,269,270).

2.4.1. miRNA BİYOGENEZİ

miRNA, RNA polimeraz II tarafından 5' şapka (cap) ve 3' poliadenilli şekilde tek zincir birincil transkript (pri-miRNA, primary miRNA) olarak sentezlenir. pri-miRNA komplementerlik esasına göre kendi üzerinde katlanarak saç tokası şeklini oluşturacak yapıdadır. pri-miRNA önce 5'cap ve 3'polyA uçları işlenerek öncü RNA (pre-miRNA, precursor RNA) şeklini alır. pre-miRNA halen saç tokası yapısındadır. pre-miRNA tekrar işlenerek saç tokası yapısı çıkartılır ve miRNA-miRNA*[4] dubleksi oluşturulur. pri-miRNA dan pre-miRNA'ya geçişte hem 3' ve 5' uçların hem de saç tokası yapının çıkartılması bu bölgelerin kesilmesinde görev alan çift zincir RNA-bağlanma domaini içeren DCL1 (Dicer-like 1) tarafından katalizlenir (271,272). DCL1 bu işlemi gerçekleştirirken HYL1 (Hyponastic Leaves1) ve SE (Serrate, C_2H_2 Zn-finger protein) proteinleri ona eşlik eder (273,274). *HEN1* (Hua Enhancer) 21–24 nt uzunluğundaki küçük RNA dubleksini tanır ve miRNA-miRNA* dubleksinin 3' uçlarına metil grubu ekler (275). miRNA-miRNA* dubleksinin sitoplazmaya nasıl taşındığı net olmamakla birlikte exportin-5 proteinin bitkilerdeki ortoloğu HST (HASTY) tarafından taşınması muhtemeldir (276,277). miRNA dubleksinden yolcu (passenger, miRNA*) dizi ayrılırarak rehber (guide) miRNA AGO (argonate) proteinine yüklenir ve RISC kompleksi (RNA-induced silencing complexes) oluşur (Şekil 2.8.). AGO1 miRNA dizisini rehber olarak kullanarak hedef mRNA'yı dizi spesifik anlamda susturur veya translasyonunu baskılar (278–280).

[4] miRNA dubleksi aktif bir zincir (rehber, guide miRNA) ile komplementeri olan diğer zinciri (yolcu, passenger miRNA*) içerir.



Şekil 2.8. Bitki miRNA biyogenezi[5] (276).

[5] Uyarlama (276).

2.4.2. miRNA VE STRES İLİŞKİSİ

miRNA'lar, fonksiyonel ve düzenleyici proteinleri kodlayan hedef genlerini baskılayarak, abiyotik ve biyotik strese yanıtta rol alan bitki hormon sinyal yolaklarını, transkripsiyon faktörlerini ve oksidatif strese yanıt gibi savunma mekanizmalarını etkiler (Çizelge 2.4.).

Mevcut miRNA veritabanlarında şeker pancarı kökenli bir kaç miRNA bulunmaktadır (281). *Beta vulgaris'*te *in silico* olarak yapılan miRNA tanımlama çalışmasında 13 olgun miRNA ve bu miRNA'ların hedeflediği büyüme, gelişme, transkripsiyon faktörleri ve stresle ilişkili 25 gen belirlenmiştir (282). Diğer bir çalışmada, *Beta* seksiyonunun diğer üyesi *Beta macrocarpa* yapraklarına BNYVV stresi uygulanması sonucunda, bitki hormon yolağında yer alan genleri de hedefleyen, bilinen 547 miRNA ailesine ait 129 miRNA ve 282 potansiyel yeni miRNA belirlenmiştir (283).

Çizelge 2.4. Bazı miRNA'lar ve hedef genleri[6].

miRNA	**Hedef gen**	**Bitki Türü**	**Kaynak**
miR156 miR157 miR535*	SBP/SPL (squamosa-promoter binding protein/like)	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Pamuk, Yonca, Balsam kavağı, Yabani pancar, Çeltik, *Ammopiptanthus mongolicus*, *Panicum virgatum*, Yer fıstığı, *Arabidopsis thaliana*, Arpa, Üzüm*	(284), (285), (286), (287), (283), (288), (289), (290), (291), (292), (293), (294)*
miR159	MYB transkripsiyon faktörü	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Balsam kavağı, Yabani pancar, Çeltik, *Ammopiptanthus mongolicus*, *Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis thaliana*, Arpa	(284), (287), (283), (288), (289), (292), (295), (293)
miR319	MYB transkripsiyon faktörü, TCP transkripsiyon faktörü*	Balsam kavağı, Üzüm, *Ammopiptanthus mongolicus*, *Arabidopsis thaliana* *	(287), (294), (289), (296)*
miR160	ARF (auxin response factor)	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Pamuk, Çeltik, Balsam kavağı, Şeker kamışı, Yabani pancar, Çeltik, Üzüm, *Arabidopsis thaliana*	(284), (285), (297), (287), (298), (283), (288), (294) , (292)
miR167	ARF (auxin response factor)	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Çeltik, Üzüm, *Ammopiptanthus mongolicus*, *Arabidopsis thaliana*, Arpa	(284), (288), (294), (289), (292) , (293)
miR162	*DCL1* (dicer like 1)	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Yabani pancar, Üzüm, *Ammopiptanthus mongolicus*, *Panicum virgatum*	(284), (283), (294), (289), (290)
miR164	NAC transkripsiyon faktörü	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Pamuk, Balsam kavağı, Çeltik, Yer fıstığı, *Arabidopsis thaliana*, Şeker kamışı, Arpa	(284), (285), (287), (288), (291) , (292), (298) , (293)
miR165 miR166	HD-ZIP (homeobox-leucine zipper)	*Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis thaliana*	(299), (300)
miR168 miR403*	AGO (argonat)	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Pamuk, Yonca, Balsam kavağı, *Arabidopsis thaliana*, Domates*	(284), (285), (286), (287), (292), (301)*
miR169	NF-YA	*Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis thaliana*, Mısır, Arpa	(302), (303), (304) , (293)
miR398	SOD (süperoksit dismutaz)	*Arabidopsis thaliana* ve Çeltik, Pamuk, Çeltik, *Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis thaliana*	(284), (285), (305), (306), (133)
miR393 miR1532*	*TIR1* (transport inhibitor response 1)	Pamuk, Şeker kamışı, Yabani pancar, Arpa, Fasulye*	(285), (298), (283), (293), (307)*
miR171	GRAS transkripsiyon faktörü	Yonca	(286)

[6] Literatürler "bitki türü" sütunundaki soldan sağa sıralaması ile verilmiştir.

Çizelge 2.4. (devamı)

miRNA	Hedef gen	Bitki Türü	Kaynak
miR172	*AP2* (apetala 2)	Yonca, Balsam kavağı, Çeltik, Üzüm, Yer fıstığı, Arpa	(286), (287), (288), (294), (291), (293)
miR396	GRF (growth regulating factor)	*Arabidopsis thaliana*, Tütün, *Arabidopsis thaliana*, Yer fıstığı	(308), (309), (310), (291)
miR1448 miR1510*	NBS-LRR	Balsam kavağı, Fasulye*	(287), (307)*
miR528	APX (askorbat oksidaz)	Çeltik	(305)
miR395	Sülfat taşıyıcı	Çeltik	(288)
miR158	Trehaloz sentaz	Patates	(311)
miR4398	WRKY transkripsiyon faktörü	Patates	(311)

* Tablo satırlarında yer alan miRNA, hedef gen, bitki türü ve kaynak bilgilerinin ilişkisini göstermektedir.

Kuraklık stresi ile ilişkilendirilen korunmuş ve yeni miRNA'lar; şeftali (141), yabani çeltik (264), geven otu (265), arpa (312), çeltik (313), sorgum (314), mısır (315) ve üzüm (316) gibi çeşitli bitkilerde tanımlanmıştır.

ABA sinyal yolağında rol alan MYB transkripsiyon faktörlerini (317) hedefleyen **miR159** ve **miR319**'un kuraklık stresinde farklı ifade edildiği (141,318) ve MYB transkripsiyon faktörlerinin baskılanmasının *Arabidopsis thaliana*'da kök büyümesini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (295). miR319'un TCP gen ailesini hedeflediği ve ifade seviyelerini etkileyerek yaprak gelişiminin kontrolünde rol aldığı tespit edilmiştir (296). Ayrıca miR159 ve miR319'un nematoda karşı bitki tarafından geliştirilen sistemik savunma yanıtına aracılık ettiği gösterilmiştir (319,320).

Oksin sinyal yolağının düzenlenmesinde rol alan NAC transkripsiyon faktörlerinin (270) ifade seviyeleri **miR164** tarafından düzenlenmektedir. Yer fıstığında yapılan çalışmada miR164'ün tohum gelişiminin düzenlenmesinde görev aldığı tespit edilmiştir (291).

miR393 ve **miR1532** oksin sinyal yolağındaki oksin reseptörü *TIR1* genini, **miR160** ve **miR167** ise oksin yolağında strese yanıt veren genlerin ifadelerini düzenleyen ARF transkripsiyon faktörünü baskılayarak bitki gelişiminin düzenlenmesinde rol oynar (Çizelge 2.4.). Cassava'da oksine yanıt veren genleri hedefleyen miRNA'ların oksin

sinyalini baskıladığı, patojen enfeksiyonuna yanıtta ifadelerinin arttığı ve patojenlere karşı direnci arttırdığı belirtilmiştir (321,322).

miR165 ve **miR166**'nın kuraklık stresine yanıtta görev aldığı (141,312) ve *Arabidopsis thaliana*'da farklı fitohormonların uygulanması sonucunda hem bu miRNA'ların hem de kök gelişiminde görevli hedef genleri olan HD-ZIP transkripsiyon faktörlerinin ifade seviyelerinin ciddi oranda değiştiği gösterilmiştir (299).

miR169'un NF-YA transkripsiyon faktörlerini baskılayarak çiçeklenmeyi ve kök büyümesini desteklediği, kuraklık stresine direnç geliştirdiği gösterilmiştir (302–304).

GRAS, strese yanıtta önemli bir fitohormon olan giberillik asit sinyal yolağının baskılanmasını sağlayan transkripsiyonel düzenleyicidir ve **miR171** tarafından hedeflenmektedir. **miR172** ise etilen sinyal yolağında rol alan AP2/EREBP transkripsiyon faktörü ailesinin üyesi *AP2* genini baskılar (323) (Çizelge 2.4.).

Yapılan çalışmalarda antioksidan savunma mekanizmasının önemli enzimleri SOD ve APX'in, **miR398** ve **miR528** tarafından hedeflenerek oksidatif stres toleransının gelişmesine katkı sağladıkları belirtilmiştir (305,306). Osmotik düzenlemede rol alan trehaloz sentaz ise **miR158** tarafından hedeflenir (Çizelge 2.4.).

miRNA'lar hedef genlerini baskılarken aynı zamanda miRNA biyogenezinde pre-miRNA'dan olgun miRNA oluşmasına kadar gelişen süreçte anahtar role sahip DCL1 enziminin ifadesini (**miR162**) düzenler. Post-transkripsiyonel gen susturma mekanizmasının en önemli bileşeni AGO ise **miR168** ve **mir403** tarafından hedeflemektedir (Çizelge 2.4.). miR162'nin kuraklık koşullarında ifadesinin ciddi şekilde değiştiği ve kuraklık stresine tolerans sağlanmasında görev alabileceği (290), miR168'in patojenlere karşı direncin geliştirilmesinde rol aldığı (324), miR403'ün ise AGO'nun ifadesini etkileyerek bitki gelişimini etkilediği gösterilmiştir (301).

Bitki vejetatif faz değişimini ve çiçeklenmeyi düzenleyen SBP'yi hedefleyen **mir156**'nın, erken çiçeklenmeyi engellediği (325) tohum gelişim aşamalarını etkilediği, kuraklık stresine yanıtta fonksiyon gösterdiği ve kuraklığa toleransta rol oynayabileceği belirtilmiştir (290,291,312). Şeftalide yapılan çalışmada kuraklık stresinde miR156'nın

ifadesinin kök ve yaprak dokusunda arttığı (141), *Thellungiella halophila'*ya uygulanan kuraklık stresinde ise ifadesinin azaldığı gösterilmiştir (318).

miR395'in sülfat taşıyıcı proteinlerin ifadesini düzenlediği (288), bakır, sülfat, ve fosfat gibi besinlerin noksanlığında ve aliminyum oksit gibi nanopartiküllere maruz kalan bitkilerde **miR398**, **miR395** ve **miR399**'un ifade seviyelerinin arttığı ve strese yanıtta rol alabilecekleri belirtilmiştir (326,327).

miR396'nın ifade artışı transkripsiyon aktivatör GRF'nin ifadesini baskılayarak hücre uzamasını, kök büyümesini ve hücre döngü hızını etkilerken (308), *Arabidopsis thaliana* yapraklarında stres koşullarında hücre bölünmesini baskıladığı (328), başka bir çalışmada ise yaprak gelişmesini etkilediği gösterilmiştir (310).

Patojenlerin gelişmesini engelleyen, HR yanıtı dahil olmak üzere bitki savunma sisteminde yer alan NBS-LRR hastalık direnç proteinleri, **miR1448** ve **miR1510** tarafından hedeflenmektedir (Çizelge 2.4.).

miRNA'lar, virüs enfeksiyonlarına karşı bitki tarafından geliştirilen antiviral dirençte rol alır (329,330) (Çizelge 2.5.).

Çizelge 2.5. Bitki virüsleri ve etkilenen miRNA'lar[7].

Bitki Türü	**Virüs Türü**	**Etkilenen miRNA**	**Kaynak**
Portakal	CPsV (*Citrus psorosis virus, Turunçgil kavlama virüsü*)	miR156, miR167, miR171	(331)
Arabidopsis thaliana	CMV (*Cucumber mosaic virus, Salatalık mozaik virüsü*)	miR159	(332)
Papaya	PMeV (*Papaya meleira virus, Papaya melerya virüsü*)	miR398, miR172, miR408, miR156, miR164, miR390, miR396, miR397, miR399, miR166, miR162	(333)
Çeltik	RBSDV (*Rice black streaked dwarf virus, Çeltik siyah çizgili bodurluk virüsü*)	miR164, miR396	(334)
Domates	ToLCV (*Tomato leaf curl virus, Domates yaprak kıvırcıklık virüsü*)	miR1885	(335)
Çeltik	RSV (*Rice stripe virus, Çeltik şerit virüsü*)	miR528	(336)
Buğday	WSMV (*Wheat streak mosaic virus, Buğday çizgi mozaik virüsü*)	miR395	(337)
Soya	SMV (*Soybean mosaic virus, Soya fasulyesi mozaik virüsü*)	miR168a, miR403a, miR162b, miR1515a, miR1507a, miR1507c, miR482a	(338)
Arabidopsis thaliana	TYLCCNV (*Tomato yellow leaf curl china virus, Domates sarı yaprak kıvırcıklık çin virüsü*) BC1 proteini	miR165, miR166	(339)
Pamuk	CymRSV (*Cymbidum ringspot virus, Cymbidum halkalı leke virüsü*) BC1 proteini	miR398, miR2950	(340)
Mısır	MCMV (*Maize chlorotic mottle virus, Mısır klorotik benek virüsü*), SCMV (*Sugarcane mosaic virus, Şeker kamışı mozaik virüsü*)	miR159, miR393, miR394	(341)
Arabidopsis thaliana	TuMV (*Turnip mosaic virus, Şalgam mozaik virüsü*) P1/HC-Pro	miR171, miR156, miR160, miR164, miR167, miR172	(342)
Domates	ToLCV (*Tomato leaf curl virus, Domates yaprak kıvırcıklık virüsü*)	miR159, miR160, miR162, miR166a, miR166b, miR167, miR171, miR172, miR319, miR395, miR397, miR398	(343)

[7] Çalışmalarda ilgilenilen miRNA'lar seçilmiştir.

Çizelge 2.5. (devamı)

Bitki Türü	**Virüs Türü**	**Etkilenen miRNA**	**Kaynak**
Tütün	CymRSV (*Cymbidum ringspot virus, Cymbidum halkalı leke virüsü*)	miR168	(344)
Domates	TMV (*Tobacco mosaic virus, Tütün mozaik virüsü*)	miR159, miR160, miR164a, miR166c, miR319c	(345)
Patates	PVY (*Potato Virüs Y, Patates Y virüsü*)	miR164, miR167, miR169, miR171, miR319, miR390, miR393, miR482e	(346)
Soya	SMV (*Soybean mosaic virus, Soya fasulyesi mozaik virüsü*)	miR160, miR393, miR1510	(347)
Tütün	TMV (*Tobacco mosaic virus, Tütün mozaik virüsü*), ToMV (*Tomato mosaic tobamovirus, Domates mosaik virüsü*), PVY (*Potato Virüs Y, Patates Y virüsü*), TEV (*Tobacco etch virüs, Tütün etch virüsü***)**, PVX (*Potato virüs X, Patates X virüsü*)	miR156, miR159, miR160, miR164, miR165, miR166, miR167, miR169, miR171	(348)
Tütün	PPV (*Plum pox virus, Şarka virüsü*), PVX (*Potato virüs X, Patates X virüsü*), PVY (*Potato virüs Y, Patates Y virüsü*)	miR156, miR171, miR398, miR168	(349)

miRNA aracılı gen susturma mekanizması bitkilerde virüslere karşı direnç geliştirilmesini sağlarken, virüslerde miRNA biyogenez yolağını baskılayacı proteinler üreterek kendilerini savunur. Virüsler tarafından üretilen baskılayıcı proteinlerden, BYV (*Beet yellows virüs, Pancar sarılık virüsü*)'nin kodladığı 21 kDa proteini (p21) ve TBSV (*Tomato bushy stunt virüs, Domates cüce çalılık virüsü*)'nin kodladığı 19 kDa proteininin (p19) miRNA-miRNA* dubleksi ile etkileşime geçerek miRNA'nın foknsiyonunu bozduğu (350), p21, p19 ve TuMV (*Turnip mosaic virus*)'nin kodladığı P1/HC-Pro tarafından miRNA metilasyonunu sağlayan HEN1'in işlevinin bozulduğu (351), CMV (*Cucumber mosaic virus*) tarafından kodlanan 2b proteinin ise RISC kompleksinin ana bileşeni AGO'nun aktivitesini bozduğu (352) gösterilmiştir. TRV (*Tobacco rattle virüs, Tütün çıngırak virüsü*) RNA1 tarafından kodlanan ve virüsün çoğalması için gerekli olan 16k proteinindeki mutasyonun bitkilerdeki viral RNA seviyesini düşürdüğü, bunun sebebinin ise 16k proteininin post-transkripsiyonel gen susturma mekanizmasını baskılama fonksiyondan kaynaklanabileceği gösterilmiştir (353).

Viral enfeksiyonlar miRNA'ların ve hedef genlerinin ifade seviyelerini etkiler (131). Bitki gelişim süreçlerinde yer alan *NAC, SBP, AP2, SCL* ve *ARF* gibi genlerin anormal şekilde ifade edilmesini sağlayarak bitki gelişiminde kusurlara sebep olmaktadır (342). Portakalın CPsV (*Citrus psorosis virüs, Turunçgil kavlama virüsü*) ile enfeksiyonu sonucunda miR156, miR167 ve miR171'in ifade seviyeleri azalırken miR156'nın hedef geni *SPL* ve miR171'in hedef geni *SCL* (Scarecrow-like, GRAS domain)'nin ifade seviyeleri artmıştır (331). Domateste yapılan çalışmada ToLCV (*Tomato leaf curl virus*) enfeksiyonu ile miR159'nın ifadesi artarken miR164 ve miR171'in ifadeleri azalmıştır (354). Yine domateste, TMV (*Tobacco mosaic virus*) enfeksiyonunda, miR159, miR164a, miR166c ve miR319c-5p'nin ifade seviyeleri artarken, miR160, miR319a, miR319b ve miR319c-3p'nin ifade seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (345). Yapılan başka bir çalışmada ise patatesin PVY (*Potato virus Y*) ile enfekte edilmesi sonucunda miR164, miR167, miR169, miR171, miR319, miR390, miR393 ve NBS-LRR'yi hedefleyen miR482e'nin ifadelerinin arttığı gözlenmiştir (346).

Virüse duyarlı soya fasulyesi çeşidinde, SMV (*Soybean mosaic virus*) enfeksiyonuna yanıt veren miRNA profilinin belirlenmesi için yapılan miRNA-mikroarray çalışmasında, miRNA biyogenezinde rol alan *AGO1, AGO2, DCL1* ve *DCL2* genlerini hedefleyen miRNA'ların (miR168a, miR403a, miR162b ve miR1515a) ve NBS-LRR hastalık direnç genlerini hedefleyen miRNA'ların (miR1507a, miR1507c ve miR482a) ifadelerinin arttığı, bu genlerin ifadelerinin ise azaldığı gösterilmiştir (338).

Farklı virüs suşları farklı miRNA profili gelişmesine sebep olur. *Arabidopsis thaliana*'da şiddetli semptomlara sebep olan CMV (*Cucumber mosaic virus*) suşları tarafından üretilen 2b proteinin MYB transkripsiyon faktörlerini hedefleyen miR159 işlevini bozarak patojeniteyi artırdığı ve miRNA ifade profilini değiştirdiği, ancak hafif semptomlara neden olan suşun miRNA ifade profileine etkisi olmadığı, dolayısıyla miRNA-aracılı gen susturmanın suşlara spesifik olarak farklılık gösterdiği gözlenmiştir (332).

Virüs enfeksiyonunun şiddeti miRNA profilini farklı şekillerde etkiler. Papaya bitkisine farklı dozlarda PMeV (*Papaya meleira virus*) enfekte edilmesi sonucunda, düşük dozda miR162'nin ifade seviyesinde önemli bir değişiklik olmamış, miR398, miR172 ve miR408'in ifade seviyesi artmış, miR156, miR164, miR390, miR396, miR397 ve

miR399'un ifade seviyesi azalmış, miR166'nın ifade seviyesi değişimemiştir. Ancak yüksek doz enfeksiyonlarda miR162, miR408, miR166, miR396'nın ifade seviyesi değişmez iken miR398, miR164 ve miR172'nin ifade seviyeleri artmış, miR156, miR390, miR397 ve miR399'un ifade seviyeleri ise azalmıştır. (333).

Virüs enfeksiyonlarının sebep olduğu semptomlar ile miRNA ifadeleri arasında ilişki bulunur. Çeltikte yapılan çalışmada RBSDV (*Rice black streaked dwarf virus*) enfeksiyonunun miR164 ve miR396'nın ve hedef genlerinin ifadesini etkilemesi semptom gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (334). Domateste yapılan diğer bir çalışmada ToLCV (*Tomato leaf curl virus*) enfeksiyonu sonucunda, miR159, miR319 ve miR172'un semptomlarla ilişkili olabileceği ve miR159, miR160, miR162, miR166a, miR166b, miR167, miR171, miR172, miR319, miR395, miR397 ve miR398'un ifade seviyelerinin virüs stresinden etkilendiği belirtilmiştir (343).

TYLCCNV (*Tomato yellow leaf curl china virus*)'nin patojeniteden sorumlu ve yaprak polaritesinin bozulmasına sebep olan βC1 proteinin aktarılması ile elde edilen transgenik *Arabidopsis thaliana*'da miRNA165 ve miR166'nın ifade seviyelerinin azaldığı, yaprak polaritesinden sorumlu hedef genleri *PHB* (phabulosa) ve *PHV* (phavoluta)'nin ifade seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (339). Pamukta yapılan çalışmada ise CymRSV (*Cymbidum ringspot virus*) tarafından kodlanan βC1 proteinini miR398 ve miR2950'nın hedeflediği gösterilmiştir (340).

Virüs patojenitesi ile ortaya çıkan semptom şiddeti ile miRNA seviyeleri arasında korelasyon bulunur. Tütün bitkisine bulaştırılan TMV (*Tobacco mosaic virus*), ToMV (*Tomato mosaic tobamovirus*), PVY (*Potato Virüs Y*), TEV (*Tobacco etch virus*) ve PVX (*Potato virüs X*) farklı semptomlara ve farklı miRNA yanıtına sebep olmuştur. TMV ve ToMV ile bulaştırılan bitkilerde hastalık semptomları daha erken ortaya çıkmıştır. TMV ve ToMV daha şiddetli semptomlara neden olurken, PVX ve TEV daha az, PVY ise en az semptom oluşturmuştur. TEV yapraklarda kloroza, PVY ise yapraklarda hafif lekelenmeye sebep olmuştur. Virüs enfeksiyonlarının miRNA'lar üzerine etkisini araştırmak için seçilen miRNA'ların (miR156, miR159, miR160, miR164, miR165, miR166, miR167, miR169 ve miR171) seviyeleri ölçülmüştür. TMV ve ToMV enfekteli bitkilerde test edilen miRNA

seviyeleri önemli derecede artarken, TEV ve PVX orta derecede, PVY ise çok az değişikliğe sebep olmuştur (348).

Farklı virüslerin eş zamanlı enfeksiyonu miRNA ifade seviyesini değiştirebilir. İki farklı bitki virüsünün birlikte enfeksiyonu, bir virüs tarafından enfeksiyona uğrayan bitkiye göre daha şiddetli semptomlar gösterirken miRNA ve miRNA tarafından hedeflenen genlerin ifadeleri de değişebilir. Tütün bitkisinde yapılan çalışmada PPV (*Plum pox virüs*) virüsü tek başına uygulanırken PVX (*Potato virus X*) ve PVY (*Potato virus Y*) virüsleri aynı anda uygulanmış ve sistemik semptomları karşılaştırılmıştır. Çift virüs enfeksiyonuna maruz kalan tütün bitkisinde semptomlar daha siddetli boyuta ulaşırken bazı miRNA'ların (miR156, miR171, miR398 ve miR168) ve hedef genlerinin ifadelerinin değiştiği gözlenmiştir. Bu sonuç semptomların artması ile miRNA ifadelerindeki değişimin ilişkili olduğunu gösterir (349).

Virüs enfeksiyonu antiviral savunmada rol alan miRNA profilini etkiler. *Brassica rapa* ile yapılan bir çalışmada, TuMV (*Turnip mosaic virus*) enfeksiyonunda, miR1885'in *TIR–NBS–LRR* hastalık direnç genlerini hedefleyerek antiviral savunma mekanizmasında rol aldığı belirlenmiştir (335). RSV (*Rice stripe virus*) ile enfekte edilen çeltikte, miR528'in ifadesinin azalması sonucunda hedef geni olan APX'in antiviral aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (336). Mısırın MCMV (*Maize chlorotic mottle virus*) ve SCMV (*Sugarcane mosaic virus*) ile enfekte edilerek miRNA profili üzerine sinerjik etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise miR159, miR393 ve miR394'un antiviral savunmada rol alabilecekleri tespit edilmiştir (341). CymRSV (*Cymbidum ringspot virus*) ile enfekteli tütün bitkisi yapraklarında agrobacterium infiltrasyonuyla miR168'in geçici olarak ifade edilmesi sonucunda hedefi olan *AGO* geninin translasyonunun baskılanması ile antiviral fonksiyonunun azaldığı görülmektedir (344). Soyada, SMV (*Soybean mosaic virus*) enfeksiyonunda, bitki antiviral direncinde miR160, miR393 ve miR1510'nun rol aldığı belirlenmiştir (347).

miRNA'ların virüs direncine etkisinin araştırılması için tütün bitkisinde yapılan çalışmada, bitki doğal bağışıklık sisteminde patojenlere direnç sağlayan *R* genleri için gerekli olan *SGT1* genini hedefleyen miRNA içeren vektör tasarlanarak bitkiye aktarılmış ve bu

miRNA'nın ifade edilmesi ile bitkinin TMV (*Tobacco mosaic virus*) enfeksiyonuna karşı direncinin azaldığı gösterilmiştir (355).

Ektopik miRNA uygulamalarının da virüs direncinin geliştirilmesinde rol alabileceği görülmektedir. Fahim ve arkadaşları (2012) "yapay olarak oluşturulan miRNA'ların ticari olarak değerli bitki türlerinde virüs direncinin geliştirilmesi için kullanılabileceğini" bildirmiştir (337).

RNA-susturma-aracılı antiviral savunma mekanizmalarından diğeri siRNA (short-interfering RNA) mekanizmasıdır (356). *DCL2* ve *DCL4* tarafından virüs kaynaklı çift zincir RNA'lar, 21-22 nükleotid uzunluğunda küçük RNA'lara parçalanır (357). Bu RNA'lar RISC kompleksine taşınarak AGO ile birlikte viral RNA'yı komplementerlik esasına göre parçalar (211).

2.5. *Beta corolliflora* ve STRES TOLERANSI

Beta corolliflora; autotetraploid genoma sahip (2n=4x=36) (358), *Corollinae* seksiyonunda yer alan, Türkiye ve komşu ülkelerinin yüksek rakımlı bölgelerinde yetişen yabani bir pancar türüdür. *Beta corolliflora'nın* virüs ve abiyotik streslere önemli oranda dayanıklı olması (13–19) bu stres faktörlerine karşı genetik kaynak olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Guo ve arkadaşları (1994) tarafından *Beta corolliflora* ve *Beta vulgaris* türlerinin melezlenmesi ile elde edilen, türler arası hibrit M14 monosomik (*Beta corolliflora*'nın dayanıklı bir kromozomunu taşıyan) hattının kuraklık, soğuk ve tuz stresine karşı toleransa sahip olduğu belirtilmiştir (359). Yapılan diğer bir çalışmada ise bu M14 monosomik hattından, *M14 glyoxalase I* geni klonlanarak tütüne aktarılmış ve bu genin hücresel detoksifikasyon ile abiyotik stres koşullarına tolerans sağladığı belirtilmiştir (19). Bu araştırma sonuçları da *Beta corolliflora*'nın abiyotik strese karşı dayanıklılık için genetik kaynak olabileceğini destekler niteliktedir.

Geliştirilen şeker pancarı hatlarının/çeşitlerinin biyotik stres faktörleri arasında özellikle BNYVV stresine karşı toleransı ıslahta ana hedefi oluşturmaktadır (1,5,6). Bu amaçla BNYVV'nin sebep olduğu rizomanya hastalığı ile mücadele, rizomanyaya dirençli şeker pancarı çeşitlerinin ıslahı ile gerçekleştirilmektedir (7,8). Ancak *Beta vulgaris* ve *Beta*

maritima'da BNYVV vektörü olan *Polymyxa betae* fungusuna karşı önemli bir direnç bulunamamıştır (11,14). *Corollinae* seksiyonunun ise BNYVV ve vektörü olan *Polymyxa betae*'ye karşı yüksek düzeyde direnç sağladığı gösterilmiştir (14–16)

Kısmen dirençli şeker pancarı çeşitlerinin yetiştirilmesinde yaygın olarak kullanılan önemli rizomanya direnç geni, *Beta vulgaris subsp. vulgaris* (Holly) kaynaklı *Rz1* genidir (5). Lewellen ve arkadaşları tarafından (1987) yapılan çalışmada Holly ve hassas çeşidin çaprazlanması ile rizomanya'ya karşı direnç geliştiği ve Holly'deki direncin kısmen dominant bir gen (*Rz1*) ile sağlandığı tespit edilmiştir (9).

Rizomanya'ya direnç geliştirilmesi için *Beta vulgaris subsp. maritima* kullanılarak farklı direnç genlerinin tespit edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmıştır. *Beta maritima*'da rizomanyaya karşı direncin test edildiği bir çalışmada, *Beta vulgaris* ile *Beta maritima* başarılı şekilde çaprazlanmıştır. F1 bitkilerinin (dirençli X hassas) hepsinin direnç göstermesinin dominant dirence bağlı olabileceği, *Beta maritima*'nın rizomanyaya karşı dirençli olduğu ve bu direncin şeker pancarına aktarılabileceği gösterilmiştir (7). *Beta maritima* (WB42) ile yapılan başka bir çalışmada ise yeni bir direnç geni (*Rz2*) tespit edilmiş ve bu genin Holly'de bulunan *Rz1* direnç geni ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (5). BNYVV direncine karşı *Rz2* geninin *Rz1* geninden daha etkili olduğu belirtilmiştir (8).

Beta vulgaris ve *Beta maritima* kökenli *Rz1* ve *Rz2* gen bölgesini taşıyan Alba, Rizor, Holly ve WB42 gibi hatlar/çeşitler ticari olarak mevcut şeker pancarı çeşitlerinin ıslahında kullanılmaktadır (360–362).

Beta maritima'da yapılan diğer çalışmalarda (WB41) *Rz3*, (R36) *Rz4* ve (WB258) *Rz5* direnç genleri belirlenmiş ancak bu genlerin *Rz1* ve *Rz2* genleri ile aynı bölgede (Kromozom 3) oldukları belirlenmiştir (363–365). McGrann ve arkadaşları (2009), "*Rz3, Rz4* ve *Rz5* genlerinin, ayrı birer direnç geni mi yoksa aynı lokustaki aller mi olduğu tartışmalı olsada, rizomanya'ya karşı direncin sürdürülmesi için gerekli olabileceğini" ifade etmişlerdir (42).

Virüse dayanıklılık temel olarak *Rz1/Rz2* genlerine bağlı olarak sürdürülmekte, bu genleri taşıyan hatların/çeşitlerin dayanıklılığının %80'nin üzerinde olmadığı belirtilmiştir (366).

Rz1 ve *Rz2*'nin sağladığı dirençle ilgili olarak; *Rz1, Rz2* veya *Rz1+Rz2* direnç genleri içeren çeşitlerle yapılan çalışmada, BNYVV tespiti için toprak örneklerinde gerçekleştirilen ELISA testinde, *Rz1* (*Rz1rz1*) geninin *Rz2* (*Rz2rz2*)'ye göre çok daha fazla oranda pozitif olduğu, tek direnç genine sahip çeşitlerle her iki direnç genine sahip çeşit (*Rz1Rz2*) karşılaştırıldığında ise iki direnç genine sahip çeşidin çok daha az oranda pozitif olduğu görülmüştür (12)

Ancak, Galein ve arkadaşları (2018) "yoğun olarak şeker pancarı yetiştirilen alanlarda, virüsün evrim geçirmesine bağlı olarak *Rz1* veya *Rz1+Rz2* geni içeren çeşitlerin rizomanyaya karşı geliştirdikleri direncin kırıldığını" ifade etmişlerdir (362).

Rz geni dışında geliştirilebilecek dirençle ilgili olarak, geleneksel hibridizasyon yöntemi ile, *Beta maritima'*da BNYVV vektörü *Polymyxa betae*'ye direnç sağlayan genler (*Pb1/Pb2*) ile şeker pancarı *Rz1* geninin kombinasyonu ile yapılan çalışmada, vektör kaynaklı direnç ile *Rz1* direncinin hastalığın kontrolünde etkili olabileceği gösterilmiştir (21).

Rizomanya hastalığına karşı dayanıklı şeker pancarı türlerinin ıslahı yerine, antiviral direnç geliştirmek amacıyla gerçekleştirilen transgenik çalışmalar önem kazanmaktadır. BNYVV virüsüne direnç geliştirmek amacıyla, bitkilerde HR yanıtını güçlendirme yeteneğine sahip HrpZ (harpin) proteininin tütün bitkisine ve şeker pancarına aktarılması ile elde edilen transgenik bitkilerde hastalık semptomlarının azaldığı ve BNYVV'ye karşı direnç geliştirildiği (367), BNYVV replikaz geninden elde edilen 400 nt'lik fragment kullanılarak oluşturulan vektörün transgenik şeker pancarında ifade edilmesinin BNYVV'ye karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir (368). Başka bir çalışmada ise HrpZ proteini ve BNYVV replikaz enzimininin ifade edildiği vektörlerle oluşturulan transgenik tütünde, antiviral direnci oldukça arttığı ve bağışıklık sağlandığı, iki transgeni taşıyan bitkilerin tek transgeni taşıyan bitkilere göre daha fazla antiviral direnç geliştirildiği gösterilmiştir (369).

BNYVV enfeksiyonu ile şeker pancarının antiviral direnç mekanizmaları arasındaki etkileşimin anlaşılması amacıyla proteomik çalışmalarda yapılmaktadır (370).

Corollinae seksiyonunda ise BNYVV enfeksiyonu ve taşıyıcısı fungus toleransına yönelik çalışmalar son derece kısıtlıdır. Ancak sunulan literatür bilgilerinde *Corollinae* seksiyonu

türlerinde *Polymyxa betae* ve BNYVV'ye karşı yüksek oranda direnç bulunduğu belirtilmektedir. (16,371).

3. GEREKÇE VE AMAÇ

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) dünya şeker üretiminin yaklaşık %23'ünü karşılamaktadır (372). Katma değerli bir ürün olarak şeker pancarı kırsal kalkınmayı destekleyen, göçü önleyen, istihdam sağlayan ve planlı üretimin öncüsü olan bir bitkidir. Dolayısıyla sürdürülebilir şeker pancarı tarımı ve şeker endüstrisinin geliştirilmesi için üretim maliyetlerinin düşürülmesi, yüksek verim ve olumsuz koşullara yönelik adaptasyon potansiyeline sahip çeşitlerin kullanılması ve Ar-Ge çalışmalarının arttırılması gerekmektedir (26).

Şeker pancarı, kuraklık stresi ve BNYVV zararından doğrudan etkilenmekte ve bu stres faktörleri kök verimini, şeker oranını ve kalitesini önemli oranda azaltmaktadır.

Kuraklık, şeker pancarı tarımında sulama yapılmadan yetiştiricilik yapılan ülkelerde vejetasyon dönemindeki yağış oranına bağlı olarak %40'lara ulaşan verim kaybına neden olmaktadır (2,373–375). Türkiye dahil sulu pancar tarımının yapıldığı ülkelerde ise sulama suyunun pahalı veya yetersizliğinden kaynaklanan sulama noksanlığına bağlı olarak gelişen kuraklık şartları ürün kök verimini düşürmektedir. Diğer taraftan, dünyada ve Türkiye'de şeker pancarı tarımının yapıldığı alanların önemli bir kısmı "rizomanya" hastalığına neden olan BNYVV virüsü ile bulaşık olup, hastalık bitkilerin şeker içeriğinde ve şeker veriminde %80'lere kadar azalmaya neden olmaktadır (42).

Suya ulaşılabilirliğin ve su kalitesinin azalması ve şeker pancarı yetiştiriciliğinin suya dayalı olması nedeniyle çevresel ve ekonomik çözüm olarak kuraklığa dayanıklı şeker pancarı çeşitlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (36,376).

Kültür türleri ile yakın akraba yabani türlerin sahip oldukları stres tolerans özellikleri strese dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde önemli bir kaynak oluşturmaktadır (377). Özellikle biyotik strese dayanıklılığı artırmak için yabani gen kaynaklarındaki bu özelliklerin kültür çeşitlerine aktarılması zorunlu görünmektedir (378,379).

Beta cinsi, 4 farklı seksiyonda (*Beta, Corollinae, Nanae, Procumbentes)* birçok yabani pancar türü içermekle birlikte (23) mevcut dayanıklı şeker pancarı çeşitleri kültür pancarı ile aynı seksiyonda yer alan ve kolay melezlenebilen, *Beta maritima* ile *Beta vulgaris*

türlerinin hibritlerinden elde edilmektedir. Ancak *Beta maritima*'nın gerek kuraklığa gerekse biyotik streslere dayanıklılık özelliğinin ıslahta kullanılması, gen kaynaklarının içerisinden uzun süren çalışmalarla doğru *Beta maritama* genotiplerin seçimine bağlılık göstermektedir. Bu türün biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklılığı genotiplere göre değişmekte, poligenik özellikte olan toleransı ıslah jenarasyonları boyunca kontrol etmek kantitatif kalıtımdan dolayı güçleşmektedir. Bunun sonucu olarak ise iki türün melezlenmelerinden yarı tolerant hatların üretildiği, hatlardan aktarılan bu tolerantlığın ise zamanla çeşitlerde kırılabildiği görülmektedir (11).

Son yıllarda rizomanya'ya karşı kısmi dirençli çeşitlerle geliştirilen direncin kırıldığı (12), bu çeşitlerde direnç geni bulunmasına rağmen şiddetli semptomlar görüldüğü bildirilmektedir (380,381). Direnç kırıcı virüs suşlarının artması nedeniyle hastalıkla mücadelede yeni yöntemlerin uygulanmasını (370), yeni direnç kaynaklarının araştırılması ve rizomanya hastalığına dayanıklı yeni çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir (12,42). Virüs ve vektör direncinin birlikte değerlendirileceği konvansiyonel veya transgenik yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır (42). Farklı seksiyonlardaki direncin kombinasyonu ile yüksek seviyede direnç sağlanması önerilmektedir (10). Ticari çeşitlerde genelde *Beta vulgaris* kökenli *Rz1* ve *Beta maritima* kökenli *Rz2* gibi genlerle sağlanan hastalık direncinin virüs suşları tarafından kırılması, gelecekte daha patojen izolatların yayılmasına sebep olabilecektir. Bu nedenlerle yeni ve daha etkili yöntemler ile rizomanya direnç kaynaklarının araştırılması gerekmektedir (44).

Diğer taraftan Anadolu'nun da gen merkezi olduğu *Corollinae* seksiyonunda yer alan *Beta corolliflora,* virüs ve kuraklık stresine karşı dayanıklılığa sahip önemli bir tür olmasına rağmen kültür pancarına ıslah ile yapılacak genetik rekombinasyonlar uzun süren çalışmalar gerektirmekte ve hibrit bitkinin gelişme sürecinde vejetatif aşamadan jeneratif aşamaya geçilememektedir (20). Islah sürecinde; *Corollinae* seksiyonunda yer alan türlerin tohumlarının çok sert olması ve zor çimlenmesi, şeker pancarı kromozomları ile aralarında yeterli homoloji olmaması (13), dayanıklılığın tam olarak aktarılamaması (382), geriye melezlemenin gerekmesi (378) gibi nedenlere *Corollinae* türleri ve *Beta vulgaris*'in hibridizasyonunda zorluklar yaşanmaktadır (21). Dolayısıyla *Beta corolliflora* ile melezlemelerin ıslahta virüs ve kuraklığa karşı şeker pancarı hibrit çeşitleri geliştirmek amacı ile kullanılması pratik bir çözüm olarak görülmemektedir.

Ayrıca günümüzde strese dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi amacıyla türler arası melezleme bariyerlerinin aşılabilmesi ve ıslah sürelerinin kısaltılması için biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması tüm dünyada kabul görmektedir. Bu yöntemlerden birisi de stres koşularına dayanıklı bitki türlerinin tolerans mekanizmalarının açıklanması amacıyla stres faktörleri ile ilişkili miRNA'ların tespit edilmesidir. Ancak şeker pancarında miRNA tespitine ve fonksiyonuna yönelik araştırmalar yok denecek kadar az olup pancar genom projesi dahilinde *Beta maritima* ve *Beta vulgaris*'ten kuraklık ve virüs stresine spesifik olmayan genel miRNA'lar tespit edilmiştir. *Beta corolliflora* türünde de kuraklık ve virüs stresine yönelik miRNA çalışması bulunmamaktadır.

Bitki genomunda tolerans-dayanıklılığın kontrol mekanizmalarından birisi olan miRNA profillemesi ile yabani pancarlardan elde edilecek bulguların, ıslahta kullanılmayan yabani pancarlara yönelik biyoteknolojik uygulamalarda kullanılması ile birlikte bu türlerin daha faydalı gen kaynağı haline getirilmesi büyük önem taşımaktadır. Sunulan bilgiler ışığında;

- *Beta maritama*'nın melezlenme avantajlarına karşı, virüs ve kuraklık ıslahında kullanılan dayanıklı *Beta maritima* genotiplerinin seçiminindeki zorluklar, yine bu genotiplerin ıslah sürecindeki dayanıklılık kırılmaları gibi dezavantajlarının ortadan kaldırılması için alternatif yabani türlerde biyoteknolojik çalışmaların başlatılması,

- Kültür pancarı ile melezleme bariyerleri bulunması nedeni hat-çeşit ıslahında kullanılamayan dayanıklı *Corollinae* seksiyonunun iki strese yönelik pancar dayanıklılık çalışmalarında kullanılması,

tezin gerekçesini oluşturmaktadır. Bilgimiz dahilinde dünya literatüründe ilk çalışma özelliğinde olan bu araştırma sonuçlarıyla, kültür türleri ile yabani türler arasında strese karşı geliştirilen toleransın miRNA seviyesinde daha iyi anlaşılması hedeflenmiştir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. MATERYAL

Beta corolliflora türüne ait genotipler arasından BNYVV'ye dayanıklılığı tespit edilen[8] ve bu genotiplere uygulanan kuraklık stresinde kuraklığa karşı en dayanıklı genotip olarak belirlenmiş olan[9] *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipi (Gen bankası bilgisi: Bilecik, TR 51285) bitkisel materyal olarak seçilmiştir. Tohumlar T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü gen bankasından sağlanmıştır.

4.2. YÖNTEM

4.2.1. *Beta corolliflora* TOHUMLARININ ÇİMLENDİRİLMESİ VE BİTKİLERİN ELDE EDİLMESİ

Beta corolliflora tohumlarının çimlendirilmesi ve bitkiye dönüştürülmesi Ergül ve arkadaşları (2018) tarafından uygulanan yönteme göre gerçekleştirilmiştir (383). Yöntem aşamaları aşağıda verilmiştir.

Beta corolliflora 127 numaralı genotipine ait tohumlar, sert kabuklarının yumuşayıp açılabilmesi için sülfürik asit (H_2SO_4) ile 3 saat boyunca muamele edilmiştir. Asitle muamele edilen tohumlar musluk suyu altında yıkanarak asitten arındırılmıştır. Asitten arındırılan tohumlar gece boyu ılık suda bekletilmiştir. Sonrasında sert tohum kabukları binoküler altında bisturi yardımıyla kaldırılarak embriyo zedelenmeden ortaya çıkartılmıştır (Şekil 4.1.). Embriyolar sırasıyla tohum çimlendirme ortamı ve köklendirme ortamına ekilmiştir.

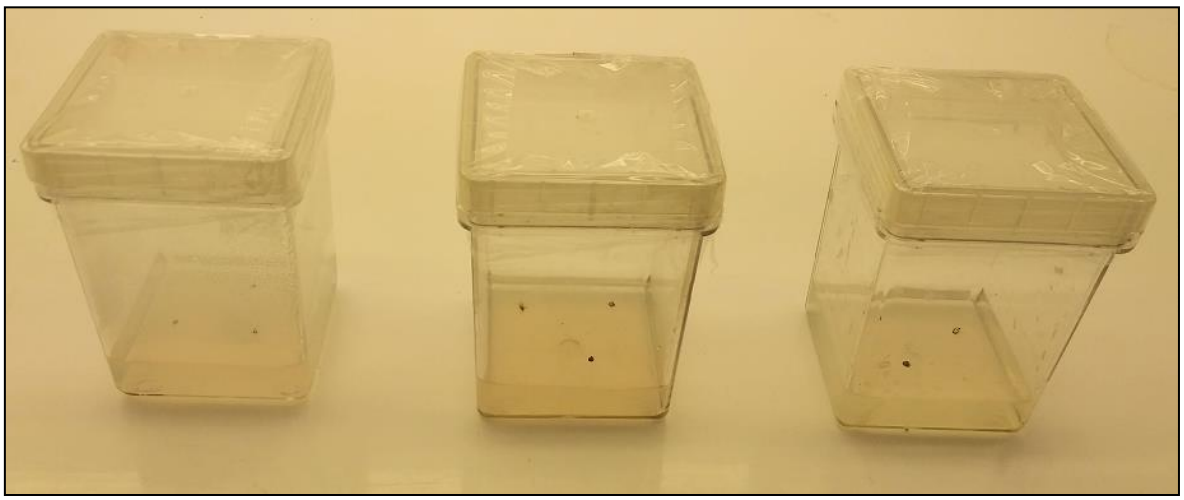
[8] "Şeker Pancarında *Rhizomania*'ya Dayanıklı Ebeveyn Hatların Geliştirilmesi ve Yabani Pancar Populasyonlarında Dayanıklı Genotiplerin Belirlenmesi" konulu 1003 TUBİTAK projesi, alt proje yürütücüsü: Prof. Dr. Ali ERGÜL.

[9] "*Beta corolliflora* ve *Beta procumbens* Yabani Pancar Türlerinde De Novo Genom Dizileme, Biotik-Abiotik Stres Gen Adaylarının Belirlenmesi ve Bazı Kuraklık Genlerinin Klonlanması" konulu 1001-TUBİTAK projesi, yürütücü: Prof. Dr. Ali ERGÜL.



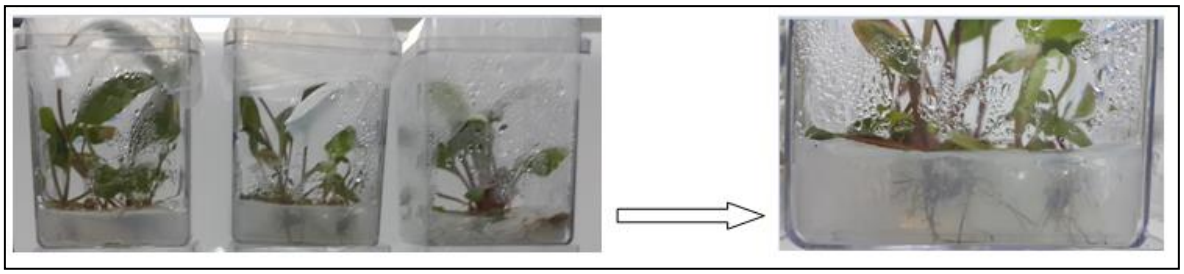
Şekil 4.1. *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait tohumların asitle muamelesi ve binoküler altında embriyoların çıkartılmasına ait genel görünüm.

Tohum çimlendirme ortamı: MS (Murashige ve Skog) medium (4.4 g/L), sakkaroz (%3), BAP (6-benzyl amino purine, 1 mg/L), agar (8g/L), pH: 5.8'e ayarlanmış ve ortam 121 ^{o}C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Sterilizasyon sonrası ortam, çeker ocak altında soğutularak steril magentalara disposable pipet ve pipet tabancası yardımı ile 50 ml hacimde olacak şekilde dağıtılmıştır. Çeker ocak içerisinde katılaşan ortamları içeren magentaların kapakları kapatılarak parafilm ile sarılmış ve doku kültürü odasında muhafaza edilmiştir. Açılan embriyolar ilk olarak bu tohum çimlendirme ortamına alınmıştır (Şekil 4.2.). 30-45 gün süre ile doku kültürü odasında 16 saat karanlık, 8 saat aydınlık koşullar altında ve 24 ^{o}C' de sürgün oluşturan yabani tohumlar köklendirme ortamına alınmıştır.



Şekil 4.2. Çimlendirme ortamındaki *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm.

Köklendirme ortamı: MS medium (2.2 g/L), sakkaroz (%3), IAA (indole-3-acetic acid, 1 mg/L), agar (8 g/L), pH: 5.8'e ayarlanmış ve ortam 121 ^{o}C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Bu ortam ile köklendirme sağlanmıştır (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Köklendirme ortamındaki *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm.

Köklendirme ortamında 30 gün bekleyen bitkilerin toprağa alıştırma sürecine geçilmiştir.

Toprağa şaşırtma: Toprağa şaşırtma öncesinde köklendirme ortamında bulunan bitkilerin dış koşullara alıştırılması için magenta kapakları çeker ocak altında açılarak kapak yerine parafilm çekilmiş ve parafilmin üstünde iğne yardımı ile küçük havalandırma delikleri açılmıştır. İlk beş gün sonunda delik sayısı arttırılmıştır. Bu sayede bitkilerin dış koşullara alışması kolaylaştırılmıştır (Şekil 4.4.).

Bu aşamadan sonra bitkiler 121 ^{o}C'de 15 dakika otoklavlanmış (steril) toprağa şaşırtılmıştır. Alıştırma dönemi boyunca bitkiler nemlendirilmiş plastik örtü ile kapatılmıştır. Düzenli aralıklarla plastik örtü kaldırılarak bitkilerin iklim odasında dış ortama alışmaları sağlanmıştır.



Şekil 4.4 Toprağa şaşırtılmış *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm.

Bitkilerin dış ortama alıştırma çalışmaları 3 hafta boyunca devam ettirilmiş, bitkiler 3 hafta sonunda denemeye alınmıştır.

Denemeye alınan bitkiler için stres uygulama aşamasına geçilmeden önce (0. günde) kontrol örneği olarak kullanılmak üzere her hangi bir stres uygulanmamış olan *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait bir örnekten yeterli miktarda kök dokusu alınarak, çeker ocak altında öncelikle %10'luk çamaşır suyunda 15 dakika bekletilmiş, ardından

otoklavlı ddH_2O (çift distile su) ile 3-4 kez dikkatlice yıkanmıştır. Yıkama sonrası dokular yine çeker ocak altında yaklaşık 10 dakika kurumaya bırakılmıştır. Sterilizasyondan sonra "kontrol (0. gün) kök örneği"ne ait kökler sonraki aşamalarda kontrol örneği olarak kullanılmak üzere sıvı azotla ezilerek homojen hale getirilmiş ve -80 ^{o}C'de tüplerde muhafaza altına alınmıştır.

4.2.2. KURAKLIK STRESİ UYGULANMASI

Dış ortama alıştırma süresi tamamlanan (3 hafta) *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait bir bitkiye iklim odasında 11 gün süre ile su noksanlığı şeklinde kuraklık stresi uygulaması yapılmıştır (Şekil 4.5.). Bu sürenin sonunda kuraklık stresi uygulanmış bir örnekten yeterli miktarda kök dokusu alınarak, çeker ocak altında öncelikle %10'luk çamaşır suyunda 15 dakika bekletilmiş, ardından otoklavlı ddH_2O ile 3-4 kez dikkatlice yıkanmıştır. Yıkama sonrası dokular yine çeker ocak altında yaklaşık 10 dakika kurumaya bırakılmıştır. Sterilizasyondan sonra "kuraklık stresi uygulanmış kök örneği" sonraki aşamalarda kuraklık stresi örneği olarak kullanılmak üzere sıvı azotla ezilerek homojen hale getirilmiş ve -80 ^{o}C'de tüpte muhafaza altına alınmıştır.



Şekil 4.5. Kuraklık stresi uygulanmış *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait genel görünüm.

4.2.3. VİRÜS BULAŞTIRMA İŞLEMİ

Dış ortama alıştırma süresi tamamlanan (3 hafta) *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipine ait bir örnek, BNYVV bulaştırmak amacıyla, BNYVV'nin beş adet RNA (RNA1, RNA2, RNA3, RNA4, RNA5) bölgesini içeren virüs ile bulaşık olduğu bilinen Kayseri/Mahzemin

bölgesinden alınan referans toprak örneğine şaşırtılmıştır. 9 hafta süre ile iklim odasında 16 saat karanlık, 8 saat aydınlık koşullar ve 25 ^{o}C'de virüs bulaştırılmıştır (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipinin virüs bulaşık toprakta genel görünümü.

Virüs bulaştırma işleminden 9 hafta sonra virüs bulaşık örnekten gerekli miktarlarda kök dokusu alınarak (Şekil 4.7.) çeker ocak altında öncelikle %10'luk çamaşır suyunda 15 dakika bekletilmiş, ardından otoklavlı ddH_2O ile 3-4 kez dikkatlice yıkanmıştır. Yıkama sonrası dokular yine çeker ocak altında yaklaşık 10 dakika kurumaya bırakılmıştır.

Sterilizasyondan sonra "virüs stresi uygulanmış kök örneği" sonraki aşamalarda virüs stresi örneği olarak kullanılmak üzere sıvı azotla ezilerek homojen hale getirilmiş ve -80 ^{o}C'de tüplerde muhafaza altına alınmıştır.



Şekil 4.7. *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipinin virüs bulaştırılmış köklerinin görünümü.

4.2.4. RNA İZOLASYONU

Beta corolliflora 127 numaralı genotipine ait "kontrol kök örneği (KN)", "virüs stresi uygulanmış kök örneği (VR)" ve "kuraklık stresi uygulanmış kök örneği (KR)"nden toplam (total) RNA izolasyonu yapılmıştır.

RNA izolasyonu Wizard Promega Total RNA izolasyon kiti (Katalog no: Z3100) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Protokole ait aşamalar aşağıda verilmiştir.

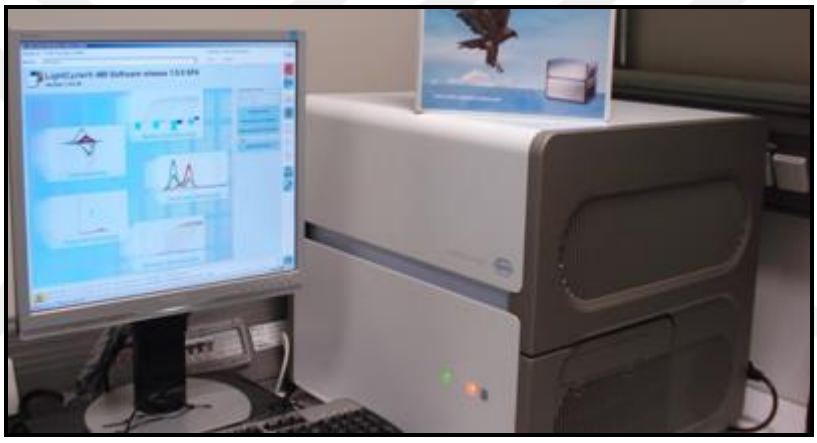
- Sıvı azot ile ezilen kök dokusundan 30-40 mg örnek doku 2 ml'lik tüpe alınır.
- Üzerine 175 µl RNA Lysis Buffer eklenir, karıştırılır.
- 350 µl RNA Dilution Buffer eklenir, karıştırılır.
- 10 dakika 17.000 rpm'de santrifüj yapılır.
- Üst faz yeni 2 ml'lik tüpe aktarılır ve üzerine 200 µl %95'lik etil alkol eklenir, pipetaj ile 3-5 kez karıştırılır. Kite ait kolon 2 ml'lik tüpe yerleştirilir ve karışım kolona aktarılır.
- 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılır.
- Tüpün altında toplanan sıvı (supernatant) atılır, kolona 600 µl SV RNA Wash solüsyonu eklenir.
- 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılır.
- Her bir izolasyon tüpü için, 40 µl Yellow Core Buffer, 5µl 0,09M $MnCl_2$ ve 5µl DNAse I enzimi olmak üzere toplam 50 µl'lik karışım başka bir tüpte karıştırılarak, kolon filtresine değmeden kolona uygulanır ve 20-25 °C'de 15 dakika beklenerek, DNAse uygulaması gerçekleşir.
- Süre sonunda 200 µl DNAse Stop solüsyonu (SV) kolon filtresine değmeden kolona uygulanır.
- 14.000 rpm' de 1 dakika santrifüj yapılır.
- Kolona 600 µl SV RNA Wash solüsyonu eklenir.
- 14.000 rpm' de 1 dakika santrifüj yapılır.
- Alt sıvı atılır, tekrar kolona 250 µl SV RNA Wash solüsyonu eklenir, 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj yapılır.
- Son olarak kolon filtresine değmeden 100 µl Nuclease Free su kolona eklenir ve altına yeni 2 ml'lik tüp konulur.
- 14.000 rpm' de 1 dakika santrifüj yapılır. RNA içeren alta süzülen sıvı porsiyonlanarak -80 °C'de saklanır.

Kontrol kök örneğinden izole edilen toplam RNA (KN-RNA), virüs stresi uygulanmış kök örneğinden izole edilen toplam RNA (VR-RNA) ve kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinden izole edilen toplam RNA (KR-RNA) için kalite ve miktar ölçümleri amacı ile

%1'lik agaroz jel ve Nanodrop (ND–1000) spektrofotometre kullanılmıştır. KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA miktar ve kalite ölçümleri bakımından yeterli bulunmuştur (Bölüm 5.1). İzole edilen toplan RNA'lar virüs bulaşıklığının tespit edilmesi, küçük RNA dizilemesi, miRNA validasyonu ve hedef gen validasyonlarında kullanılmak üzere porsiyonlanarak -80 ^{0}C'de saklanmıştır.

4.2.5. VİRÜS BULAŞIKLIĞININ TESPİT EDİLMESİ

Virüs bulaştırılan *Beta corolliflora* 127 numaralı genotipinde, BNYVV genomunu oluşturan RNA1, RNA2, RNA3, RNA4 ve RNA5 bölgelerinin varlığını tespit etmek amacıyla Eş Zamanlı PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) (Roche Light Cycler LC 480, Şekil 4.8.) yöntemi ile Taqman Eş Zamanlı PZR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.8. Roche Light Cycler LC 480 Eş Zamanlı PZR aleti (Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü SİSBİYOTEK Laboratuvarı).

4.2.5.1. Eş Zamanlı PZR

Eş Zamanlı PZR reaksiyonları VR-RNA örneğinden virüs bulaşıklığının tespitinde kullanılmak üzere sentezlenen cDNA ile gerçekleştirilmiştir.

4.2.5.1.1. cDNA Sentezi

Eş Zamanlı PZR'nin ilk aşaması olarak VR-RNA örneğinden cDNA sentezi yapılmıştır. cDNA sentezi için First Strand cDNA Sentez kiti (Roche, Katalog No: 04896866001) kullanılmıştır.

Çizelge 4.1.'de sunulan RNA-primer karışımı PZR aletinde 65 ^{o}C'de 10 dakika bekletilip arkasından buza alınmış, Çizelge 4.2.'de verildiği şekilde hazırlanan ters transkripsiyon (rt, revers transcription) karışımı eklenerek, toplam 10 µl hacimde belirtilen reaksiyon koşullarında revers transkripsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen cDNA Taqman Eş Zamanlı PZR reaksiyonuna kadar -20 ^{0}C' de saklanmıştır.

Çizelge 4.1. RNA-Primer karışımının hazırlanması.

İçerik	**Hacim**
RNA (200 ng)	Değişken
Oligo (dt) Primer (50 pmol/µl)	0,5µl
Su (PZR grade)	Değişken
Toplam	6,5µl

Çizelge 4.2. Ters transkripsiyon (rt, revers transcription) karışımı.

İçerik	**Hacim**	**Reaksiyon Koşulları**
Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer (5X)	2µl	
RNase Inhibitör (40 ünite/µl)	0,25µl	55 ^{o}C 30 dakika
dNTP mix (10 mM)	1µl	85 ^{o}C 5 dakika
Transcriptor ReverseTranscriptase Enzimi (20 ünite/µl)	0,25µl	10 ^{o}C forever
Toplam	3,5µl	

cDNA sentez sonrası %1'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiş ve spektrofotometrik ölçümleri (ND-1000) yapılmıştır (Bölüm 5.2.).

4.2.5.1.2. Eş Zamanlı PZR Reaksiyonları

VR-RNA'dan sentezlenen cDNA kullanılarak 113O096 numaralı 1003-TUBİTAK projesinde[10] belirlenen optimizasyon koşulları (Çizelge 4.4.) üzerinden Light Cycler 480 Probes Master Mix kullanılarak Taqman Eş Zamanlı PZR gerçekleştirilmiştir. Taqman Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında kullanılan primer/prob dizileri Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

[10] "Şeker Pancarında *Rhizomania*'ya Dayanıklı Ebeveyn Hatların Geliştirilmesi ve Yabani Pancar Populasyonlarında Dayanıklı Genotiplerin Belirlenmesi" konulu 1003 TUBİTAK projesi, alt proje yürütücüsü: Prof. Dr. Ali ERGÜL.

Çizelge 4.3. Eş Zamanlı PZR analizlerinde kullanılan Taqman primer/prob çifti dizileri (İ: İleri primer, G: Geri primer).

Bölge adı (BNYVV)	**Primer dizisi 5'-3'**	**Taqman prob dizisi 5'-FAM/TAMRA-3'**	**Kaynak**
RNA1	İ: GAATAAAGGCCATGCCACAG	CCTATCTTGATGAAGGTTGTTGTGGTTTTCTCA	Tubitak Proje No: 113O096 (Ana proje no:113O095)
	G: CAAGAACCGACATAAGCAACTC		
RNA2	İ:CATGGAAGGATATGTCTCATAATAGGTT	TGACCGATCGATGGGCCCG	(384)
	G:AACACTCACGACGTCCGAAAC		
RNA3	İ: CCTAATGCAACAAATTTCCCTC	CAGGTTTACATGGTGTGTTTGGTAAACACGGTTGA	Tubitak Proje No: 113O096 (Ana proje no:113O095)
	G: TACAAACCAGAGTGAACCCA		
RNA4	İ: GTCGTTGGATGTTCCTGTGTC	AAACACGTACACGTCCAACGCCAAC	Tubitak Proje No: 113O096 (Ana proje no:113O095)
	G: GGCATTAAGAAAGCACCCAG		
RNA5	İ: GTGGTTCGGGATGTTGATTA	AGGTTACTAAACAAAATAGCCCT	(384)
	G: GTCAATATACTG ACAAAGAA		

Taqman primer/prob optimizasyon koşulları Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Taqman primer/prob optimizasyon koşulları.

Optimizasyon Koşulları	**BNYVV**					**Kaynak**
	RNA1	**RNA2**	**RNA3**	**RNA4**	**RNA5**	
Tm	52 ^{0}C	57 ^{0}C	52 ^{0}C	52 ^{0}C	50 ^{0}C	Tubitak Proje No: 113O096 (Ana proje no:113O095)
cDNA	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl	
İleri primer (10 pmol)	1 µl	1 µl	1 µl	1 µl	1.5 µl	
Geri primer (10 pmol)	1 µl	1 µl	1 µl	1 µl	1.5 µl	
Light Cycler 480 Probes Master Mix	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl	
Taqman prob	0,2 µl	0,2 µl	0,2 µl	0,2 µl	0,2 µl	
Su (PZR grade)	0,8 µl	0,8 µl	0,8 µl	0,8 µl	0,8 µl	
Toplam hacim	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	

Optimizasyon koşullarına göre 5 gen bölgesine yönelik reaksiyonlar, her bir primerin belirlenen bağlanma sıcaklığı dikkate alınarak ilgili Taqman Eş Zamanlı PZR programına göre üç teknik tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Taqman Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında; her bir primer/proba ait örnekleri içeren cDNA ile optimize koşulları içeren oranlarda Taqman Prob Master Kit içerikleri karışımı (Taqman prob mix, Taqman gen spesifik prob, ileri ve geri primerler, su) alete ait 384'lük pleytlere yerleştirilmiştir. Pleyt Roche Light Cycler Sealing Foil ile plate kaplanarak 15.000 rpm'de 2 dk. santrifüj

edilmiştir. Santrifüj sonrasında, Roche Light Cycler LC 480 aletinde her gen bölgesi için optimize edilen programlar seçilerek koşturulmuş ve örneklere ait Ct (cycle threshold, eşik döngü değeri) değerleri elde edilmiştir (Bölüm 5.2.).

4.2.5.1.3. Eş Zamanlı PZR Verilerinin Değerlendirilmesi

Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarının analizinde kullanılan Ct değeri, gen ifadesindeki ilk anlamlı artışın gerçekleştiği noktayı belirtmektedir. Veriler, virüs bölgesi miktarı (BNYVV; RNA1, RNA2, RNA3, RNA4, RNA5) ne kadar fazla ise ilk anlamlı artışın da o kadar erken olacağı şeklinde yorumlanmıştır.

4.2.6. KÜÇÜK RNA DİZİLEME

Her iki stres koşulu için ortak olan kontrol kök örneğinden izole edilen toplam RNA (KN-RNA), virüs stresi uygulanmış kök örneğinden izole edilen toplam RNA (VR-RNA) ve kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinden izole edilen toplam RNA (KR-RNA)'lar için kalite ölçümleri yapıldıktan sonra birer örnek (tüp) küçük RNA dizileme işlemleri için kullanılmıştır (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Küçük RNA dizilemede kullanılan stres-kontrol materyalleri ve RNA örnekleme kodları.

No	Materyal	Materyal RNA Kodu
1	Kontrol kök örneği (ortak)	KN-RNA
2	Virüs stresi uygulanmış kök örneği	VR-RNA
3	Kuraklık stresi uygulanmış kök örneği	KR-RNA

4.2.6.1. Dizileme Öncesi Kalite Ölçümleri

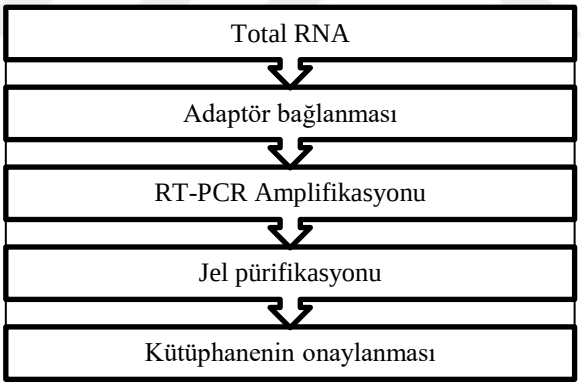
Küçük RNA dizileme çalışmaları Genewiz Inc. (ABD) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. RNA örneklerinde dizileme öncesi tekrar kalite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. RNA kalite ölçümleri için Nanodrop 2000 kullanılmıştır. Örneklerin saflığını kontrol etmek amacıyla kullanılan Nanodrop ile ölçülen A260/A280 oranının 2'ye yakın olması beklenmektedir (385). RNA kalite analizleri için Nanodrop ölçümlerine ek olarak örneklerin RIN (RNA integrity number) değerleri de ölçülmüştür. Toplam RNA kalite ölçümü için yaygın olarak kabul gören RIN değeri RNA degradasyonunu nicel

olarak hesaplayan matematiksel modele dayalı bir algoritmadır (386). RIN değerinin 7'den büyük olması birçok RNA dizileme protokolü için uygun kabul edilmektedir (387,388). RIN değerleri TapeStation (Agilent Technologies) ile ölçülmüştür (Bölüm 5.3.1).

4.2.6.2. Küçük RNA Kütüphanesinin Hazırlanması

RNA ölçümleri sonucu yeterli kalitede bulunan KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örnekleri küçük RNA dizilemesinde kullanılmıştır. Küçük RNA-dizileme kütüphanesi Illumina HiSeq teknolojisi ile "TruSeq small RNA library preparation kit" kullanılarak hazırlanmıştır.

TruSeq small RNA library preparation kit: kütüphane hazırlamak için adaptör ligasyonu, ters transkripsiyon (rt, revers transcription), PZR amplifikasyonu ve jel purifikasyonu basamaklarını içerir. Kitte özellikle mikroRNA'ları ve 3' hidroksil grubuna sahip diğer küçük RNA'ları hedefleyecek şekilde modifiye edilmiş 3' adaptör kullanılmaktadır. Bu adaptörler her bir RNA molekülünün sonuna bağlanır ve cDNA elde etmek için reverse transkripsiyon reaksiyonunda kullanılır. Daha sonra cDNA ortak bir primer kullanılarak PZR ile çoğaltılır (389) (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Küçük RNA-dizileme örnek hazırlama basamakları.

Örnekler, Illumina HiSeq (1x50 SR) platformunda dizilenerek (390) ham okuma verileri elde edilmiştir (Bölüm 5.3.2.).

4.2.6.3. Dizileme Sonrası Kalite Ölçümleri

Okuma kalitesinin ölçülmesi için Phred kalite skoru (Q skor) kullanılmıştır. Q skorlamada dizilemedeki hatalı okuma olasılığı belirlenmekte ve Q10, Q20, Q30 (Q10; 10 nükleotitte 1 hatalı okuma olasılığı, Q20; 100 nükleotitte 1 hatalı okuma olasılığı, Q30; 1000

nükleotitte 1 hatalı okuma olasılığı) şeklinde ifade edilmektedir (391). KN-RNA örneğine ait okumalar/küçük RNA dizileri (KN-sRNA), VR-RNA örneğine ait okumalar/küçük RNA dizileri (VR-sRNA) ve KR-RNA örneğine ait okumaların/küçük RNA dizilerinin (KR-sRNA) kaliteleri Q skor verilerine göre değerlendirilmiştir (Bölüm 5.3.3.).

4.2.7. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER

Analizler, CLC Genomic Workbench (CLC-GW) (392), SQL Server, MS Excel, SPSS (393) ve miRCat (394) programları ile biyoinformatik web sunucuları/veritabanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Bölüm 5.4.).

CLC Genomic Workbench (V.11, V.12), Qiagen firması tarafından geliştirilen yeni nesil sekanslama (NGS, next generation sequencing) teknolojileri ile üretilen dizi verilerinin analiz edilmesini sağlayan kapsamlı bir programdır. CLC-GW, dizi kalite analizleri, dizilerin okunması, trim ve filtreleme işlemleri, küçük RNA tespiti, miRBase anotasyonu, kodlanmayan RNA'ların sınıflandırılması ve haritalama işlemlerinde kullanılmıştır.

MS Excel (2007), Microsoft tarafından geliştirilmiş, verilerin tablolar ya da listeler halinde düzenlenmesini ve bu verilerle belirli hesaplamarın/analizlerin yapılabildiği programdır. **SQL Server** (2014) ise yine Microsoft tarafından geliştirilmiş ilişkisel veri tabanı yönetim sistemidir. Elde edilen dizi verileri bu programlara aktarılarak veri düzenleme, sınıflandırma, ifade analizleri vb. işlemler gerçekleştirilmiştir.

miRCat programı, küçük RNA dizilerinden muhtemel saç tokası (hairpin) yapısına sahip olabilecek miRNA adaylarını belirlemektedir. miRCat, anote edilemeyen küçük RNA dizilerinin saç tokası yapılarının analizi için kullanılmıştır.

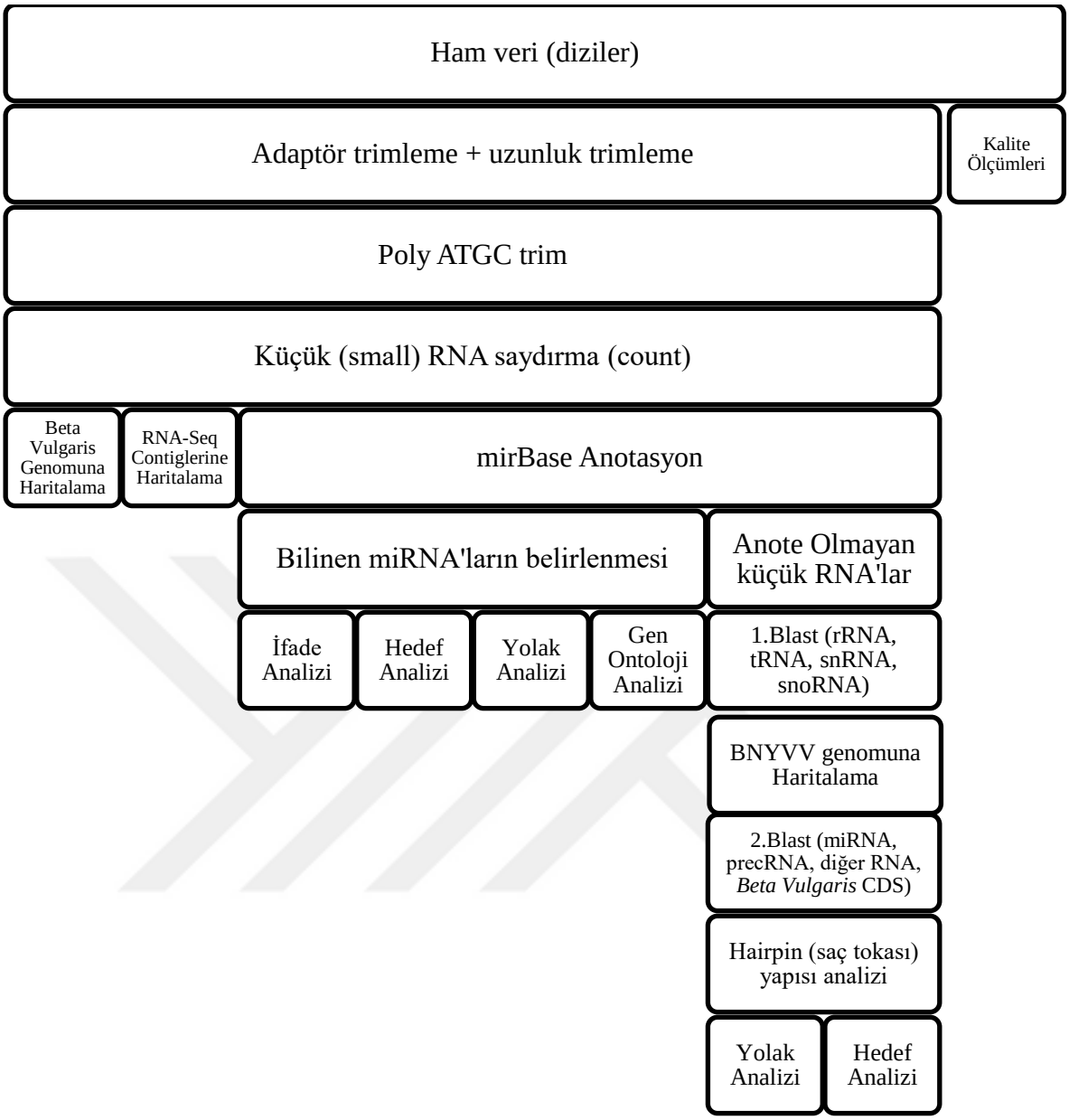
SPSS (V.13) (Statistical Package for the Social Sciences) gelişmiş bir istatik analiz programıdır. Korelasyon analizleri için SPSS programı kullanılmıştır.

psRNATarget (Plant Small RNA Target Analysis) Server 2017 (395), miRNA'lar ile hedef genleri arasındaki eşleşmeyi belirli skor tanımlarına göre analiz ederek miRNA'ların muhtemel hedef genlerini belirlemektedir. Bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizileri ve yeni miRNA adaylarının hedef gen analizleri için psRNATarget web sunucusu kullanılmıştır.

KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) web sunucusu (396,397), genom dizileme ve yüksek hacimli deneysel teknolojilerden elde edilen moleküler seviyedeki bilgiler ile biyolojik sistemlerin fonksiyonlarının araştırılmasını sağlayan bir veritabanıdır. Genlerin birbirleri ile olan ilişkileri dikkate alınarak moleküler yolaklar belirlenmektedir. Belirlenen hedef genlerin hangi yolaklarda yer aldığını belirlemek amacıyla KEGG web sunucusu kullanılmıştır.

Panther (Protein Analysis Through Evolutionary Relationships) web sunucusu (398), genlerin ve genlerle ilişkili proteinlerin moleküler, hücresel ve biyolojik fonksiyonları bakımından sınıflandırılmasını sağlamaktadır. Ontoloji analizleri Panther web sunucusu ile gerçekleştirilmiştir.

NCBI (National Center for Biotechnology Information) (399), özellikle DNA ve RNA dizi analizleri bakımından en kapsamlı veritabanlarından biridir. Dizi homolojilerinin belirlenmesi ve belirlenen genlere ait bilgilerin elde edilmesi için NCBI veritabanı, hedef genlere ait dizilerin elde edilmesi için **Ensembl Plant** (400), gen isimleri ve gen açıklamaları için **Uniport** (401) ve **TAIR** (The Arabidopsis Information Resource) (402) web sunucuları kullanılmıştır. Analiz basamaklarına ait genel akış şeması Şekil 4.10.'da belirtilmiştir.

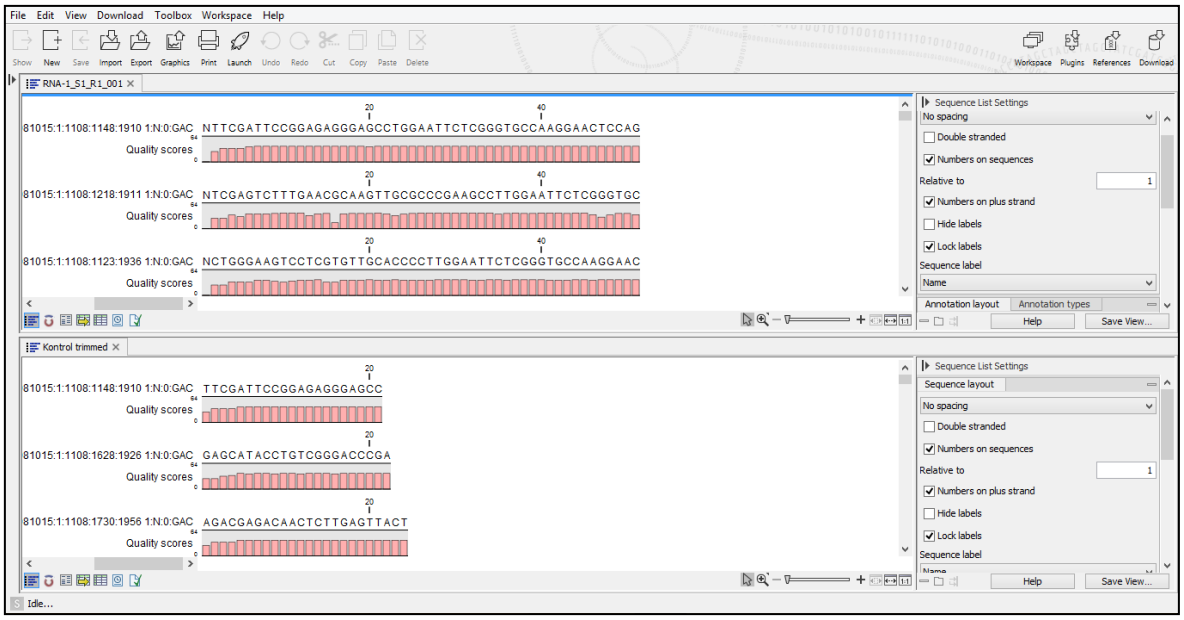


Şekil 4.10. Analiz basamakları şeması.

4.2.7.1. Adaptör Çıkartma ve Filtreleme

KN-RNA örneğine ait okumalar/küçük RNA dizileri (KN-sRNA), VR-RNA örneğine ait okumalar/küçük RNA dizileri (VR-sRNA) ve KR-RNA örneğine ait okumalar/küçük RNA dizileri (KR-sRNA) dizileme platformları tarafından yaygın olarak kullanılan ve dizinin kalitesi hakkında bilgi içeren dosya biçimi (.fastq) formatında elde edilmiştir. Fastq formatındaki diziler CLC-GW programında açılarak, nükleotid veya protein dizisi için ">" işareti ile karakterize edilmiş text-tabanlı dosya formatına (.fasta) çevrilmiştir (Şekil 4.11.). Küçük RNA'ların belirlenmesi amacıyla, dizileme sonrası ham verilerin kalite analizleri

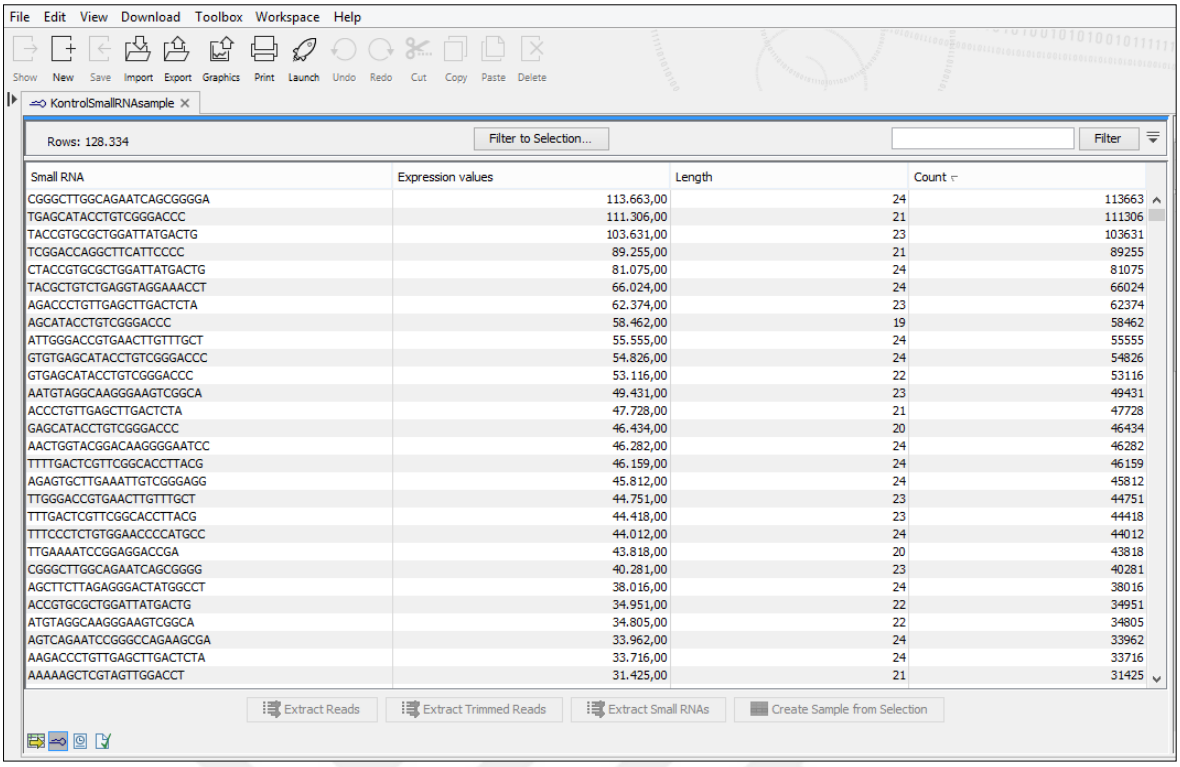
(QC, Bölüm 5.3.3.) tamamlandıktan sonra dizileme sırasında kullanılan adaptör diziler (TGGAATTCTCGGGTGCCAAGG) varsayılan parametreler kullanılarak (Ek 1) çıkartılmış ve dizi uzunlukları 16-24 nükleotid arasında olacak şekilde filtrelenmiştir (Şekil 4.11., parametreler: Ek 2,). Kalan okumalardan tekrarlı nükleotidler çıkartılarak (Çoklu-tekrarlı-A/T/C/G dizileri, ardışık olarak 7 den fazla tekrar eden aynı nükleotidler, örneğin AAAAAAAA, parametreler: Ek 3) en az 5 okumaya sahip dizilerin filtrelenmesi (parametreler: Ek 4) sonucunda kalan diziler ile analizlere devam edilmiştir (Bölüm 5.4.1.).



Şekil 4.11. CLC-GW programında açılan ve filtrelenen dizilere ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.7.2. Küçük RNA'ların Belirlenmesi

Okumalarda aynı olan dizilerin tespit edilmesi amacıyla CLC-GW programı kullanılarak adaptör dizileri çıkartılmış ve filtrelenmiş temiz okumalar saydırılarak (count) küçük RNA dizileri belirlenmiştir. Her bir küçük RNA'nın ifadesi sayısal olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.12., Bölüm 5.4.1.).

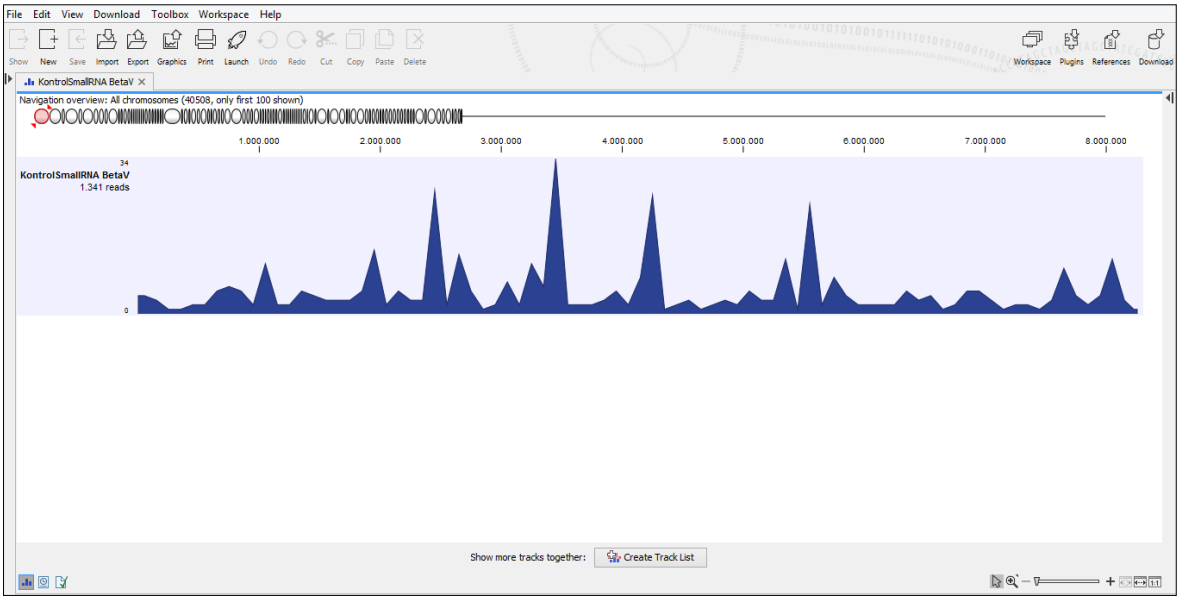


Şekil 4.12. Adaptör çıkartma, uzunluk filtreleme ve en az 5 okumaya sahip dizilerin filtrelenmesi sonucunda analizlere devam edilen dizilerde aynı olan dizilerin ifade sayılarına (count) ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.7.3. Küçük RNA'ların Haritalanması

Her bir örneğe ait belirlenen küçük RNA dizileri, CLC-GW programı kullanılarak *Beta vulgaris* genomu ve *Beta corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalanmıştır (Şekil 4.13., parametreler: Ek 5-6). *Beta vulgaris* genomuna haritalama "The *Beta vulgaris* Resource" web kaynağından elde edilen referans genom verisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (403). *Beta corolliflora*'ya ait referans genom ise bulunmamaktadır. Bu nedenle haritalama TUBİTAK 115O391[11] no'lu 1001-TUBİTAK projesenin *Beta corolliflora*'ya ait yayınlanmamış RNA-dizileme verileri (kişisel görüşme ile elde edilmiştir) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Bölüm 5.4.2.1.-5.4.2.2.). BNYVV genomuna haritalama ise kodlanmayan RNA sınıflandırması aşamasında gerçekleştirilmiştir (Bölüm 4.2.7.6.).

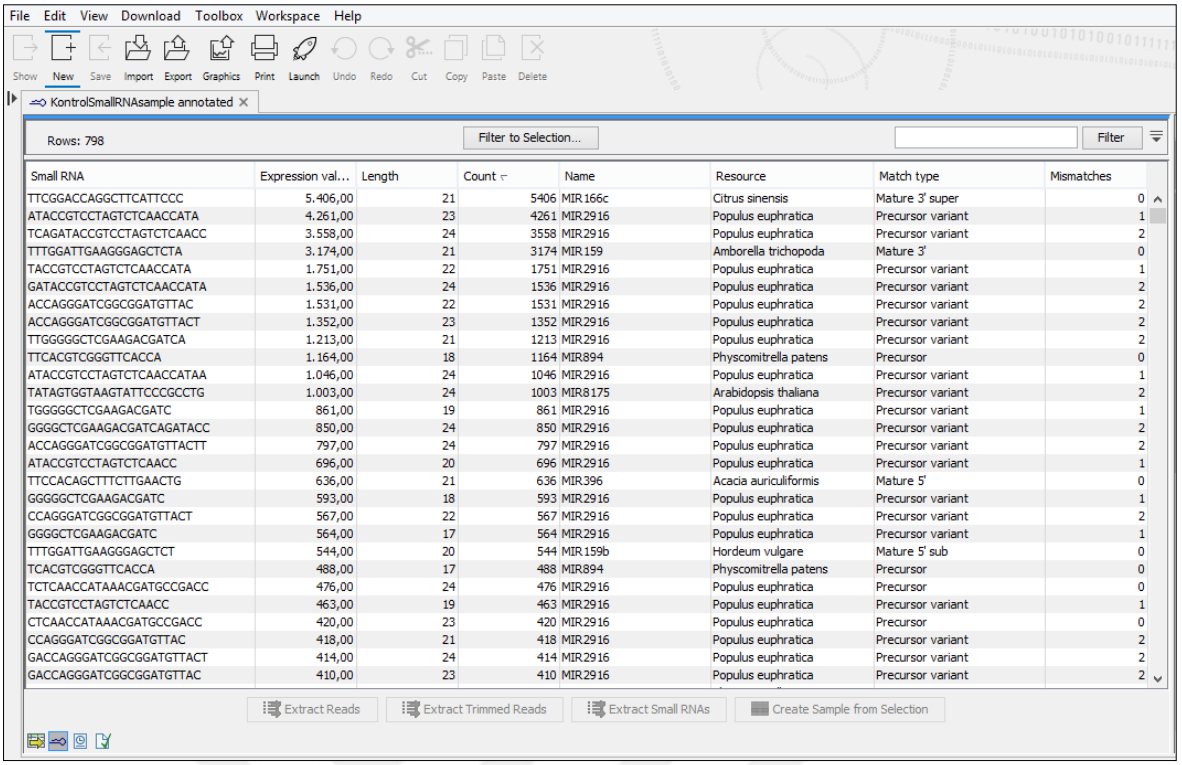
[11] "*Beta corolliflora* ve *Beta procumbens* Yabani Pancar Türlerinde De Novo Genom Dizileme, Biotik-Abiotik Stres Gen Adaylarının Belirlenmesi ve Bazı Kuraklık Genlerinin Klonlanması" konulu 1001-TUBİTAK projesi, yürütücü: Prof. Dr. Ali ERGÜL.



Şekil 4.13. KN-sRNA'nın *Beta vulgaris*'in kromozom1-scaffold (iskele)-1 dizisine haritalanmasına ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.7.4. Bilinen miRNA'ların Belirlenmesi

miRBase, bilinen miRNA'ların detaylı bilgilerinin yer aldığı en geniş veritabanlarından biridir (404–407). Her bir örnekteki bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerini belirlemek amacıyla, CLC-GW programı ile miRBase V.22 veritabanı indirilmiş ve tüm bitki türlerine (*viridiplantae*) ait (Ek 7) bilinen miRNA dizileri kullanılarak küçük RNA dizilerinin anotasyonu yapılmıştır. miRBase anotasyonu programın varsayılan parametrelerine göre gerçekleştirilmiştir (Ek 8). Anotasyon sonucunda küçük RNA dizileri ile eşleşen bilinen miRNA'lar olgun (mature), öncü (precursor) ve varyant olarak gruplandırılmıştır (Şekil 4.14., Bölüm 5.4.3.).



Şekil 4.14. miRBase anotasyonu sonucunda küçük RNA dizileri ile eşleşen bilinen miRNA'ların olgun (mature), öncü (precursor) ve varyant olarak gruplandırılmasına ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.7.5. Bilinen miRNA'ların İfade Analizleri

Kontrol ve stres örnekleri arasında miRNA ifade seviyelerinin karşılaştırılması amacıyla ifade farklılığı analizi gerçekleştirilmiştir. İfade farklılığı analizleri küçük RNA dizileri ile eşleşen ve gruplandırılmış olgun miRNA verileri kullanılarak yapılmıştır. İfade kat değişimleri her bir örneğin orjinal ifade değerleri dikkate alınarak normalize edilen değerlere göre belirlenmiştir. TPM (transcripts per million) normalizasyon metodu kullanılarak her bir örnekteki her bir miRNA için normalize ifade değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (141,408,409):

$$(\text{İlgili miRNA'nın ifade sayısı} / \text{Temiz okumaların toplam sayısı}) \times 10^6$$

Her bir miRNA normalize edilmiş ifade değerlerine göre karşılaştırılarak (VR-sRNA/KN-sRNA, KR-sRNA/KN-sRNA) ifade artış veya azalışları belirlenmiştir (Bölüm 5.4.3.2.).

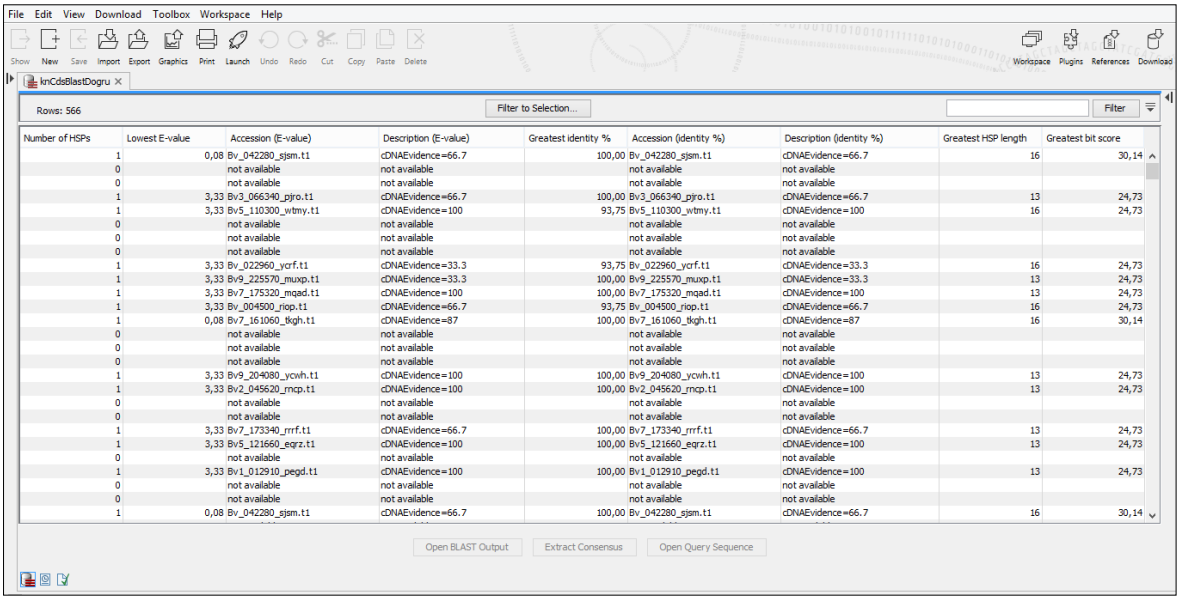
4.2.7.6. Kodlanmayan RNA'ların Sınıflandırılması

miRBase anotasyonu ile bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizileri belirlendikten sonra kalan küçük RNA'ların hangi RNA sınıfında yer aldığını tespit etmek için kodlanmayan RNA'lar (non-coding RNA) ile BLAST (Basic Local Aligment Search Tool) yapılmıştır (Bölüm 5.4.4). Buradaki amaç BLAST işlemi ile yapılan sınıflandırma sonucu kalan küçük RNA'ları ilerleyen analiz aşamalarında potansiyel miRNA adayı bakımından değerlendirmektir.

Kodlanmayan RNA dizileri tüm bitki türleri (*viridiplantae*) için rnacentral.org web sunucusundan elde edilmiştir[12]. CLC-GW programı kullanılarak sırasıyla; **I)** Kodlanmayan en geniş RNA grubunun tespit edilmesi için, ribosomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA), küçük nüklear RNA (snRNA) ve küçük nükleolar RNA (snoRNA)'lar ile ilk BLAST yapılmıştır (parametreler: Ek 9), **II)** Kalan diziler, örneklerde yer alan küçük RNA dizilerinde virüs genomuna ait dizilerin tespit edilmesi amacıyla, NCBI veritabanından indirilen BNYVV genomuna[13] haritalanmıştır (Bölüm 5.4.2.3., parametreler: Ek 10), **III)** miRNA, öncü RNA ve diğer RNA'ların tespiti için haritalanmayan dizilere ikinci BLAST uygulanmıştır (parametreler: Ek 11), **IV)** İkinci BLAST sonucu anote olmayan dizilerin kodlanan bölgelerde olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla *Beta vulgaris*'e ait CDS (coding sequences, kodlanan diziler) dizileri ile BLAST yapılmıştır (Şekil 4.15., parametreler: Ek 11). CDS dizileri "The *Beta vulgaris* Resource" web kaynağından elde edilmiştir (403).

[12] https://rnacentral.org/search?q=tax_string:%22viridiplantae%22%20AND%20expert_db:%22ENA%22

[13] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=txid31721



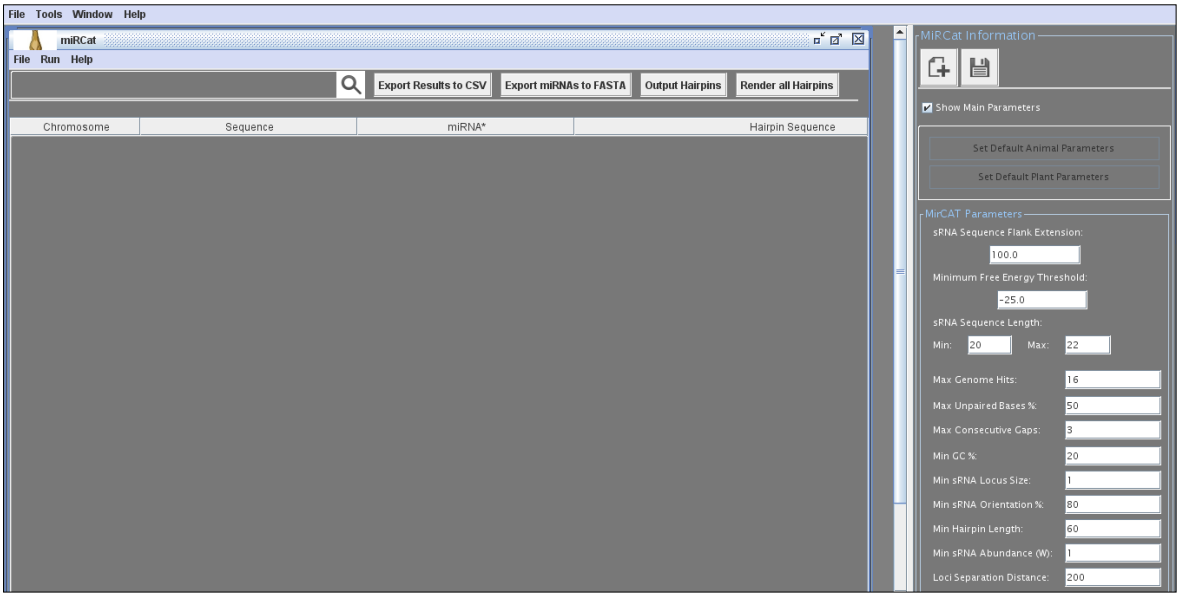
Number of HSPs	Lowest E-value	Accession (E-value)	Description (E-value)	Greatest identity %	Accession (identity %)	Description (identity %)	Greatest HSP length	Greatest bit score
1	0,08	Bv_042280_sjsm.t1	cDNAEvidence=66.7	100,00	Bv_042280_sjsm.t1	cDNAEvidence=66.7	16	30,14
0		not available	not available		not available	not available		
0		not available	not available		not available	not available		
1	3,33	Bv3_066340_pjro.t1	cDNAEvidence=66.7	100,00	Bv3_066340_pjro.t1	cDNAEvidence=66.7	13	24,73
1	3,33	Bv5_110300_wtmy.t1	cDNAEvidence=100	93,75	Bv5_110300_wtmy.t1	cDNAEvidence=100	16	24,73
0		not available	not available		not available	not available		
0		not available	not available		not available	not available		
0		not available	not available		not available	not available		
1	3,33	Bv_022960_ycrf.t1	cDNAEvidence=33.3	93,75	Bv_022960_ycrf.t1	cDNAEvidence=33.3	16	24,73
1	3,33	Bv9_225570_muxp.t1	cDNAEvidence=33.3	100,00	Bv9_225570_muxp.t1	cDNAEvidence=33.3	13	24,73
1	3,33	Bv7_175320_mqad.t1	cDNAEvidence=100	100,00	Bv7_175320_mqad.t1	cDNAEvidence=100	13	24,73
1	3,33	Bv_004500_riop.t1	cDNAEvidence=66.7	93,75	Bv_004500_riop.t1	cDNAEvidence=66.7	16	24,73
1	0,08	Bv7_161060_tkgh.t1	cDNAEvidence=87	100,00	Bv7_161060_tkgh.t1	cDNAEvidence=87	16	30,14
0		not available	not available		not available	not available		
0		not available	not available		not available	not available		
0		not available	not available		not available	not available		
1	3,33	Bv9_204080_ycwh.t1	cDNAEvidence=100	100,00	Bv9_204080_ycwh.t1	cDNAEvidence=100	13	24,73
1	3,33	Bv2_045620_rncp.t1	cDNAEvidence=100	100,00	Bv2_045620_rncp.t1	cDNAEvidence=100	13	24,73
0		not available	not available		not available	not available		
0		not available	not available		not available	not available		
1	3,33	Bv7_173340_rrrf.t1	cDNAEvidence=66.7	100,00	Bv7_173340_rrrf.t1	cDNAEvidence=66.7	13	24,73
1	3,33	Bv5_121660_eqrz.t1	cDNAEvidence=100	100,00	Bv5_121660_eqrz.t1	cDNAEvidence=100	13	24,73
0		not available	not available		not available	not available		
1	3,33	Bv1_012910_pegd.t1	cDNAEvidence=100	100,00	Bv1_012910_pegd.t1	cDNAEvidence=100	13	24,73
0		not available	not available		not available	not available		
0		not available	not available		not available	not available		
1	0,08	Bv_042280_sjsm.t1	cDNAEvidence=66.7	100,00	Bv_042280_sjsm.t1	cDNAEvidence=66.7	16	30,14

Şekil 4.15. BLAST işlemine ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.7.7. Bilinmeyen Küçük RNA'ların Belirlenmesi

miRBase anotasyonu, kodlanmayan RNA sınıflandırılması, BNYVV genomuna haritalama ve *Beta vulgaris* CDS dizileri ile yapılan BLAST sonucunda kalan (eşleşmeyen) küçük RNA dizilerinin muhtemel "saç tokası" (hairpin) yapıları belirlenerek potansiyel miRNA adayları tespit edilmiştir. Küçük RNA dizilerinin olası saç tokası yapıları, *Beta vulgaris* genomu (40.508 dizi) ve TUBİTAK 115O391[14] no'lu 1001-TUBİTAK projesenin *Beta Corolliflora*'ya ait yayınlanmamış RNA-dizileme verileri (500.058 dizi) ve DNA kontigleri (2.395.410 dizi, kişisel görüşme ile elde edilmiştir) kullanılarak MiRCat programı (394) ile belirlenmiştir (Şekil 4.16., parametreler: Ek 12).

[14] "*Beta corolliflora* ve *Beta procumbens* Yabani Pancar Türlerinde De Novo Genom Dizileme, Biotik-Abiotik Stres Gen Adaylarının Belirlenmesi ve Bazı Kuraklık Genlerinin Klonlanması" konulu 1001-TUBİTAK projesi, yürütücü: Prof. Dr. Ali ERGÜL.



Şekil 4.16. miRCat programının örnek ekran görüntüsü.

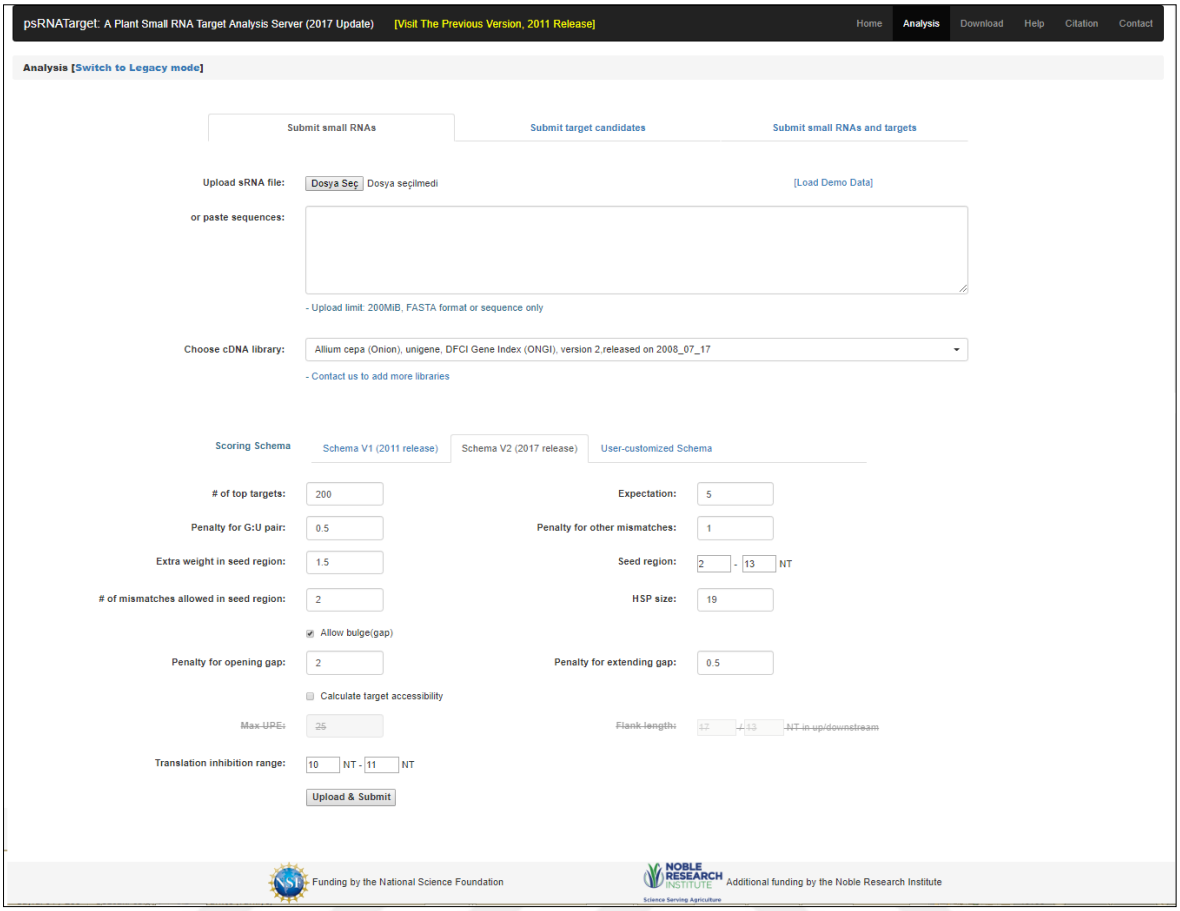
Belirlenen saç tokası yapılarına ait dizilerin kodlanmayan RNA olup olmadıklarını analiz etmek amacıyla NCBI-BLAST veritabanında[15], bitkiler için kodlanmayan tüm RNA'lar seçilerek[16] BLASTn (word size:11, E-value:5) ve bir proteini kodlayıp kodlamadığını belirlemek için BLASTx (word size:11, E-value:10) gerçekleştirilmiştir (Bölüm 5.4.5.).

4.2.7.8. Hedef Analizleri

Bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin tümü, saç tokası yapısı belirlenen potansiyel miRNA adaylarına ait küçük RNA dizileri ve olgun miRNA dizileri için hedef analizleri; psRNATarget web sunucusu (410) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.17., Bölüm 5.4.6.). Hedef analizlerinde bitkiler için model organizma olan *Arabidopsis thaliana*'ya ait cDNA dizileri referans olarak kullanılmıştır. En iyi eşleşme gösteren hedef genin seçilmesi için hedef analiz parametrelerinde hedeflenen gen sayısı "1" olarak belirlenmiştir (parametreler: Ek 13). Bu paramatreler ile olgun miRNA'lar için gerçekleştirilen hedef analizinde hedef geni bulunmayanlar için hedeflenen gen sayısı "5" olarak revize edilerek hedef analizi tekrarlanmıştır.

[15] https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

[16] NCBI sorgu parametresi, Entrez Query: (XR_000000001:XR_999999999[pacc]) OR (NR_000000001: NR_999999999[pacc]) AND txid33090 [ORGN]

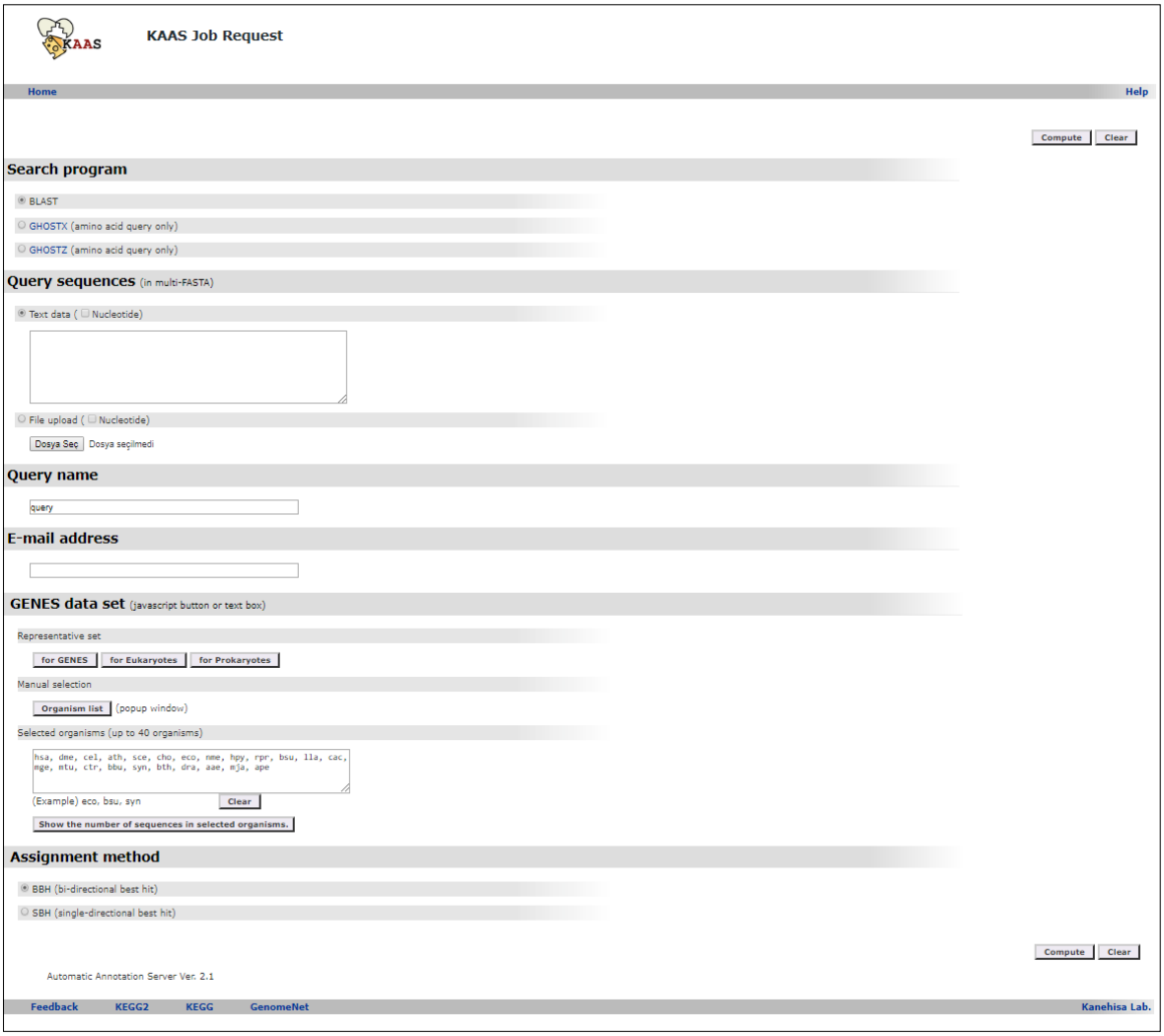


Şekil 4.17. psRNATarget web sunucusuna ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.7.9. Yolak Analizleri

Hedef analizleri sonucunda, bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin tümü ve saç tokası yapısı belirlenen küçük RNA dizileri için *Arabidopsis thaliana*'da hedef olarak belirlenen genlerin ID'leri kullanılarak ilgili genlerin cDNA dizileri "Ensembl plant" web sunucusundan indirilmiştir[17] (400) (Ek 14). Bu diziler kullanılarak KEGG web sunucusunun KAAS (KEGG Automatic Annotation Server) modülünde (411) ortolojiye dayalı olarak yolak analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.18., Bölüm 5.4.7.). Ortoloji analizi için referans tür olarak *Arabidopsis thaliana* seçilmiştir (parametreler: Ek 15).

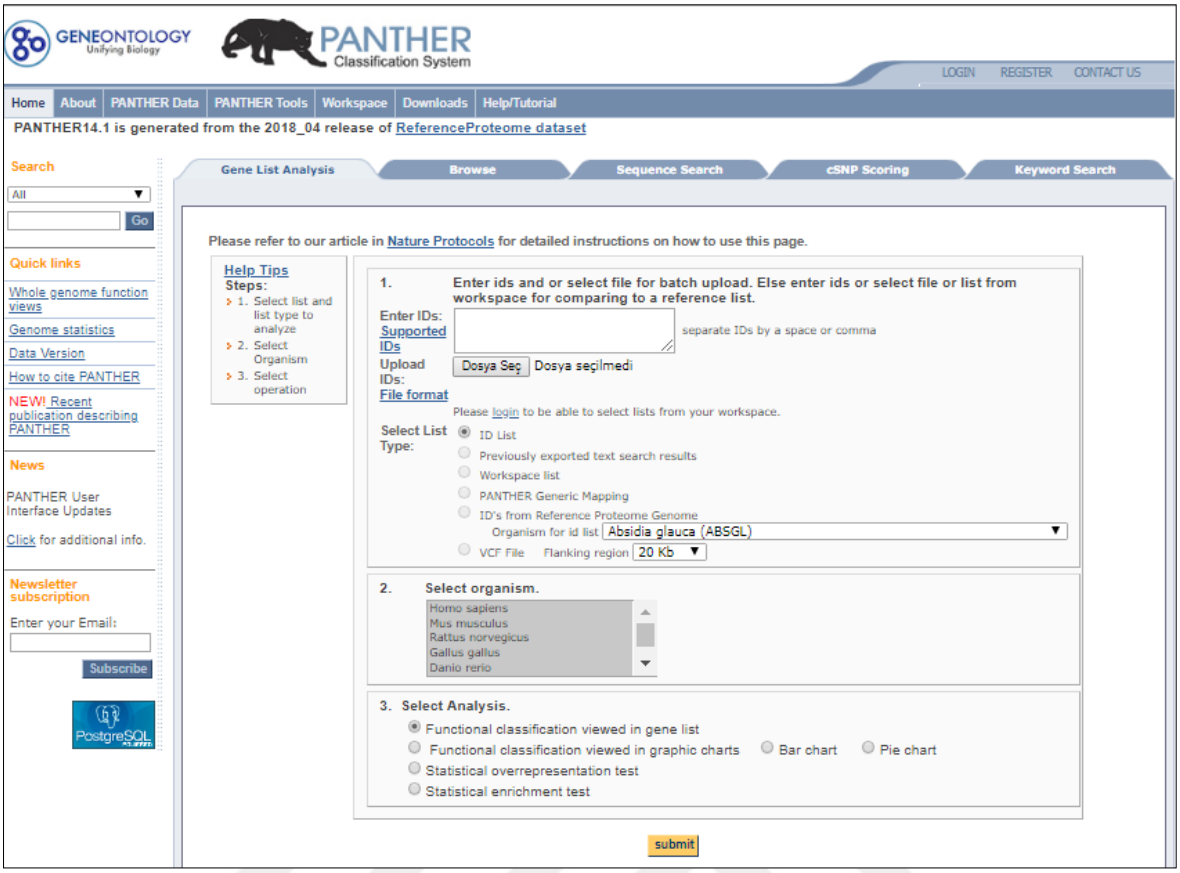
[17] Ensembl plants, biomart modülü parametreleri: Dataset; *Arabidopsis thaliana* genleri, Filtre; Transcript stable ID, Özellik; cDNA dizisi



Şekil 4.18. KEGG-KAAS web sunucusuna ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.7.10. Ontoloji Analizleri

Bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizileri için *Arabidopsis thaliana*'da hedef olarak belirlenen genlerin ID'leri ile Panther web sunucusu (412) kullanılarak ontoloji sınıflandırması gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.19., Bölüm 5.4.8.).



Şekil 4.19. Panther web sunucusuna ait örnek ekran görüntüsü.

4.2.8. miRNA VE HEDEF GEN VALİDASYONU

miRBase anotasyonu sonucu eşleşen küçük RNA'lardan rastgele seçilen dört dizi ile potansiyel miRNA adaylarından ifadesi yüksek olan bir dizinin (Çizelge 4.8.) validasyon işlemi ve hedef analizleri sonucu belirlenmiş iki hedef genin (*AGO1* ve *HOT5*) (Çizelge 4.9.) ifade seviyelerinin belirlenmesi amacıyla Eş Zamanlı PZR reaksiyonları (Roche Light Cycler LC 480) gerçekleştirilmiştir (Bölüm 5.5.).

4.2.8.1. miRNA Validasyonu

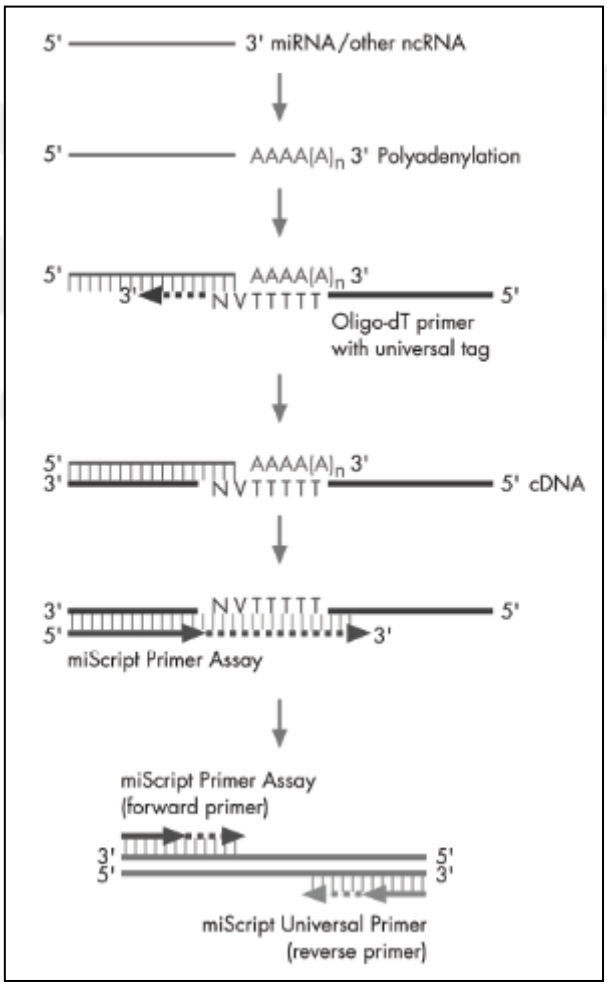
Validasyon için rastgele seçilen dört dizi ve potansiyel miRNA adayı 1'in ifade analizleri Eş Zamanlı PZR ile gerçekleştirilmiştir.

4.2.8.1.1. Eş Zamanlı PZR

Eş Zamanlı PZR reaksiyonları KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örneklerinden miRNA validasyonunda kullanılmak üzere sentezlenen cDNA'lar ile gerçekleştirilmiştir.

cDNA Sentezi

Eş Zamanlı PZR 'nin ilk aşaması olarak toplam RNA içerisindeki miRNA'ların cDNA'lara dönüştürülmesi amacıyla miScript II Reverse Transcription Kit (Qiagen, Germany) kullanılmıştır (413–415). Yöntemin temelini miRNA dizisine poly(A) kuyruğu ekleyerek cDNA sentezinin sağlanması oluşturmaktadır (Şekil 4.20.).



Şekil 4.20. miRNA'ların cDNA'ya çevrilmesi.

Kit, revers transkripsiyon reaksiyonu ile olgun miRNA, snoRNA ve snRNA'lar seçici olarak cDNA'ya dönüştürmektedir. miRNA'lar poly(A) polimeraz ile poliadenillenmekte ve oligo-dT primerleri ile cDNA'ya çevrilmektedir. Reaksiyon aynı tüpte paralel olarak

gerçekleşmektedir. Kit protokolü ve kite ait komponentler kullanılarak tek basamakta cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Uygulanan cDNA sentez protokolü Çizelge 4.6.'da verilmiştir. Sentezlenen cDNA'lar Eş Zamanlı PZR reaksiyonuna kadar -20 ^{0}C' de saklanmıştır.

Çizelge 4.6. cDNA Sentezi için kullanılan komponentler.

Komponent	**Hacim**	**PZR Programı**
RNA (500 ng)	Değişken	
5x miScriptHiFlex Buffer	4 µl	
10x miScriptNucleics Mix	2 µl	37 ^{o}C 60 dakika
miScript Reverse Transcriptase Mix	2 µl	95 ^{o}C 5 dakika
RNase-free water	Değişken	10 ^{o}C forever
Toplam	20 µl	

Eş Zamanlı PZR Reaksiyonları

KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örneklerinden miScript II RT Kit ile elde edilen cDNA'lar kullanılarak üçlü teknik tekrar şeklinde uygulanmıştır. miScript SYBR Green PCR Kit (Qaigen)'e ait protokol ve Eş Zamanlı PZR programı kullanılarak reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Kullanılan komponentler Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Eş Zamanlı PZR için kullanılan komponentler.

Komponent	**Miktar**
2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix	5 µl
10x miScript Universal Primer (Reverse)	1µl
10x Forward Primer	1µl
RNase-free water	2 µl
cDNA	1 µl
Toplam	10 µl

Eş Zamanlı PZR aşamasında ileri primer dizaynı Timotijevic ve arkadaşları (2015) tarafından belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir (415). Yönteme göre; tespit edilmesi istenen miRNA dizisinin 3' ucundan 6 nükleotid çıkartılmakta, primer uzunluğu ve erime sıcaklığını düzenlemek için 5' uca rastgele nükleotid dizisi eklenmektedir. Yönteme uygun şekilde elde edilen diziler ileri primer olarak kullanılmıştır. Geri primer olarak kite spesifik "universal reverse primer" kullanılmıştır. Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında miRNA

verilerinin normalize edilmesi için U6 (small nuclear RNA) geni seçilmiştir (414–417). Seçilen miRNA'lar ve Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında kullanılan primerler Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Tasarlanan Eş Zamanlı PZR primerleri.

İleri primer bilgileri	**Primer dizileri (5' - 3')**
U6 İleri primer	GTGCAGGGTCCGAGG
Potansiyel miRNA 1	AAACAGAAUACACGUCGCGACCCG
İleri primer	GTTTAAACAGAATACACGTCGC
miR5161	AUAUACUUCCUCCGUUCCAAAAUA
İleri primer	GTTTATATACTTCCTCCGTTCC
miR168	UCGCUUGGUGCAGGUCGGGAA
İleri primer	GTTTTCGCTTGGTGCAGGT
miR159	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA
İleri primer	GGGGTTTGGATTGAAGGGA
miR894	UUCACGUCGGGUUCACCA
İleri primer	TTGGGGTTCACGTCGGGT

Eş Zamanlı PZR Verilerinin Değerlendirilmesi

Eş Zamanlı PZR reaksiyonları sonrasında üç örneğin (KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA) cDNA'larında 5 miRNA'ya ve endojen referans RNA (U6)'ya ait Ct değerleri kullanılarak ifade analizleri gerçekleştirilmiştir. Relatif ifade analizi örneklere ait Ct değerleri dikkate alınarak 2^{-ddCT} metoduna göre yapılmıştır (418). İfade seviyeleri hesaplanırken endojen referans RNA olarak U6 kullanılmıştır.

4.2.8.2. Hedef Genlerin Validasyonu

miR168'in hedef geni olarak belirlenen *AGO1* geni ve potansiyel miRNA adayı 2'nin hedef geni olarak belirlenen *HOT5* geninin ifade analizleri Eş Zamanlı PZR ile gerçekleştirilmiştir.

4.2.8.2.1. Eş Zamanlı PZR

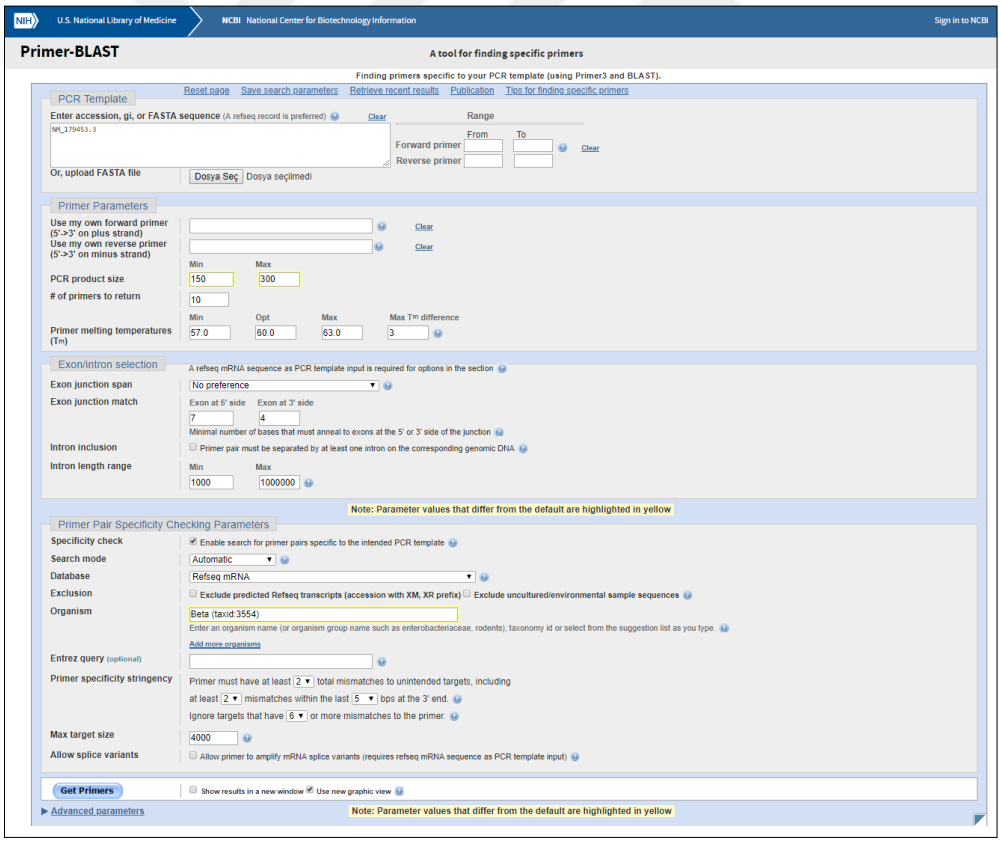
Eş Zamanlı PZR reaksiyonları KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örneklerinden hedef gen validasyonunda kullanılmak üzere sentezlenen cDNA'lar ile gerçekleştirilmiştir.

cDNA Sentezi

Eş Zamanlı PZR'ın ilk aşaması olarak cDNA sentezi yapılmıştır. Sentez aşamaları Bölüm 4.2.5.1.1.'de belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen cDNA'lar Eş Zamanlı PZR reaksiyonuna kadar -20 ^{0}C' de saklanmıştır.

Primer Tasarımı

Biyoenformatik veritabanlarında *Beta corolliflora*'ya ait çok az dizi bilgisi bulunmasından dolayı uygun primer tasarlamak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında kullanılmak üzere, seçilen miRNA'ların *Arabidopsis thaliana*'daki hedef genlerinin NCBI'da yapılan BLAST sonucu belirlenen referans dizileri için "NCBI primer designing tool"[18] web uygulamasında PZR ürün uzunluğu 150-300 nt arasında ve organizma "*Beta*" seçilerek primer tasarımı yapılmıştır (Şekil 4.21.). Tasarlanan primer dizileri Çizelge 4.9.'da verilmiştir.



Şekil 4.21. Primer dizaynına ait örnek ekran görüntüsü.

[18] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/

Çizelge 4.9. İfade analizleri için belirlenen hedef gen ID'leri, housekeeping gen olarak seçilen Histon H3.3 ve hedef genlerin ifade analizleri için Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında kullanılan primer dizileri (İ: İleri primer, G: Geri primer).

Gen/ miRNA	**miRNA dizileri**	**Hedef gen (*Arabidopdis thaliana*)**	**Referans dizi (NCBI)**	**Primer dizileri (Referans dizi)**
Histon H3.3 *	-	-	XM_010682705.1	İ: GTCCAGATGGCCCGTACC
				G. CTTCTTCACTCCTCCAGTAGTTG
miR168	TCGCTTGGTGCAG GTCGGGAA	AGO1 (AT1G48410.3)	NM_179453 (AGO1)	İ: GGATATGGGCAACCACCACA
				G: ACCTGGGTAGGACTCACCTC
Potansiyel miRNA 2	AAGGAGATGAGA GAGATAGAGAGA	HOT5 (AT5G43940.2)	NM_001203539 (HOT5)	İ: TGAGAAGAAAAAGAAGACCACACT
				G: ATGACCAGAGGCTTGTTCGG

* Housekeeping gen olarak seçilen Histon H3.3 genine ait referans dizi ve primer dizileri (TUBİTAK alt proje no: 113O096, ana proje no:113O095)

Eş Zamanlı PZR Reaksiyonları

KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örneklerinden elde edilen cDNA'lar kullanılarak üçlü teknik tekrar şeklinde uygulanmıştır. Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında ilgili standartlar ön optimizasyon çalışmaları ve uygun dilüsyon oranlarının belirlenmesi amacıyla SYBR Green I (Roche) Master Kit ile kite ait ilgili protokoller kullanılarak yapılmıştır. Çizelge 4.10.'da sunulan optimizasyon koşulları üzerinden SYBR Green I (Roche) Master Kit kullanılarak Eş Zamanlı PZR gerçekleştirilmiştir. Verilerinin normalize edilmesi için housekeeping gen olarak Histon H3.3 seçilmiştir.

Standart Eğrilerin Çizilmesi ve Primer Optimizasyonları

Standart eğriler KN-RNA örneğinden elde edilen cDNA kullanılarak hedef gen olarak belirlenen 2 gen ve housekeeping gen (Histone H3.3) bölgelerine ait primerler için ayrı ayrı Roche Light Cycler LC 480 cihazında çizilmiştir. SYBR Green temelli Eş Zamanlı PZR optimizasyon koşulları Çizelge 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. SYBR Green primer optimizasyon koşulları (Tm: optimize edilen primer bağlanma sıcaklığı).

Optimizasyon Koşulları	**Potansiyel miRNA 2**	**miR168**	**Histone H3.3**
Tm	55 ^{o}C	53 ^{o}C	56 ^{o}C
cDNA	1,5 µl	1,25 µl	2 µl
İleri primer (10 pmol)	1 µl	1,25 µl	1 µl
Geri primer (10 pmol)	1 µl	1,25 µl	1 µl
SYBR Green	5 µl	5 µl	5 µl
Distile Su	1,5 µl	1,25 µl	1 µl
Toplam hacim	10 µl	10 µl	10 µl

Optimizasyonu yapılan 2 gen bölgesi ve houskeeping gene (Histon H3.3) yönelik reaksiyonlar, her bir primerin belirlenen bağlanma sıcaklığı dikkate alınarak ilgili Eş Zamanlı PZR programına göre her bir örnekten üç teknik tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Eş Zamanlı PZR reaksiyonlarında kullanılan primerlerde dimer varlığının kontrolü ve özgün olmayan amplifikasyon ürünlerinin tespiti için PZR programı sonrasında erime eğrisi (melting curve) analizleri gerçekleştirilmiştir.

Eş Zamanlı PZR Verilerinin Değerlendirilmesi

Eş Zamanlı PZR reaksiyonları sonrasında üç örneğin (KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA) cDNA'larında 3 gen bölgesine ait Ct değerleri kullanılarak gen ifade analizleri tamamlanmıştır. Relatif ifade analizi örneklere ait Ct değerleri dikkate alınarak 2^{-ddCT} metoduna göre gerçekleştirilmiştir (418). İfade seviyeleri hesaplanırken houskeeping gen olarak Histon H3.3 geni kullanılmıştır.

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

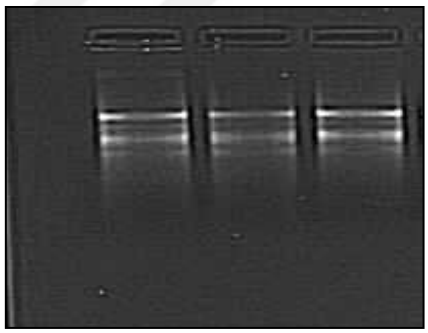
5.1. RNA İZOLASYONU

Kontrol kök örneğinden izole edilen toplam RNA (KN-RNA), virüs stresi uygulanmış kök örneğinden izole edilen toplam RNA (VR-RNA) ve kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinden izole edilen toplam RNA (KR-RNA) için kalite ve miktar tayini amacı ile yapılan spektrofotometrik ölçüm değerleri Çizelge 5.1.'de verilmiştir. RNA'lar miktar ve kalite ölçümleri bakımından yeterli bulunmuştur.

Çizelge 5.1. KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örneklerine ait ait nanodrop (ND-1000) ölçümleri.

Örnek	**ng/ µl**	**260/280**	**260/230**
KN-RNA (ortak)	92	2,08	1,92
VR-RNA	121	2,04	2,06
KR-RNA	82	2,01	1,53

İzole edilen RNA'ların agaroz jel elektroforez görüntüleri izolasyonların başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir (Şekil 5.1.).



Şekil 5.1. KN-RNA, VR-RNA, KR-RNA örneklerine ait görüntü (%1'lik agaroz jel).

5.2. VİRÜS BULAŞIKLIĞININ ÖLÇÜMÜ

Virüs bulaşıklığının tespit edilmesi amacıyla sentezlenen cDNA'ya ait spektrofotometrik ölçümlerde cDNA'nın saflığı ve miktarı (ng/µl) istenilen seviyede elde edilmiştir (Çizelge 5.2.).

Çizelge 5.2. VR-RNA örneğinden sentezlenen cDNA'ya ait nanodrop (ND-1000) ölçümü.

Örnek	**ng/µl**	**260/280**	**260/230**
VR-RNA (cDNA)	1890	1,81	1,95

Sentezlenen cDNA'nın agaroz jel elektroforez görüntüleri sentezin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir (Şekil 5.2.).



Şekil 5.2. VR-RNA örneğinden sentezlenen cDNA'ya ait örnek görüntü (%1' lik agaroz jel).

Eş Zamanlı PZR reaksiyonları sonrasında VR-RNA örneğinden sentezlenen cDNA'da belirlenen BNYVV: RNA1, RNA2, RNA3, RNA4, RNA5 bölgelerine ait Ct değerleri Çizelge 5.3.'te verilmiştir.

Çizelge 5.3. BNYVV-RNA1, 2, 3, 4, 5 bölgelerine ait Ct (cycle threshold) değerleri.

Örnek	**BNYVV**				
	RNA1	**RNA2**	**RNA3**	**RNA4**	**RNA5**
VR-RNA (cDNA)	27,43	30,15	25,31	23,03	36,44
	28,12	29,93	25,68	22,37	35,68
	27,52	30,29	26,26	22,19	36,08

Eş Zamanlı PZR analizleri sonucunda elde edilen Ct değerlerine göre virüs bulaşıklığı tespit edilmiş olup, RNA5 gen bölgesinin diğer RNA bölgelerine göre daha az ifade olduğu (daha yüksek Ct değerine sahip olması) belirlenmiştir.

5.3. KÜÇÜK RNA DİZİLEME

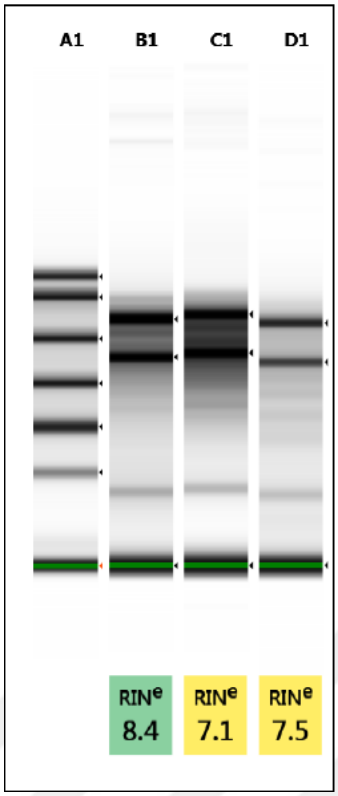
5.3.1. DİZİLEME ÖNCESİ KALİTE ÖLÇÜMÜ

KN-RNA, VR-RNA ve KR-RNA örnekleri için dizileme öncesinde firma tarafından tekrarlanan kalite ölçümleri sonuçlarına göre RNA örneklerinin dizileme için uygun olduğu değerlendirilmiştir (Çizelge 5.4.). Yapılan ölçümlerde her üç örneğe ait A260/A230 değerlerinin beklenen değere yakın (~ 2) olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 5.4. RNA örneklerine ait nanodrop ölçümleri.

Örnek		**RNA**		
Adı		KN-RNA	VR-RNA	KR-RNA
Tipi		Toplam RNA	Toplam RNA	Toplam RNA
Hacim (µl)		44	47	47
Nanodrop değerleri	A260/A280	2,17	2,09	1,79
	A260/A230	1,69	2,11	0,95

Nanodrop ölçümlerine ek olarak TapeStation (Agilent Technologies) ile yapılan ölçümlerde de RNA kaliteleri yeterli olarak değerlendirilmiştir. KN-RNA örneğinin RIN değeri 8.4, VR-RNA örneğinin 7.1 ve KR-RNA örneğinin 7.5 olarak ölçülmüştür (Şekil 5.3., Ek 16).



Şekil 5.3. RNA örneklerine ait TapeStation ölçümlerinin jel görüntüsü A1: ladder, B1: KN-RNA, C1: VR-RNA, D1: KR-RNA.

5.3.2. KÜÇÜK RNA DİZİLEMESİNDEN ELDE EDİLEN HAM VERİLER

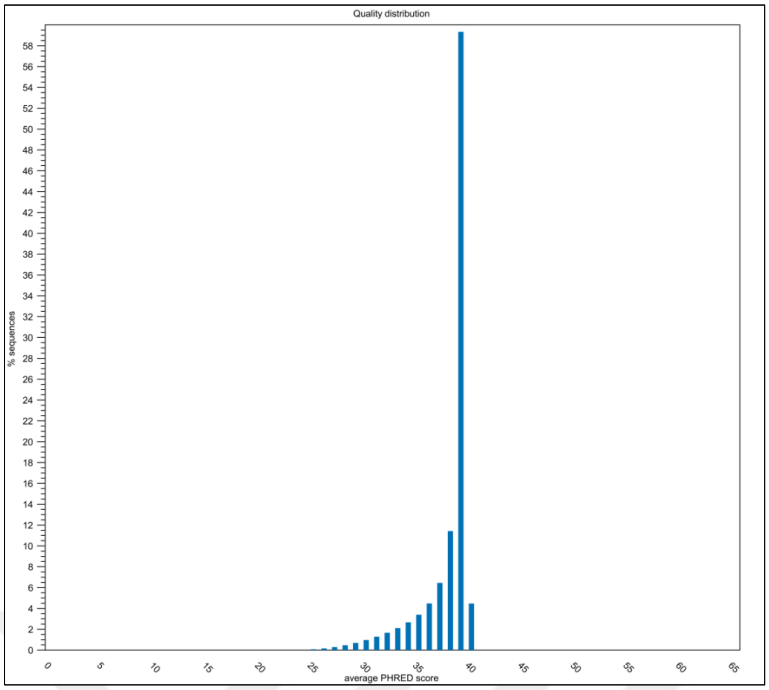
KN-RNA örneğinden 146.182.479, VR-RNA örneğinden 142.439.177 ve KR-RNA örneğinden 143.441.673 adet ham dizi (okuma) elde edilmiştir (Çizelge 5.5.)

Çizelge 5.5. Küçük RNA dizileme veri özeti.

Proje	**Örnek**	**Barkod dizi**	**Okuma sayısı**	**Ürün (Mb)**	**% >= Q30 değeri**	**Ortalama kalite skoru**
DJ1705103-R1	KN-RNA	GACGAC	146.182.479	7.455	95,39	37,97
DJ1705103-R1	VR-RNA	TAATCG	142.439.177	7.264	95,28	37,90
DJ1705103-R1	KR-RNA	TACAGC	143.441.673	7.315	95,13	37,86

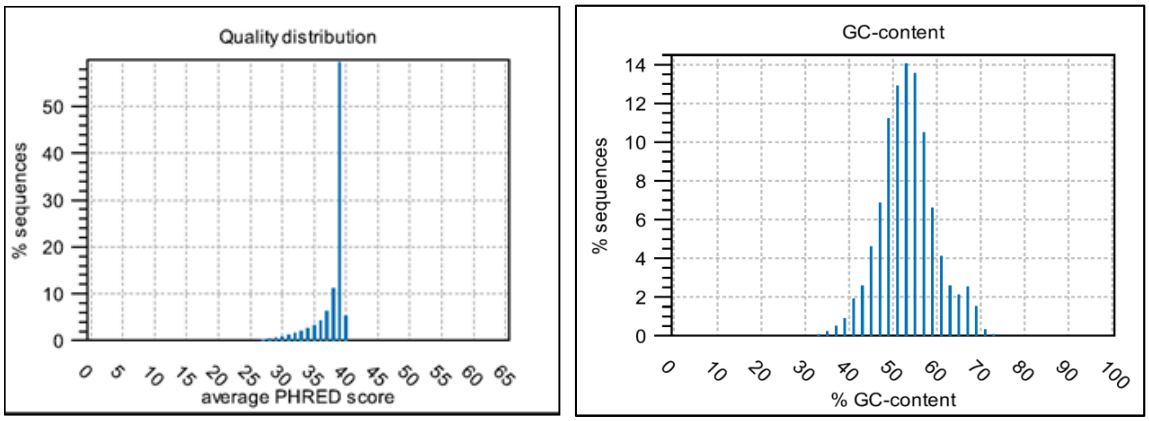
5.3.3. DİZİLEME SONRASI KALİTE ÖLÇÜMÜ

Q skoruna göre tüm okumaların %95'inden fazlasında her 1000 baz okumada en fazla 1 hatalı okuma olasılığı gözlenmiştir (Şekil 5.4.). Bu skor tüm örnekler için dizileme kalitesinin yeterli olduğunu göstermektedir (Ek 17).

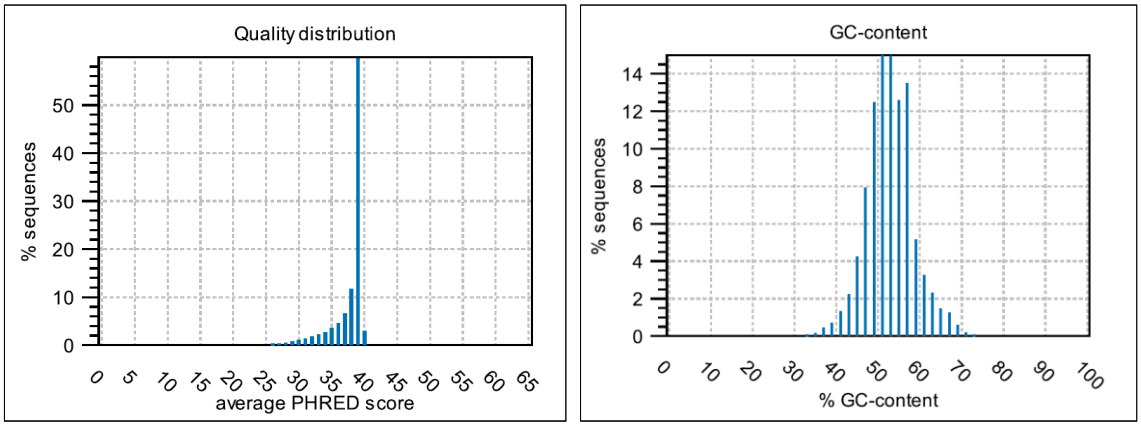


Şekil 5.4. Tüm örneklere ait Q skor dağılımı.

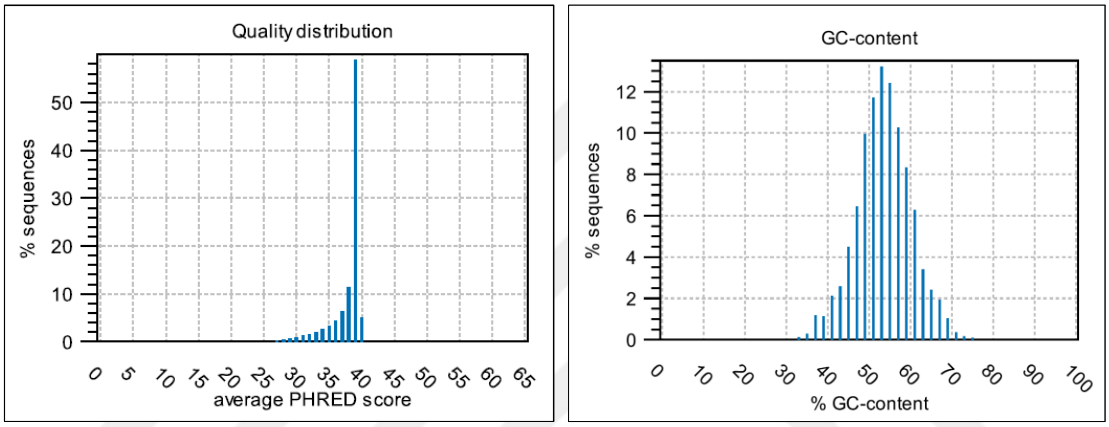
Her bir örneğe ait ham veri kalite dağılım ve GC içerik grafikleri Şekil 5.5.-5.7.'de verilmiştir. Her bir örnek için Q30 (hatalı okuma olasılığı 1/1000) değeri %95 ten daha büyük olarak gözlenmiştir. Bu skor her bir örnek için dizileme kalitesinin yeterli olduğunu göstermektedir. Örneklerin GC içerikleri bakımından benzer oranlara sahip oldukları görülmektedir.



Şekil 5.5. KN-RNA örneğine ait okumaların/küçük RNA dizilerinin (KN-sRNA) Q skoru ve GC içeriği.



Şekil 5.6. VR-RNA örneğine ait okumaların/küçük RNA dizilerinin (VR-sRNA) Q skoru ve GC içeriği.



Şekil 5.7. KR-RNA örneğine ait okumaların/küçük RNA dizilerinin (KR-sRNA) Q skoru ve GC içeriği.

5.4. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER

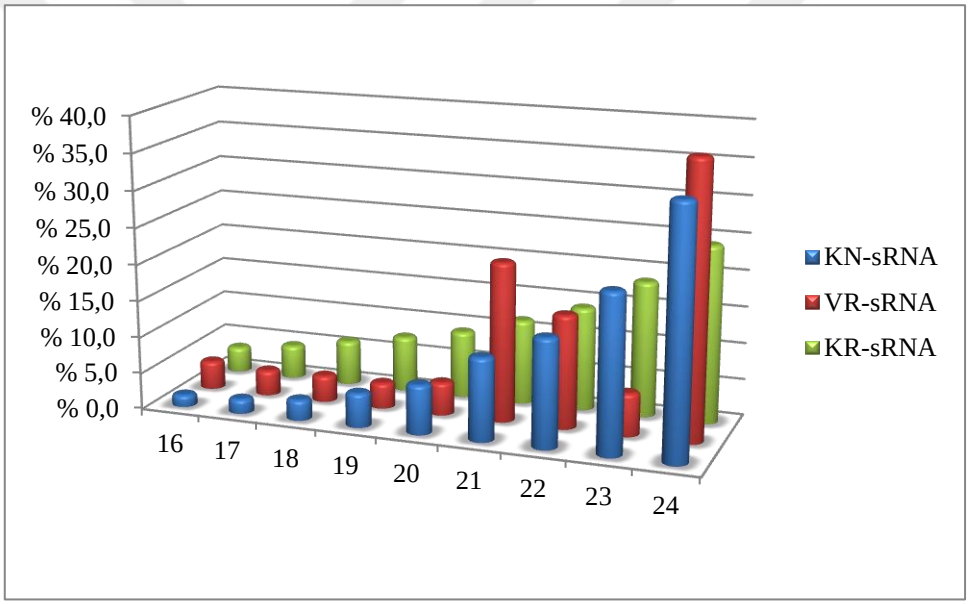
5.4.1. KÜÇÜK RNA'LARIN BELİRLENMESİ

Adaptör dizilerin çıkartılması ve dizi uzunluklarının filtrelenmesi, tekrarlı nükleotidlerin çıkartılması, en az 5 okumaya sahip dizilerin filtrelenmesi sonucunda kalan; KN-sRNA için 12.536.752 dizi, VR-sRNA için 66.597.354 dizi, KR-sRNA için 20.410.254 dizi ile analizlere devam edilmiştir. En az 5 okumaya sahip dizilerin saydırılması ile aynı diziye sahip olan; KN-sRNA için 128.334, VR-sRNA için 1.418.450 ve KR-sRNA için 135.841 küçük RNA tespit edilmiştir (Çizelge 5.6., Ek 18).

Çizelge 5.6. Trim ve filtreleme sonuçları.

Örnek	Okuma sayıları	Adaptör trimleme (16-24 nt)	PolyATCG trimleme	Count>4	Küçük RNA
KN-sRNA	146.182.479	14.593.481	14.581.127	12.536.752	128.334
VR-sRNA	142.439.177	79.603.776	79.506.791	66.597.354	1.418.450
KR-sRNA	143.441.673	22.246.607	22.238.852	20.410.254	135.841

Filtreleme sonucu analize devam edilen küçük RNA'lar uzunlukları bakımından incelendiğinde; KN-sRNA'nın %82'si, VR-sRNA'nın %81'i ve KR-sRNA'nın %69'u 21-24 nükleotid (nt) uzunluktadır (Şekil 5.8.). VR-sRNA'daki 21 nt uzunluğundaki küçük RNA'lar, KN-sRNA ve KR-sRNA'dakilere göre çok fazla miktarda iken, 23 nt uzunluğundaki küçük RNA'lar çok az miktarda tespit edilmiştir.



Şekil 5.8. Küçük RNA uzunluk dağılımları.

5.4.2. KÜÇÜK RNA'LARIN HARİTALANMASI

5.4.2.1. Kültür pancarı (*Beta vulgaris* L.) Genomuna Haritalama

Küçük RNA dizileri *Beta vulgaris* genomuna yüksek oranda haritalanmıştır (Ek 19). VR-sRNA *Beta vulgaris* genomuna en çok haritalanan örnek olurken (~%96) bunu sırasıyla KN-sRNA (~%92) ve KR-sRNA (~%89) takip etmiştir (Çizelge 5.7.-5.9.).

Çizelge 5.7. KN-sRNA'nın *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri.

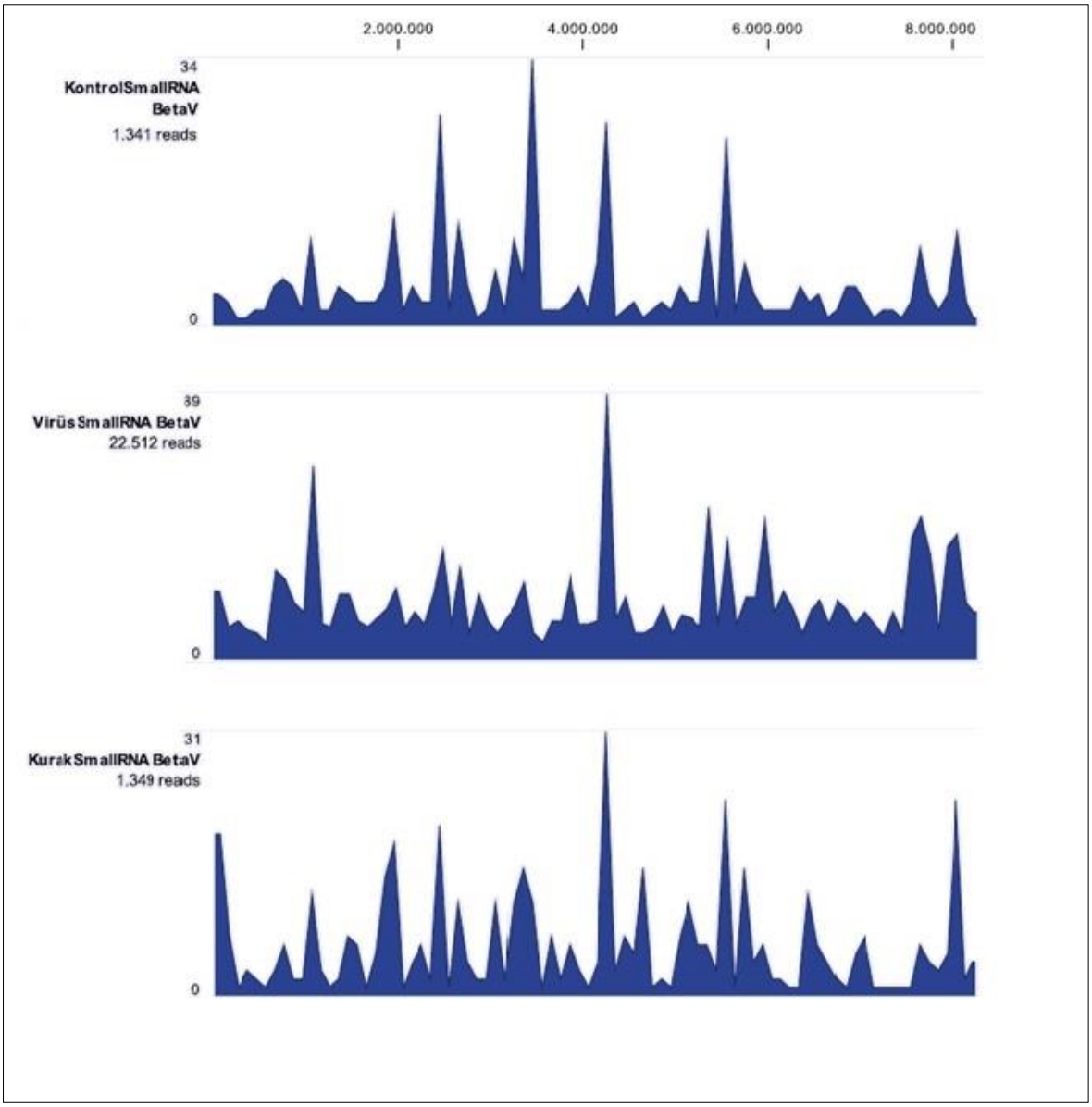
KN-sRNA	**Count**	**Okumaların yüzdesi (%)**	**Ortalama uzunluk**	**Baz sayısı**	**Bazların yüzdesi (%)**
Referanslar	40.508	-	13.986,65	566.571.340	-
Eşleşen okuma	117.697	91,71	22,31	2.626.027	92,14
Eşleşmeyen Okuma	10.637	8,29	21,07	224.099	7,86
Toplam Okuma	128.334	100	22,21	2.850.126	100

Çizelge 5.8. VR-sRNA'nın *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri.

VR-sRNA	**Count**	**Okumaların yüzdesi (%)**	**Ortalama uzunluk**	**Baz sayısı**	**Bazların yüzdesi (%)**
Referanslar	40.508	-	13.986,65	566.571.340	-
Eşleşen okuma	1.361.189	95,96	23,19	31.572.456	96,10
Eşleşmeyen Okuma	57.261	4,04	22,4	1.282.554	3,90
Toplam Okuma	1.418.450	100	23,16	32.855.010	100

Çizelge 5.9. KR-sRNA'nın *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri.

KR-sRNA	**Count**	**Okumaların yüzdesi (%)**	**Ortalama uzunluk**	**Baz sayısı**	**Bazların yüzdesi (%)**
Referanslar	40.508	-	13.986,65	566.571.340	-
Eşleşen okuma	120.779	88,91	21,62	2611782	89,63
Eşleşmeyen Okuma	15.062	11,09	20,07	302.286	10,37
Toplam Okuma	135.841	100	21,45	2.914.068	100



Şekil 5.9. *Beta vulgaris* genomuna haritalamaya ait örnek görüntü.

5.4.2.2. *Beta corolliflora* RNA dizileme (RNA-seq) Kontiglerine Haritalama

Küçük RNA dizileri *Beta corolliflora* RNA-dizileme verilerine yüksek oranda haritalanmıştır (Ek 20). VR-sRNA *Beta corolliflora* RNA-dizileme verilerine en çok haritalanan örnek olurken (~%96) bunu sırasıyla KN-sRNA (~%95) ve KR-sRNA (~%93) takip etmiştir (Çizelge 5.10.-5.12.).

Çizelge 5.10. KN-sRNA'nın *Beta corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalama verileri.

KN-sRNA	Count	Okumaların yüzdesi (%)	Ortalama uzunluk	Baz sayısı	Bazların yüzdesi (%)
Referanslar	500.058	-	640,13	3,2E+08	-
Eşleşen okuma	121.517	94,69	22,26	2.705.191	94,91
Eşleşmeyen Okuma	6.817	5,31	21,26	144.935	5,09
Toplam Okuma	128.334	100	22,21	2.850.126	100

Çizelge 5.11. VR-sRNA'nın *Beta corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalama verileri.

VR-sRNA	Count	Okumaların yüzdesi (%)	Ortalama uzunluk	Baz sayısı	Bazların yüzdesi (%)
Referanslar	500.058	-	640,13	3,2E+08	-
Eşleşen okuma	1.358.169	95,75	23,18	31.480.951	95,82
Eşleşmeyen Okuma	60.281	4,25	22,79	1.374.059	4,18
Toplam Okuma	1.418.450	100	23,16	32.855.010	100

Çizelge 5.12. KR-sRNA'nın *Beta corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalama verileri.

KR-sRNA	Count	Okumaların yüzdesi (%)	Ortalama uzunluk	Baz sayısı	Bazların yüzdesi (%)
Referanslar	500.058	-	640,13	3,2E+08	-
Eşleşen okuma	126.174	92,88	21,55	2.718.948	93,30
Eşleşmeyen Okuma	9.667	7,12	20,18	195.120	6,70
Toplam Okuma	135.841	100	21,45	2.914.068	100

5.4.2.3. Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü (BNYVV) Genomuna Haritalama

Haritalama sonucunda VR-sRNA BNYVV genomuna ait 5 RNA dizisinin tamamına belirli oranlarda (80 farklı küçük RNA'ya ait 942 dizi) haritalanırken (Şekil 5.10.), KN-sRNA ve KR-sRNA'nın **hiç biri** haritalanamamıştır (Çizelge 5.13.-5.15., Ek 21).

Çizelge 5.13. KN-sRNA'nın BNYVV genomuna haritalanma verileri.

KN-sRNA	Count	Okumaların yüzdesi (%)	Ortalama uzunluk	Baz sayısı	Bazların yüzdesi (%)
Referanslar	5	-	3.182,8	15.914	-
Eşleşen okuma	0	-	-	0	-
Eşleşmeyen Okuma	6.062	100	22,14	134.196	100
Toplam Okuma	6.062	100	22,14	134.196	100

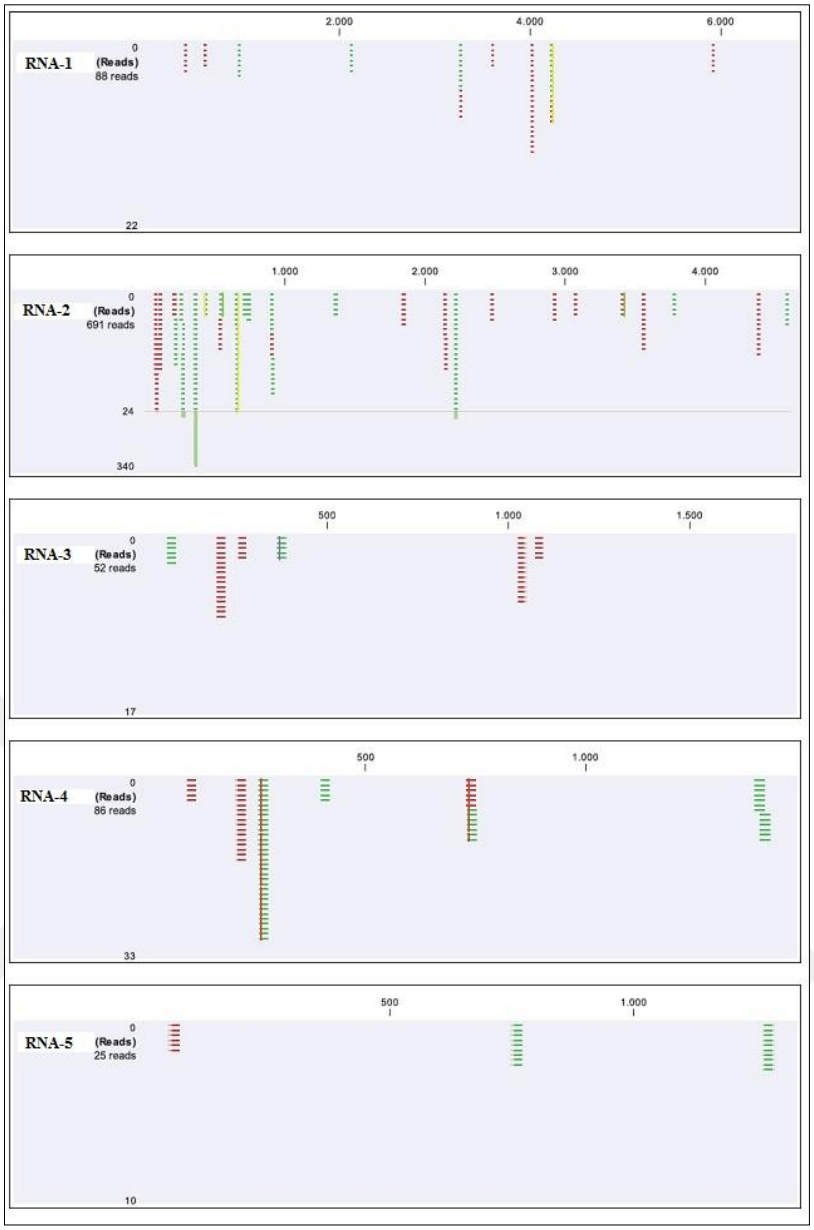
Çizelge 5.14. VR-sRNA'nın BNYVV genomuna haritalanma verileri.

VR-sRNA	Count	Okumaların yüzdesi (%)	Ortalama uzunluk	Baz sayısı	Bazların yüzdesi (%)
Referanslar	5	-	3.182,8	15.914	-
Eşleşen okuma	80	0,07	21,65	1.732	0,07
Eşleşmeyen Okuma	109.900	99,93	22,96	2.523.525	99,93
Toplam Okuma	109.980	100	22,96	2.525.257	100

Çizelge 5.15. KR-sRNA'nın BNYVV genomuna haritalanma verileri.

KR-sRNA	Count	Okumaların yüzdesi (%)	Ortalama uzunluk	Baz sayısı	Bazların yüzdesi (%)
Referanslar	5	-	3.182,8	15.914	-
Eşleşen okuma	0	-	-	0	-
Eşleşmeyen Okuma	6.374	100	21,07	134.313	100
Toplam Okuma	6.374	100	21,07	134.313	100

VR-sRNA özellikle BNYVV genomunun RNA-2 dizisine daha yüksek oranda haritalanmıştır (691 dizi).



Şekil 5.10. VR-sRNA'nın BNYVV genomundaki 5 RNA dizisine haritalanma görüntüsü.

5.4.3. BİLİNEN miRNA ANALİZLERİ

KN-sRNA'da 66.961, VR-sRNA'da 1.407.420 KR-sRNA'da 178.866 dizi bilinen miRNA dizileri ile eşleşmiştir. Farklı okuma sayılarına sahip bu diziler sırasıyla 798, 5348 ve 1272 küçük RNA dizisini (ortak olanlar dikkate alındığında 5628 farklı miRNA) temsil etmektedir (Ek 22). Anote olan diziler bakımından VR-sRNA'da bilinen miRNA ile eşleşen küçük RNA dizilerinin, KN-sRNA ve KR-sRNA'ya göre oldukça fazla olduğu görülmektedir. miRBase anotasyon sonuçları Çizelge 5.16.'da verilmiştir.

Çizelge 5.16. miRBase anotasyon sonuçları.

Örnek	Küçük RNA sayısı	Anote olan	Yüzde (%)	Okuma sayısı	Anote olan	Yüzde (%)
KN-sRNA	128.334	798	0,60	12.536.752	66.961	0,50
VR-sRNA	1.418.450	5.348	0,40	66.597.354	1.407.420	2,10
KR-sRNA	135.841	1.272	0,90	20.410.254	178.866	0,90

Anote olan diziler olgun, öncü ve varyantlarına göre gruplandırıldığında (grup 1), KN-sRNA'da 186, VR-sRNA'da 784, KR-sRNA'da 201 dizinin bilinen miRNA'lar ile eşleştiği tespit edilirken (Ek 22), olgun miRNA olarak gruplandırıldığında (grup 2) sırasıyla 83, 209 ve 83 adet dizinin (ortak olanlar dikkate alındığında 211 farklı olgun miRNA) bilinen miRNA'lar ile eşleştiği tespit edilmiştir (Çizelge 5.17., Ek 22).

Çizelge 5.17. miRBase anotasyon detayları (olgun, öncü, varyant).

Örnek	miBase anotasyon (gruplandırılmamış)	Olgun, öncü ve varyant miRNA gruplandırılmış (grup 1)	Olgun miRNA gruplandırılmış-varyantlar dahil (grup 2)
KN-sRNA	798	186	83
VR-sRNA	5.348	784	209
KR-sRNA	1.272	201	83

Gruplandırılmamış miRNA'lar dikkate alındığında tüm örneklere ait en çok counta sahip olanlar Çizelge 5.18.'de belirtilmiştir. Buna göre KN-sRNA'da miR2916, miR166c, miR159, VR-sRNA'da miR159, miR166c, miR396, KR-sRNA'da ise miR2916, miR894 ve miR159 en çok counta sahip miRNA'lar olarak tespit edilmiştir.

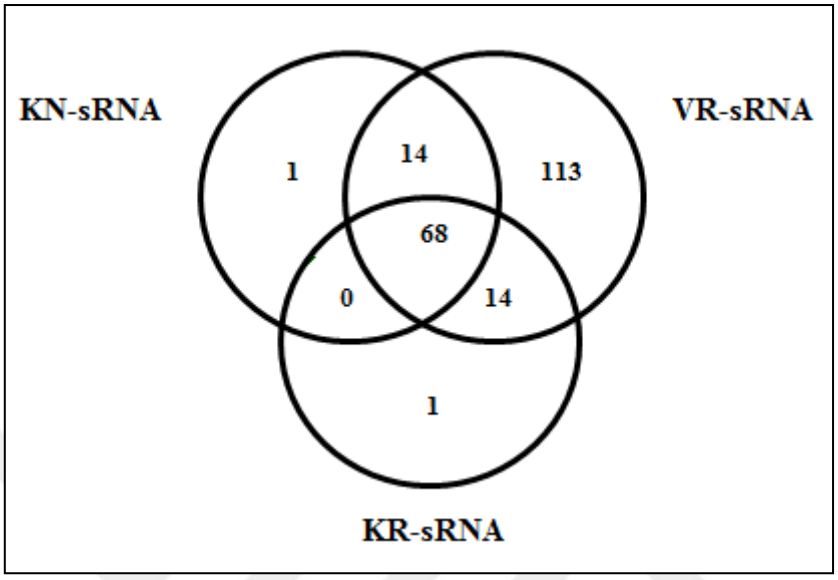
Çizelge 5.18. Bilinen miRNA'lar ile eşleşen en fazla ifade değerine sahip küçük RNA dizileri (gruplandırılmamış olgun, öncü ve varyantlar dahil, virüs stresine göre sıralı).

Küçük RNA dizisi	Eşleşen miRNA (miRBase)	Orjinal (ham) ifade değeri		
		KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	miR159	3.174	251.289	6.256
TTCGGACCAGGCTTCATTCCC	miR166c	5.406	243.183	3.141
CAGCTTTCTTGAACTG	miR396	207	141.985	224
TTGGACTGAAGGGAGCTCCC	miR319a//miR319c	154	61.744	115
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	miR396	636	60.374	192
ACAGCTTTCTTGAACTG	miR396	68	44.980	74
TTCCACAGCTTTCTTGAACTT	miR396c	341	38.603	95
TTTGGATTGAAGGGAGCTCT	miR159b	544	37.000	2.990
TGACGATGAGAGAGAGCACGC	miR535d	378	26.349	190
TTGTCAGGGTTGTGATTCTCC	miR7972	354	23.021	44
TCACGTCGGGTTCACCA	miR894	488	15.091	6.931
TTCACGTCGGGTTCACCA	miR894	1.164	14.864	7.630
CACGTCGGGTTCACCA	miR894	399	13.730	6.199
GGGGCTCGAAGACGATC	miR2916	564	6.054	4.126
TACCGTCCTAGTCTCAACCATA	miR2916	1.751	3.991	791
GGGGGCTCGAAGACGATC	miR2916	593	3.512	15.533
TTGGGGGCTCGAAGACGATCA	miR2916	1.213	3.147	2.953
ATACCGTCCTAGTCTCAACCATA	miR2916	4.261	2.038	1.522
ACCAGGGATCGGCGGATGTTAC	miR2916	1.531	1.743	6.357
TGGGGGCTCGAAGACGATC	miR2916	861	1.704	10.307
GATACCGTCCTAGTCTCAACCATA	miR2916	1.536	1.499	341
GACCAGGGATCGGCGGATGTTAC	miR2916	410	1.175	3.539
ACCAGGGATCGGCGGATGTTACT	miR2916	1.352	902	3.725
TCAGATACCGTCCTAGTCTCAACC	miR2916	3.558	304	233

5.4.3.1. Olgun miRNA Analizleri

Küçük RNA dizilerinin miRBase anotasyonu sonucunda eşleştiği olgun miRNA'lar varyantlar dahil gruplandırıldığında (grup 2) KN-sRNA'da 83, VR-sRNA'da 209 ve KR-sRNA'da 83 adet dizi belirlenmiş (Ek 23) ve ifade analizleri bu miRNA verilerine göre gerçekleştirilmiştir. 1 miRNA sadece KN-sRNA'da, 113 miRNA sadece VR-sRNA'da, 1 miRNA sadece KR-sRNA'da tespit edilirken, 14 miRNA KN-sRNA ve VR-sRNA'da, 14 miRNA sadece VR-sRNA ve KR-sRNA'da ortak olarak tespit edilmiştir. Sadece KN-

sRNA ve KR-sRNA'da ortak miRNA tespit edilemez iken, her 3 örnekte de ortak olan 68 miRNA tespit edilmiştir. (Şekil 5.11.). Örneklerde bilinen olgun miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA'lar gruplandırıldıklarında en fazla ifadeye sahip küçük RNA'ların eşleştiği olgun miRNA'lar Çizelge 5.19.-5.21.'de verilmiştir.



Şekil 5.11. Olgun miRNA'lara ait venn diyagramı.

Çizelge 5.19. KN-sRNA'da en fazla ifade değerine sahip küçük RNA'ların eşleştiği olgun miRNA'lar (grup 2).

miRNA dizisi (miRBase)	**İfade değeri**	**miRNA adı**	**Eşleşme tipi**
TCGGACCAGGCTTCATTCCC	5.424	miR166b//miR166c	Olgun 3' ucu
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	3.433	miR159a//miR159	Olgun 3' ucu
TGGGGACTCGAAGACGATCATAT	1.577	miR2916	Olgun 5' ucu
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTG	640	miR159b	Olgun 5' ucu
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	636	miR396	Olgun 5' ucu
GATCCCCGGCAACGGCGCCA	465	miR8175	Olgun 3' ucu
TTGTCAGGCTTGTTATTCTCC	423	miR7972	Olgun 3' ucu
ATTTCGGACCAGGCTTCATTCCCC	410	miR166	Olgun 3' ucu
TCGGACCAGGCTTCATTCCTC	404	miR166a//miR166d	Olgun 3' ucu
TCGGACCAGGCTTCATTCCCC	401	miR166a//miR166e//miR166b//miR166d	Olgun 3' ucu

Çizelge 5.20. VR-sRNA'da en fazla ifade değerine sahip küçük RNA'ların eşleştiği olgun miRNA'lar (grup 2).

miRNA dizisi (miRBase)	İfade değeri	miRNA adı	Eşleşme tipi
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	263.770	miR159a//miR159b//miR159	Olgun 3' ucu
TCGGACCAGGCTTCATTCCC	245.683	miR166b//miR166c	Olgun 3' ucu
TTGGACTGAAGGGAGCTCCC	62.585	miR319a//miR319c//miR319b// miR319g//miR319k	Olgun 3' ucu
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	61.225	miR396	Olgun 5' ucu
TTCCACAGCTTTCTTGAACTT	40.652	miR396b//miR396a//miR396// miR396c//miR396e	Olgun 5' ucu
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTG	40.175	miR159b	Olgun 5' ucu
TTGTCAGGCTTGTTATTCTCC	27.699	miR7972	Olgun 3' ucu
TGACGACGAGAGAGAGCACGC	26.804	miR535d	Olgun 5' ucu
TCGGACCAGGCTTCATTCCTC	21.256	miR166c//miR166a//miR166d// miR166e//miR166b	Olgun 3' ucu
TTAGATTCACGCACAAACTCG	13.764	miR403a//miR403b	Olgun 3' ucu

Çizelge 5.21. KR-sRNA'da en fazla ifade değerine sahip küçük RNA'ların eşleştiği olgun miRNA'lar (grup 2).

miRNA dizisi (miRBase)	İfade değeri	miRNA adı	Eşleşme tipi
TGGGGACTCGAAGACGATCATAT	11.871	miR2916	Olgun 5' ucu
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	6.462	miR159a//miR159b//miR159	Olgun 3' ucu
CGTTTCACGTCGGGTTCACC	6.256	miR894	Olgun 5' ucu
TGGCGCTAGAAGGAGGGCCT	3.238	miR3711	Olgun 5' ucu
TCGGACCAGGCTTCATTCCC	3.146	miR166c	Olgun 3' ucu
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTG	3.143	miR159b	Olgun 5' ucu
GATCCCCGGCAACGGCGCCA	1.862	miR8175	Olgun 3' ucu
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAA	432	miR168b//miR168	Olgun 5' ucu
AAACCTGGCTCTGATACCA	354	miR5139	Olgun 5' ucu
TGTGTTCTCAGGTCGCCCCTG	352	miR398b	Olgun 3' ucu

5.4.3.2. Olgun miRNA İfade Analizi

KN-sRNA ile VR-sRNA normalize edilmiş ifade değerleri (Ek 24) bakımından karşılaştırıldığında; her iki örnekte de ifadesi olanlar arasında en fazla kat artışı olan miRNA'lar; miR319a/b/c/g/k, miR167a, miR6300, miR159c ve miR394,a,b, en az kat artışı olan miRNA, miR156f olarak belirlenmiştir (Çizelge 5.22).

Çizelge 5.22. KN-sRNA ve VR-sRNA'ya ait her iki örnekte de ifadesi olan miRNA'ların orjinal ifade değerleri ve normalize edilmiş ifade değerlerine göre kat değişimleri.

miRNA dizisi (miRBase)	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	miRNA
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA		
TTGGACTGAAGGGAGCTCCC	154	62.585	12,28	939,75	76,50	miR319a//miR319c//miR319b//miR319g//miR319k
TGAAGCTGCCAGCATGATCTC	19	3.252	1,52	48,83	32,22	miR167a
GTCGTTGTAGTATAGTGG	9	1.512	0,72	22,70	31,63	miR6300
CTTGGACTGAAGGGAGCTCCC	47	7.524	3,75	112,98	30,14	miR159c
TTGGCATTCTGTCCACCTCC	10	1.584	0,80	23,78	29,82	miR394a//miR394b//miR394
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTT	106	13.612	8,46	204,39	24,17	miR159b
TCGAACCAGGCTTCATTCCCC	17	2.115	1,36	31,76	23,42	miR166e
TGGAGAAGCAGGGCACGTGCA	32	3.866	2,55	58,05	22,74	miR164b//miR164c
TTGGACCAGGCTTCATTCCCC	12	1.385	0,96	20,80	21,73	miR166i
TTGGACTGAAGGGAGCTCCCT	34	3.747	2,71	56,26	20,75	miR319c//miR319f//miR319a//miR319//miR319b
TTCCACAGCTTTCTTGAACTT	372	40.652	29,67	610,41	20,57	miR396b//miR396a//miR396//miR396c//miR396e
TGTGTTCTCAGGTCGCCCCTG	91	9.444	7,26	141,81	19,54	miR398b
TCGGACCAGGCTTCATTCCCG	17	1.740	1,36	26,13	19,27	miR166d
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	636	61.225	50,73	919,33	18,12	miR396
TCGGACCAGGCTTCATCCCCC	20	1.803	1,60	27,07	16,97	miR165a//miR165b
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	3.433	263.770	273,83	3960,67	14,46	miR159a//miR159b//miR159
TCCAAAGGGATCGCATTGATC	12	841	0,96	12,63	13,19	miR393a//miR393b
TGACGACGAGAGAGAGCACGC	385	26.804	30,71	402,48	13,11	miR535d
TCGGACCAGGCTTCATTCTC	30	2.083	2,39	31,28	13,07	miR166i
TTGTCAGGCTTGTTATTCTCC	423	27.699	33,74	415,92	12,33	miR7972
TCGGACCAGGCTTCATTCCCCC	31	1.990	2,47	29,88	12,08	miR166
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTG	640	40.175	51,05	603,25	11,82	miR159b
TCGGACCAGGCTTCATTCCCT	35	2.163	2,79	32,48	11,63	miR166f
CGGACCAGGCTTCATTCCCC	26	1.448	2,07	21,74	10,48	miR166m
TCTCGGACCAGGCTTCATTCC	5	278	0,40	4,17	10,47	miR166b
TCGGACCAGGCTTCATTCCTC	404	21.256	32,23	319,17	9,90	miR166c//miR166a//miR166d//miR166e//miR166b
CCGGACCAGGCTTCATTCCCC	32	1.618	2,55	24,30	9,52	miR166j
TGAAGCTGCCAGCATGATCTG	204	10.037	16,27	150,71	9,26	miR167

Çizelge 5.22. (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	miRNA
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA		
AAGCTCAGGAGGGATAGCGCC	24	1.103	1,91	16,56	8,65	miR390a//miR390b//miR390
TCGGACCAGGCTTCATTCCC	5.424	245.683	432,65	3689,08	8,53	miR166b//miR166c
CACTTATTTTGGACCGGAGGG	9	395	0,72	5,93	8,26	miR5181
TTTGGACTGAAGGGAGCTCCT	8	346	0,64	5,20	8,14	miR319b//miR319d//miR319e
TTAGATTCACGCACAAACTCG	323	13.764	25,76	206,67	8,02	miR403a//miR403b
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTC	49	1.993	3,91	29,93	7,66	miR159b
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAA	130	5.249	10,37	78,82	7,60	miR168b//miR168
ATGCACTGCCTCTTCCCTGGC	25	966	1,99	14,51	7,27	miR408
GAGCTCCTTGAAGTCCAAAAG	100	3.509	7,98	52,69	6,61	miR159a
TGGCGCTAGAAGGAGGGCCT	86	2.793	6,86	41,94	6,11	miR3711
TTGACAGAAGAGAGTGAGCAC	29	863	2,31	12,96	5,60	miR156k//miR156n//miR156o
TCCAAAGGGATCGCATTGATCT	79	2.249	6,30	33,77	5,36	miR393b//miR393a//miR393//miR393c//miR393d
TCGGACCAGGCTTCATTCCCC	401	11.340	31,99	170,28	5,32	miR166a//miR166h//miR166i//miR166d//miR166e//miR166b
CTCGGACCAGGCTTCATTCCC	26	716	2,07	10,75	5,18	miR166e
GTTCAATAAAGCTGTGGGAAG	12	317	0,96	4,76	4,97	miR396a
TCCCACAGCTTTATTGAACTG	8	199	0,64	2,99	4,68	miR396b
TGCACTGCCTCTTCCCTGGCT	62	1.475	4,95	22,15	4,48	miR408b//miR408
TTGAGCCGTGCCAATATCACG	26	614	2,07	9,22	4,45	miR171c
ACATTATGGGACGGAGGGAGT	16	365	1,28	5,48	4,29	miR1436
CGTTTCACGTCGGGTTCACC	198	4.259	15,79	63,95	4,05	miR894
CCCGCCTTGCATCAACTGAAT	6	127	0,48	1,91	3,98	miR168a
TTTGGGAATCTCTCTGATGCAC	5	100	0,40	1,50	3,76	miR3630
TCCCCACGGTCGGCGCCA	14	269	1,12	4,04	3,62	miR5054
TTGGACTGAAGGGAGCTCCTT	6	105	0,48	1,58	3,29	miR319c//miR319d
TTAGATGACCATCAACAAACT	5	85	0,40	1,28	3,20	miR827
TCCAAAGGGATCGCATTGATCC	77	1.200	6,14	18,02	2,93	miR393a//miR393b//miR393
TCGATAAACCTCTGCATCCAG	358	5.521	28,56	82,90	2,90	miR162a//miR162
TTTGGATTGAAGGGAGCTCCT	119	1.817	9,49	27,28	2,87	miR159c
AAACCTGGCTCTGATACCA	93	1.320	7,42	19,82	2,67	miR5139

Çizelge 5.22. (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	miRNA
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA		
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAAC	10	138	0,80	2,07	2,60	miR168
ATTTCGGACCAGGCTTCATTCCCC	410	5.552	32,70	83,37	2,55	miR166
TCGGACCAGGCTTCATTCCTA	37	493	2,95	7,40	2,51	miR166b
TTAGATGACCATCAACAAACA	40	529	3,19	7,94	2,49	miR827
TCGGACCAGGCTTCATTCCTT	233	3.065	18,59	46,02	2,48	miR166q//miR166f//miR166j//miR166c
CCGACCTTAGCTCAGTTGGTG	210	2.757	16,75	41,40	2,47	miR6478
TCGATAAACCTCTGCATCCA	33	399	2,63	5,99	2,28	miR162a
GATCCCCGGCAACGGCGCCA	465	5.595	37,09	84,01	2,27	miR8175
CACTACATTATGGAATGGAGGGA	25	297	1,99	4,46	2,24	miR1118
GGAGGCAGCGGTTCATCGATC	5	58	0,40	0,87	2,18	miR162a//miR162b
TCGCAGGAGAGATGGCACTGTC	63	632	5,03	9,49	1,89	miR3627
TCGGACCAGGCTTCATTCCT	79	729	6,30	10,95	1,74	miR166c
CTGACAGAAGATAGAGAGCAC	29	265	2,31	3,98	1,72	miR156e
GGGTCGACATGAGAACACATG	6	49	0,48	0,74	1,54	miR398
GGAATGTTGTCTGGCTCGAGG	25	197	1,99	2,96	1,48	miR166a//miR166c//miR166d
GCTCACTGCTCTTTCTGTCAGCT	18	129	1,44	1,94	1,35	miR156b
TCGCTTGGTGCAGGTCGGG	12	79	0,96	1,19	1,24	miR168b
GGAATGTTGGCTGGCTCGAGG	130	846	10,37	12,70	1,23	miR166e
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGA	82	517	6,54	7,76	1,19	miR168
TCATTTTTGCGTGCAATGATCC	126	788	10,05	11,83	1,18	miR1515a//miR1515b
TTTTCCCAAGACCTCCCATACC	33	200	2,63	3,00	1,14	miR482c
TGCCTGGCTCCCTGTATGCTT	5	26	0,40	0,39	-1,02	miR160c
TGGGGACTCGAAGACGATCATAT	1.577	6.528	125,79	98,02	-1,28	miR2916
GGACAGTCTCAGGTAGACA	6	18	0,48	0,27	-1,77	miR5368
GCTCACTCTCTATCTGTCACC	6	5	0,48	0,08	-6,37	miR156f

KN-sRNA ile KR-sRNA normalize edilmiş ifade değerleri (Ek 25) bakımından karşılaştırıldığında; her iki örnekte de ifadesi olanlar arasında en fazla kat artışı olan miRNA'lar; miR3711, miR894, miR398, miR5054 ve miR2916, en az kat artışı olan miRNA'lar; miR166j, miR1515a/b, miR7972, miR403a/b, miR162a, miR159c, miR166a/d ve miR393 olarak belirlenmiştir (Çizelge 5.23.).

Çizelge 5.23. KN-sRNA ve KR-sRNA'ya ait her iki örnekte de ifadesi olan miRNA'ların orjinal ifade değerleri ve normalize edilmiş ifade değerlerine göre kat değişimleri.

miRNA dizisi (miRBase)	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	miRNA
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA		
TGGCGCTAGAAGGAGGGCCT	86	3.238	6,86	158,65	23,13	miR3711
CGTTTCACGTCGGGTTCACC	198	6.256	15,79	306,51	19,41	miR894
GGGTCGACATGAGAACACATG	6	84	0,48	4,12	8,60	miR398
TCCCCACGGTCGGCGCCA	14	134	1,12	6,57	5,88	miR5054
TGGGGACTCGAAGACGATCATAT	1.577	11.871	125,79	581,62	4,62	miR2916
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTG	640	3.143	51,05	153,99	3,02	miR159b
TCTCGGACCAGGCTTCATTCC	5	24	0,40	1,18	2,95	miR166b
ATGCACTGCCTCTTCCCTGGC	25	106	1,99	5,19	2,60	miR408
GATCCCCGGCAACGGCGCCA	465	1.862	37,09	91,23	2,46	miR8175
TGTGTTCTCAGGTCGCCCCTG	91	352	7,26	17,25	2,38	miR398b
AAACCTGGCTCTGATACCA	93	354	7,42	17,34	2,34	miR5139
GGAGGCAGCGGTTCATCGATC	5	19	0,40	0,93	2,33	miR162a//miR162b
TGCACTGCCTCTTCCCTGGCT	62	230	4,95	11,27	2,28	miR408
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAA	130	432	10,37	21,17	2,04	miR168b//miR168
ACATTATGGGACGGAGGGAGT	16	45	1,28	2,20	1,73	miR1436
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGA	82	230	6,54	11,27	1,72	miR168
GGAATGTTGGCTGGCTCGAGG	130	351	10,37	17,20	1,66	miR166e
TTTGGACTGAAGGGAGCTCCT	8	17	0,64	0,83	1,31	miR319b//miR319d//miR319e
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTT	106	201	8,46	9,85	1,16	miR159b
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	3.433	6.462	273,83	316,61	1,16	miR159a//miR159b//miR159
TCCCACAGCTTTATTGAACTG	8	15	0,64	0,73	1,15	miR396b
CCCGCCTTGCATCAACTGAAT	6	10	0,48	0,49	1,02	miR168a
TCGCTTGGTGCAGGTCGGG	12	20	0,96	0,98	1,02	miR168b
GGACAGTCTCAGGTAGACA	6	10	0,48	0,49	1,02	miR5368
CCGACCTTAGCTCAGTTGGTG	210	342	16,75	16,76	1,00	miR6478
TTTTCCCAAGACCTCCCATACC	33	51	2,63	2,50	-1,05	miR482c
TCGAACCAGGCTTCATTCCCC	17	23	1,36	1,13	-1,20	miR166e
TTGACAGAAGAGAGTGAGCAC	29	36	2,31	1,76	-1,31	miR156k//miR156n//miR156o
TGAAGCTGCCAGCATGATCTG	204	233	16,27	11,42	-1,43	miR167
TGGAGAAGCAGGGCACGTGCA	32	36	2,55	1,76	-1,45	miR164b//miR164c

Çizelge 5.23. (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	miRNA
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA		
TCGGACCAGGCTTCATCCCCC	20	21	1,60	1,03	-1,55	miR165a//miR165b
CTTGGACTGAAGGGAGCTCCC	47	49	3,75	2,40	-1,56	miR159c
TTGAGCCGTGCCAATATCACG	26	24	2,07	1,18	-1,76	miR171c
GTCGTTGTAGTATAGTGG	9	8	0,72	0,39	-1,83	miR6300
CGGACCAGGCTTCATTCCCC	26	23	2,07	1,13	-1,84	miR166m
CTGACAGAAGATAGAGAGCAC	29	25	2,31	1,22	-1,89	miR156e
TCGCAGGAGAGATGGCACTGTC	63	52	5,03	2,55	-1,97	miR3627
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAAC	10	8	0,80	0,39	-2,04	miR168
CCGGACCAGGCTTCATTCCCC	32	25	2,55	1,22	-2,08	miR166j
TCGGACCAGGCTTCATTCCCG	17	13	1,36	0,64	-2,13	miR166d
TTGGACCAGGCTTCATTCCCC	12	9	0,96	0,44	-2,17	miR166i
TTGGACTGAAGGGAGCTCCC	154	115	12,28	5,63	-2,18	miR319a//miR319c
AAGCTCAGGAGGGATAGCGCC	24	14	1,91	0,69	-2,79	miR390
TCGGACCAGGCTTCATTCCC	5.424	3.146	432,65	154,14	-2,81	miR166c
TGACGACGAGAGAGAGCACGC	385	190	30,71	9,31	-3,30	miR535d
GAGCTCCTTGAAGTCCAAAAG	100	48	7,98	2,35	-3,39	miR159a
ATTTCGGACCAGGCTTCATTCCCC	410	194	32,70	9,51	-3,44	miR166
TCGGACCAGGCTTCATTCCCCC	31	14	2,47	0,69	-3,60	miR166
TCGGACCAGGCTTCATTCCCC	401	176	31,99	8,62	-3,71	miR166a//miR166e//miR166b//miR166d
GTTCAATAAAGCTGTGGGAAG	12	5	0,96	0,24	-3,91	miR396a
TCGGACCAGGCTTCATTCTC	30	12	2,39	0,59	-4,07	miR166i
CTCGGACCAGGCTTCATTCCC	26	10	2,07	0,49	-4,23	miR166e
TCGGACCAGGCTTCATTCCCT	35	13	2,79	0,64	-4,38	miR166f
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTC	49	17	3,91	0,83	-4,69	miR159b
CACTACATTATGGAATGGAGGGA	25	8	1,99	0,39	-5,09	miR1118
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	636	192	50,73	9,41	-5,39	miR396
TTCCACAGCTTTCTTGAACTT	372	95	29,67	4,65	-6,38	miR396c
TCGATAAACCTCTGCATCCAG	358	75	28,56	3,67	-7,77	miR162
TCCAAAGGGATCGCATTGATCT	79	16	6,30	0,78	-8,04	miR393
GGAATGTTGTCTGGCTCGAGG	25	5	1,99	0,24	-8,14	miR166a//miR166c//miR166d
TCCAAAGGGATCGCATTGATCC	77	15	6,14	0,73	-8,36	miR393

Çizelge 5.23. (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	miRNA
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA		
TCGGACCAGGCTTCATTCCTC	404	71	32,23	3,48	-9,26	miR166a//miR166d
TTTGGATTGAAGGGAGCTCCT	119	19	9,49	0,93	-10,20	miR159c
TCGATAAACCTCTGCATCCA	33	5	2,63	0,24	-10,75	miR162a
TTAGATTCACGCACAAACTCG	323	47	25,76	2,30	-11,19	miR403a//miR403b
TTGTCAGGCTTGTTATTCTCC	423	49	33,74	2,40	-14,05	miR7972
TCATTTTTGCGTGCAATGATCC	126	13	10,05	0,64	-15,78	miR1515a//miR1515b
TCGGACCAGGCTTCATTCCTT	233	23	18,59	1,13	-16,49	miR166j

5.4.4. KODLANMAYAN RNA SINIFLANDIRMASI

Tüm bitki türleri (*viridiplantae*) için rnacentral.org web sunucusundan elde edilen kodlanmayan RNA dizileri ile gerçekleştirilen BLAST sonuçları (Ek 26) Çizelge 5.24.'te verilmiştir. Buna göre VR-sRNA'da rRNA oranı KN-sRNA ve KR-RNA'ya göre dikkate değer oranda düşük iken, tRNA 4,6 kat, splayz işleminde görev alan snRNA 6,7 kat ve RNA biyogenezi ve modifikasyonunda yer alan snoRNA 4,6 kata kadar yüksek oranda bulunmuştur.

Çizelge 5.24. BLAST sonuçları (okumalar).

BLAST	KN-sRNA		VR-sRNA		KR-sRNA	
	Eşleşen okuma sayısı	**Yüzde (%)**	**Eşleşen okuma sayısı**	**Yüzde (%)**	**Eşleşen okuma sayısı**	**Yüzde (%)**
miRBase V.22*	66.961	0,53	1.407.420	2,11	178.866	0,88
rRNA	11.724.126	93,52	47.820.011	71,80	18.733.729	91,78
tRNA	283.111	2,26	7.055.230	10,59	669.858	3,28
snRNA	154.149	1,23	5.296.058	7,95	240.378	1,18
snoRNA	79.991	0,64	1.957.326	2,94	263.054	1,29
BNYVV**	-	0	942	0	-	0
miRNA	175	0	5.072	0,01	277	0
öncü RNA	7.623	0,06	17.611	0,03	528	0
Diğer RNA	198.925	1,59	3.018.265	4,53	238.236	1,17
CDS	16.008	0,13	1.962	0	66.185	0,32
BLAST olmayan	5.683	0,05	17.457	0,03	19.143	0,09
TOPLAM	**12.536.752**	**100**	**66.597.354**	**100**	**20.410.524**	**100**

* BLAST öncesinde yapılan miRBase anotasyonu verileri, ** 1. BLAST işleminden sonra BNYVV genomuna haritalama verileri

5.4.5. BİLİNMEYEN KÜÇÜK RNA ANALİZLERİ

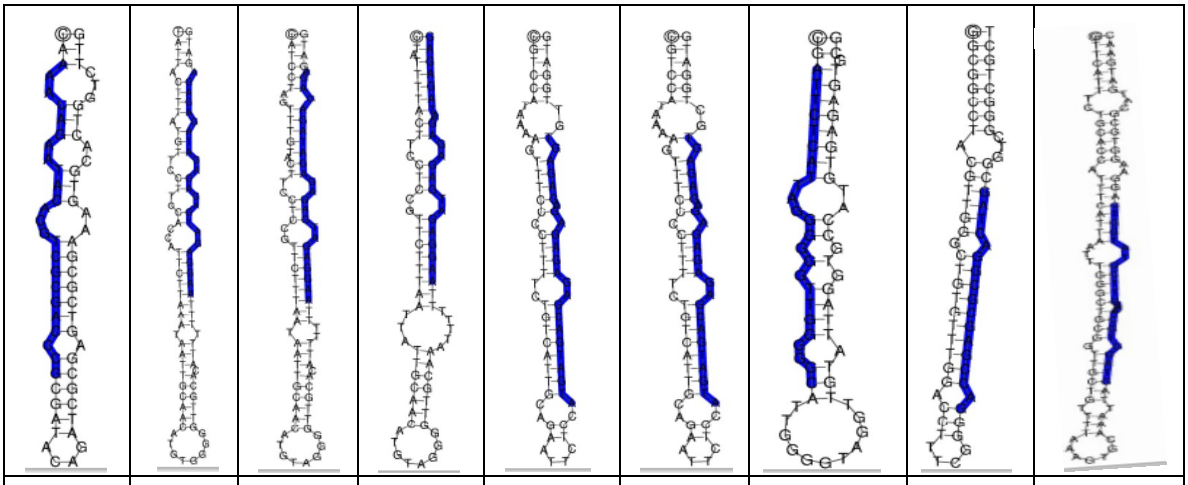
BLAST sonucu eşleşme göstermeyen KN-sRNA'da 5.683 okumada 262 dizi, VR-sRNA'da 17.457 okumada 1.287 dizi ve KR-sRNA'da 19.143 okumada 491 dizi (Ek 27) ile gerçekleştirilen saç tokası yapısı analizi sonucunda toplam 74 farklı küçük RNA dizisi için 186 dizide 173 farklı saç tokası dizisi (Ek 28-29) belirlenmiştir. Her üç örnekte de birbirinin varyantı olduğu düşünülen benzer diziler bulunmasına karşın, bu dizilerden KN-sRNA ve KR-sRNA'da ortak olan 3 dizi belirlenirken, VR-sRNA'da tespit edilen diziler diğer örneklerle ortak saç tokası yapısına sahip dizi içermemektedir. Buna göre KN-sRNA'da 6, VR-sRNA'da 62 ve KR-sRNA'da 9 küçük RNA'nın saç tokası yapıya sahip olabileceği tespit edilmiştir (Ek 29).

Belirlenen saç tokası yapısına ait dizilerin kodlanmayan RNA olup olmadıklarını analiz etmek amacıyla gerçekleştirilen BLAST sonuçlarına göre;

I) 74 küçük RNA dizisi ile gerçekleştirilen BLASTn sonuçlarına göre bu dizilerin 71 tanesinin kodlanmayan RNA dizileri ile 3 tanesinin ise misc RNA dizileri ile yüksek oranda benzer olduğu bulunmuştur (Ek 29-30).

II) 173 (186 farklı dizide) saç tokası dizisi ile gerçekleştirilen BLASTn sonuçlarına göre bu dizilerin 13 tanesinin mRNA, CDS veya rRNA dizileri ile ile yüksek oranda benzer olduğu, BLASTx sonuçlarına göre ise 34 tanesinin protein dizileri ile yüksek oranda benzer olduğu bulunmuş ve analizlerden çıkartılmıştır (Ek 29, Ek 31).

Analizlere devam edilen dizilerde aynı nükleotidlerin fazla sayıda tekrar etmesi (PolyN) dikkat çekmektedir. Bu nedenle bilinen miRNA'larda mevcut durumun araştırılması gerekmiştir. miRBase veritabanında kayıtlı tüm miRNA dizileri (V.22, 48885 adet miRNA dizisi, Ek 32) Poly A, T, C, G bakımından incelendiğinde bir dizi içinde 7 ve üzeri tekrar bulunma olasılığı yaklaşık %0,3 olarak belirlendiğinden küçük RNA dizilerinde 7 ve üzeri tekrarlı 103 saç tokası dizisi analizlerden çıkartılmıştır (Ek 29). Kalan 23 saç tokası dizisinden 5 tanesi tekrarlı baz içeriği nedeniyle elenmiş, 9 tanesi için (5 küçük RNA'yı temsil eden) ise karar verilememiştir (Ek 29, Ek 33-34). 9 saç tokası dizisinin farklı 6 küçük RNA dizisini temsil ettiği ve potansiyel miRNA adayı olabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 5.12., Ek 29).



64 nt	92 nt	91 nt	80 nt	75 nt	75 nt	64 nt	66 nt	105 nt
1	**2**			**3**		**4**	**5**	**6**

Şekil 5.12. Potansiyel miRNA adaylarının saç tokası yapıları.

Potansiyel miRNA adaylarına ait diziler, ifade değerleri ve saç tokası dizileri Çizelge 5.25.'te verilmiştir.

Çizelge 5.25. Potansiyel miRNA adayları, ifade değerleri ve saç tokası dizileri.

No	Potansiyel miRNA dizisi	Orjinal (ham) ifade değeri			Saç tokası dizisi
		KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA	
1	AAACAGAATACACGTCGCGACCCCG	68		63	CAAAACAGAATACACGTCGCGACCCGCGATACAGATCGCGAGTCGCGAAAGTGCACTGGTCTTG
2	AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA		43		TATTACTTTATGTTCCTTCCACCATTCTTAAATAATTGCAACATGTGGGGGTTGCACATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGAGAGATG
					CATCCTAGTTTGTACTTCCTCCGTTCTTTAATAATTGCAACATGTAGGGGTTGCACATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGAGAGATG
					CTATTTTACTTCCTCCGTTCTTTAATTATTGCAACATGTAGGGGTTGCAAATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAG
3	ATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGT		6		CGTCCATAAAAGTTTCCCCTTTTCTGTCATTGCAGAATTCTCCATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGTGTTGGATG
					CGTCCATAAAAGTTTCCCCTTTTCTGTCATTGCAGAATTCTCCATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGTGCTGGATG
4	ATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGC		7		CGATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGCATTGGGGTAGGTTGTATTAGGTGCCATGTGAGAGTGCG
5	GACCGAGCGCGGACTAG			6	GGCGGCCTACGTTGGGCTGTGTTTGGACCTTTCGGGGACCGAGCGCGGACTAGCGGTCGGGCTGCT
6	GTAGGTGCACACGTTCGTATGGTG			5	GTTCATTTCTGCACCATTTCATTAATTTGGGCTGCGGTTGCTGTTTTAAAGTGCAAATTAGTAGGTGCACACGTTCGTATGGTGAGGAAGGTGCGCATGATGAAC

5.4.6. HEDEF ANALİZLERİ

5.4.6.1. Bilinen MİRNA'ların Hedef Analizi

miRBase anotasyonu sonucunda bilinen 5628 miRNA (tüm varyantlar dahil) dizisi ile eşleşen küçük RNA dizisinden 5261 tanesinin (%93,5) *Arabidopsis thaliana* gen ID'leri dikkate alındığında en az bir geni hedeflediği, toplamda 1560 farklı ID'ye sahip genin hedeflendiği belirlenmiştir (Ek 35-36). Hedef analizi sonuçlarına ait örnekler Çizelge 5.26.'da verilmiştir.

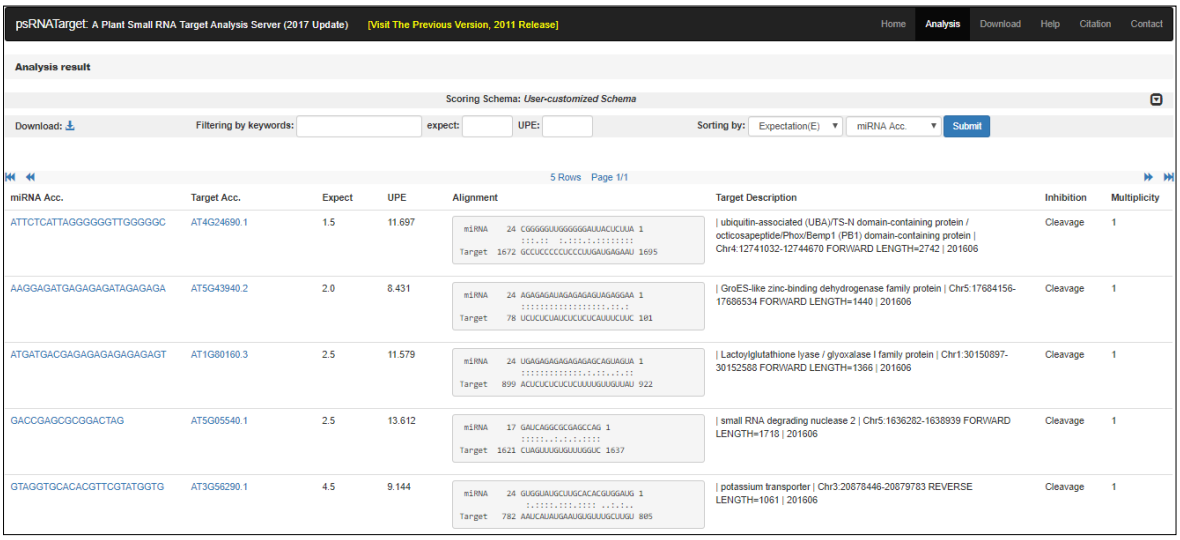
Çizelge 5.26. Bilinen miRNA ile eşleşen küçük RNA dizileri ve hedef analizi örnekleri.

Küçük RNA dizisi	Hedef Gen ID	Küçük RNA başlangıç	Küçük RNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	Hedef gen hizlama dizisi	İnhibisyon şekli	Gen tanımı
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	AT2G32460.2	1	21	972	992	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA	Kesim	myb domain protein 101
CAGCTTTCTTGAACTG	AT5G58980.1	1	16	1.271	1.286	CAGCUUUCUUGAACUG	Kesim	Neutral/alkaline non-lysosomal ceramidase
TTGGACTGAAGGGAGCTCCC	AT2G26950.1	1	20	827	846	UUGGACUGAAGGGAGCUCCC	Kesim	myb domain protein 104
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	AT2G34530.2	1	21	773	793	UUCCACAGCUUUCUUGAACUG	Kesim	transmembrane protein
ACAGCTTTCTTGAACTG	AT5G58980.1	1	17	1.271	1.287	ACAGCUUUCUUGAACUG	Kesim	Neutral/alkaline non-lysosomal ceramidase
TTCCACAGCTTTCTTGAACTT	AT5G01370.1	1	21	709	729	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	Kesim	ALC-interacting protein 1
TTTGGATTGAAGGGAGCTCT	AT2G32460.2	1	20	973	992	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCU	Kesim	myb domain protein 101
TGACGATGAGAGAGAGCACGC	AT1G69270.1	1	21	1.304	1.324	UGACGAUGAGAGAGAGCACGC	Kesim	receptor-like protein kinase 1
TTGTCAGGGTTGTGATTCTCC	AT2G20010.1	1	21	2.883	2.903	UUGUCAGGGUUGUGAUUCUCC	Kesim	Gls protein (DUF810)
TCACGTCGGGTTCACCA	AT3G14850.1	1	17	404	420	UCACGUCGGGUUCACCA	Kesim	Trichome birefringence-like 41
TTCACGTCGGGTTCACCA	AT3G14850.1	1	18	404	421	UUCACGUCGGGUUCACCA	Kesim	Trichome birefringence-like 41
CACGTCGGGTTCACCA	AT3G14850.1	1	16	404	419	CACGUCGGGUUCACCA	Kesim	Trichome birefringence-like 41
TTAGATTCACGCACAAACTCG	AT1G31280.1	1	21	3.429	3.449	UUAGAUUCACGCACAAACUCG	Kesim	Argonaute family protein
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTT	AT2G32460.2	1	21	972	992	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUU	Kesim	myb domain protein 101
TGAAGCTGCCAGCATGATCTG	AT3G61310.1	1	21	1.522	1.543	UGAAGCUGCCAGC-AUGAUCUG	Kesim	AT hook motif DNA-binding family protein
TGAAGCTGCCAGCATGATCTG	AT3G61310.1	1	21	4.660	4.680	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUG	Kesim	AT hook motif DNA-binding family protein
ATTGGACTGAAGGGAGCTCC	AT5G06100.1	1	20	1.162	1.181	AUUGGACUGAAGGGAGCUCC	Kesim	myb domain protein 33
CTTGGACTGAAGGGAGCTCCC	AT2G26950.1	1	21	827	847	CUUGGACUGAAGGGAGCUCCC	Kesim	myb domain protein 104
GGGGCTCGAAGACGATC	AT4G00910.1	1	17	469	485	GGGGCUCGAAGACGAUC	Kesim	aluminum activated malate transporter family protein
TCGATAAACCTCTGCATCCAG	AT1G01040.1	1	21	3.447	3.468	UCGAUAA-ACCUCUGCAUCCAG	Kesim	dicer-like 1

Tüm örnekler için küçük RNA dizileri ile eşleşen bilinen 211 olgun miRNA (tüm varyantlar dahil) dizisinden 196 tanesinin (%93) *Arabidopsis thaliana* gen ID leri dikkate alındığında en az bir geni hedeflediği, toplamda 122 farklı ID'ye sahip genin hedeflendiği belirlenmiştir (Ek 37).

5.4.6.2. Potansiyel miRNA Adaylarının Hedef Analizi

Analizler sonucunda saç tokası yapısına sahip potansiyel miRNA adayı altı diziden beş tanesinin hedef geni belirlenmiştir (Şekil 5.13., Çizelge 5.27.).



Şekil 5.13. Potansiyel miRNA adaylarının hedef gen analizine ait ektan görüntüsü.

Potansiyel miRNA adaylarının dizileri ve hedef genlerine ait bilgiler Çizelge 5.27.'de verilmiştir.

Çizelge 5.27. Potansiyel miRNA adaylarının hedef analizi sonuçları.

NO	Potansiyel miRNA dizisi	Hedef Gen ID	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	Hedef gen hizlama dizisi	İnhibisyon şekli	Gen tanımı
1	AAACAGAATACACGTCGCGACCCG	-	-	-	-	-	-	-	-
2	AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	AT5G43940.2	1	24	78	101	UCUCUCUAUCUCUCUCAUUUCUUC	Kesim	GroES-like zinc-binding dehydrogenase family protein (HOT5)
3	ATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGT	AT1G80160.3	1	24	899	922	ACUCUCUCUCUCUUUUGUUGUUAU	Kesim	Lactoylglutathione lyase / glyoxalase I family protein
4	ATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGC	AT4G24690.1	1	24	1.672	1.695	GCCUCCCCCUCCCUUGAUGAGAAU	Kesim	ubiquitin-associated (UBA)/TS-N domain-containing protein / octicosapeptide/Phox/Bemp1 (PB1) domain-containing protein
5	GACCGAGCGCGGACTAG	AT5G05540.1	1	17	1.621	1.637	CUAGUUUGUGUUUGGUC	Kesim	small RNA degrading nuclease 2
6	GTAGGTGCACACGTTCGTATGGTG	AT3G56290.1	1	24	782	805	AAUCAUAUGAAUGUGUUUGCUUGU	Kesim	potassium transporter

5.4.7. YOLAK ANALİZLERİ

Bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin hedef genlerinin ortoloji analizlerine göre etkilenen yolaklara bakıldığında KN-sRNA ve KR-sRNA'da yolaklar bakımından ciddi bir faklılık görülmemiştir (Ek 38). KR-sRNA'da en çok etkilenen yolaklar arasında "amino şeker ve nükleotid şeker metabolizması" ve "glisin, serin ve threonin metabolizması" dikkat çekerken (Ek 39-40), VR-sRNA'da bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA'ların bazı varyantlarının önemli yolaklarda yer alan genleri hedeflediği tespit edilmiştir (Ek 41-53).

Virüs stresi tarafından etkilenen önemli yolaklar arasında "endositoz", "ribozom", "splayzozom", "viral karsinogenesis", "RNA taşıma" ve "bitki hormon sinyal" yolakları yer almaktadır (Çizelge 5.28.).

Çizelge 5.28. KEGG ortoloji analizinde öne çıkan yolaklar.

Yolaklar	**Bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizileri tarafından yolaklara göre hedeflenen gen sayısı***		
	KN-sRNA	**VR-sRNA**	**KR-sRNA**
04144 Endositoz (Ek 42)	2	14	3
03010 Ribozom (Ek 43)	1	12	3
03040 Splayzozom (Ek 44)	0	12	3
05203 Viral karsinogenez (Ek 45)	3	11	4
03013 RNA taşıma (Ek 46)	2	11	2
04075 Bitki hormon sinyal iletimi (Ek 47)	2	11	2
04714 Termojenesis (Ek 48)	2	10	1
00190 Oksidatif fosforülasyon (Ek 49)	3	9	3
05165 İnsan papillomavirüs enfeksiyonu	1	9	2
04110 Hücre döngüsü (Ek 50)	3	8	3

* İlgili yolakta bir gen birden fazla yerde bulunabilir, her biri sayılmıştır.

Saç tokası yapısına sahip potansiyel miRNA'ların hedef genleri bakımından etkilenen önemli sayılabilecek bir yolak tespit edilememiştir (Çizelge 5.29.).

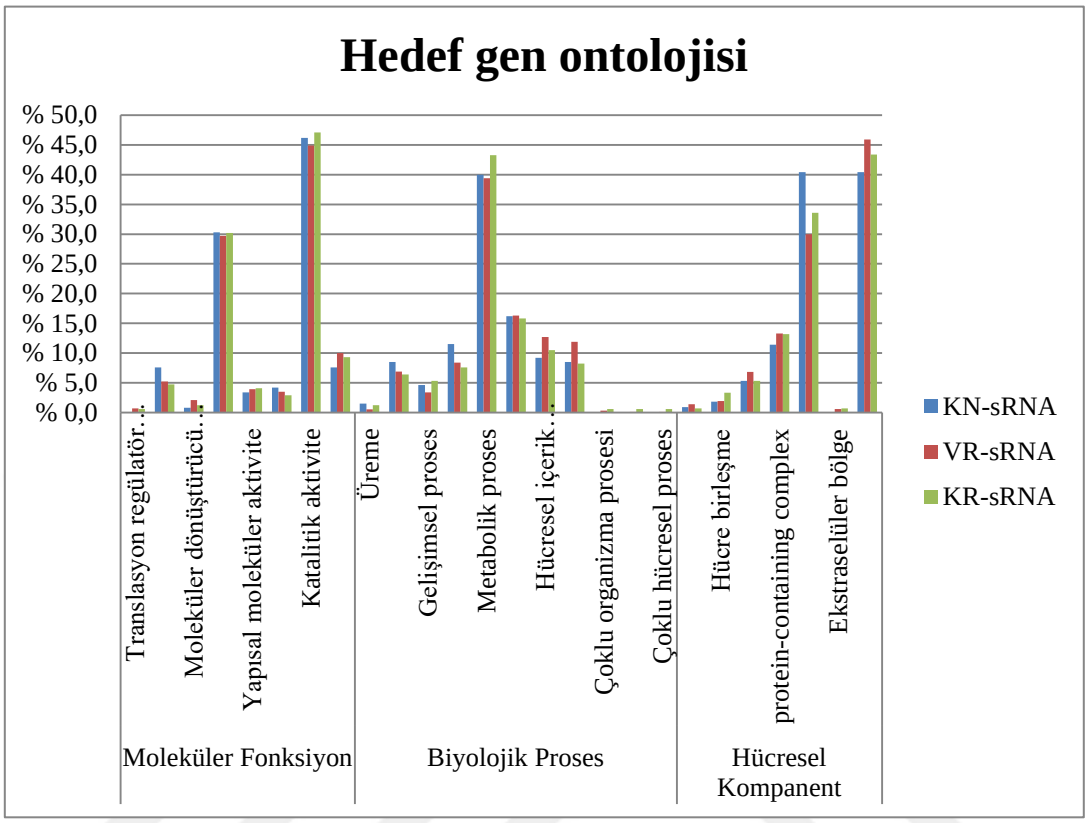
Çizelge 5.29. miRNA adaylarının etkilediği hedef genlerin yer aldığı yolaklar.

Potansiyel miRNA dizisi	**KEGG ortoloji ID**	**KEGG yolak**
AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	K00121	Glikolizis/Glukanogenesis, Yağ asidi degredasyonu, Tirozin metabolizması, metabolik yolak, İkincil metabolit biyosentezi, Karbon metabolizması
ATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGC	K17987	Mitofaji - animal
GACCGAGCGCGGACTAG	K14570	Ribosom biyogenezi - ökaryot

5.4.8. ONTOLOJİ ANALİZLERİ

Ontoloji analizleri sonucuna göre örnekler arasında moleküler fonksiyon ve biyolojik proses sınıflandırması bakımından önemli fark olmadığı gözlenmiştir. Her üç örnek (KN-sRNA, VR-sRNA ve KR-sRNA) için de bilinen miRNA'lar ile eşleşen dizilerin hedef genlerinin büyük çoğunluğu moleküler fonksiyon bakımından katalitik aktivite ve

bağlanmada rol oynamakta iken biyolojik proses bakımından metabolik proses ve biyolojik düzenlemede görev almaktadır (Şekil 5.14., Ek 54).

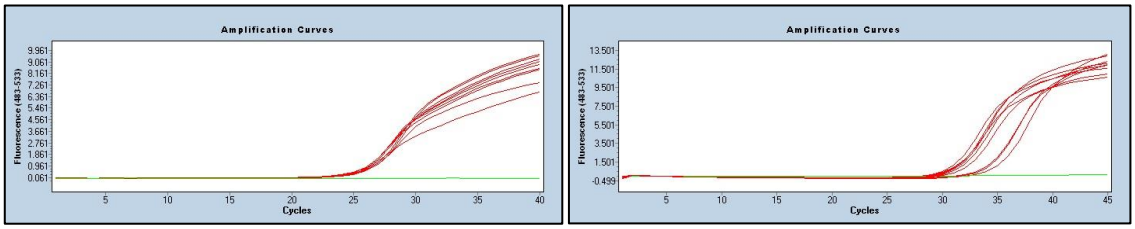


Şekil 5.14. Ontoloji analizi grafiği.

5.5. miRNA VE HEDEF GEN VALİDASYONU

5.5.1. miRNA VALİDASYONU

Hem kuraklık hem de virüs stresi uygulanmış örnek için validasyon amacıyla seçilen miRNA'ların dizileme sonucu elde edilen ifade seviyeleri ile bu miRNA'ların Eş Zamanlı PZR sonucu elde edilen ifade seviyelerinin beklendiği şekilde doğru orantılı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 5.30.-5.31., Şekil 5.16.-5.19.).



Şekil 5.15. U6 ve Potansiyel miRNA primerlerinin tüm örneklerde amplifikasyon eğrisi grafiği.

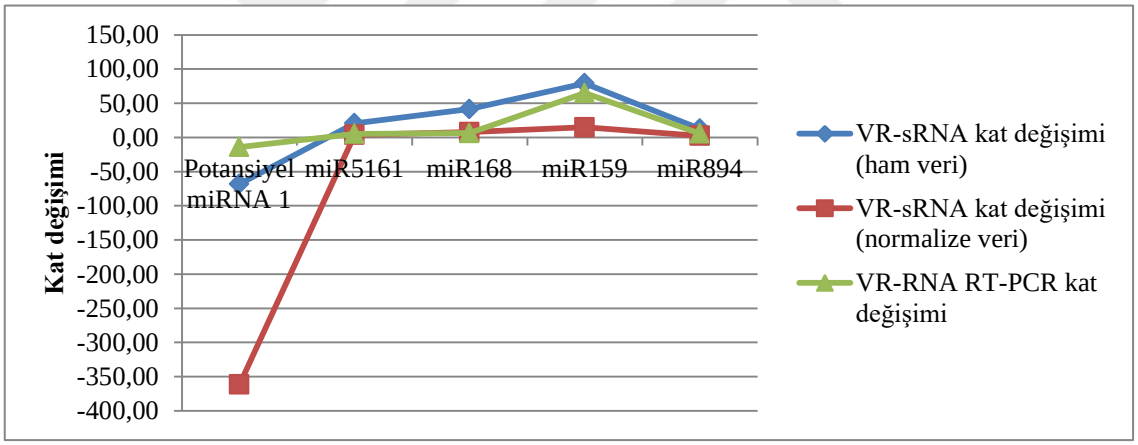
Virüs stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve ifade değerleri Çizelge 5.30.'da verilmiştir.

Çizelge 5.30. Virüs stresi uygulanmış örnek için validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve relatif ifade farklılıkları (Ek 55-56).

miRNA	VR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (ham veri)	VR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (normalize veri)	VR-RNA/KN-RNA Eş Zamanlı PZR kat değişimi
Potansiyel miRNA 1	-68,00*	-361,23	-13,93
miR5161	20,58	3,87	5,23
miR168	41,60	7,83	6,42
miR159	79,17	14,90	65,04
miR894	12,77	2,40	5,60

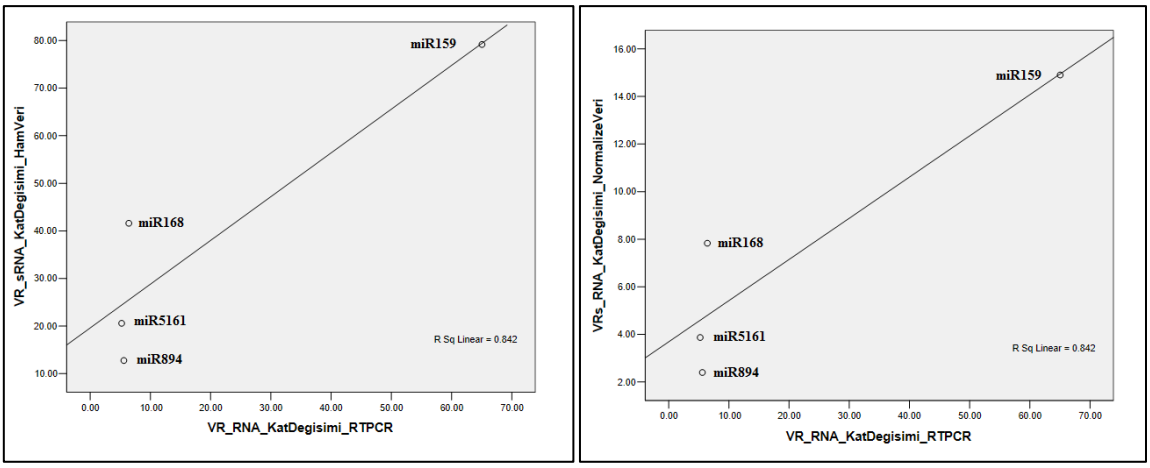
* İlgili dizi VR-sRNA'da bulunmadığı için ifade analizinde 1 adet dizi var olarak hesaplanmıştır.

Virüs stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve ifade değerlerine ait grafik Şekil 5.16.'da gösterilmektedir.



Şekil 5.16. Virüs stresi uygulanmış örneğe ait validasyon grafiği.

Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde potansiyel miRNA 1 dizisi bulunmadığı için ifade seviyesinin ölçülebilmesi amacıyla ifade değeri "1" olarak kabul edilmiş ve korelasyon grafiğinde dikkate alınmamıştır. Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde validasyon sonucunda elde edilen ifade değerleri karşılaştırıldığında potansiyel miRNA 1 dışında diğer miRNA'lar için yüksek derecede korelasyon (r=0,842) tespit edilmiştir (Şekil 5.17., Ek 57).



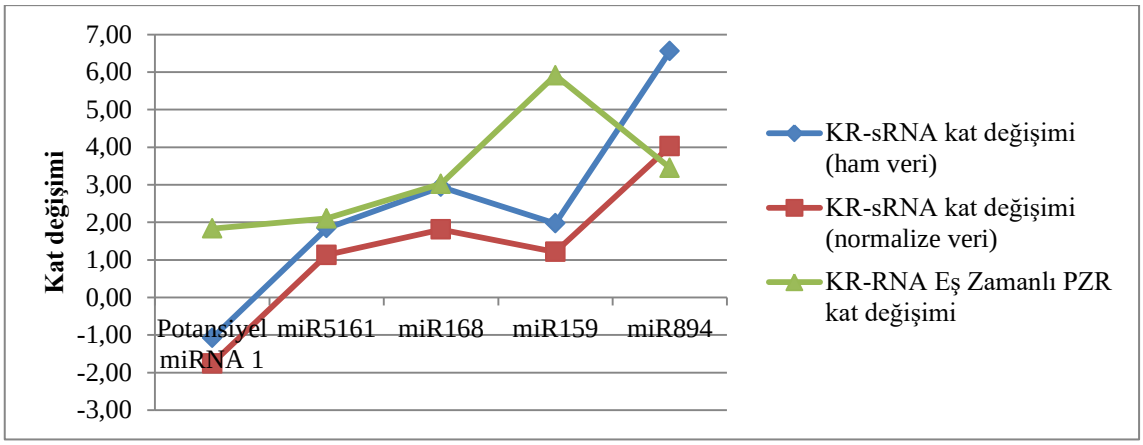
Şekil 5.17. Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde validasyon sonucunda miRNA'lardan elde edilen ifade değerleri korelasyon grafiği.

Kuraklık stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve ifade değerleri Çizelge 5.31.'de verilmiştir.

Çizelge 5.31. Kuraklık stresi uygulanmış örnek için validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve relatif ifade farklılıkları (Ek 55-56).

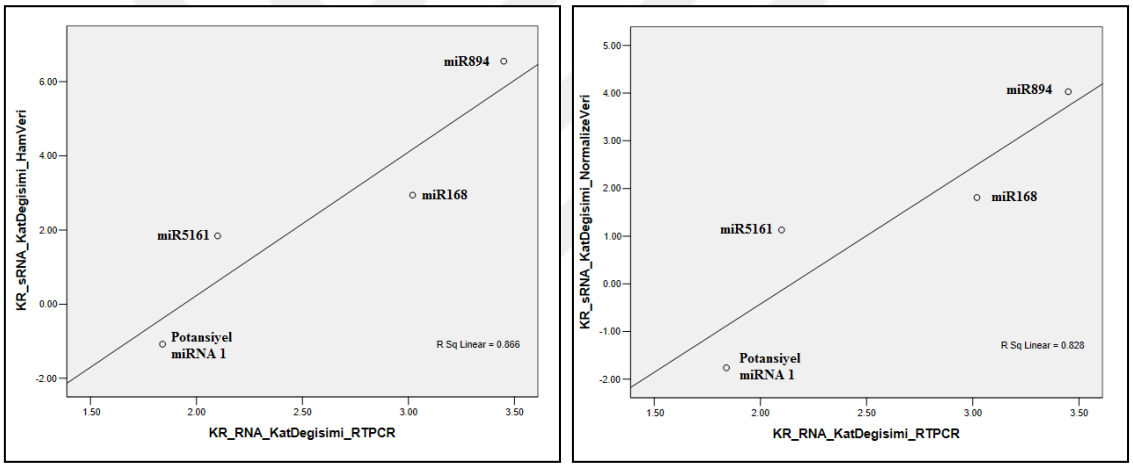
miRNA	KR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (ham veri)	KR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (normalize veri)	KR-RNA/KN-RNA Eş Zamanlı PZR kat değişimi
Potansiyel miRNA 1	-1,08	-1,76	1,84
miR5161	1,84	1,13	2,10
miR168	2,94	1,81	3,02
miR159	1,97	1,21	5,91
miR894	6,55	4,03	3,45

Kuraklık stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve ifade değerlerine ait grafik Şekil 5.18.'de gösterilmektedir.



Şekil 5.18. Kurak stresi uygulanmış örneğe ait validasyon grafiği.

Kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde validasyon sonucunda elde edilen ifade değerleri karşılaştırıldığında miR159 dışında diğer miRNA'lar için yüksek derecede korelasyon (r=0,866-0,828) tespit edilmiştir (Şekil 5.19., Ek 57).



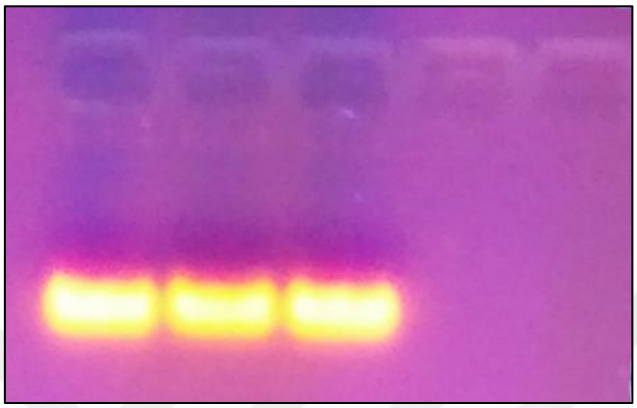
Şekil 5.19. Kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde validasyon sonucunda miRNA'lardan elde edilen ifade değerleri korelasyon grafiği.

5.5.2. HEDEF GENLERİN VALİDASYONU

Hedef gen validasyonu amacıyla sentezlenen cDNA'lara ait spektrofotometrik ölçümlerde cDNA'ların saflıkları ve miktarları (ng/µl) istenilen seviyede elde edilmiştir (Çizelge 5.32., Şekil 5.20.)

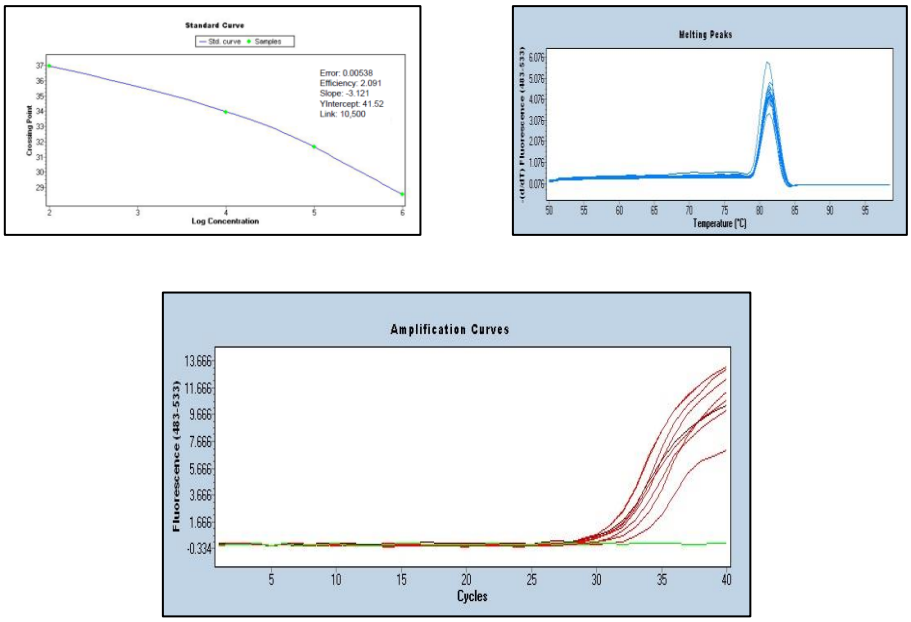
Çizelge 5.32. Örneklere ait cDNA nanodrop ölçüm değerleri.

No	Materyal No	Örnek	ng/ µl	260/280	260/230
1	127	KN-RNA (cDNA)	2100	1,83	1,75
2	127	VR-RNA (cDNA)	2018	1,86	1,67
3	127	KR-RNA (cDNA)	2058	1,85	1,78



Şekil 5.20. Hedef gen analizleri için sentezlenen cDNA'lara ait jel görüntüsü (%1' lik agaroz jel).

Standart eğrilerin etkinlik (efficiency) değeri 2'ye ve slope değeri ise -3.3'e yakın olacak şekilde belirlenmiştir. Histon H3.3 genine ait örnek standart eğri, amplifikasyon eğrisi ve erime eğrisi grafikleri Şekil 5.21.'de verilmiştir.



Şekil 5.21. Histon H3.3 genine ait standart eğri, erime eğrisi (melting curve) ve amplifikasyon eğrisi grafiği.

Hem kuraklık hem de virüs stresi uygulanmış örnek için hedef gen validasyonu amacıyla seçilen miRNA'ların dizileme sonucu elde edilen ifade seviyeleri ile bu miRNA'ların hedef genlerinin Eş Zamanlı PZR sonucu elde edilen ifade seviyelerinin beklendiği şekilde ters orantılı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 5.33.-5.34., Şekil 5.22.-5.25.).

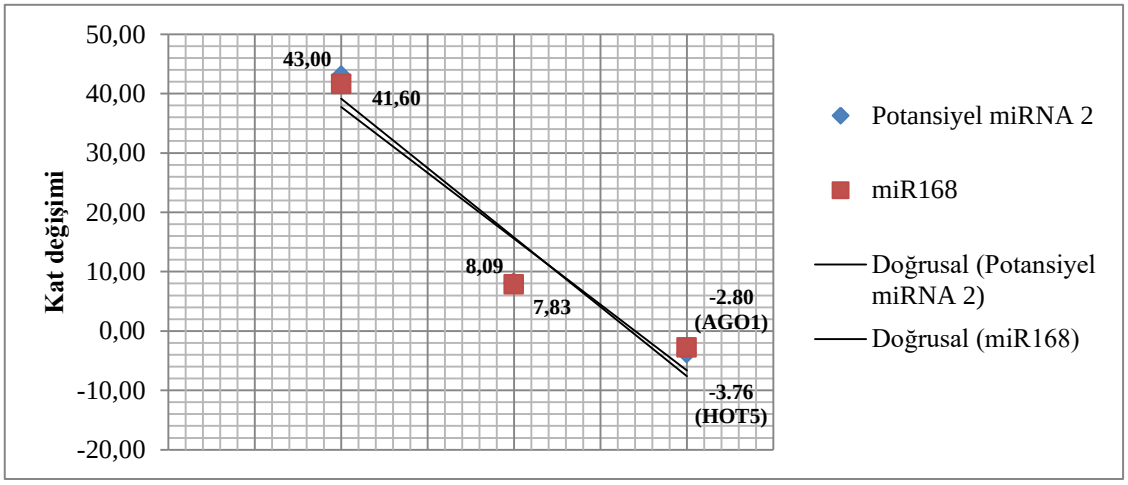
Virüs stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve hedef genlerinin ifade değerleri Çizelge 5.33.'de verilmiştir.

Çizelge 5.33. Virüs stresi uygulanmış örnek için hedef gen bakımından validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve hedef genlerin relatif ifade farklılıkları (Ek 58-59).

miRNA	VR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (ham veri)	VR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (normalize veri)	VR-RNA/KN-RNA Eş Zamanlı PZR kat değişimi (hedef gen)
Potansiyel miRNA 2	43,00*	8,09	-3,76 (HOT5)
miR168	41,60	7,83	-2,80 (AGO1)

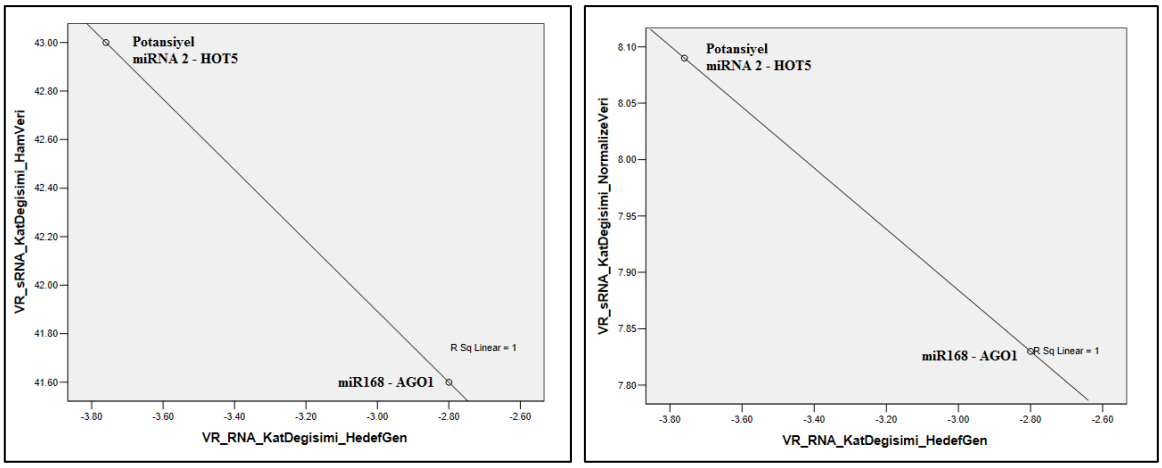
* İlgili dizi KN-sRNA bulunmadığı için ifade analizinde 1 adet dizi var olarak hesaplanmıştır.

Virüs stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve hedef genlerinin ifade değerlerine ait grafik Şekil 5.22.'de gösterilmektedir.



Şekil 5.22. Virüs stresi uygulanmış örneğe ait miRNA ve hedef geninin validasyon grafiği.

Virüs stresi uygulanmış örnekte miRNA ifade seviyesi ile hedef gen ifade seviyeleri arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir (Şekil 5.23., Ek 57).



Şekil 5.23. Virüs stresi uygulanmış örnekte miRNA ifade seviyesi ile hedef gen ifade seviyeleri korelasyon grafiği.

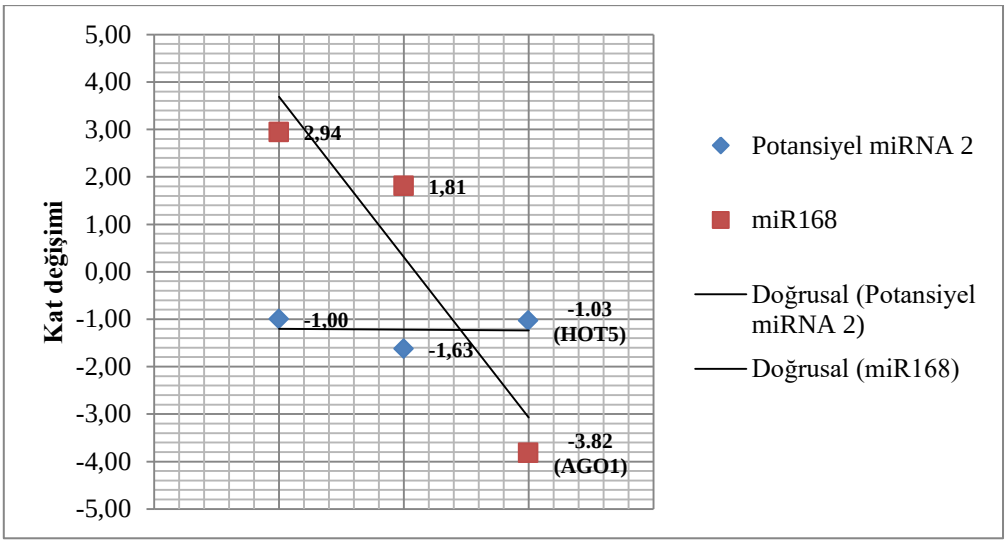
Kuraklık stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve hedef genlerinin ifade değerleri Çizelge 5.34.'te verilmiştir.

Çizelge 5.34. Kuraklık stresi uygulanmış örnek için hedef gen bakımından validasyonu gerçekleştirilen miRNA'lara ait ham veri, normalize edilmiş veri ve hedef genlerin relatif ifade farklılıkları (Ek 58-59).

miRNA	KR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (ham veri)	KR-sRNA/KN-sRNA kat değişimi (normalize veri)	KR-RNA/KN-RNA Eş Zamanlı PZR kat değişimi (hedef gen)
Potansiyel miRNA 2	-1,00* (0)	-1,63 (0)	-1,03 (HOT5)
miR168	2,94	1,81	-3,82 (AGO1)

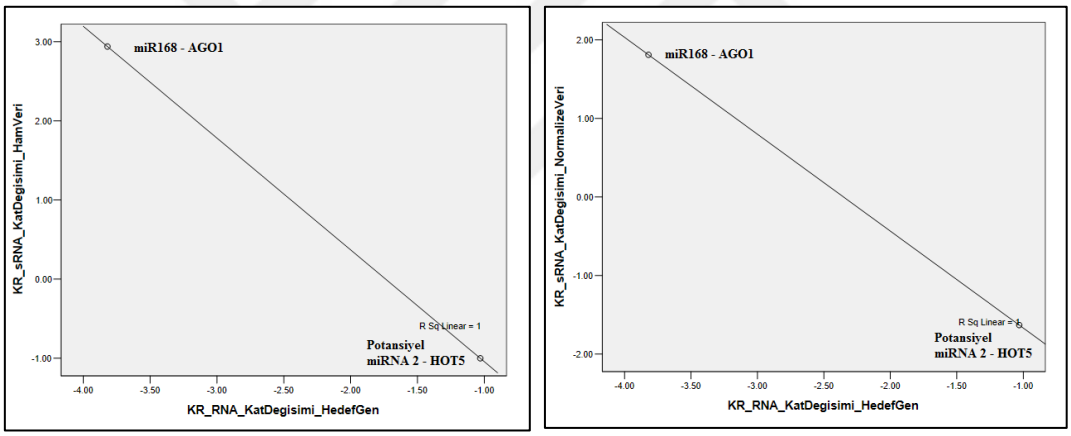
* İlgili dizi KN-sRNA ve KR-sRNA'da bulunmadığı için ifade analizinde 1'er dizi var olarak hesaplanmıştır.

Kuraklık stresi uygulanmış örnek için seçilen miRNA'lar ve hedef genlerinin ifade değerlerine ait grafik Şekil 5.24.'te gösterilmektedir.



Şekil 5.24. Kurak stresi uygulanmış örneğe ait miRNA ve hedef geninin validasyon grafiği.

Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miRNA ifade seviyesi ile hedef gen ifade seviyeleri arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir (Şekil 5.25., Ek 57).



Şekil 5.25. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miRNA ifade seviyesi ile hedef gen ifade seviyeleri korelasyon grafiği.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

6.1. TARTIŞMA

Biyotik ve abiyotik stres dünya çapında tarımsal verimi ve ürün kalitesini ciddi şekilde azaltmaktadır (197,419). Bu nedenle bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı geliştirdikleri yanıt mekanizmalarını ve bu stres faktörlerinin nasıl tolere edildiğini anlamak, elverişsiz koşullar altında bitkinin verimliliğinin artırılması için büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda kültür türleri ile yakın akraba yabani türlerin sahip oldukları stres tolerans özellikleri, strese dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde önemli bir kaynak oluşturmakta ve strese dayanıklılığı artırmak için yabani gen kaynaklarındaki bu özelliklerin kültür çeşitlerine aktarılması zorunlu görülmektedir (377–379).

Yeni Nesil Dizileme (NGS) platformları bitkilerde strese dayalı olarak gelişen gen ifade seviyelerindeki değişikliklerin ve mekanizmaların belirlenmesine yardımcı olabilecek detaylı veriler sağlamaktadır (420,421). Bu sayede farklı stres koşullarında çeşitli bitki türlerinde biyotik ve abiyotik strese yanıtta rol alan genlerin transkriptom düzeyinde araştırılması kolaylaşmaktadır. Bu amaçla mikrodizin ve RNA dizileme teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (170,422–424).

Günümüzde farklı türlere ait birçok bitkide miRNA tanımlanması ve karakterizasyonuna yönelik çalışmalar yapılmakta olup, özellikle pamuk (285), yonca (286), mısır (425) ve çeltik (426) gibi bitkilerde miRNA dizileme temelli araştırmaların daha yoğun olduğu görülmektedir. Şeker endüstirisinde yaygın olarak kullanılan şeker pancarı ise, stres dayanıklılığı ile ilişkili genlerin tanımlanmasında iyi bir bitki-gen kaynağıdır (427). Ancak yabani pancarlarda özellikle biotik ve abiotik stres yanıtında rol alan miRNA'ların ve bu miRNA'ların hedef genlerinin veya fonksiyonlarının belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Bu tez çalışmasında yabani pancarda stres koşullarında gelişen miRNA profili ortaya çıkartılarak; miRNA ifade seviyelerinin ve bu miRNA’lar tarafından hedeflenen genler ile ilişkili yolakların tespiti ile stres koşullarına karşı yabani pancar tarafından geliştirilen kompleks yanıt mekanizmasının daha iyi anlaşılmasını sağlayacak bulgular elde edilmiş ve

stres faktörlerinin olumsuz etkilerini en aza indirmek ve strese dayanıklı şeker pancarı üretimini geliştirilmek için yeni stratejilere temel oluşturacak veriler sağlanmıştır.

6.1.1. STRES FAKTÖRLERİNE YÖNELİK ÖNE ÇIKAN miRNA'LAR

Tez kapsamında bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizileri olgun miRNA olarak gruplandırıldığında; virüs stresi uygulanmış örnekte 209, kuraklık stresi uygulanmış örnekte ise 83 miRNA belirlenmiştir. Belirlenen miRNA'ların ortalama 21 nükleotit uzunluğunda olduğu gözlemlenmiştir.

Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde orjinal ifade değerleri bakımından en çok ifadeye sahip miRNA'lar sırasıyla (varyantlar dahil); **miR159, miR166, miR396, miR319, miR7972, miR535, miR403, miR167, miR398, miR2916, miR168, miR162, miR8175, miR393, miR894, miR164, miR3711, miR6478, miR408, miR165, miR394, miR6300, miR156, miR5139, miR390** olarak belirlenirken kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde orjinal ifade değerleri bakımından en çok ifadeye sahip miRNA'lar sırasıyla (varyantlar dahil); **miR2916, miR159, miR894, miR166, miR3711, miR8175, miR168, miR398, miR5139, miR6478, miR408, miR396, miR167, miR535, miR319, miR5054, miR162** olarak belirlenmiştir. Özellikle kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde çok fazla ifade olan miR2916, varyantlarının ve hedef genlerinin sayısı bakımından değerlendirildiğinde tartışmada dikkate alınmamıştır. Tartışılan hedef genlerin isimleri ve kısa tanımlarında Uniprot (401), TAIR (402) ve Araport (428) internet sitelerinden yararlanılmıştır.

Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde bulunan miRNA sayısı, kontrol kök örneği ile olgun miRNA ifade farklılığı analizinde, "orjinal (ham) ifade değerleri" kullanılarak yapılan karşılaştırma ile "normalize edilmiş ifade değerleri" kullanılarak yapılan karşılaştırma arasında bazı farklılıklara neden olmuştur. Bu farklılık kuraklık stresi uygulanmış kök örneği ile kontrol kök örneğinin ifade farklılığı analizinde ise nispeten daha az bulunmuştur. Bu kapsamda;

a) Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde bir miRNA'nın orjinal ifade değeri kontrol kök örneğine göre oldukça yüksek olmasına karşın normalizasyon sonucunda ifade artışı/azalışı göreceli olarak değişmektedir,

b) Aynı geni hedefleyen bir miRNA'nın varyantları farklı ifade seviyelerine sahip olabilmektedir,

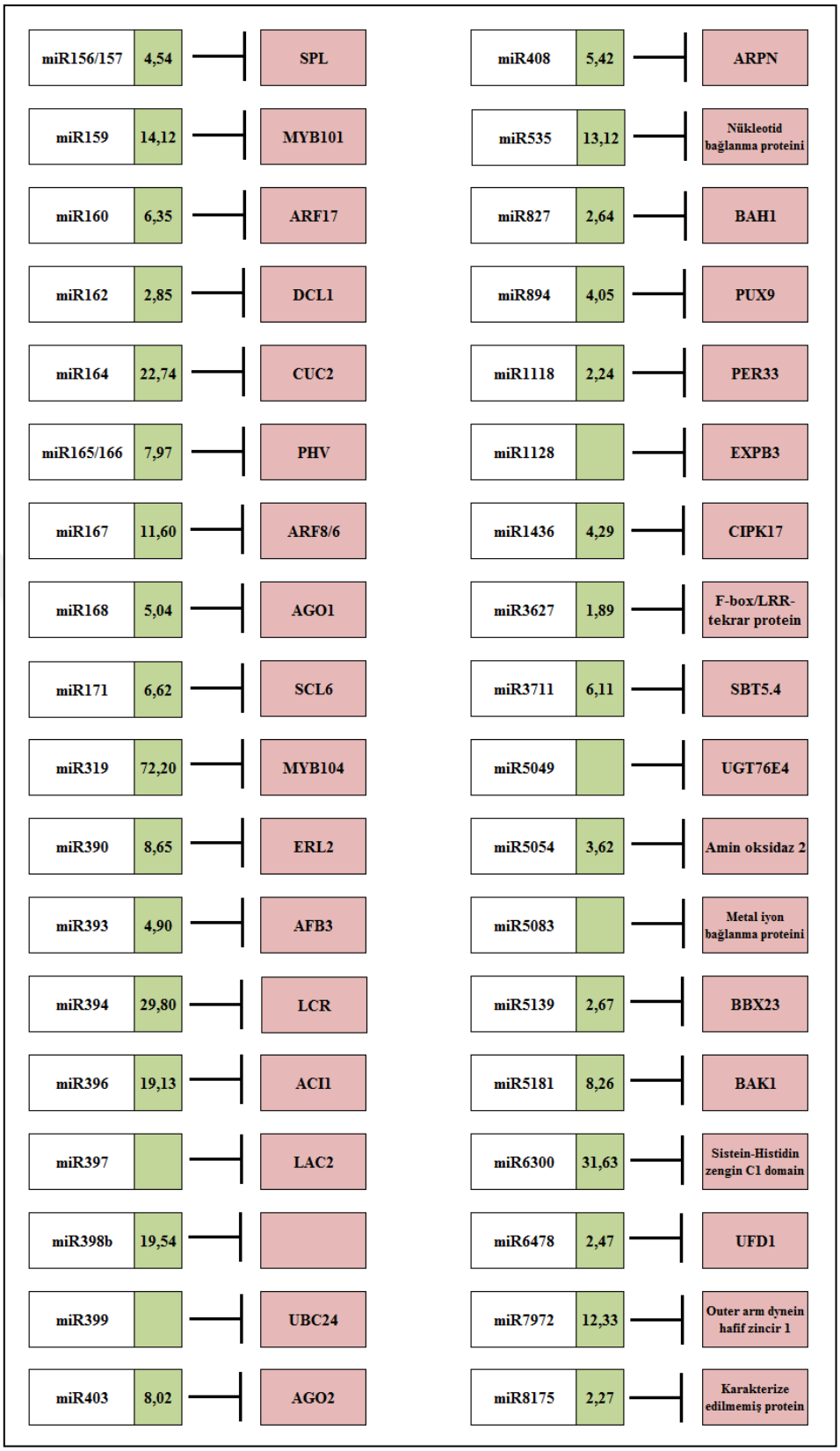
c) Önemli olan kontrol ve stres uygulanmış örnekler karşılaştırıldığında aynı genin ifade seviyesinin azalmasının veya artmasının ölçülmesidir.

Bu nedenle tartışmada, normalizasyon sonrası aynı geni hedefleyen aynı miRNA'ların varyantlarının ifade artış veya azalışları birlikte değerlendirilmiştir (Ek 60-61). Değerlendirme sonucunda en az (+/-) 1,5 kat ifade değişimi olan miRNA'lar tartışmaya dahil edilmiştir. Varyantları ile birlikte değerlendirildiğinde normalizasyon öncesi ifade değerleri düşük olan (virüs stresi uygulanmış örnek için yaklaşık 100 okuma, kuraklık stresi uygulanmış örnek için yaklaşık 50 okuma) miRNA'lar dikkate alınmamıştır.

6.1.1.1. Virüs Stresine Yönelik Olarak Öne Çıkan miRNA'lar

Olgun miRNA'ların normalize edilmiş ifade seviyeleri ve hedef genleri dikkate alındığında virüs stresi uygulanmış kök örneğinde kontrol kök örneğine göre en çok ifadesi artan miRNA'lar (varyantlar dahil); **miR319** (kat değişimi: 72,2), **miR6300** (31,63), **miR394** (29,8), **miR164** (22,74), **miR398** (18,54), **miR396** (19,13), **miR159** (14,12), **miR535** (13,12), **miR7972** (12,33), **miR167** (11,6), **miR390** (8,65), **miR5181** (8,26), **miR403** (8,02), **miR165/166** (7,97), **miR171** (6,62), **miR160** (6,35), **miR3711** (6,11), **miR408** (5,42), **miR168** (5,04), **miR393** (4,9), **miR156/157** (4,54), **miR1436** (4,29), **miR894** (4,05), **miR5054** (3,62), **miR162** (2,85), **miR5139** (2,67), **miR827** (2,64), **miR6478** (2,47), **miR8175** (2,27), **miR1118** (2,24) ve **miR3627** (1,89) olarak belirlenmiştir (Şekil 6.1.). İfadesi azalan miRNA belirlenememiştir. miR398'in hedef geni belirlenememiştir.

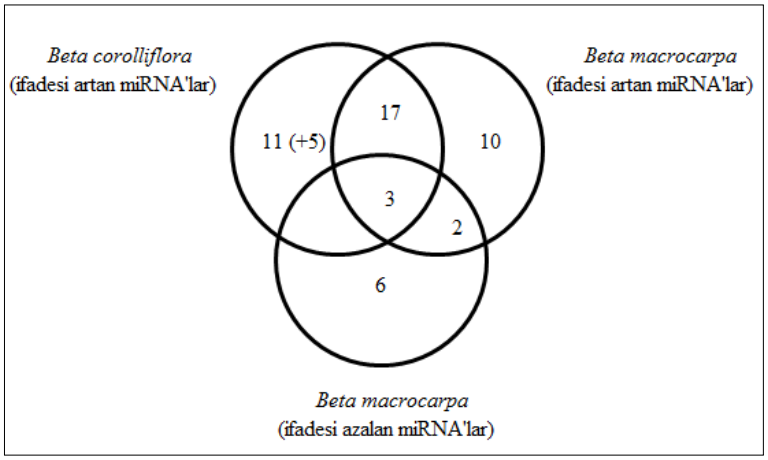
Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde, önemli sayılabilecek ifade seviyesine sahip olmasına karşın kontrol kök örneğinde ifadesi olmayan farklı dizilere sahip miRNA'lardan; **miR397, miR399, miR1128, miR5049 ve miR5083**'ün ifade farklılıkları ölçülememiştir.



Şekil 6.1. Virüs stresi uygulanmış kök örneğinde tespit edilen miRNA'lar, miRNA-ifade kat değişimleri ve hedef genleri.

Kuraklık ve virüs stresi ile ilişkili miRNA profilinin değerlendirilmesinde; *Beta corolliflora*'nın her bir genotipindeki yüksek heterozigotluğa sahip genom yapısından dolayı ortaya çıkacak varyasyonların azaltılması amacıyla ortak kontrol bitkisinin kullanımına gidilmiştir. Kontrol örneği ve virüs stresi uygulanan örnekte belirlenen tüm miRNA'lar (öncü, varyant, olgun) dikkate alındığında ifade değeri bakımından kontrol örneğinde daha yüksek değere sahip az sayıda miRNA varyantı olmasına rağmen, ifade farklılık analizleri gerçekleştirilen olgun miRNA'lar dikkate alındığında virüs stresi uygulanan örnekte bu miRNA'ların tamamının ifade seviyesinde artış görülmektedir. Yine bu miRNA'ların bazılarında yüksek derecede ifade artışına (miR319, +**72,2** kat) rastlanmaktadır. Bu durumun değerlendirilmesi amacıyla benzer çalışmalar taranmıştır. *Beta corolliflora* ile ilgili olarak genom ve miRNA düzeyinde bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Diğer yabani pancar türleri için gerçekleştirilen literatür taraması sonucunda ise Liu ve arkadaşları (2017) tarafından *Beta vulgaris* ile aynı seksiyonda yer alan *Beta macrocarpa* türünde BNYVV stresi ile ilişkili miRNA'ların belirlenmesine yönelik yapılan (283) sadece bir çalışma belirlenebilmiş ve bu çalışma ile tezde virüs stresi ile ilişkili olarak belirlenen bilinen olgun miRNA'lar karşılaştırılmıştır.

Bu kapsamda karşılaştırılan çalışma ile tezde belirlenen bilinen olgun miRNA'lar (varyantları dahil) için ifade farklıkları bakımından yapılan değerlendirme Şekil 6.2.'de özetlenmiştir.



Şekil 6.2. Virüs stresi sonucu *Beta corolliflora* kök dokusunda belirlenen bilinen olgun miRNA (varyantları dahil) ifade profilleri ile *Beta macrocarpa* yaprak dokusunda belirlenen bilinen olgun miRNA (varyantları dahil) ifade profillerine ait ven diyagramı (+5, kontrol örneğinde ifadesi hiç bulunmayan miRNA'lar).

Karşılaştırılan çalışmada en az 2 kat ifade değişikliği gösteren bilinen olgun 38 miRNA ailesi belirlenmiştir. Bu miRNA'ların (varyantları dahil) 32 tanesinin ifadesinin arttığı gösterilmektedir. İfade artışı gösteren bazı miRNA varyantlarının ise çok yüksek ifade artış değerlerine (miR162a: **+161,65** kat; miR168a: **+130,31** kat; miR160a: +**103,41** kat; miR396b: **+69,92** kat) sahip olduğu görülmektedir. Tezde belirlenen ifade artışına sahip bilinen olgun miRNA'lardan, karşılaştırılan çalışma ile **ortak olanların tamamında** ifade artışı tespit edilmiştir.

Karşılaştırılan çalışmada hem kontrol hem de virüs stresi uygulanan örnekte ham okuma değerleri bakımından en çok değere sahip bilinen olgun miRNA ve/veya varyantlarının **sıralaması** birbirine benzer durumdadır. Karşılaştırılan çalışmada kontrol örneğinde en çok ham okuma değerine sahip miRNA ve/veya varyantları **miR159**, miR393, miR396, **miR166** olurken tezde kontrol örneğinde benzer şekilde **miR166** ve **miR159** en çok ham okuma değerine sahip miRNA ve/veya varyantları olarak belirlenmiştir. Yine karşılaştırılan çalışmada virüs stresi bulaştırılan örnekte en çok ham okuma değerine sahip miRNA ve/veya varyantları **miR159**, **miR396**, **miR166** olurken tezde virüs stresi uygulanan örnekte benzer şekilde **miR159**, **miR166**, miR319 ve **miR396** en çok ham okuma değerine sahip miRNA ve/veya varyantları olarak belirlenmiştir.

Tezde virüs stresi uygulanan örnekte en çok ham ifade değerine sahip olan miR159'un (varyantları dahil) ifade artışı (**+14,2** kat) ile, karşılaştırılan çalışmadaki miR159'un bir varyantının ifade artışı (miR159a: +**19,28**) birbirine yakın olarak bulunmuştur. Tezde virüs stresi uygulanan örnekte en çok ifade artışına sahip miRNA olan miR319'un (varyantları dahil) karşılaştırılan çalışmada bulunan iki varyantı ise farklı ifade değişikliği (miR319: +2,04 / miR319b: -2,25) göstermektedir.

Hem *Beta corolliflora*'da hem de *Beta macrocarpa*'da en çok ifade artışına sahip olan bilinen olgun miRNA'lar (varyantları dahil) değerlendirildiğinde (*Beta macrocarpa; B.m*: varyantlarına göre en az kat artışı - en fazla kat artışı / *Beta corolliflora; B.c:* varyantları dahil kat artışı);

Beta corolliflora'da ifadesi en çok artan miRNA'lar karşılaştırıldığında; miR319 (*B.m*:2,04 / *B.c*: **72,2**), miR394 (*B.m*: 3,23 / *B.c*: **29,8**), miR164 (*B.m*: 9,30 / *B.c*: **22,74**), miR396 (*B.m*: 2,03-69,92 / *B.c*: **19,13**), miR398 (*B.m*: 2,03-2,93 / *B.c*: **18,54**) ve miR159 (*B.m*:

2,02-19,28 / *B.c*: **14,2**) olarak belirlenirken, *Beta macrocarpa*'da ifadesi en çok artan miRNA'lar karşılaştırıldığında; miR162 (*B.m*: 2,68-**161,65** / *B.c*: 2,85), miR168 (*B.m*: 4,86-**130,31** / *B.c*: 5,04), miR160 (*B.m*: 2,26-**103,41** / *B.c*: 6,65), miR396 (*B.m*: 2,03-**69,92** / *B.c*: 19,13), miR535 (*B.m*: 3,41-**56,08** / *B.c*: 13,12) ve miR403 (*B.m*: **41,48** / *B.c*: 8,02) olarak belirlenmiştir.

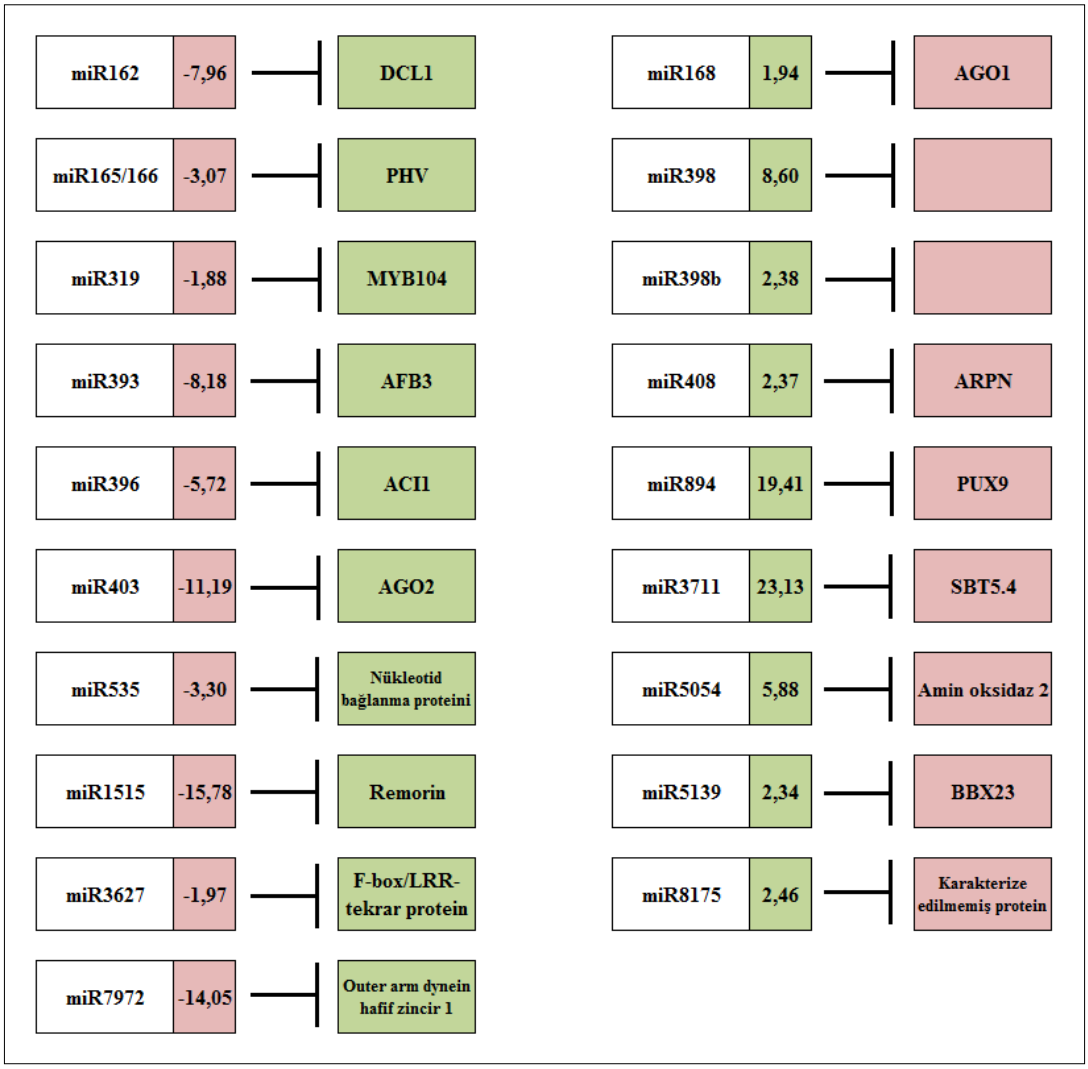
Karşılaştırılan çalışmada **ifadesi azalan** bilinen olgun miRNA'lar incelendiğinde ifade azalışlarının sınırlı olduğu, okuma sayıları ve ifade farklılıkları bakımından ise önemli sayılabilecek dört miRNA'nın öne çıktığı görülmektedir. miR169 (*B.m*: -2,34- (-27,28[19]) / *B.c*:-), miR2916 (*B.m*: -2,36) / *B.c*:-), miR2938 (*B.m*: -3,06 / *B.c*:-), miR319 (*B.m*: -2,25 / *B.c*:72,2). Ayrıca aynı miRNA'nın bazı varyantlarında ifade artışı gözlenirken bazılarında ifade azalışı gözlenmiştir (örnek: miR319: +2,04 / miR319b: -2,25).

Karşılaştırılan çalışmada kullanılan *Beta macrocarpa* türünün *Beta vulgaris* ile aynı seksiyonda yer alması, BNYVV stresinin *Beta macrocarpa* türünün yapraklarına uygulanmış olması, *Beta macrocarpa* türünün virüs stresi toleransı bakımından *Beta corolliflora*'dan farklı olabileceğinin göz önünde bulundurulması, karşılaştırılan çalışmadaki ifade profili ve farklı bitki türlerine uygulanan farklı virüs stresi koşullarında belirlenen miRNA'ların çoğunlukla ifade artışına (Çizelge 2.5.) sahip olması birlikte dikkate alındığında; tezde virüs stresi uygulanmış örnekte belirlenen tüm bilinen olgun miRNA'ların ifadelerinin artmış olmasının ve bazı miRNA'ların yüksek ifade değerine sahip olmasının normal kabul edilebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte tez çalışmasında öncelikli olarak kuraklık ve virüs stresi ile ilişkili miRNA profillerinin tanımlanması amaçlanmış olup bu miRNA'ların gerek ifade değişimlerinin değerlendirilmesi (tezde, potansiyel miRNA 1, miR5161, miR168, miR159 ve miR894 için yapılan RT-PZR çalışması gibi) gerekse fonksiyonlarının daha iyi aydınlatılması için ileriye yönelik olarak yapılacak çalışmalarda (miRNA dizilemesi dahil olmak üzere) biyolojik tekrarlı araştırmalar önerilmektedir.

[19] Karşılaştırılan çalışmada ilgili miRNA varyantının dizisi kontrol örneğinde 35, virüs stresi örneğinde sadece 1 kez okunmuştur. Normalizasyon sonrası ifade kat değişimi -27,28 olarak belirlenmiştir.

6.1.1.2. Kuraklık Stresine Yönelik Olarak Öne Çıkan miRNA'lar

Olgun miRNA'ların normalize edilmiş ifade seviyeleri ve hedef genleri dikkate alındığında kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde kontrol kök örneğine göre en çok ifadesi artan miRNA'lar (varyantlar dahil); **miR3711** (kat değişimi: 23,13), **miR894** (19,41), **miR398** (8,6), **miR5054** (5,88), **miR8175** (2,46), **miR398** (2,38), **miR408** (2,37), **miR5139** (2,67) ve **miR168** (1,94), en çok ifadesi azalan miRNA'lar (varyantlar dahil) ise; **miR319** (-1,88), **miR3627** (-1,97), **miR165/166** (-3,07), **miR535** (-3,3), **miR396** (-5,72), **miR162** (-7,96), **miR393** (-8,18), **miR403** (-11,19), **miR7972** (-14,05) ve **miR1515** (-15,78) olarak belirlenmiştir (Şekil 6.3.).



Şekil 6.3. Kuraklık stresi uygulanmış kök örneğinde tespit edilen miRNA'lar, miRNA-ifade kat değişimleri ve hedef genleri.

6.1.1.3. Virüs ve Kuraklık Stresine Yönelik Olarak Öne Çıkan miRNA'ların ve Hedef Genlerinin Değerlendirilmesi

Farklı bitki türleri ile yapılan çalışmalarda kuraklığa tolerans sağlanmasında rol alabileceği ve virüs stresinde ifadesinin değiştiği belirtilen **miR156/157**'nin, *SBP/SPL* genini hedeflediği belirtilmektedir (Çizelge 2.4.-2.5.). Kuraklık stresi koşullarında miR156'nın farklı şekilde ifade edildiği gösterilmiştir (141,318). Analiz bulgularına göre miR156/157'nin özellikle *SPL10* genini hedeflediği belirlenmiştir. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR156/157'nin ifade seviyesinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, virüs stresi uygulanmış örnekte ifadesi artmıştır. Vejetatif gelişim sırasında yaprak lamina şeklinin kontrolünde rol alan *SPL10*'un baskılanması, stres koşullarında yaprak morfolojisindeki değişimleri destekler niteliktedir.

mir159 ve **miR319**, MYB transkripsiyon faktörlerinin ifadesini düzenlerken, mir319'un TCP transkripsiyon faktörlerini de hedeflediği belirtilmektedir (Çizelge 2.4.). Yapılan araştırmalarda miR159 ve miR319 gen ailelerinin yakından ilişkili olduğu ve 21 nükleotitlerinin ortak olduğu açıklanmıştır (429). miR159 tarafından *MYB65*'in baskılanmasının hücre döngüsünü bloke ederek primer kök büyümesini olumsuz yönde etkilediği (295) ve miR319'un yaprak gelişiminin kontrolünde rol aldığı tespit edilmiştir (296). Analiz bulgularına göre kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR159'un ifade seviyesinde anlamlı bir değişiklik tespit edilemezken miR319'un ifade seviyesi düşük oranda azalmıştır. Buna göre bu miRNA'ların kuraklık toleransında önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Biyotik strese yönelik olarak yapılan miRNA çalışmalarında ise, miR159 ve miR319'un RKN (root knot nematod; kök ur nematodu)'ye karşı savunmada rol aldıkları belirtilmiştir (319,320). Birçok bitki türünde farklı virüs stresi uygulamalarında ifadesi artan, semptomlarla ilişkili bulunan ve antiviral savunmada rol aldığı belirtilen miR159 ve miR319 (Çizelge 2.5.), virüs stresi uygulanmış örnekte en çok ifade seviyesine sahip miRNA'lar arasında yer almaktadır ve her iki miRNA'nın ifade seviyesi de kontrole göre artış göstermiştir. Öyle ki, miRNA anotasyonuna göre virüs stresi uygulanmış örnekte eşleşme gösteren küçük RNA dizilerinin 1/3'ünü miR159 ve miR319 oluşturmaktadır. miR319 ifade seviyesi en çok artan (70 kattan fazla) miRNA olarak tespit edilirken, miR159'un *MYB101* transkripsiyon faktörünü, miR319'un ise *MYB104* transkripsiyon faktörünü baskıladığı belirlenmiştir. *MYB101*, ABA ve GA gibi hormon sinyal

yolaklarında rol alan, hücre farklılaşması ve yaprak morfolojisinin düzenlenmesinde de görevli önemli bir transkripsiyon faktörüdür. ABA tarafından aktive edilen sinyal yolağının ve programlı hücre ölümünün pozitif düzenleyicisi olarak hareket etmektedir. İfade seviyeleri dikkate alındığında virüs stresine karşı *Beta corolliflora* tarafından verilen yanıtta en önemli miRNA'lar olarak miR159 ve miR319 öne çıkmaktadırlar.

miR160 oksin yolağında strese yanıt veren genlerin ifadesini düzenleyen ARF transkripsiyon faktörlerini hedeflemektedir (Çizelge 2.4.). Analiz bulgularına göre miR160'nın *ARF17* transkripsiyon faktörünü hedeflediği belirlenmiştir. Kök gelişiminden sorumlu *ARF17*'nin kuraklık stresine tolerans ile ilişkilendirilmesine (Çizelge 2.4.) karşın kuraklık stresi uygulanmış örnekte anlamlı ifade değişikliği gözlenmemiştir. Farklı virüs streslerine karşı antiviral savunmada rol alan ve semptom gelişimi ile ilişkilendirilen miR160'ın (Çizelge 2.5.) ifade seviyesi virüs stresi uygulanmış örnekte artış göstermiştir. İfade artışı miR160'ın oksin sinyal yolağının ve kök gelişiminin düzenlenmesinde rol alabileceğini göstermektedir.

miRNA biyojenezinin ana bileşeni *DCL1* geni, kuraklık ve virüs stresine yanıtta rol almakta (Çizelge 2.4.-2.5.) ve **mir162** tarafından düzenlenmektedir. *DCL1* geninin ifade seviyesi olgun miRNA'nın meydana gelmesindeki rolü nedeniyle kritik önem taşımaktadır. Yüksek kuraklık stresine karşı miR162'nin ifade seviyesinin azaldığı belirtilmektedir (290). Analiz bulgularına göre kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR162'nin ifade seviyesi benzer şekilde azalmıştır. Çeşitli virüs streslerine karşı farklı ifade seviyeleri gösteren miR162'nin ifade seviyesi (Çizelge 2.5.), virüs stresi uygulanmış örnekte artış göstermiştir. *DCL1* geninin baskılanması, *Beta corolliflora*'nın miRNA biyogenez mekanizmasının virüs stresi tarafından olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir. Virüslerin ürettikleri proteinler ile miRNA biyogenez yolağını etkiledikleri göz önünde bulundurulduğunda, *DCL1* geninin baskılanmasını dolaylı olarak virüsün kendi savunma mekanizmasının sağladığı düşünülmektedir.

miR164'ün hedef geni NAC transkripsiyon faktörleri olarak belirtilmektedir (Çizelge 2.4.). Analiz bulgularına göre miR164'ün hedef geni NAC transkripsiyon faktörü ailesinin üyesi *CUC2* olarak tespit edilmiştir. *CUC2* geni yaprak morfolojisinden (yaprak tırtığı) sorumludur. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR164'ün ifadesinde anlamlı bir

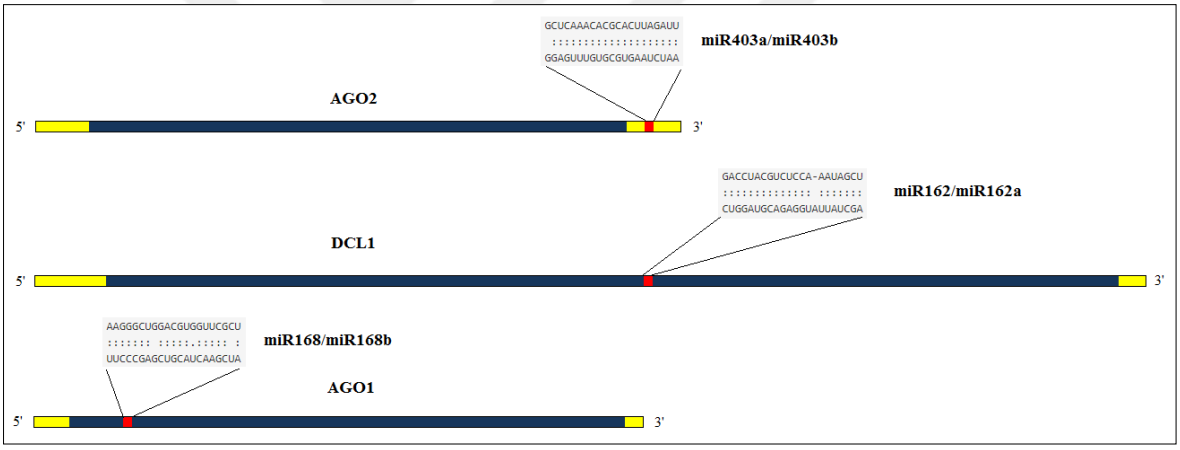
değişiklik olmamıştır. Semptomlarla ilişkili olduğu belirlenen ve virüs şiddeti arttıkça ifadesinde de artış gözlenen miR164 (Çizelge 2.5.), virüs stresi uygulanmış örnekte benzer şekilde ifade olmuştur. İfade artışı virüs stresinin yaprak morfolojisini etkilediğini göstermektedir.

HD-ZIP ailesi genleri, **miR165** ve **miR166** tarafından hedeflenmektedir (Çizelge 2.4.). miR166, bitkilerde çok çeşitli hücresel ve fizyolojik reaksiyonlarda görev alan ve yüksek oranda korunmuş bir miRNA ailesidir. Farklı bitki türlerinde, miR166'nın tohum, kök gelişimi ve iyon alımı dahil olmak üzere farklı hedeflere negatif yönde aracılık ettiği ve aynı zamanda çeşitli gelişimsel süreçlerin modülasyonunda yer aldığı açıklanmıştır (299,430,431). Yapılan çalışmalarda bu iki miRNA'nın kuraklık stresine yanıtta görev aldığı (141,312) ve miR166'nın virüs enfeksiyonuna karşı ifade seviyelerinin farklılık gösterdiğini (daha çok artış yönünde) belirtmektedir (Çizelge 2.5.). Analiz bulgularına göre miR165/166'nın yaprak morfolojisinin düzenlenmesinde rol alan *PHV* genini (HD-ZIP ailesi üyesi) (402) baskıladığı belirlenmiştir. miR165/166'nın kuraklık stresi uygulanmış örnekte ifade seviyesi azalırken, virüs stresi uygulanmış örnekte ifadesi artmıştır. Buna göre *Beta corolliflora*'da yaprak morfolojisi kuraklık ve virüs stresinden farklı şekilde etkilenmektedir.

miR167'nın kuraklık stresine yanıtta görev aldığı, oksin yolağında yer alan *IAR3* genini hedeflediği ve *IAR3*'ün kök gelişimde rol aldığı gösterilmiştir (432). Ayrıca miR167'nin patojen savunmasına yanıtta rol aldığı ve Doğal Makrofaj Protein (NRAMP) genlerini hedeflediği açıklanmıştır (433). Yapılan çalışmalar miR167'nin virüs enfeksiyonuna karşı ifade seviyelerinin farklılık gösterdiğini (daha çok artış yönünde) belirtmektedir (Çizelge 2.5.). Analiz bulgularına göre miR167, kuraklık stresi uygulanmış örnekte anlamlı ifade değişikliği göstermezken, virüs stresi uygulanmış örnekte ifadesi artmıştır. Hedef geni oksin yolağında çiçek gelişiminde rol alan transkripsiyon faktörlerinden *ARF8* olarak belirlenmiştir. Virüs stresinde miR160 tarafından *ARF17*'nin hedeflenmesi ve miR167 tarafından *ARF8*'in hedeflenmesi, strese yanıt veren genlerin ifadelerini göreceli azaltması nedeniyle virüs stresinin oksin yolağını ciddi şekilde etkilediğini göstermektedir.

miR168 ve **miR403**, RNA susturma mekanizmasında görev alan *AGO* genini hedef almaktadır (Çizelge 2.4.). miRNA'lar tarafından hedef mRNA'nın susturulmasında birlikte

görev aldıkları *AGO* geninin miR168 ve miR403 tarafından hedeflenmesi post transkripsiyonel gen düzenlenmesini doğrudan etkilemektedir. miR403 viral siRNA'yı hedefleyerek antiviral savunmada rol almakta ve bağışıklık sistemini düzenlemektedir (434) miR168 ve miR403'ün hedef analizlerinde miR168'in *AGO1* genini, miR403'ün ise *AGO2* genini baskıladığı tespit edilmiştir. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR168'in ifadesi seviyesi düşük derecede artarken, miR403'ün ifade seviyesi önemli derecede azalmıştır. Virüs stresi uygulanmış örnekte ise her ikisinin ifade seviyeleri de artmıştır. Kuraklık stresinde miR162 tarafından hedeflenen *DCL1* geninin ve miR403 tarafından hedeflenen *AGO2* geninin ifadelerinin göreceli artması, kuraklık stresine toleransta miRNA biyogenez mekanizmasının rol aldığını göstermektedir. Virüs stresinde *DCL1* geninin baskılanması gibi *AGO1* ve *AGO2* genlerinin ifadesinin de göreceli azalması, virüsler tarafından kodlanan RNA susturma mekanizmasını baskılayıcı proteinlerin *AGO* aktivitesini bozduğunu (352) gösterir niteliktedir.



Şekil 6.4. miR162, miR168 ve miR403'ün hedef genleri ve hedef bölgeleri.

miR171'in *SCL* (Scarecrow-like) genini hedeflediği ve *SCL* geninin kloroplast gelişimini baskıladığı gösterilmiştir (435). Analiz bulgularına göre miR171 *SCL6* genini hedef almaktadır. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR171'in ifade seviyesinde anlamlı değişiklik gözlenmemiştir. Virüs stresine karşı farklı ifade seviyelerine sahip olan (Çizelge 2.5.) miR171'in ifadesi virüs stresi uygulanmış örnekte artış göstermiştir.

Oksin yolağında yer alan *ARF* genleri, kodlanmayan RNA sınıfında yer alan *TAS3* (trans-acting siRNA3) tarafından baskılanmaktadır. Ancak *TAS3* geninin *ARF* genlerini baskılayabilmesi için siRNA'lar şeklinde parçalanması gerekmektedir. **miR390** ise *TAS3*

genini hedefleyerek bu genin siRNA'lara parçalanmasına öncülük eder (436). Hedef analizlerinde *Arabidopsis thaliana* cDNA dizileri kullanıldığı için kodlanmayan RNA hedefleri araştırılmamıştır. Bu nedenle sadece miR390 için *TAS3* genini (AT3G17185) hedefleyip hedeflemediği ayrıca araştırılmış ve miR390'nın *TAS3* genini hedeflediği belirlenmiştir (Ek 62). miR390'nın ifade seviyesinde kuraklık stresi uygulanmış örnekte anlamlı değişim gözlenmezken virüs stresi uygulanmış örnekte artış gözlenmesi virüs stresinin oksin yolağına etkisini göstermektedir.

Oksin sinyal yolağında oksin resptörü olarak görev alan *TIR1* geni, **miR393** tarafından hedeflenmektedir (Çizelge 2.4.). mir393'ün abiotik strese karşı yanıtta, *TIR1, AFB1, AFB2* ve *AFB3* genlerinin ifade seviyelerini etkilediği gösterilmiştir (437). Analiz bulgularına göre oksin reseptörü *AFB3*, miR393 tarafından hedeflenmektedir. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR393'ün ifade seviyesi azalmıştır. Kuraklık stresinde lateral dallanmanın baskılanması stres toleransı sağlanmasında önemlidir ancak analiz bulgularına göre *AFB3*'ün ifadesinin göreceli olarak artması bu durumu desteklememektedir. Virüs stresine karşı antiviral savunmada rol aldığı ve ifadesinin arttığı gösterilen miR393 (Çizelge 2.5.), virüs stresi uygulanmış örnekte benzer şekilde ifade olmuştur.

miR394 virüs stresi uygulanmış örnekte ifade seviyesi en çok artan miRNA'lar arasında yer almaktadır ve antiviral savunmada rol alabileceği önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Çizelge 2.5.). Kuraklık stresi uygulanmış örnekte ise anlamlı ifade değişimi tespit edilememiştir. Analize bulgularına göre hedef gen olarak yaprak damar dokusunun şekillenmesinde ve oksin yolağında rol alan *LCR* (leaf curling responsiveness) geni belirlenmiştir. miR394'ün, BNYVV virüsünün nekrotik sarı damar semptomları ile ilişkilendirildiğinde, virüs stresinde en çok ifade artışına sahip miRNA'lar arasında yer alması ve yaprak damar dokusunun şekillenmesinde görev alan geni hedeflemesi bakımından antiviral savunmada rol alabileceği gözlenmiştir.

miR396'nın *GRF* genlerini hedef alarak, abiyotik stres ve patojen enfeksiyonuna yanıtta rol oynadığı gösterilmiştir (328,438). Kuraklık stresinde miR396 aracılı *GRF* düzenlemesinin, bitkilerin düşük su kullanılabilirliğini etkilediği (309,310) ve ifade seviyesinin düşük su potansiyeline karşı artış gösterdiği açıklanmıştır (439). Ayrıca miR396'nın ifade artışının reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini azalttığı belirtilmektedir (440). Analiz

bulgularına göre miR396'nın özellikle bitki damar sisteminde ifade edilen *ACI1* genini hedeflediği tespit edilmiştir. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR396'nın ifade seviyesi azalmıştır. Virüs stresine karşı semptom gelişimi ile ilişkilendirilen miR396 (Çizelge 2.5.), virüs stresi uygulanmış örnekte ifade artışı göstermiştir.

Virüs stresi ile ifadesi farklılık gösteren **miR397** ve **miR399**'un (Çizelge 2.5.) hedef genleri *LAC2* ve *UBC24* olarak belirlenmiş ancak kontrol örneğinde ifade göstermedikleri için ifade farklılığı ölçülememiştir.

Bitkide strese yanıtta, CSD (Cu/Zn süperoksit dismutaz) genleri, süperoksit anyonunu az toksik olan hidrojen peroksite dönüştürmekte ve böylece bitkiyi süperoksit serbest radikallerden korumaktadır. Bu reaksiyon ROS detoksifikasyonu mekanizmasının temel basamağını oluşturmaktadır (130). **miR398** ise bu genleri hedef almaktadır (Çizelge 2.4.). Biyotik strese karşı miR398'in *CSD1* genini hedefleyerek patojen direncini geliştirdiği (131) ve kuraklık stresinde *COX5b* genini baskılayarak strese yanıtında etkin rol aldığı açıklanmıştır (441). Hedef analizlerinde miR398'in anlamlı bir hedef geni belirlenememesine rağmen hem kuraklık hemde virüs stresi uygulanmış örneklerde ifade seviyesi artmıştır.

miR535'in dizisi ile miR156'nın dizisinin oldukça benzer olduğu (442) ve *SPL* genini hedeflediği belirtilmesine (Çizelge 2.4.) karşın analiz bulgularına göre miR535'in muhtemelen alternatif splayzdan sorumlu nükleotit bağlanma proteinini hedeflediği belirlenmiştir. Kuraklık stresi uygulanmış örnekte miR535'in ifade seviyesi azalırken virüs stresi uygulanmış örnekte ifadesinin arttığı görülmektedir. Virüs enfeksiyonunun bağışıklıkla ilgili genleri alternatif splayza yönelttiği belirtilmektedir (443). Kodlanmayan RNA analizinde virüs stresi uygulanmış örnekte alternatif splayzdan sorumlu snRNA oranının kontrol ve kuraklık stresi uygulanmış örneklere göre çok yüksek olması ve miR535'in ifadesinin virüs stresinde artmış olması aralarında bir ilişki olabileceğini göstermektedir.

Hedef analizlerinde **miR5181**'in BR sinyal yolağında transmembran reseptör *BRI1* ile etkileşim halinde olan *BAK1* genini (112) baskıladığı belirlenmiştir. *BAK1* bitki gelişiminde pozitif düzenleyici olarak rol almaktadır (444). Virüs stresi uygulanmış

örnekte miR5181'in ifadesinin artması bitki gelişiminin olumsuz yönde etkilenebileceğini göstermektedir.

Daha az bilinen miRNA'ların hedef analizlerinde; **miR408, miR5054, miR5083** ve **miR5139**'un iyon bağlanma proteinlerini (ARPN, amin oksidaz 2, metal iyon bağlanma proteini, *BBX23*), **miR6478, miR827** ve **miR894**'ün ubikitin yolağı ile ilişkili genleri (*UFD1, BAH1, PUX9*), **miR7972**'nin protein kinaz bağlanma proteinini (Outer arm dynein hafif zincir 1), **miR6300** ve **miR1436**'nın sinyal iletimi ile ilişkili genleri (Sistein-Histidin zengin C1 domain, *CIPK17*), **miR1118**'in antioksidan savunmada rol alan genleri (*PER33*), **miR1128**'in hücre duvarı yapısı ve sinsitum şeklinden sorumlu genleri (*EXPB3*), **miR3711**'in serin proteaz (*SBT5.4*) genini hedefledikleri belirlenmiştir. Bu miRNA'lardan virüs stresi uygulanmış örnekte ifade edilenlerin tamamının ifade seviyeleri artış gösterirken, kuraklık stresi uygulanmış örnekte ifade edilenlerin farklı ifade seviyelerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6.1., Şekil 6.3.).

6.1.2. YOLAKLARLA İLİŞKİLİ TESPİT EDİLEN miRNA'LAR

Yolak analizlerinin gerçekleştirildiği KEGG veritabanı, yapılan moleküler çalışmalarda birbirleriyle ilişkileri gösterilmiş genlere dayanarak oluşturulan yolakları içermektedir. KEGG-KAAS modülünde ortolojiye dayalı olarak yapılan yolak analizi; sorgulanan gen ile veritabanında belirlenmiş yolaklarda yer alan genleri fonksiyonel olarak karşılaştırarak ilgili yolakların tespit edilmesini sağlamaktadır (411). Bu yolaklarda yer alan genler ile bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin hedef geni olarak belirlenen *Arabidopsis thaliana* cDNA dizileri ortolojik olarak karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda bitkiler için önemli yolaklardan bitki hormon sinyal yolağı ve nişasta sükroz yolağının virüs stresi uygulanmış örnekte tespit edilen miRNA'ların bazı varyantları tarafından hedeflendiği belirlenmiştir. Ancak bu varyantların ifade değerleri düşüktür. Bu durum hedef analizlerinde en uygun bir hedef genin seçilmesinden kaynaklanmaktadır. Yolaklarda ortolojik olarak hedef genlere sahip miRNA'ların diğer varyantlarının daha uygun hedef genleri bu yolaklarda yer alan genler ile ortolojik benzerlik taşımıyor olabilir. Bu nedenle tartışmada bu miRNA'ların ifade değerlerinin önemi azalmaktadır. Etkilenen önemli yolaklar arasında; endositoz, ribozom, splayzozom, viral karsiyogenez, RNA taşıma, bitki hormon sinyal iletimi, termogenesis, hücre döngüsü, mRNA izleme, protein

işlenmesi, transkripsiyon faktörleri (Ek 41-53) ve nişasta sükroz metabolizma yolağı (Şekil 6.9.) yer almaktadır.

Özellikle bitki büyüme ve gelişmesi ile ilgili bitki hormon sinyal yolaklarına bakıldığında ABA, oksin, giberillin, sitokinin, etilen ve brassinosteroid hormon yolaklarında yer alan genlerin (Çizelge 6.1., Şekil 6.5.- 6.8.) hedeflendiği görülmektedir.

6.1.2.1. Bitki Hormon Yolakları

Bitki hormon sinyal yolağında belirlenen hedeflenen genler ve hedefleyen miRNA'lar Çizelge 6.1.'de verilmiştir.

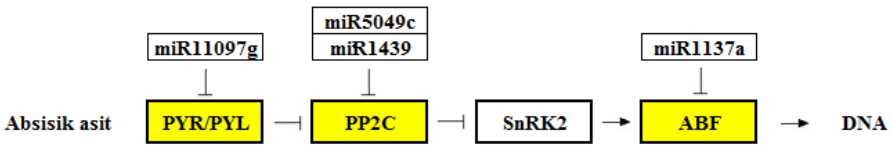
Çizelge 6.1. Bitki hormon sinyal yolağında hedeflenen genler ve hedefleyen miRNA'lar.

miRNA dizisi	**miRNA**	**Orjinal (ham) ifade değeri (VR-sRNA)**	**Hedef gen ID (*Arabidopsis thaliana*)**	**Ortoloji analizine göre yolaklarda hedeflenen genler**
TTGACGGAATTGAATTGGATC	miR11097g	10	AT2G26040.1	ko:K14496 *PYL*; abscisic acid receptor PYR/PYL family
ATACTCCCTTCGTCCCTTATTAGA	miR1120	13	AT4G03400.2	ko:K14487 *GH3*; auxin responsive GH3 gene family
ATACTCCCTCCGTCCCTTAT	miR1120	8	AT4G03400.2	ko:K14487 *GH3*; auxin responsive GH3 gene family
ATATACTCCCTCCGTCCCTTATT	miR1120	5	AT4G03400.2	ko:K14487 *GH3*; auxin responsive GH3 gene family
AAAAAATACTCCCTCCGTCCCTA	miR1120	5	AT4G03400.2	ko:K14487 *GH3*; auxin responsive GH3 gene family
AATACTCCCTCCGTCCTTTATTAG	miR1120	5	AT4G03400.2	ko:K14487 *GH3*; auxin responsive GH3 gene family
GAACGGAGGAAGTAGTAGTCATA	miR1137a	5	AT1G49720.1	ko:K14432 *ABF*; ABA responsive element binding factor
ATGAGTTACTCCCTCCGTCCCATA	miR1436	6	AT2G25180.1	ko:K14491 *ARR-B*; two-component response regulator ARR-B family
AATACTACCTCCGTCCCAAAATAT	miR1439	5	AT3G11410.1	ko:K14497 *PP2C*; protein phosphatase 2C [EC:3.1.3.16]
ATGGGACGGAGGGAGTAGTACACT	miR1442	5	AT1G01740.3	ko:K14500 BSK; BR-signaling kinase [EC:2.7.11.1]
TCTGGATTGAAGGGAGCTCTA	miR159	42	AT1G04240.1	ko:K14484 IAA; auxin-responsive protein IAA
TTTGAATTGAAGGGAGCTCTA	miR159	12	AT1G04240.1	ko:K14484 IAA; auxin-responsive protein IAA
TCGGACCAGGCTTCATTTTTCT	miR166a//miR166d	76	AT3G15540.1	ko:K14484 IAA; auxin-responsive protein IAA
TCATCTAATTAGTGACG	miR2602b//miR2585c	12	AT4G38825.1	ko:K14488 SAUR; SAUR family protein
ATTCAAGCGAAAAAGGGAGCT	miR319b	5	AT5G46570.1	ko:K14500 BSK; BR-signaling kinase [EC:2.7.11.1]
TCCAAAGGGATCGCATTGATTTTA	miR393a//miR393b	21	AT3G62980.1	ko:K14485 *TIR1*; transport inhibitor response 1
TCCAAAGGGATCGCATTGACT	miR393a//miR393b	10	AT3G62980.1	ko:K14485 *TIR1*; transport inhibitor response 1
ATAATACTCCCTTCGTCCCAAAAT	miR5049c	8	AT1G72770.3	ko:K14497 *PP2C*; protein phosphatase 2C [EC:3.1.3.16]
ACTTATTTTGGAACGGAGGAAGT	miR5181	8	AT1G67710.2	ko:K14491 *ARR-B*; two-component response regulator ARR-B family
CTTATTTTGGAACGGAGGAAGT	miR5181	7	AT1G67710.2	ko:K14491 *ARR-B*; two-component response regulator ARR-B family

Çizelge 6.1. (devamı)

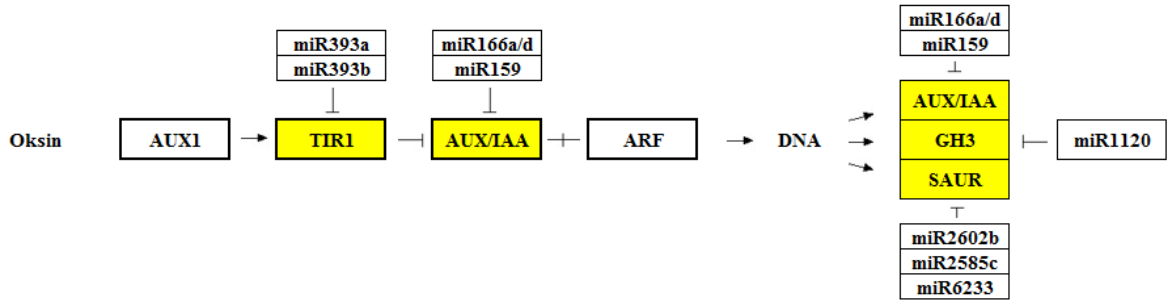
miRNA dizisi	**miRNA**	**Orjinal (ham) ifade değeri (VR-sRNA)**	**Hedef gen ID (*Arabidopsis thaliana*)**	**Ortoloji analizine göre yolaklarda hedeflenen genler**
AGAGCCTTGGTGAAGATGTCGGCC	miR6233	26	AT5G50760.1	ko:K14488 SAUR; SAUR family protein
GAAGAAGAAGGAGCATG	miR6426a//miR 6426b	5	AT2G01570.1	ko:K14494 DELLA; DELLA protein
CTTCCATTTGTACTGTT	miR7502d	5	AT5G07210.2	ko:K14491 *ARR-B*; two-component response regulator ARR-B family
CGAACCCTAAACCCTAAACCC	miR8005c	7	AT1G63500.1	ko:K14500 *BSK*; BR-signaling kinase [EC:2.7.11.1]
TAAGTATTCCCGCCTGTCACGC	miR8175	22	AT3G04580.2	ko:K14509 *ETR, ERS*; ethylene receptor [EC:2.7.13.-]
GTAAGTATTCCCGCCTGTCACGC	miR8175	16	AT3G04580.2	ko:K14509 *ETR, ERS*; ethylene receptor [EC:2.7.13.-]
GGTAAGTATTCCCGCCTGTCACGC	miR8175	9	AT3G04580.2	ko:K14509 *ETR, ERS*; ethylene receptor [EC:2.7.13.-]
ATGGGACGGAGGGAGTAGTAGATT	miR818d	8	AT1G01740.3	ko:K14500 *BSK*; BR-signaling kinase [EC:2.7.11.1]
AAACCATAAACCCTAAACCCT	miR8674b	7	AT1G63500.1	ko:K14500 *BSK*; BR-signaling kinase [EC:2.7.11.1]
AAACCGTAAACCCTAAACCCT	miR8674b	6	AT1G63500.1	ko:K14500 *BSK*; BR-signaling kinase [EC:2.7.11.1]

ABA yolağı; ABA yanıtında rol alan *ABF* transkripsiyon faktörlerinin, özellikle genç yaprakların trikomlarında, kotiledonlarda, köklerde, yaşlı yapraklarda ve çiçeklerde ifade olduğu ve ifade seviyesinin ABA, soğuk ve sıcak stresi ile uyarıldığı belirtilmektedir (56). Analiz bulgularına göre **miR1137a,** *ABF* transkripsiyon faktörlerini hedeflemektedir. *ABF*'yi fosforile eden *SnRK2* geninin aktivitesini baskılayarak ABA sinyal yolağını engelleyen *PP2C*, **miR5049c** ve **miR1439** tarafından hedeflenmekte iken *PP2C*'nin inhibisyonunu sağlayarak *SnRK2*'nin baskılanmasına engel olan ve ABA sinyal yolağını harekete geçiren ABA reseptörleri *PYR/PYL*, **miR11097g** tarafından hedeflenmektedir (68–72) (Şekil 6.5.).



Şekil 6.5. ABA sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar.

Oksin yolağı; yapılan çalışmalarda oksin yolağında yer alan oksin reseptörü *TIR1* geninin miR393 tarafından hedeflendiği gösterilmiştir (437). Hedef analizlerinde benzer şekilde **miR393a** ve **miR393b**'nin *TIR1* genini hedeflediği tespit edilmiştir. Çeşitli bitki türlerinde erken oksin yanıtında rol alan üç temel gen sınıfı *Aux/IAA, SAUR* ve *GH3* genleri olarak tanımlanmıştır (445). Analiz bulgularına göre **miR166a/d** ve **miR159** *Aux/AAA* genlerini hedeflerken, **miR1120** *GH3* genlerini, **miR2602b**, **miR6233** ve **miR2585c** ise *SAUR* genlerini hedeflemektedir (Şekil 6.6.).



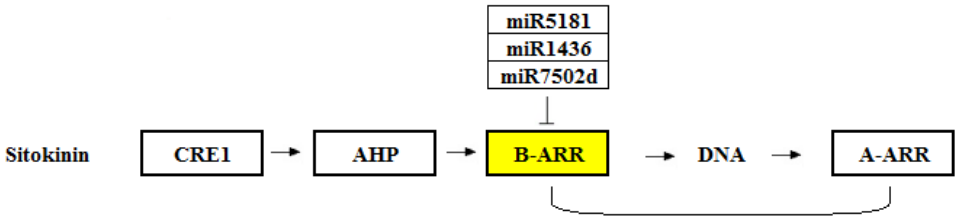
Şekil 6.6. Oksin sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar.

GA yolağı; GA, reseptörü *GID1* tarafından tanınmakta (446), GA ile *GID1*'in bağlanması ile GA-GID1-DELLA kompleksinin oluşması sağlanmakta ve sonunda DELLA proteinleri 26S proteazomlar tarafından degredasyona uğramaktadır (447,448). Analiz bulgularına göre DELLA genini baskılayan tek bir miRNA (**miR6426a/b**) tespit edilmiştir (Şekil 6.7.).



Şekil 6.7. Giberillin sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar

Sitokinin yolağı; analiz bulgularına göre sitokinin yolağında transkripsiyonel düzenleyiciler olarak görev yapan *B-ARR* genleri (449) **miR5181, miR1436 ve miR7502d** tarafından hedeflenmektedir (Şekil 6.8.).



Şekil 6.8. Sitokinin sinyal yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar.

Etilen yolağı; *Arabidopsis thaliana*'da etilen, *ETR1, ERS1, ETR2, ERS2* ve *EIN4'*ten oluşan beş üyeli bir reseptör ailesi tarafından algılanmaktadır (450,451). Filogenetik analizlere ve bazı ortak yapısal özelliklere göre bu etilen reseptörleri, iki alt aileye sahiptir. 1. alt ailede *ETR1* ve *ERS1*, 2. alt ailede ise *ETR2*, *ERS2* ve *EIN4* yer almaktadır. Yapılan analizler, bu reseptörler arasında fonksiyonel benzerlikler olduğunu göstermekle birlikte 1. alt aile reseptörlerinin genellikle etilen sinyal yolağında baskın bir rol oynadığını göstermektedir (452). Analiz bulgularına göre etilen sinyali reseptörleri ile ilişkili olarak sadece tek bir miRNA (**miR8175**) *ETR* genini hedeflemektedir.

Brassinosteroid yolağı; brassinosteroidin algılanmasında görev alarak sinyal iletim yolağının aktivasyonunu sağlayan hücre membran reseptörü *BRI1* (BR insensitive 1)'e sinyal iletiminde aracılık eden *BSK* (BR signaling kinases) geni (112) analiz bulgularına göre beş farklı miRNA tarafından hedeflenmektedir. Bu miRNA'lar **miR818d, miR8005c, miR8674b, miR319b, miR1442** olarak belirlenmiştir.

Larson ve arkadaşları (2008) tarafından yapılan proteomik çalışmada BNYVV virüsünün ABA ve oksin yolağını uyardığı gösterilmiştir (453). ABA ve oksin sinyal yolakları gibi kök gelişimi ile ilgili yolakların BNYVV tarafından uyarılması, bunun hastalık semptomları (saçaklı kök) ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Analiz bulgularına göre bu yolaklarda yer alan genlerin baskılanması ise semptom gelişiminin engellendiğini düşündürmektedir.

Tez sonuçlarına göre bitki hormon yolaklarınında belirlenen miRNA'lar bu yolakların stres yanıt mekanizmasında oynadıkları rolün anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

6.1.2.2. Nişasta ve Sükroz Metabolizma Yolağı

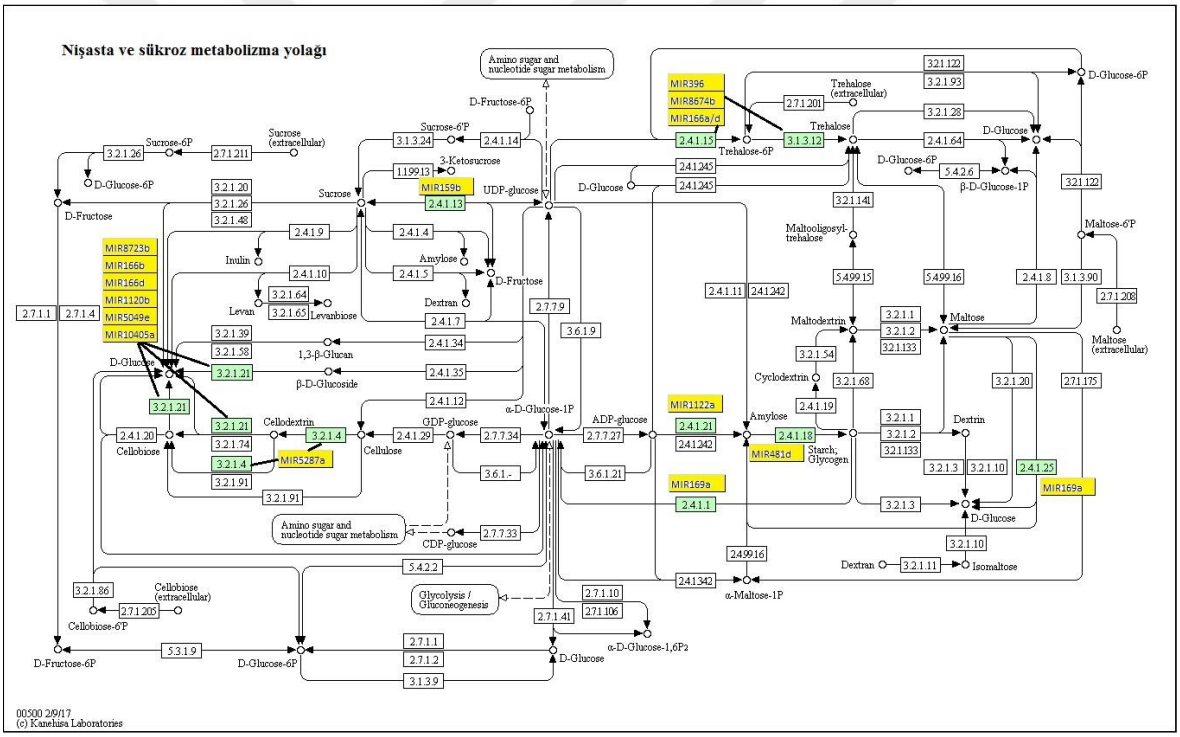
Diğer önemli yolaklardan nişasta ve sükroz metabolizma yolağında yer alan bazı genlerin hedeflendiği görülmektedir (Çizelge 6.2.).

Çizelge 6.2. Virüs stresi uygulanmış örnekte nişasta ve sükroz metabolizma yolağında hedeflenen genler ve hedefleyen miRNA'lar.

miRNA dizisi	**miRNA**	**Orjinal (ham) ifade değeri (VR-RNA)**	**Hedef gen ID (*Arabidopsis thaliana*)**	**Ortoloji analizine göre yolaklarda hedeflenen genler**
TAAAAAGAAAAGGAGGGAGT	miR10405a	5	AT3G60140.2	ko:K01188 E3.2.1.21; beta-glucosidase [EC:3.2.1.21]
AACATACTCCCTCTGTCCCAAAAT	miR1120b	6	AT2G44490.1	ko:K01188 E3.2.1.21; beta-glucosidase [EC:3.2.1.21]
TTGGGACGGAGGGAGTATAAATC	miR1122a	6	AT4G18240.1	ko:K00703 glgA; starch synthase [EC:2.4.1.21]
TTTCTTTTCTATTCTTGGACT	miR159b	7	AT5G49190.3	ko:K00695 E2.4.1.13; sucrose synthase [EC:2.4.1.13]
CTCGGACCAGGCTTAATTCCCC	miR166a//miR166d	5	AT1G68020.1	ko:K16055 TPS; trehalose 6-phosphate synthase/phosphatase [EC:2.4.1.15 3.1.3.12]
TTGTGATGATTCTGATGATGA	miR166b	15	AT2G44480.3	ko:K01188 E3.2.1.21; beta-glucosidase [EC:3.2.1.21]
GGAATGTTGTTTGGCTCG	miR166d	14	AT1G26560.1	ko:K01188 E3.2.1.21; beta-glucosidase [EC:3.2.1.21]
CGGCAAGTTGTCCTTGGCTAC	miR169a	100	AT2G40840.1	ko:K00705 malQ; 4-alpha-glucanotransferase [EC:2.4.1.25]
TTCCACAGCTTTCTTGCACTG	miR396	7	AT1G60140.6	ko:K16055 TPS; trehalose 6-phosphate synthase/phosphatase [EC:2.4.1.15 3.1.3.12]
GGCTCTAATACCATGTCAAAGGAT	miR481d	5	AT3G20440.3	ko:K00700 GBE1; 1,4-alpha-glucan branching enzyme [EC:2.4.1.18]
AACATACTCCCTCTGTCCCTAAAT	miR5049e	6	AT2G44490.1	ko:K01188 E3.2.1.21; beta-glucosidase [EC:3.2.1.21]
ATATACTCCCTCCGGTCTTTATT	miR5287a	57	AT1G70710.1	ko:K01179 E3.2.1.4; endoglucanase [EC:3.2.1.4]
ATACTCCCTCCGGTCTTTATT	miR5287a	30	AT1G70710.1	ko:K01179 E3.2.1.4; endoglucanase [EC:3.2.1.4]
ATATACTCCCTCCGGTCTTTAT	miR5287a	10	AT1G70710.1	ko:K01179 E3.2.1.4; endoglucanase [EC:3.2.1.4]
ATATACTCCCTCCGGTCTTTA	miR5287a	9	AT1G70710.1	ko:K01179 E3.2.1.4; endoglucanase [EC:3.2.1.4]
ATATACTCCCTCCGGTCTTTATTA	miR5287a	8	AT1G70710.1	ko:K01179 E3.2.1.4; endoglucanase [EC:3.2.1.4]
CAAAACCCTGAACCCTAAACC	miR8674b	5	AT1G70290.2	ko:K16055 TPS; trehalose 6-phosphate synthase/phosphatase [EC:2.4.1.15 3.1.3.12]
TAGTGGAAAGCTGATGTGGCAC	miR8723b	51	AT2G44460.1	ko:K01188 E3.2.1.21; beta-glucosidase [EC:3.2.1.21]

Bitkilerde fotosentez reaksiyonunun temel ürünü olan nişasta ve sükroz farklı dokularda yüksek miktarlarda depo edilmektedir (454). Kuraklık (455), tuz (456) ve düşük sıcaklık (457) gibi abiyotik strese karşı yanıtta, birçok farklı bitki dokusunda sükroz birikmekte ve osmotik düzenlemede görev almaktadır (458).

Nişasta biyosentezinde, dört temel enzim rol almaktadır. Bu enzimler; ADP-glikoz pirofosforilazlar, nişasta sentazlar, nişasta dallanma enzimleri ve nişasta dallarını kıran enzimlerdir. Analiz bulgularına göre **miR8723b, miR5049e, miR166d, miR166b, miR1120b** ve **miR10405a** beta-glukozidaz, **miR1122a** nişasta sentaz, **miR166a/d, miR396** ve **miR8674b** trehaloz 6-fostat sentaz, **miR159b** sükroz sentaz, **miR169a** 4-alfa glukanotransferaz, **miR5287a** endoglukanaz ve **miR481d** 1-4-alfa glukan dallanma enzimini hedeflemektedir (Şekil 6.9.).



Şekil 6.9. Nişasta ve sükroz metabolizma yolağında (73) hedef genler ve hedefleyen miRNA'lar.

Ancak bu yolakla ilgili miRNA'ların belirlenmesine yönelik çalışmalar sayıca azdır. Çeltikte yapılan çalışmada miR45-5p'nin sukroz-fosfat sentaz genini, miR1436 ve miR1862'nin ise nişasta sentaz genini hedeflediği gösterilmiştir (459). Çeltikte yapılan başka bir çalışmada ise miR159'un nişasta akümülasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir

(460). Tez sonuçlarına göre belirlenen miRNA'ların nişasta-sükroz yolağı ile ilişkili çalışmalara katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

6.1.3. POTANSİYEL miRNA ADAYLARI

Son zamanlarda miRNA konusunda yapılan çalışmaların artması yeni miRNA belirleme olasılığını azaltmaktadır. *Beta corolliflora*'ya ait genom bilgisi bulunmaması da yeni miRNA belirlenmesinde dezavantajlı bir durum yaratmaktadır. Çok sayıda belirlenen bilinen miRNA dışında 6 potansiyel miRNA adayı belirlenmiş ancak bu adayların ifade seviyelerinin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Potansiyel 6 miRNA adayından 5 tanesinin hedef geni *NBR1, HOT5, GLYI7, SDN2* ve potasyum taşıyıcı olarak belirlenmiştir (Çizelge 6.3.)

Çizelge 6.3. Potansiyel miRNA adayları, hedef genleri ve ifade değerleri.

Potansiyel miRNA dizisi	Hedef Gen ID	Orjinal (ham) ifade değeri			Hedef gen	Biyolojik proses	Moleküler fonksiyon
		KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA			
AAACAGAATACACGTCGCGACCCG	-	68		63	-	-	-
AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	AT5G43940.2		43		HOT5	Hücre ölümü, tohum gelişimi	Dehidrogenaz
ATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGT	AT1G80160.3		6		GLYI7		Liyaz
ATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGC	AT4G24690.1		7		NBR1	Otofaji	Ubikitin bağlanma, protein bağlanma
GACCGAGCGCGGACTAG	AT5G05540.1			6	SDN2		Ekzonükleaz, nükleik asit bağlanma
GTAGGTGCACACGTTCGTATGGTG	AT3G56290.1			5	Potasyum Taşıyıcı	Transkripsiyon düzenleyici	

Beta corolliflora'da belirlenen potansiyel miRNA adayları fonksiyonel çalışmalar için dayanak oluşturacaktır.

6.2. SONUÇ

Yabani pancar *Beta corolliflora*'ya uygulanan kuraklık ve virüs stresi sonucunda miRNA profilinin değiştiği, miRNA ifade seviyelerinin, kuraklık stresinden kısmen etkilenmesine karşın virüs stresinden ciddi şekilde etkilendiği tespit edilmiştir. Kültür pancarına göre kuraklığı daha dayanıklı olan *Beta corolliflora*'nın, kuraklık stresinde miRNA profilinin kısmen etkilenmesi, kuraklık stresine karşı toleransın RNA susturma mekanizmasından daha çok farklı mekanizmalar ile sağlandığını düşündürmektedir. Ancak virüs stresine karşı, belirlenen miRNA'ların sayısı ve hedef genleri dikkate alındığında, antiviral dirençte RNA susturma mekanizmasının önemli rol aldığı görülmektedir. Ayrıca virüs stresi uygulanmış örnekte BNYVV virüsene ait RNA dizilerinin elde edilen küçük RNA ve miRNA dizilerine oranla nispeten az sayıda bulunması, *Beta corolliflora*'nın güçlü antiviral direnç mekanizmasına sahip olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Analiz bulgularına göre virüs stresi uygulanmış *Beta corolliflora* örneğinde gelişen miRNA profili hedef gen ilişkileri bakımından; I) bitki hormon yolaklarında yer alan genlerin (*MYB101*; ABA sinyal yolağı, *ABF3-ARF8-ARF17-TAS3*; oksin sinyal yolağı, *BAK1*; brassinosteroid sinyal yolağı) hedeflenmesi, II) miRNA biyogenezinden sorumlu genlerin (*DCL1*; pri-pre miRNA işlenmesi, *AGO1-AGO2*; RISC kompleksi ile hedef mRNA'nın baskılanması) hedeflenmesi, III) yaprak morfolojisinin gelişmesinde/ değişmesinde rol alan genlerin (*SPL10*; yaprak lamina şekli, *CUC2*; yaprak tırtığı, *PHV*; yaprak morfolojisi, *LCR*; yaprak damar dokusu ve *ACI1*; damar sistemi) hedeflenmesi ve IV) bir çoğu korunmamış miRNA sınıfında yer alan ve farklı fonksiyonlara sahip genlerin hedeflenmesi olarak sınıflandırılabilir.

Özellikle miR159 ve miR359'un orjinal (ham) ifade değerleri ve kontrol örneğine göre ifade kat değişimleri dikkate alındığında, bu miRNA'lar tarafından transkripsiyon faktörleri *MYB101* ve *MYB104*'ün baskılanmasının antiviral savunmada önemli rol aldığı söylenebilir. Kök gelişimi ile ilgili hormon yolaklarındaki genlerin miRNA'lar tarafından hedeflenmesi, rizomanyanın sebep olduğu kök saçaklanmasına karşı geliştirilen antiviral savunmanın bir parçası olabilir. Yaprak morfolojisi ile ilgili önemli genlerin hedefleniyor olması ise bu miRNA'ların rizomanyanın sebep olduğu sarı damar semptomları ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Bunun yanında virüs stresinin miRNA biyogenez yolağına

önemli etkisi olduğu görülmektedir. Bu etki antiviral savunmada bitki tarafından geliştirilen yanıtla ilgili olabileceği gibi, bu antiviral savunmaya karşı virüs tarafından geliştirilen savunma ile de bağlantılı olabilir.

Kuraklık stresi uygulanmış örnekte, korunmuş miRNA'ların çoğunun ifadesi kontrol örneğine göre azalmıştır. İfade farklılığı gösteren önemli miRNA'ların hedef genleri dikkate alındığında miRNA biyogenezinde rol alan *DCL1* ve *AGO2*, oksin yolağı reseptörü *AFB3* ve yaprak morfolojisinden sorumlu *PHV* ve *ACI1* genleri ön plana çıkmaktadır. Buna göre *Beta corolliflora'*da kuraklık stresine karşı geliştirilen miRNA profilinde sınırlı değişiklik olduğu görülmektedir.

Kuraklık stresine karşı yanıtta rol alan bitki hormon yolaklarında, oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmalarında görev alan genlerin ifadelerinde önemli sayılabilecek bir değişiklik tespit edilememiştir. Ayrıca kuraklık stresi ile ilişkilendirilmiş *LEA* ve *DHN* gibi önemli gen ailelerini hedefleyen miRNA tespit edilememiştir. Bu genlerin miRNA'lar tarafından baskılanmıyor olmasının da stres toleransına katkı sağladığı varsayılabilir.

Bitki miRNA veritabanlarında yer alan önemli ve korunmuş miRNA'lar, *Beta corolliflora*'da da yoğun olarak tespit edilmiştir. Bu durum, miRNA ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunluğunun kültür türlerini kapsadığı düşünüldüğünde, yabani türlerde de bu korunmuşluğun gösterilmesi açısından önemli bir sonuçtur. *Beta corolliflora*'da tespit edilen bilinen miRNA'lardan bir kısmının hedef genleri olmasına rağmen *Beta vulgaris* genomuna haritalanamamış olmasının ayrıca değerlendirilmesi gerekmektedir.

Virüs enfeksiyonu, R proteinleri, protein kinazlar, transkrispsiyon faktörler ve splayz faktörler gibi bağışıklıkla ilgili genlerin alternatif splayza uğradıklarını göstermektedir (443). Virüs stresi uygulanmış örnekte, kodlanmayan RNA'lar içinde snRNA oranının yüksekliği ve hedef analizinde belirlenen splayz ile ilişkili genin ifadesinin göreceli bastırılması, virüs stresi ile alternatif splayz mekanizması arasındaki ilişkinin araştırılması gerektiğini ortaya çıkarmaktadır.

Tez sonuçlarına göre, kültür türleri ile yakın akraba olan yabani türlerin sahip oldukları dayanıklılığın kültür türlerine aktarılması durumunda stres toleransının artacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Asher MJC. Rhizomania. In: Cook D, Scott R, editors. The Sugar Beet Crop. London: Chapman and Hall; 1993. p. 311–46.

2. Pidgeon JD, Werker AR, Jaggard KW, Richter GM, Lister DH, Jones PD. Climatic impact on the productivity of sugar beet in Europe, 1961-1995. Agric For Meteorol. 2001;109:27–37.

3. Putz C, Merdinoglu D, Lemaire O, Stocky G, Valentin P, Wiedemann S. Beet necrotic yellow vein virus, causal agent of sugarbeet rhizomania. Rev Plant Pathol. 1990;69(5):247–54.

4. Choluj D, Karwowska R, Jasińska M, Haber G. Growth and dry matter partitioning in sugar beet plants (Beta vulgaris L.) under moderate drought. Plant, Soil Environ. 2004;50(6):265–72.

5. Scholten OE, De Bock TSM, Klein-Lankhorst RM, Lange W. Inheritance of resistance to beet necrotic yellow vein virus in Beta vulgaris conferred by a second gene for resistance. Theor Appl Genet. 1999;99:740–6.

6. Schlösser E. Epidemiology and management of Polymyxa betae and beet necrotic yellow vein virus. In: Cooper J., Asher M, editors. Viruses with Fungal Vectors. 1988. p. 281–92.

7. Whitney ED. Identification, distribution, and testing for resistance to rhizomania in Beta maritima. Plant Dis. 1989;73(4):287–90.

8. Scholten OE, Jansen RC, Keizer LCP, De Bock TSM, Lange W. Major genes for resistance to beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in Beta vulgaris. Euphytica. 1996;91:331–9.

9. Lewellen RT, Skoyen IO, Erichsen AW. Breeding sugar beet for resistance to rhizomania: evaluation of host-plant reactions and selection for and inheritance of resistance. In: Proc 50th Congress of the IIRB. Brussels, Belgium; 1987. p. 139–56.

10. Paul H. Quantitative studies on resistance to Polymyxa betae and beet necrotic yellow vein virus in beet. Wageningen Agricultural University; 1993.

11. Asher MJ., Barr KJ. The host range of Polymyxa betae and resistance in Beta species. In: Proceedings of the First Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors, Braunschweig, Germany. 1990. p. 65–8.

12. Liu H-Y, Lewellen RT. Distribution and Molecular Characterization of Resistance-Breaking Isolates of Beet necrotic yellow vein virus in the United States. Plant Dis. 2007;91:847–51.

13. Frese L, Desprez B, Ziegler D. Potential of genetic resources and breeding strategies for base-broadening in Beta. In: Cooper HD, Spillane C, Hodgkin T, editors.

Broadening the Genetic Base of Crop Production. 2001. p. 295–309.

14. Paul H, Henken B, Scholten OE, Bock TSM de, Lange W. Variation in the level of infection with Polymyxa betae and its effect on infection with beet necrotic yellow vein virus in beet accessions of the sections Beta and Corollinae. Proceedings of the Second Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors, Montreal, Canada. Harpenden: Rothamsted Research; 1993. p. 133–6.

15. Paul H, Henken B, Scholten OE, Bock TSM De, Lange W. Resistance to Polymyxa betae and Beet Necrotic Yellow Vein Virus in Beta Species of the Section Corollinae. J Sugar Beet Res. 1994;31(1–2):1–6.

16. Fujisawa I, Sugimoto T. The reaction of some beet species of sections Patellares, Corollinae and vulgares to rhizomania of sugar beet. Proc Sugar Beet Res Assoc Japan. 1979;21:31–8.

17. Guo D, Wang G, Kang C, Jia S, Liu L. Studies on the interspecific crossing of cultivated sugar beet and Beta corolliflora Zoss. China sugarbeet. 1994;3:2–7.

18. Lv X, Jin Y, Wang Y. De novo transcriptome assembly and identification of salt-responsive genes in sugar beet M14. Comput Biol Chem. 2018;75:1–10.

19. Wu C, Ma C, Pan Y, Gong S, Zhao C, Chen S, et al. Sugar beet M14 glyoxalase I gene can enhance plant tolerance to abiotic stresses. J Plant Res. 2013;126(3):415–25.

20. Märländer B, Lange T, Wulkow A. Dispersal principles of sugar beet from seed to sugar with particular relation to genetically modified varieties. J für Kult. 2011;63(11):349–73.

21. Asher MJC, Grimmer MK, Mutasa-Goettgens ES. Selection and characterization of resistance to Polymyxa betae, vector of beet necrotic yellow vein virus, derived from wild sea beet. Plant Pathol. 2009;58:250–60.

22. Van Geyt JPC, Lange W, Oleo M, De Bock TSM. Natural variation within the genus Beta and its possible use for breeding sugar beet: A review. Euphytica. 1990;49(1):57–76.

23. Ford-Lloyd B V. Sources of genetic variation, genus Beta. In: Biancardi E, Campbell LG, Skaracis G., De Biaggi M, editors. Genetics and Breeding of Sugar Beet. Science Publishers; 2005. p. 25–33.

24. Dohm JC, Minoche AE, Holtgräwe D, Capella-Gutiérrez S, Zakrzewski F, Tafer H, et al. The genome of the recently domesticated crop plant sugar beet (Beta vulgaris). Nature. 2014;505:546–9.

25. Achard F. Procede d'extraction du sucre de bette. Ann Chim. 1799;32:163–168.

26. Türkiye Ziraat Odaları Birliği. Şeker pancarı raporu. 2018.

27. Türk Şeker [Internet]. Available from: https://www.turkseker.gov.tr/tarihce.aspx

28. The Food and Agriculture Organization. Şeker pancarı ve şeker kamışı üretim verileri [Internet]. Available from: http://www.fao.org/faostat/en/?#compare

29. Worldbank [Internet]. Available from: https://www.worldbank.org/

30. Türkiye İstatistik Kurumu. Şeker pancarı üretim verileri [Internet]. Available from: https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr

31. Meteoroloji Genel Müdürlüğü. Yıllık yağış miktarları [Internet]. Available from: https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/aylik-normal-yagis-dagilimi.aspx

32. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Sulu tarım alanlarında sürdürülebilirlik çalıştayı. 2015.

33. Campbell LG. Sugar Beet Quality Improvement. J Crop Prod. 2002;5(1–2):395–413.

34. Clarke N, Hetschkun H, Jones C, Boswell E, Marfaing H. Identification of Stress Tolerance Traits in Sugar Beet. In: Jackson MB, Black CR, editors. Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1993. p. 511–24.

35. Ober ES, Luterbacher MC. Genotypic variation for drought tolerance in Beta vulgaris. Ann Bot. 2002;89:917–24.

36. Ober ES, Bloa M Le, Clark CJA, Royal A, Jaggard KW, Pidgeon JD. Evaluation of physiological traits as indirect selection criteria for drought tolerance in sugar beet. F Crop Res. 2005;91(2):231–49.

37. Belén Suârez M, Grondona I, Garcîa-Benavides P, Monte E, Garcîa-Acha I. Characterization of beet necrotic yellow vein furovirus from Spanish sugar beets. Int Microbiol. 1999;2:87–92.

38. Kaya R. Distribution of Rhizomania Disease in Sugar Beet Growing Areas of Turkey. Tarım Bilim Derg. 2009;15(4):332–40.

39. Schirmer A, Link D, Cognat V, Moury B, Beuve M, Meunier A, et al. Phylogenetic analysis of isolates of Beet necrotic yellow vein virus collected worldwide. J Gen Virol. 2005;86:2897–911.

40. Yardımcı N, Çulal Kılıç H. Identification of beet necrotic yellow vein virus in Lakes District: A major beet growing area in Turkey. Indian J Virol. 2011;22(2):127–30.

41. Kıymaz B, Ertunç F. Researches on the detection of virus diseases of sugar beet in Ankara. J Turkish Phytopathol. 1996;25(1–2):55–63.

42. McGrann GRD, Grimmer MK, Mutasa-Göttgens ES, Stevens M. Progress towards the understanding and control of sugar beet rhizomania disease. Mol Plant Pathol.

2009;10(1):129–41.

43. Wisler GC, Duffus JE. A century of plant virus management in the Salinas Valley of California, ‘East of Eden.’ Virus Res. 2000;71(1–2):161–9.

44. Pavli OI, Stevanato P, Biancardi E, Skaracis GN. Achievements and prospects in breeding for rhizomania resistance in sugar beet. F Crop Res. 2011;122(3):165–72.

45. Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R. Abiotic and biotic stress combinations. New Phytol. 2014;203:32–43.

46. Nath P, Sane VA, Sane AP, Trivedi PK. Plant Gene Expression, Regulation of. In: Meyers RA, editor. Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2005. p. 307–58.

47. Shukla LI, Chinnusamy V, Sunkar R. The role of microRNAs and other endogenous small RNAs in plant stress responses. Biochim Biophys Acta. 2008;1779(11):743–8.

48. Bhargava S, Sawant K. Drought stress adaptation: Metabolic adjustment and regulation of gene expression. Plant Breed. 2013;132:21–32.

49. Rejeb I, Pastor V, Mauch-Mani B. Plant Responses to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress: Molecular Mechanisms. Plants. 2014;3:458–75.

50. Aydemir BÇ, Özmen CY, Kibar U, Mutaf F, Büyük PB, Bakır M, et al. Salt stress induces endoplasmic reticulum stress-responsive genes in a grapevine rootstock. PLoS One. 2020;15(7):1–25.

51. Clauw P, Coppens F, Beuf K De, Dhondt S, Daele T Van, Maleux K, et al. Leaf Responses to Mild Drought Stress in Natural Variants of Arabidopsis. Plant Physiol. 2015;167:800–16.

52. Li X, Li M, Zhou B, Yang Y, Wei Q, Zhang J. Transcriptome analysis provides insights into the stress response crosstalk in apple (Malus × domestica) subjected to drought , cold and high salinity. Sci Rep. 2019;9(9071):1–10.

53. Jiang Y, Duan Y, Yin J, Ye S, Zhu J, Zhang F, et al. Genome-wide identification and characterization of the Populus WRKY transcription factor family and analysis of their expression in response to biotic and abiotic stresses. J Exp Bot. 2014;65(22):6629–44.

54. Zhou J-M, Trifa Y, Silva H, Pontier D, Lam E, Shah J, et al. NPR1 Differentially Interacts with Members of the TGA/OBF Family of Transcription Factors That Bind an Element of the PR-1 Gene Required for Induction by Salicylic Acid . Mol Plant-Microbe Interact. 2000;13(2):191–202.

55. Bartrina I, Otto E, Strnad M, Werner T, Schmülling T. Cytokinin Regulates the Activity of Reproductive Meristems, Flower Organ Size, Ovule Formation, and Thus Seed Yield in Arabidopsis thaliana. Plant Cell. 2011;23:69–80.

56. Sharma PD, Singh N, Ahuja PS, Reddy TV. Abscisic acid response element binding factor 1 is required for establishment of Arabidopsis seedlings during winter. Mol Biol Rep. 2011;38(8):5147–59.

57. Tang D, Christiansen KM, Innes RW. Regulation of Plant Disease Resistance, Stress Responses, Cell Death, and Ethylene Signaling in Arabidopsis by the EDR1 Protein Kinase. Plant Physiol. 2005;138:1018–26.

58. Sah SK, Reddy KR, Li J. Abscisic Acid and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. Front Plant Sci. 2016;7:1–26.

59. Prasch CM, Sonnewald U. Simultaneous Application of Heat, Drought, and Virus to Arabidopsis Plants Reveals Significant Shifts in Signaling Networks. Plant Physiol. 2013;162:1849–66.

60. Pirasteh-Anosheh H, Saed-Moucheshi A, Pakniyat H, Pessarakli M. Stomatal responses to drought stress. In: Ahmad P, editor. Water Stress and Crop Plants. 1st ed. John Wiley & Sons, Ltd.; 2016. p. 24–40.

61. Xiong L, Wang R, Mao G, Koczan JM. Identification of Drought Tolerance Determinants by Genetic Analysis of Root Response to Drought Stress and Abscisic Acid 1. Plant Physiol. 2006;142:1065–74.

62. Smet I De, Signora L, Beeckman T, Inze D, Foyer CH, Zhang H. An abscisic acid-sensitive checkpoint in lateral root development of Arabidopsis. Plant J. 2003;33:543–55.

63. Yoshida T, Nishimura N, Kitahata N, Kuromori T, Ito T, Asami T, et al. ABA-Hypersensitive Germination3 Encodes a Protein Phosphatase 2C (AtPP2CA) That Strongly Regulates Abscisic Acid Signaling during Germination among Arabidopsis Protein Phosphatase 2Cs. Plant Physiol. 2006;140:115–26.

64. Chinnusamy V, Gong Z, Zhu JK. Abscisic acid-mediated epigenetic processes in plant development and stress responses. J Integr Plant Biol. 2008;50(10):1187–95.

65. Ku Y, Sintaha M, Cheung M, Lam H. Plant Hormone Signaling Crosstalks between Biotic and Abiotic Stress Responses. Int J Mol Sci. 2018;19(3206):1–35.

66. Minkoff BB, Stecker KE, Sussman MR. Rapid Phosphoproteomic Effects of Abscisic Acid (ABA) on Wild-Type and ABA Receptor-Deficient A . thaliana Mutants. Mol Cell Proteomics. 2015;14:1169–82.

67. Umezawa T, Nakashima K, Miyakawa T, Kuromori T, Tanokura M, Shinozaki K, et al. Molecular basis of the core regulatory network in ABA responses: Sensing, signaling and transport. Plant Cell Physiol. 2010;51(11):1821–39.

68. Vysotskii DA, Leeuwen IJDV, Souer E, Babakov A V, de Boer AH. ABF transcription factors of Thellungiella salsuginea: Structure, expression profiles and interaction with 14-3-3 regulatory proteins. Plant Signal Behav. 2013;8:64–70.

69. Li X, Li G, Li Y, Kong X, Zhang L, Wang J. ABA Receptor Subfamily III Enhances Abscisic Acid Sensitivity and Improves the Drought Tolerance of Arabidopsis. Int J Mol Sci. 2018;19(1938):1–11.

70. Wang Z, Ji H, Yuan B, Wang S, Su C, Yao B, et al. ABA signalling is fine-tuned by antagonistic HAB1 variants. Nat Commun. 2015;6(8138):1–12.

71. Park S, Fung P, Nishimura N, Jensen DR, Fujii H, Zhao Y, et al. Abscisic acid inhibits PP2Cs via the PYR/PYL family of ABA- binding START proteins. Science (80-). 2009;324(5930):1068–71.

72. Choi H, Hong J, Ha J, Kang J, Kim SY. ABFs , a Family of ABA-responsive Element Binding Factors. J Biol Chem. 2000;275(3):1723–30.

73. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Bitki hormon sinyal yolağı [Internet]. Available from: https://www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?ko04075

74. Colebrook EH, Thomas SG, Phillips AL, Hedden P. The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. J Exp Biol. 2014;217:67–75.

75. Shi J-B, Wang N, Zhou H, Xu Q-H, Yan G-T. The role of gibberellin synthase gene GhGA2ox1 in upland cotton (Gossypium hirsutum L.) responses to drought and salt stress. Biotechnol Appl Biochem. 2019 Jan 8;66(3):298–308.

76. Zawaski C, Busov VB. Roles of Gibberellin Catabolism and Signaling in Growth and Physiological Response to Drought and Short-Day Photoperiods in Populus Trees. PLoS One. 2014;9(1):1–12.

77. Murase K, Hirano Y, Sun T, Hakoshima T. Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1. Nature. 2008;456:459–63.

78. Griffiths J, Murase K, Rieu I, Zentella R, Zhang Z, Powers SJ, et al. Genetic Characterization and Functional Analysis of the GID1 Gibberellin Receptors in Arabidopsis. Plant Cell. 2006;18:3399–414.

79. Djakovic-Petrovic T, Wit M De, Voesenek LACJ, Pierik R. DELLA protein function in growth responses to canopy signals. Plant J. 2007;51:117–26.

80. Zentella R, Zhang Z-L, Park M, Thomas SG, Endo A, Murase K, et al. Global Analysis of DELLA Direct Targets in Early Gibberellin Signaling in Arabidopsis. Plant Cell. 2007;19:3037–57.

81. Sun T, Gubler F. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. Annu Rev Plant Biol. 2004;55:197–223.

82. Ghanashyam C, Jain M. Role of auxin-responsive genes in biotic stress responses. Plant Signal Behav. 2009;4(9):846–8.

83. Muto H, Watahiki MK, Nakamoto D, Kinjo M, Yamamoto KT. Specificity and Similarity of Functions of the Aux / IAA Genes in Auxin Signaling of Arabidopsis

Revealed by Promoter-Exchange Experiments among MSG2/ IAA19, AXR2/IAA7, and SLR/IAA14. Plant Physiol. 2007;144:187–96.

84. Ren H, Gray WM. SAUR Proteins as Effectors of Hormonal and Environmental Signals in Plant Growth. Mol Plant. 2015;8:1153–64.

85. Spartz AK, Lee SH, Wenger JP, Gonzalez N, Itoh H, Inzé D, et al. The SAUR19 subfamily of SMALL AUXIN UP RNA genes promote cell expansion. Plant J. 2012;70:978–90.

86. Perez-Torres C-A, Lopez-Bucio J, Cruz-Ramirez A, Ibarra-Laclette E, Dharmasiri S, Estelle M, et al. Phosphate Availability Alters Lateral Root Development in Arabidopsis by Modulating Auxin Sensitivity via a Mechanism Involving the TIR1 Auxin Receptor. Plant Cell. 2008;20:3258–72.

87. Ruzicka K, Simaskova M, Duclercq J, Petrasek J, Zazimalova E, Simon S, et al. Cytokinin regulates root meristem activity via modulation of the polar auxin transport. PNAS. 2009;106(11):4284–9.

88. Peret B, Swarup K, Ferguson A, Seth M, Yang Y, Dhondt S, et al. AUX / LAX Genes Encode a Family of Auxin Influx Transporters That Perform Distinct Functions during Arabidopsis Development. Plant Cell. 2012;24:2874–85.

89. Tan X, Calderon-Villalobos LIA, Sharon M, Zheng C, Robinson C V, Estelle M, et al. Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase. Nature. 2007;446(7136):640–5.

90. Hayashi K -i., Tan X, Zheng N, Hatate T, Kimura Y, Kepinski S, et al. Small-molecule agonists and antagonists of F-box protein-substrate interactions in auxin perception and signaling. PNAS. 2008;105(14):5632–7.

91. Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle TJ. Aux/IAA proteins contain a potent transcriptional repression domain. Plant Cell. 2004;16:533–43.

92. Weijers D, Benkova E, Jäger KE, Schlereth A, Hamann T, Kientz M, et al. Developmental specificity of auxin response by pairs of ARF and Aux/IAA transcriptional regulators. EMBO J. 2005;24:1874–85.

93. Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle TJ. ARF1, a Transcription Factor That Binds to Auxin Response Elements. Science (80-). 1997;276(5320):1865–8.

94. Hagen G, Kleinschmidt A, Guilfoyle T. Auxin-regulated gene expression in intact soybean hypocotyl and excised hypocotyl sections. Planta. 1984;162:147–53.

95. Feng S, Yue R, Tao S, Yang Y, Zhang L, Xu M, et al. Genome-wide identification, expression analysis of auxin-responsive GH3 family genes in maize (Zea mays L.) under abiotic stresses. J Integr Plant Biol. 2015 Sep 1;57(9):783–95.

96. Park JE, Park JY, Kim YS, Staswick PE, Jeon J, Yun J, et al. GH3-mediated auxin homeostasis links growth regulation with stress adaptation response in Arabidopsis.

J Biol Chem. 2007;282(13):10036–46.

97. Knauss S, Rohrmeier T, Lehle L. The Auxin-induced Maize Gene ZmSAUR2 Encodes a Short-lived Nuclear Protein Expressed in Elongating Tissues. J Biol Chem. 2003;278(26):23936–43.

98. Kim HJ, Ryu H, Hong SH, Woo HR, Lim PO, Lee IC, et al. Cytokinin-mediated control of leaf longevity by AHK3 through phosphorylation of ARR2 in Arabidopsis. PNAS. 2006;103(3):814–9.

99. Miyata SI, Urao T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Characterization of genes for two-component phosphorelay mediators with a single HPt domain in Arabidopsis thaliana. FEBS Lett. 1998;437:11–4.

100. Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, Seki M, Kobayashi M, Kato T, et al. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from Arabidopsis. Nature. 2001;409(6823):1060–3.

101. Suzuki T, Miwa K, Ishikawa K, Yamada H, Aiba H. The Arabidopsis Sensor His-kinase, AHK4, Can Respond to Cytokinins. Plant Cell Physiol. 2001;42(2):107–13.

102. Kakimoto T. Perception and Signal Transduction of Cytokinins. Annu Rev Plant Biol. 2003;54:605–27.

103. Hwang I, Sheen J. Two-component circuitry in Arabidopsis cytokinin signal transduction. Nature. 2001;413(6854):383–9.

104. Abeles, F. B., Morgan, P. W., and Saltveit, M. E. J. Ethylene in Plant Biology. 2nd ed. Academic Press; 1992. 414 p.

105. Kieber JJ. The ethylene signal transduction pathway in Arabidopsis. J Exp Bot. 1997;48(307):211–8.

106. Kieber JJ, Rothenberg M, Roman G, Feldmann KA, Ecker JR. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in Arabidopsis, encodes a member of the raf family of protein kinases. Cell. 1993;72(3):427–41.

107. Bisson MMA, Bleckmann A, Allekotte S, Groth G. EIN2 , the central regulator of ethylene signalling , is localized at the ER membrane where it interacts with the ethylene receptor ETR1. Biochem J. 2009;424:1–6.

108. Solano R, Stepanova A, Chao Q, Ecker JR. Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. Genes Dev. 1998;12:3703–14.

109. Yin Y, Wang Z, Mora-Garcia S, Li J, Yoshida S, Asami T, et al. BES1 Accumulates in the Nucleus in Response to Brassinosteroids to Regulate Gene Expression and Promote Stem Elongation. Cell. 2002;109:181–91.

110. Steber CM, Mccourt P. A Role for Brassinosteroids in Germination in Arabidopsis

1. Plant Physiol. 2001;125:763–9.

111. Li J, Nagpal P, Vitart V, McMorris TC, Chory J. A Role for Brassinosteroids in Light-Dependent Development of Arabidopsis. Science (80-). 1996;272(5260):398–401.

112. Tang W, Kim T, Oses-prieto JA, Sun Y, Deng Z, Zhu S, et al. Brassinosteroid-Signaling Kinases (BSKs) mediate signal transduction from the receptor kinase BRI1 in Arabidopsis. Science (80-). 2008;321(5888):557–60.

113. Mcconn M, Creelman RA, Bell E, Mullet JE, Browse J. Jasmonate is essential for insect defense in Arabidopsis. PNAS. 1997;94:5473–7.

114. Tamaoki D, Seo S, Yamada S, Kano A, Miyamoto A, Shishido H, et al. Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice. Plant Signal Behav. 2013;8(6):1–3.

115. Cao H, Bowling SA, Gordon AS, Dong X. Characterization of an Arabidopsis Mutant That Is Nonresponsive to Inducers of Systemic Acquired Resistance. Plant Cell. 1994;6:1583–92.

116. Mou Z, Fan W, Dong X. Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. Cell. 2003;113:935–44.

117. Gregor J. Sanders and Stefan K. Arndt. Osmotic Adjustment Under Drought Conditions. In: Aroca R, editor. Plant Responses to Drought Stress. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2012. p. 199–229.

118. Dodd IC, Ryan AC. Whole-Plant Physiological Responses to Water-Deficit Stress. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd; 2016. p. 1–9.

119. Rontein D, Basset G, Hanson AD. Metabolic Engineering of Osmoprotectant Accumulation in Plants. Metab Eng. 2002;4(1):49–56.

120. Rathinasabapathi B. Metabolic Engineering for Stress Tolerance: Installing Osmoprotectant Synthesis Pathways. Ann Bot. 2000;86(4):709–16.

121. Choluj D, Karwowska R, Ciszewska A, Jasińska M. Influence of long-term drought stress on osmolyte accumulation in sugar beet (Beta vulgaris L.) plants. Acta Physiol Plant. 2008;30(5):679–87.

122. Kido EA, Ferreira Neto JRC, Silva RLO, Belarmino LC, Bezerra Neto JP, Soares-Cavalcanti NM, et al. Expression dynamics and genome distribution of osmoprotectants in soybean: Identifying important components to face abiotic stress. BMC Bioinformatics. 2013;14:1–11.

123. Smith LT, Pocard JA, Bernard T, Le Rudulier D. Osmotic control of glycine betaine biosynthesis and degradation in Rhizobium meliloti. J Bacteriol. 1988;170(7):3142–9.

124. Kishor KP., Hong Z, Miao G-H, Hu C-AA, Verma DP. Overexpression of Δ1-Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase lncreases Proline Production and Confers Osmotolerance in Transgenic Plants. Plant Physiol. 1995;108:1387–94.

125. Capell T, Bassie L, Christou P. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. PNAS. 2004;101(26):9909–14.

126. Garg AK, Kim J-K, Owens TG, Ranwala AP, Choi YD, Kochian L V., et al. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. PNAS. 2002;99(25):15898–903.

127. Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol Biochem. 2010;48(12):909–30.

128. Bartels D, Sunkar R. Drought and Salt Tolerance in Plants. CRC Crit Rev Plant Sci. 2005;24:23–58.

129. Büyük İ, Soydam-Aydın S, Aras S. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. Türk Hij ve Deney Biyol Derg. 2012;69(2):97–110.

130. Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Sci. 2004 Oct 1;9(10):490–8.

131. Jagadeeswaran G, Saini A, Sunkar R. Biotic and abiotic stress down-regulate miR398 expression in Arabidopsis. Planta. 2009;229:1009–14.

132. del Río LA, Corpas FJ, López-Huertas E, Palma JM. Plant Superoxide Dismutases: Function Under Abiotic Stress Conditions. In: Gupta DK, Palma JM, Corpas FJ, editors. Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 1–26.

133. Sunkar R, Kapoor A, Zhu J-K. Posttranscriptional Induction of Two Cu/Zn Superoxide Dismutase Genes in Arabidopsis Is Mediated by Downregulation of miR398 and Important for Oxidative Stress Tolerance. Plant Cell. 2006;18:2051–65.

134. Joo J, Lee YH, Song SI. Rice CatA, CatB, and CatC are involved in environmental stress response, root growth, and photorespiration, respectively. J Plant Biol. 2014;57:375–82.

135. Hassan NM, El-Bastawisy ZM, El-Sayed AK, Ebeed HT, Nemat Alla MM. Roles of dehydrin genes in wheat tolerance to drought stress. J Adv Res. 2015;6:179–88.

136. D'Arcy-Lameta A, Ferrari-Iliou R, Contour-Ansel D, Pham-Thi AT, Zuily-Fodil Y. Isolation and characterization of four ascorbate peroxidase cDNAs responsive to water deficit in cowpea leaves. Ann Bot. 2006;97:133–40.

137. Miao Y, Lv D, Wang P, Wang X-C, Chen J, Miao C, et al. An Arabidopsis Glutathione Peroxidase Functions as Both a Redox Transducer and a Scavenger in Abscisic Acid and Drought Stress Responses. Plant Cell. 2006;18:2749–66.

138. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. Annu Rev Plant Biol. 2004;55:373–99.

139. Cramer GR, Urano K, Delrot S, Pezzotti M, Shinozaki K. Effects of abiotic stress on plants: A systems biology perspective. BMC Plant Biol. 2011;11(163):1–14.

140. Barnabás B, Jäger K, Fehér A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. Plant, Cell Environ. 2008;31:11–38.

141. Eldem V, Çelikkol Akçay U, Ozhuner E, Bakir Y, Uranbey S, Unver T. Genome-Wide Identification of miRNAs Responsive to Drought in Peach (Prunus persica) by High-Throughput Deep Sequencing. PLoS One. 2012;7(12):1–14.

142. Farooq M, Wahid A, Basra NKDFSMA, Farooq M, Wahid A, Fujita NKD, et al. Plant drought stress : effects , mechanisms and management. Agron Sustain Dev. 2009;29:185–212.

143. Abdollahian-Noghabi M, Froud-Williams M. Effect of moisture stress and re-watering on growth and dry matter partitioning in three cultivars of sugar beet. Asp Appl Biol. 1998;(52):71–8.

144. Osakabe Y, Osakabe K, Shinozaki K, Tran L-SP. Response of plants to water stress. Front Plant Sci. 2014;5(86):1–8.

145. Yordanov I, Velikova V, Tsonev T. Plant Responses to Drought, Acclimation, and Stress Tolerance. Photosynthetica. 2000;38(1):171–86.

146. Luna CM, Pastori GM, Driscoll S, Groten K, Bernard S, Foyer CH. Drought controls on H2O2 accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. J Exp Bot. 2005;56(411):417–23.

147. Onaga G, Wydra K. Advances in Plant Tolerance to Abiotic Stresses. In: Abdurakhmonov IY, editor. Plant Genomics. 1st ed. InTech; 2017. p. 167–228.

148. Fang Y, Xiong L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. Cell Mol Life Sci. 2015;72(4):673–89.

149. Kirschbaum MUF. Does Enhanced Photosynthesis Enhance Growth? Lessons Learned from CO2 Enrichment Studies. Plant Physiol. 2011;155:117–24.

150. Wasaya A, Zhang X, Fang Q, Yan Z. Root Phenotyping for Drought Tolerance: A Review. Agronomy. 2018;8(241):1–19.

151. Brunner I, Herzog C, Dawes MA, Arend M, Sperisen C. How tree roots respond to drought. Front Plant Sci. 2015;6(547):1–16.

152. Chen H, Li Z, Xiong L. A plant microRNA regulates the adaptation of roots to drought stress. FEBS Lett. 2012;586:1742–7.

153. Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in

cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. Annu Rev Plant Biol. 2006;57:781–803.

154. Yang J, Worley E, Udvardi M. A NAP-AAO3 Regulatory Module Promotes Chlorophyll Degradation via ABA Biosynthesis in Arabidopsis Leaves. Plant Cell. 2014;26:4862–74.

155. Li J, Besseau S, Törönen P, Sipari N, Kollist H, Holm L, et al. Defense-related transcription factors WRKY70 and WRKY54 modulate osmotic stress tolerance by regulating stomatal aperture in Arabidopsis. New Phytol. 2013;200:457–72.

156. El-Esawi MA, Alayafi AA. Overexpression of StDREB2 transcription factor enhances drought stress tolerance in cotton (Gossypium barbadense L.). Genes (Basel). 2019;10(142):1–15.

157. El-Esawi MA, Al-Ghamdi AA, Ali HM, Ahmad M. Overexpression of AtWRKY30 Transcription Factor Enhances Heat and Drought Stress Tolerance in Wheat (Triticum aestivum L.). Genes (Basel). 2019;10(163):1–13.

158. Priest HD, Filichkin SA, Mockler TC. cis-Regulatory elements in plant cell signaling. Curr Opin Plant Biol. 2009;12(5):643–9.

159. Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. Trends Plant Sci. 2005 Feb 1;10(2):88–94.

160. Kim JS, Mizoi J, Yoshida T, Fujita Y, Nakajima J, Ohori T, et al. An ABRE promoter sequence is involved in osmotic stress-responsive expression of the DREB2A gene, which encodes a transcription factor regulating drought-inducible genes in Arabidopsis. Plant Cell Physiol. 2011;52(12):2136–46.

161. Zhao BY, Hu YF, Li J juan, Yao X, Liu K de. BnaABF2, a bZIP transcription factor from rapeseed (Brassica napus L.), enhances drought and salt tolerance in transgenic Arabidopsis. Bot Stud. 2016;57(12):1–12.

162. Khan MS. The role of DREB transcription factors in abiotic stress tolerance of plants. Biotechnol Biotechnol Equip. 2011;25(3):2433–42.

163. Jisha V, Dampanaboina L, Vadassery J, Mithöfer A, Kappara S, Ramanan R. Overexpression of an AP2/ERF type transcription factor OsEREBP1 confers biotic and abiotic stress tolerance in rice. PLoS One. 2015;10(6):1–24.

164. Baldoni E, Genga A, Cominelli E. Plant MYB transcription factors: Their role in drought response mechanisms. Vol. 16, International Journal of Molecular Sciences. 2015. p. 15811–51.

165. Tang Y, Bao X, Zhi Y, Wu Q, Guo Y, Yin X, et al. Overexpression of a MYB Family Gene, OsMYB6, Increases Drought and Salinity Stress Tolerance in Transgenic Rice. Front Plant Sci. 2019;10(168):1–12.

166. Xiong H, Li J, Liu P, Duan J, Zhao Y, Guo X, et al. Overexpression of OsMYB48-1, a novel MYB-related transcription factor, enhances drought and salinity tolerance in rice. PLoS One. 2014;9(3):1–13.

167. Zenda T, Liu S, Wang X, Liu G, Jin H, Dong A, et al. Key Maize Drought-Responsive Genes and Pathways Revealed by Comparative Transcriptome and Physiological Analyses of Contrasting Inbred Lines. Int J Mol Sci. 2019;20(1268):1–30.

168. Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, Iwasaki T, Hosokawa D, Shinozaki K. Role of Arabidopsis MYC and MYB Homologs in Drought- and Abscisic Acid-Regulated Gene Expression. Plant Cell. 1997;9:1859–68.

169. Lorenzo, O, Chico J, Sánchez-Serrano J, Solano R. JASMONATE-INSENSITIVE1 Encodes a MYC Transcription Factor Essential to Discriminate between Different Jasmonate-Regulated Defense Responses in Arabidopsis. Plant Cell. 2004;16:1938–50.

170. Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. J Exp Bot. 2007;58(2):221–7.

171. Hong G-J, Xue X-Y, Mao Y-B, Wang L-J, Chen X-Y. Arabidopsis MYC2 Interacts with DELLA Proteins in Regulating Sesquiterpene Synthase Gene Expression . Plant Cell. 2012;24(6):2635–48.

172. Abe H, Urao T, Ito T, Seki M, Shinozaki K. Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) Function as Transcriptional Activators in Abscisic Acid Signaling. Society. 2003;15:63–78.

173. Nakashima K, Tran LSP, Van Nguyen D, Fujita M, Maruyama K, Todaka D, et al. Functional analysis of a NAC-type transcription factor OsNAC6 involved in abiotic and biotic stress-responsive gene expression in rice. Plant J. 2007;51:617–30.

174. Shen J, Lv B, Luo L, He J, Mao C, Xi D, et al. The NAC-type transcription factor OsNAC2 regulates ABA-dependent genes and abiotic stress tolerance in rice. Sci Rep. 2017;7(40641):1–14.

175. Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, Somssich IE. The WRKY superfamily of plant transcription factors. Trends Plant Sci. 2000;5(5):199–206.

176. Ren X, Chen Z, Liu Y, Zhang H, Zhang M, Liu Q, et al. ABO3, a WRKY transcription factor, mediates plant responses to abscisic acid and drought tolerance in Arabidopsis. Plant J. 2010;63:417–29.

177. Lee H, Cha J, Choi C, Choi N, Ji H-S, Park SR, et al. Rice WRKY11 Plays a Role in Pathogen Defense and Drought Tolerance. Rice. 2018;11(5):1–12.

178. Chen J, Yin Y. WRKY transcription factors are involved in brassinosteroid signaling and mediate the crosstalk between plant growth and drought tolerance. Plant Signal Behav. 2017;12(11):1–3.

179. Wang NN, Xu SW, Sun YL, Liu D, Zhou L, Li Y, et al. The cotton WRKY transcription factor (GhWRKY33) reduces transgenic Arabidopsis resistance to drought stress. Sci Rep. 2019;9(724):1–13.

180. Chen J, Nolan T, Ye H, Zhang M, Tong H, Xin P, et al. Arabidopsis WRKY46, WRKY54 and WRKY70 Transcription Factors Are Involved in Brassinosteroid-Regulated Plant Growth and Drought Response. Plant Cell. 2017;29:1425–39.

181. Wang W, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta. 2003;218(1):1–14.

182. Gao C, Liu Y, Wang C, Zhang K, Wang Y. Expression profiles of 12 late embryogenesis abundant protein genes from Tamarix hispida in response to abiotic stress. Sci World J. 2014;(868391):1–9.

183. Ingram J, Bartels D. The Molecular Basis of Dehydration Tolerance in Plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. 1996 Jun 1;47:377–403.

184. Magwanga RO, Lu P, Kirungu JN, Lu H, Wang X, Cai X, et al. Characterization of the late embryogenesis abundant (LEA) proteins family and their role in drought stress tolerance in upland cotton. BMC Genet. 2018;19(6):1–31.

185. Mohammed İ, Kibar U, Kazan K, Özmen CY, Mutaf F, Aşçı SD, et al. Genome-wide identification of the LEA protein gene family in grapevine (Vitis vinifera L .). Tree Genet Genomes. 2019;15(55):1–14.

186. Yu J, Lai Y, Wu X, Wu G, Guo C. Overexpression of OsEm1 encoding a group I LEA protein confers enhanced drought tolerance in rice. Biochem Biophys Res Commun. 2016;478(2):703–9.

187. Xiao B, Huang Y, Tang N, Xiong L. Over-expression of a LEA gene in rice improves drought resistance under the field conditions. Theor Appl Genet. 2007;115(1):35–46.

188. Dalal M, Tayal D, Chinnusamy V, Bansal KC. Abiotic stress and ABA-inducible Group 4 LEA from Brassica napus plays a key role in salt and drought tolerance. J Biotechnol. 2009;139(2):137–45.

189. Zamora-Briseño JA, de Jiménez ES. A LEA 4 protein up-regulated by ABA is involved in drought response in maize roots. Mol Biol Rep. 2016;43(4):221–8.

190. Yang Y, He M, Zhu Z, Li S, Xu Y, Zhang C, et al. Identification of the dehydrin gene family from grapevine species and analysis of their responsiveness to various forms of abiotic and biotic stress. BMC Plant Biol. 2012;12(140):1–17.

191. Brini F, Hanin M, Lumbreras V, Amara I, Khoudi H, Hassairi A, et al. Overexpression of wheat dehydrin DHN-5 enhances tolerance to salt and osmotic stress in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Rep. 2007;26(11):2017–26.

192. Suprunova T, Krugman T, Fahima T, Chen G, Shams I, Korol A, et al. Differential expression of dehydrin genes in wild barley, Hordeum spontaneum, associated with resistance to water deficit. Plant, Cell Environ. 2004;27:1297–308.

193. Chiappetta A, Muto A, Bruno L, Woloszynska M, Lijsebettens M Van, Bitonti MB. A dehydrin gene isolated from feral olive enhances drought tolerance in Arabidopsis transgenic plants. Front Plant Sci. 2015;6(392):1–15.

194. Lv A, Fan N, Xie J, Yuan S, An Y, Zhou P. Expression of CdDHN4, a Novel YSK2-Type Dehydrin Gene from Bermudagrass, Responses to Drought Stress through the ABA-Dependent Signal Pathway. Front Plant Sci. 2017;8(748):1–12.

195. Cellier F, Conéjéro G, Breitler JC, Casse F. Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflower. Plant Physiol. 1998;116:319–28.

196. Flood J. The importance of plant health to food security. Food Secur. 2010;2(3):215–31.

197. Csorba T, Kontra L, Burgyán J. Viral silencing suppressors: Tools forged to fine-tune host-pathogen coexistence. Virology. 2015;479–480:85–103.

198. Hull R. Matthews' plant virology. 4th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2002. 1016 p.

199. Zaitlin M, Hull R. Plant Virus-Host Interactions. Annu Rev Plant Physiol. 1987 Jun 1;38:291–315.

200. Pierce EJ, Rey MEC. Assessing Global Transcriptome Changes in Response to South African Cassava Mosaic Virus [ZA-99] Infection in Susceptible Arabidopsis thaliana. PLoS One. 2013;8(6):1–21.

201. Xu P, Chen F, Mannas JP, Feldman T, Sumner LW, Roossinck MJ. Virus infection improves drought tolerance. New Phytol. 2008;180:911–21.

202. Andret-Link P, Fuchs M. Transmission specificity of plant viruses by vectors. J Plant Pathol. 2005;87(3):153–65.

203. Descriptions of Plant Viruses. Introduction to plant viruses [Internet]. Available from: http://dpvweb.net/intro/?ndex.php

204. Scholthof KBG, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol. 2011;12(9):938–54.

205. Sahana N. Functional significance of host and viral genes involved in stress responses during Papaya Ringspot Virus (PRSV) infection. 2013.

206. Wang M-B, Metzlaff M. RNA silencing and antiviral defense in plants. Curr Opin Plant Biol. 2005;8(2):216–22.

207. Mandadi KK, Scholthof KG. Plant Immune Responses Against Viruses: How Does a Virus Cause Disease? Plant Cell. 2013;25:1489–505.

208. Pallas V, García JA. How do plant viruses induce disease? Interactions and interference with host components. Vol. 92, Journal of General Virology. 2011. p. 2691–705.

209. Li F, Pignatta D, Bendix C, Brunkard JO, Cohn MM, Tung J, et al. MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. PNAS. 2012;109(5):1790–5.

210. Meteignier LV, Zhou J, Cohen M, Bhattacharjee S, Brosseau C, Caamal Chan MG, et al. NB-LRR signaling induces translational repression of viral transcripts and the formation of RNA processing bodies through mechanisms differing from those activated by UV stress and RNAi. J Exp Bot. 2016;67(8):2353–66.

211. Wang M-B, Masuta C, Smith NA, Shimura H. RNA silencing and plant viral diseases. Mol Plant-Microbe Interact. 2012;25(10):1275–85.

212. Orlandi EW, Hutcheson SW, Baker CJ. Early physiological responses associated with race-specific recognition in soybean leaf tissue and cell suspensions treated with Pseudomonas syringae pv. glycinea. Physiol Mol Plant Pathol. 1992;40(3):173–80.

213. Baker CJ, Mock N, Glazener J, Orlandi E. Recognition responses in pathogen/non-host and race/cultivar interactions involving soybean (Glycine max) and Pseudomonas syringae pathovars. Physiol Mol Plant Pathol. 1993;43(2):81–94.

214. Conrath U. Systemic Acquired Resistance. Plant Signal Behav. 2006;1(4):179–84.

215. Padmanabhan C, Ma Q, Shekasteband R, Stewart KS, Hutton SF, Scott JW, et al. Comprehensive transcriptome analysis and functional characterization of PR-5 for its involvement in tomato Sw-7 resistance to tomato spotted wilt tospovirus. Sci Rep. 2019;9(7673):1–17.

216. Whitham SA, Yang C, Goodin MM. Global Impact: Elucidating Plant Responses to Viral Infection. Mol Plant-Microbe Interact. 2006;19(11):1207–15.

217. Bilgin DD, Zavala JA, Zhu J, Clough SJ, Ort DR, Delucia EH. Biotic stress globally downregulates photosynthesis genes. Plant, Cell Environ. 2010;33:1597–613.

218. Khong GN, Richaud F, Coudert Y, Pati PK, Santi C, Périn C, et al. Modulating Rice Stress Tolerance by Transcription Factors. Biotechnol Genet Eng Rev. 2008;25:381–404.

219. Huang Y, Li MY, Wu P, Xu ZS, Que F, Wang F, et al. Members of WRKY Group III transcription factors are important in TYLCV defense signaling pathway in tomato (Solanum lycopersicum). BMC Genomics. 2016;17(788):1–18.

220. Nuruzzaman M, Sharoni AM, Satoh K, Karim MR, Harikrishna JA, Shimizu T, et al. NAC transcription factor family genes are differentially expressed in rice during

infections with Rice dwarf virus, Rice black-streaked dwarf virus, Rice grassy stunt virus, Rice ragged stunt virus, and Rice transitory yellowing virus. Front Plant Sci. 2015;6(676):1–15.

221. Gorovits R, Moshe A, Ghanim M, Czosnek H. Recruitment of the Host Plant Heat Shock Protein 70 by Tomato Yellow Leaf Curl Virus Coat Protein Is Required for Virus Infection. PLoS One. 2013;8(7):1–11.

222. Mayer MP. Recruitment of Hsp70 chaperones: a crucial part of viral survival strategies. Rev Physiol Biochem Pharmacol. 2005;153:1–46.

223. Adi M, Jens P, Brotman Y, Mikhail K, Iris S, Henryk C, et al. Stress Responses to Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) Infection of Resistant and Susceptible Tomato Plants are Different. Metabolomics. 2012;S1:1–13.

224. Kumar S, Chauhan PS, Agrawal L, Raj R, Srivastava A, Gupta S, et al. Paenibacillus lentimorbus inoculation enhances tobacco growth and extenuates the virulence of cucumber mosaic virus. PLoS One. 2016;11(3):1–23.

225. McKinney HH. Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. J Agric Res. 1929;39:577–8.

226. Abel PP, Nelson RS, De B, Hoffmann N, Rogers SG, Fraley RT, et al. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. Science (80-). 1986;232(4751):738–43.

227. Goregaoker SP, Eckhardt LG, Culver JN. Tobacco mosaic virus replicase-mediated cross-protection: Contributions of RNA and protein-derived mechanisms. Virology. 2000;273(2):267–75.

228. Expasy. Expasy-viralzone [Internet]. Available from: https://viralzone.expasy.org/6576

229. Putz C. Composition and Structure of Beet Necrotic Yellow Vein Virus. J Gen Virol. 1977;35:397–401.

230. Putz C, Pinck M, Fritsch C, Pinck L. Identification of the 3 ‘- and 5 ‘-ends of beet necrotic yellow vein virus RNAs. FEBS Lett. 1983;156(1):41–6.

231. Keskin B. Polymyxa betae n. sp., ein Parasit in den Wurzeln von Beta vulgaris Tournefort, besonders während der Jugendentwicklung der Zuckerrübe. Arch Mikrobiol. 1964;49(4):348–74.

232. Tamada T, Baba T. Beet Necrotic Yellow Vein Virus from Rizomania-Affected Sugar Beet in Japan. Ann Phytopath Soc Japan. 1973;39(4):325–32.

233. Fujisawa I, Sugimoto T. Transmission Vein of Beet Necrotic Yellow betae Virus by Polymyxa betae. Ann Phytopath Soc Japan. 1976;43:583–6.

234. Canova A. On the pathology of sugar beet. Inf Fitopatol. 1959;9:390–6.

235. Harveson RM. Rhizomania of Sugar Beet. NebGuide. 2008.

236. Galein Y. The epidemiology of rhizomania in the Pithiviers region of France. 2013.

237. Adams MJ, Antoniw JF. DPVweb: a comprehensive database of plant and fungal virus genes and genomes. Nucleic Acids Res. 2006;34:382–5.

238. Descriptions of Plant Viruses [Internet]. Available from: http://www.dpvweb.net/dpv/showfig.php?dpvno=391&figno=13

239. Tamada T, Shirako Y, Abe H, Saito M, Kiguchi T, Harada T. Production and pathogenicity of isolates of beet necrotic yellow vein virus with different numbers of RNA components. J Gen Virol. 1989;70:3399–409.

240. Ward L, Koenig R, Budge G, Garrido C, McGrath C, Stubbley H, et al. Occurrence of two different types of RNA-5-containing beet necrotic yellow vein virus in the UK. Arch Virol. 2007;152:59–73.

241. Koenig R, Haeberlé A-M, Commandeur U. Detection and Characterization of a Distinct Type of Beet Necrotic Yellow Vein Virus RNA 5 in a Sugarbeet Growing Area in Europe. Arch Virol. 1997;142(7):1499–504.

242. Harju VA, Mumford RA, Blockley A, Boonham N, Clover GRG, Weekes R, et al. Occurrence in the United Kingdom of Beet necrotic yellow vein virus isolates which contain RNA 5. Plant Pathol. 2002;51(6):811.

243. Hehn A, Fritsch C, Richards KE, Guilley H, Jonard G. Evidence for in vitro and in vivo autocatalytic processing of the primary translation product of Beet necrotic yellow vein virus RNA 1 by a papain-like proteinase. Arch Virol. 1997;142:1051–8.

244. Bouzoubaa S, Quillet L, Guilley H, Jonard G, Richards K. Nucleotide Sequence of Beet Necrotic Yellow Vein Virus RNA-1. J Gen Virol. 1987;68:615–26.

245. Gilmer D. Efficient cell-to-cell movement of Beet necrotic yellow vein virus requires 3 ′ proximal genes located on RNA-2. Virology. 1992;189:40–7.

246. Tamada T, Schmitt C, Saito M, Guilley H, Richards K, Jonard G. High resolution analysis of the readthrough domain of beet necrotic yellow vein virus readthrough protein: a KTER motif is important for efficient transmission of the virus by Polymyxa betae. J Gen Virol. 1996;77:1359–67.

247. Schmitt C, Balmori E, Jonard G, Richards KE, Guilley H. In vitro mutagenesis of biologically active transcripts of beet necrotic yellow vein virus RNA 2: evidence that a domain of the 75-kDa readthrough protein is important for efficient virus assembly. Proc Natl Acad Sci. 1992;89:5715–9.

248. Tamada T, Kusume T. Evidence that the 75K readthrough protein of beet necrotic yellow vein virus RNA-2 is essential for transmission by the fungus Polymyxa betae. J Gen Virol. 1991;72:1497–504.

249. Erhardt M, Vetter G, Gilmer D, Bouzoubaa S, Richards K, Jonard G, et al. Subcellular localization of the Triple Gene Block movement proteins of Beet necrotic yellow vein virus by electron microscopy. Virology. 2005;340:155–66.

250. Chiba S, Hleibieh K, Delbianco A, Klein E, Ratti C, Ziegler-graff V, et al. The Benyvirus RNA Silencing Suppressor Is Essential for Long-Distance Movement , Requires Both Zinc-Finger and NoLS Basic Residues but Not a Nucleolar Localization for Its Silencing-Suppression Activity. Mol Plant-Microbe Interact. 2013;26(2):168–81.

251. Andika IB, Kondo H, Nishiguchi M, Tamada T. The cysteine-rich proteins of beet necrotic yellow vein virus and tobacco rattle virus contribute to efficient suppression of silencing in roots. J Gen Virol. 2012;93:1841–50.

252. Flobinus A, Hleibieh K, Klein E, Ratti C, Bouzoubaa S, Gilmer D. A viral noncoding RNA complements a weakened viral RNA silencing suppressor and promotes efficient systemic host infection. Viruses. 2016;8(272):1–12.

253. Tamada T, Uchino H, Kusume T, Saito M. RNA 3 Deletion Mutants of Beet Necrotic Yellow Vein Virus Do Not Cause Rhizomania Disease in Sugar Beets. Phytopathology. 1999;89(11):1000–6.

254. Jupin I, Guilley H, Richards KE, Jonard G. Two proteins encoded by beet necrotic yellow vein virus RNA 3 influence symptom phenotype on leaves. EMBO J. 1992;11(2):479–88.

255. Tamada T, Abe H. Evidence that beet necrotic yellow vein virus RNA-4 is essential for efficient transmission by the fungus Polymyxa betae. J Gen Virol. 1989;70(12):3391–8.

256. Rahim MD, Andika IB, Han C, Kondo H, Tamada T. RNA4-encoded p31 of beet necrotic yellow vein virus is involved in efficient vector transmission, symptom severity and silencing suppression in roots. J Gen Virol. 2007;88:1611–9.

257. Link D, Schmidlin L, Schirmer A, Klein E, Erhardt M, Geldreich A, et al. Functional characterization of the Beet necrotic yellow vein virus RNA-5-encoded p26 protein: Evidence for structural pathgenicity determinants. J Gen Virol. 2005;86:2115–25.

258. Yüksel Özmen C, Khabbazi SD, Khabbazi AD, Gürel S, Kaya R, Oğuz MÇ, et al. Genome composition analysis of multipartite BNYVV reveals the occurrence of genetic re-assortment in the isolates of Asia Minor and Thrace. Sci Rep. 2020;10(1):1–11.

259. mirBase [Internet]. Available from: ftp://mirbase.org/pub/mirbase/current/mature.fa.gz

260. Lee RC, Feinbaum R, Ambros V. The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to lin-14. Cell. 1993;75:843–54.

261. Zhang B, Pan X, Cannon CH, Cobb GP, Anderson TA. Conservation and divergence of plant microRNA genes. Plant J. 2006;46:243–59.

262. Qu J, Ye J, Fang R. Artificial MicroRNA-Mediated Virus Resistance in Plants. J Virol. 2007;81:6690–9.

263. Baulcombe D. RNA silencing in plants. Nature. 2004;431(7006):356–63.

264. Zhang JW, Long Y, Xue M De, Xiao XG, Pei XW. Identification of microRNAs in response to drought in common wild rice (Oryza rufipogon Griff.) Shoots and roots. PLoS One. 2017;12(1):1–18.

265. Shengli L, Yanjie N, Qian H, Jinyu W, Yuzhen C, Cunfu L. Genome-wide Identification of microRNAs that Respond to Drought Stress in Seedlings of Tertiary Relict Ammopiptanthus mongolicus. Hortic Plant J. 2017;3(5):209–18.

266. Ferdous J, Hussain SS, Shi BJ. Role of microRNAs in plant drought tolerance. Plant Biotechnol J. 2015;13:293–305.

267. Mendu V. Roles of Micrornas In Plant Abiotic Stress, Development And Viral Infection. University of Kentucky; 2008.

268. Liu B, Li P, Li X, Liu C, Cao S, Chu C, et al. Loss of Function of OsDCL1 Affects MicroRNA Accumulation and Causes Developmental Defects in Rice. Plant Physiol. 2005;139:296–305.

269. Zuo JH, Wang YX, Liu HP, Ma YZ, Ju Z, Zhai BQ, et al. MicroRNAs in tomato plants. Sci China Life Sci. 2011;54(7):599–605.

270. Curaba J, Singh MB, Bhalla PL. MiRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. J Exp Bot. 2014;65(6):1425–38.

271. Kurihara Y, Watanabe Y. From The Cover: Arabidopsis micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. PNAS. 2004;101(34):12753–8.

272. Chen X. microRNA biogenesis and function in plants. FEBS Lett. 2005;579:5923–31.

273. Dong Z, Han M, Fedoroff N. The RNA-binding proteins HYL1 and SE promote accurate in vitro processing of pri-miRNA by DCL1. PNAS. 2008;105(29):9970–5.

274. Kurihara Y, Takashi Y, Watanabe Y. The interaction between DCL1 and HYL1 is important for efficient and precise processing of pri-miRNA in plant microRNA biogenesis. RNA. 2006;12:206–12.

275. Yang Z, Ebright YW, Yu B, Chen X. HEN1 recognizes 21–24 nt small RNA duplexes and deposits a methyl group onto the 2′ OH of the 3′ terminal nucleotide. Nucleic Acids Res. 2006;34(2):667–75.

276. Voinnet O. Origin, Biogenesis, and Activity of Plant MicroRNAs. Cell.

2009;136:669–87.

277. Park MY, Wu G, Gonzalez-Sulser A, Vaucheret H, Poethig RS. Nuclear processing and export of microRNAs in Arabidopsis. PNAS. 2005;102(10):3691–6.

278. Xie M, Zhang S, Yu B. microRNA biogenesis, degradation and activity in plants. Cell Mol Life Sci. 2015;72(1):87–99.

279. Liu W, Meng J, Cui J, Luan Y. Characterization and Function of MicroRNA∗s in Plants. Front Plant Sci. 2017;8(2200):1–7.

280. Baumberger N, Baulcombe DC. Arabidopsis ARGONAUTE1 is an RNA Slicer that selectively recruits microRNAs and short interfering RNAs. PNAS. 2005;102(33):11928–33.

281. miRNEST 2.0 [Internet]. Available from: http://rhesus.amu.edu.pl/mirnest/copy/browse.php

282. Li J., Cui J, Cheng D. Computational identification and characterization of conserved miRNAs and their target genes in beet (Beta vulgaris). Genet Mol Res. 2015;14(3):9103–8.

283. Liu JY, Fan HY, Wang Y, Zhang YL, Li DW, Yu JL, et al. Characterization of microRNAs of Beta macrocarpa and their responses to Beet necrotic yellow vein virus infection. PLoS One. 2017;12(10):1–20.

284. Jones-Rhoades MW, Bartel DP. Computational identification of plant MicroRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. Mol Cell. 2004;14:787–99.

285. Ruan M Bin, Zhao YT, Meng ZH, Wang XJ, Yang WC. Conserved miRNA analysis in Gossypium hirsutum through small RNA sequencing. Genomics. 2009;94:263–8.

286. Szittya G, Moxon S, Santos DM, Jing R, Fevereiro MPS, Moulton V, et al. High-throughput sequencing of Medicago truncatula short RNAs identifies eight new miRNA families. BMC Genomics. 2008;9(593):1–9.

287. Zhao JP, Jiang XL, Zhang BY, Su XH. Involvement of microRNA-Mediated Gene Expression Regulation in the Pathological Development of Stem Canker Disease in Populus trichocarpa. PLoS One. 2012;7(9):1–13.

288. Li YF, Zheng Y, Addo-Quaye C, Zhang L, Saini A, Jagadeeswaran G, et al. Transcriptome-wide identification of microRNA targets in rice. Plant J. 2010;62:742–59.

289. Gao F, Wang N, Li H, Liu J, Fu C, Xiao Z, et al. Identification of drought-responsive microRNAs and their targets in Ammopiptanthus mongolicus by using high-throughput sequencing. Sci Rep. 2016;6(34601):1–16.

290. Sun G, Stewart CN, Xiao P, Zhang B. MicroRNA expression analysis in the cellulosic biofuel crop switchgrass (panicum virgatum) under abiotic stress. PLoS

One. 2012;7(3):1–7.

291. Gao C, Wang P, Zhao S, Zhao C, Xia H, Hou L, et al. Small RNA profiling and degradome analysis reveal regulation of microRNA in peanut embryogenesis and early pod development. BMC Genomics. 2017;18(220):1–18.

292. Rhoades MW, Reinhart BJ, Lim LP, Burge CB, Bartel B, Bartel DP. Prediction of plant microRNA targets. Cell. 2002;110:513–20.

293. Curaba J, Spriggs A, Taylor J, Li Z, Helliwell C. miRNA regulation in the early development of barley seed. BMC Plant Biol. 2012;12(120):1–16.

294. Carra A, Mica E, Gambino G, Pindo M, Moser C, Pè ME, et al. Cloning and characterization of small non-coding RNAs from grape. Plant J. 2009;59:750–63.

295. Xue T, Liu Z, Dai X, Xiang F. Primary root growth in Arabidopsis thaliana is inhibited by the miR159 mediated repression of MYB33, MYB65 and MYB101. Plant Sci. 2017;262:182–9.

296. Koyama T, Sato F, Ohme-Takagi M. Roles of miR319 and TCP transcription factors in leaf development. Plant Physiol. 2017;175:874–85.

297. Wang J, Long Y, Zhang J, Xue M, Huang G, Huang K, et al. Combined analysis and miRNA expression profiles of the flowering related genes in common wild rice (oryza rufipogon Griff.). Genes and Genomics. 2018;40:835–45.

298. Gentile A, Dias LI, Mattos RS, Ferreira TH, Menossi M. MicroRNAs and drought responses in sugarcane. Front Plant Sci. 2015;6(58):1–13.

299. Singh A, Roy S, Singh S, Das SS, Gautam V, Yadav S, et al. Phytohormonal crosstalk modulates the expression of miR166/165s, target Class III HD-ZIPs, and KANADI genes during root growth in Arabidopsis thaliana. Sci Rep. 2017;7(3408):1–13.

300. Wójcik AM, Nodine MD, Gaj MD. miR160 and miR166/165 Contribute to the LEC2-Mediated Auxin Response Involved in the Somatic Embryogenesis Induction in Arabidopsis. Front Plant Sci. 2017;8(2024):1–17.

301. Zhang C, Xian Z, Huang W, Li Z. Evidence for the biological function of miR403 in tomato development. Sci Hortic (Amsterdam). 2015;197:619–26.

302. Xu MY, Zhang L, Li WW, Hu XL, Wang MB, Fan YL, et al. Stress-induced early flowering is mediated by miR169 in Arabidopsis thaliana. J Exp Bot. 2014;65(1):89–101.

303. Li WX, Oono Y, Zhu J, He XJ, Wu JM, Iida K, et al. The Arabidopsis NFYA5 Transcription Factor Is Regulated Transcriptionally and Posttranscriptionally to Promote Drought Resistance. Plant Cell Online. 2008;20:2238–51.

304. Luan M, Xu M, Lu Y, Zhang Q, Zhang L, Zhang C. Family-Wide Survey of

miR169s and NF-YAs and Their Expression Profiles Response to Abiotic Stress in Maize Roots. 2014;9(3):1–11.

305. Wu L, Zhang Q, Zhou H, Ni F, Wu X, Qi Y. Rice MicroRNA Effector Complexes and Targets. Plant Cell. 2009;21:3421–35.

306. Dugas D V., Bartel B. Sucrose induction of Arabidopsis miR398 represses two Cu/Zn superoxide dismutases. Plant Mol Biol. 2008;67(4):403–17.

307. Valdes-Lopez O, Yang SS, Aparicio-Fabre R, Graham PH, Reyes JL, Vance CP, et al. MicroRNA expression profile in common bean (Phaseolus vulgaris) under nutrient deficiency stresses and manganese toxicity. New Phytol. 2010;187:805–18.

308. Ercoli MF, Rojas AML, Debernardi JM, Palatnik JF, Rodriguez RE. Control of cell proliferation and elongation by miR396. Plant Signal Behav. 2016;11(6):1–4.

309. Yang F, Liang G, Liu D, Yu D. Arabidopsis MiR396 Mediates the Development of Leaves and Flowers in Transgenic Tobacco. J Plant Biol. 2009;52(5):475–81.

310. Liu D, Song Y, Chen Z, Yu D. Ectopic expression of miR396 suppresses GRF target gene expression and alters leaf growth in Arabidopsis. Physiol Plant. 2009 Jun 1;136(2):223–36.

311. Zhang N, Yang J, Wang Z, Wen Y, Wang J, He W, et al. Identification of novel and conserved microRNAs related to drought stress in potato by deep sequencing. PLoS One. 2014;9(4):1–9.

312. Kantar M, Unver T, Budak H. Regulation of barley miRNAs upon dehydration stress correlated with target gene expression. Funct Integr Genomics. 2010;10(4):493–507.

313. Sunkar R, Zhou X, Zheng Y, Zhang W, Zhu JK. Identification of novel and candidate miRNAs in rice by high throughput sequencing. BMC Plant Biol. 2008;8(25):1–17.

314. Hamza NB, Sharma N, Tripathi A, Sanan-Mishra N. MicroRNA expression profiles in response to drought stress in Sorghum bicolor. Gene Expr Patterns. 2016;20(2):88–98.

315. Li J, Fu F, An M, Zhou S, She Y, Li W. Differential Expression of MicroRNAs in Response to Drought Stress in Maize. J Integr Agric. 2013;12(8):1414–22.

316. Pagliarani C, Vitali M, Ferrero M, Vitulo N, Incarbone M, Lovisolo C, et al. The Accumulation of miRNAs Differentially Modulated by Drought Stress Is Affected by Grafting in Grapevine. Plant Physiol. 2017;173:2180–95.

317. Reyes JL, Chua NH. ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during Arabidopsis seed germination. Plant J. 2007;49:592–606.

318. Aysin F. Identification of Abiotic Stress Related miRNAs in Thellungiella

Halophila Ecotypes. Middle East Technical University; 2015.

319. Medina C, da Rocha M, Magliano M, Ratpopoulo A, Revel B, Marteu N, et al. Characterization of microRNAs from Arabidopsis galls highlights a role for miR159 in the plant response to the root-knot nematode Meloidogyne incognita. New Phytol. 2017;216:882–96.

320. Zhao W, Li Z, Fan J, Hu C, Yang R, Qi X, et al. Identification of jasmonic acid-associated microRNAs and characterization of the regulatory roles of the miR319/TCP4 module under root-knot nematode stress in tomato. J Exp Bot. 2015;66(15):4653–67.

321. Pérez-Quintero ÁL, Quintero A, Urrego O, Vanegas P, López C. Bioinformatic identification of cassava miRNAs differentially expressed in response to infection by Xanthomonas axonopodis pv. manihotis. BMC Plant Biol. 2012;12(29):1–11.

322. Navarro L, Dunoyer P, Jay F, Arnold B, Dharmasiri N, Estelle M, et al. A Plant miRNA Contributes to Antibacterial Resistance by Repressing Auxin Signaling. Science (80-). 2006;312:436–9.

323. Xian Z, Huang W, Yang Y, Tang N, Zhang C, Ren M, et al. MiR168 influences phase transition, leaf epinasty, and fruit development via SlAGO1s in tomato. J Exp Bot. 2014;65(22):6655–66.

324. Yu X, Hou Y, Chen W, Wang S, Wang P, Qu S. Malus hupehensis miR168 Targets to ARGONAUTE1 and contributes to the resistance against botryosphaeria dothidea infection by altering defense responses. Plant Cell Physiol. 2017;58(9):1541–57.

325. Gandikota M, Birkenbihl RP, Höhmann S, Cardon GH, Saedler H, Huijser P. The miRNA156/157 recognition element in the 3′ UTR of the Arabidopsis SBP box gene SPL3 prevents early flowering by translational inhibition in seedlings. Plant J. 2007;49:683–93.

326. Buhtz A, Springer F, Chappell L, Baulcombe DC, Kehr J. Identification and characterization of small RNAs from the phloem of Brassica napus. Plant J. 2008;53:739–49.

327. Burklew CE, Ashlock J, Winfrey WB, Zhang B. Effects of aluminum oxide nanoparticles on the growth, development, and microrna expression of tobacco (nicotiana tabacum). PLoS One. 2012;7(5):1–9.

328. Casadevall R, Rodriguez RE, Debernardi JM, Palatnik JF, Casati P. Repression of Growth Regulating Factors by the MicroRNA396 Inhibits Cell Proliferation by UV-B Radiation in Arabidopsis Leaves. Plant Cell. 2013;25:3570–83.

329. Andika IB, Kondo H, Tamada T. Evidence That RNA Silencing-Mediated Resistance to Beet necrotic yellow vein virus Is Less Effective in Roots Than in Leaves. Mol Plant-Microbe Interact. 2005;18(3):194–204.

330. Maghuly F, Ramkat RC, Laimer M. Virus versus host plant microRNAs: Who

determines the outcome of the interaction? PLoS One. 2014;9(6):1–16.

331. Reyes CA, Ocolotobiche EE, Marmisollé FE, Robles Luna G, Borniego MB, Bazzini AA, et al. Citrus psorosis virus 24K protein interacts with citrus miRNA precursors, affects their processing and subsequent miRNA accumulation and target expression. Mol Plant Pathol. 2016;17(3):317–29.

332. Du Z, Chen A, Chen W, Westwood JH, Baulcombe DC, Carr JP. Using a Viral Vector to Reveal the Role of MicroRNA159 in Disease Symptom Induction by a Severe Strain of Cucumber mosaic virus. Plant Physiol. 2014;164:1378–88.

333. Abreu PMV, Gaspar CG, Buss DS, Ventura JA, Ferreira PCG, Fernandes PMB. Carica papaya microRNAs are responsive to Papaya meleira virus infection. PLoS One. 2014;9(7):1–13.

334. Xu D, Mou G, Wang K, Zhou G. MicroRNAs responding to southern rice black-streaked dwarf virus infection and their target genes associated with symptom development in rice. Virus Res. 2014;190:60–8.

335. He XF, Fang YY, Feng L, Guo HS. Characterization of conserved and novel microRNAs and their targets, including a TuMV-induced TIR-NBS-LRR class R gene-derived novel miRNA in Brassica. FEBS Lett. 2008;582:2445–52.

336. Wu J, Yang R, Yang Z, Yao S, Zhao S, Wang Y, et al. ROS accumulation and antiviral defence control by microRNA528 in rice. Nat Plants. 2017;3(16203).

337. Fahim M, Millar AA, Wood CC, Larkin PJ. Resistance to Wheat streak mosaic virus generated by expression of an artificial polycistronic microRNA in wheat. Plant Biotechnol J. 2012;10:150–63.

338. Bao D, Ganbaatar O, Cui X, Yu R, Bao W, Falk BW, et al. Down-regulation of genes coding for core RNAi components and disease resistance proteins via corresponding microRNAs might be correlated with successful Soybean mosaic virus infection in soybean. Mol Plant Pathol. 2018;19(4):948–60.

339. Yang JY, Iwasaki M, Machida C, Machida Y, Zhou X, Chua NH. βCl, the pathogenicity factor of TYLCCNV, interacts with AS1 to alter leaf development and suppress selective jasmonic acid responses. Genes Dev. 2008;22:2564–77.

340. Baig MS, Khan JA. Identification of gossypium hirsutum mirna targets in the genome of cotton leaf curl multan virus and betasatellite. Indian J Biotechnol. 2013;12:336–42.

341. Xia Z, Zhao Z, Gao X, Jiao Z, Wu Y, Zhou T, et al. Characterization of Maize miRNAs in Response to Synergistic Infection of Maize Chlorotic Mottle Virus and Sugarcane Mosaic Virus. Int J Mol Sci. 2019;20(3146):1–15.

342. Kasschau KD, Xie Z, Allen E, Llave C, Chapman EJ, Krizan KA, et al. P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with Arabidopsis development and miRNA function. Dev Cell. 2003;4:205–17.

343. Naqvi AR, Haq QM, Mukherjee SK. MicroRNA profiling of tomato leaf curl new delhi virus (tolcndv) infected tomato leaves indicates that deregulation of mir159/319 and mir172 might be linked with leaf curl disease. Virol J. 2010;7(281):1–16.

344. Várallyay É, Válóczi A, Ágyi Á, Burgyán J, Havelda Z. Plant virus-mediated induction of miR168 is associated with repression of ARGONAUTE1 accumulation. EMBO J. 2010;29(20):3507–19.

345. Abdelkhalek A, Sanan-Mishra N. Differential expression profiles of tomato miRNAs induced by tobacco mosaic virus. J Agric Sci Technol. 2019;21(2):475–85.

346. Križnik M, Petek M, Dobnik D, Ramšak Ž, Baebler Š. Salicylic Acid Perturbs sRNA-Gibberellin Regulatory Network in Immune Response of Potato to Potato virus Y Infection. Front Plant Sci. 2017;8(2195):1–14.

347. Yin X, Wang J, Cheng H, Wang X, Yu D. Detection and evolutionary analysis of soybean miRNAs responsive to soybean mosaic virus. Planta. 2013;237(5):1213–25.

348. Bazzini AA, Hopp HE, Beachy RN, Asurmendi S. Infection and coaccumulation of tobacco mosaic virus proteins alter microRNA levels, correlating with symptom and plant development. PNAS. 2007;104(29):12157–62.

349. Pacheco R, García-Marcos A, Barajas D, Martiáñez J, Tenllado F. PVX–potyvirus synergistic infections differentially alter microRNA accumulation in Nicotiana benthamiana. Virus Res. 2012;165(2):231–5.

350. Chapman EJ, Prokhnevsky AI, Gopinath K, Dolja V V, Carrington JC. Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step. Genes Dev. 2004;18:1179–86.

351. Yu B, Chapman EJ, Yang Z, Carrington JC, Chen X. Transgenically expressed viral RNA silencing suppressors interfere with microRNA methylation in Arabidopsis. FEBS Lett. 2006;580(13):3117–20.

352. Zhang X, Yuan Y, Pei Y, Lin S, Tuschl T, Patel DJ, et al. Cucumber mosaic virus-encoded 2b suppressor inhibits Arabidopsis Argonaute1 cleavage activity to counter plant defense. Genes Dev. 2006;20:3255–68.

353. Liu H, Reavy B, Swanson M, MacFarlane SA. Functional replacement of the Tobacco rattle virus cysteine-rich protein by pathogenicity proteins from unrelated plant viruses. Virology. 2002;298:232–9.

354. Naqvi AR, Choudhury NR, Haq QMR, Mukherjee SK. MicroRNAs as biomarkers in Tomato Leaf Curl Virus (ToLCV) disease. Nucleic Acids Symp Ser. 2008;52:507–8.

355. Tang Y, Wang F, Zhao J, Xie K, Hong Y, Liu Y. Virus-Based MicroRNA Expression for Gene Functional Analysis in Plants. Plant Physiol. 2010;153:632–41.

356. Llave C. Virus-derived small interfering RNAs at the core of plant;virus interactions. Trends Plant Sci. 2010;15(12):701–7.

357. Deleris A, Gallego-Bartolome J, Bao J, Kasschau KD, Carrington JC, Voinnet O. Hierarchical Action and Inhibition of Plant Dicer-Like Proteins in Antiviral Defense. Science (80-). 2006;313:68–71.

358. Reamon-Büttner SM, Wricke G. Evidence of Tetrasomic Inheritance in Beta corolliflora. J Sugar Beet Res. 1993;30(4):321–7.

359. Zhang Y, Nan J, Yu B, Yu B. OMICS Technologies and Applications in Sugar Beet. Front Plant Sci. 2016;7(900):1–11.

360. Biancardi E, Lewellen RT, De Biaggi M, Erichsen AW. The origin of rhizomania resistance in sugar beet. Euphytica. 2002;127:383–97.

361. Acharya LK, Hota S, Pramanik K. Rhizomania - A Review. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2017;6(11):358–67.

362. Galein Y, Legrève A, Bragard C. Long Term Management of Rhizomania Disease—Insight Into the Changes of the Beet necrotic yellow vein virus RNA-3 Observed Under Resistant and Non-resistant Sugar Beet Fields. Front Plant Sci. 2018;9(795):1–15.

363. Gidner S, Lennefors B-L, Nilsson N-O, Bensefelt J, Johansson E, Gyllenspetz U, et al. QTL mapping of BNYVV resistance from the WB41 source in sugar beet. Genome. 2005;48(2):279–85.

364. Grimmer MK, Trybush S, Hanley S, Francis SA, Karp A, Asher MJC. An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to Beet necrotic yellow vein virus. Theor Appl Genet. 2007;114(7):1151–60.

365. Grimmer MK, Kraft T, Francis SA, Asher MJC. QTL mapping of BNYVV resistance from the WB258 source in sugar beet. Plant Breed. 2008;127(6):650–2.

366. De Biaggi M. Rizomania. In: Biancardi E, Campbell LG, Skaracis G., De Biaggi M, editors. Genetics and Breeding of Sugar Beet. Science Publishers; 2005. p. 126–9.

367. Pavli O., Kelaidi G., Tampakaki A., Skaracis G. The HrpZ gene of Pseudomonas syringae pv. phaseolicola enhances resistance to rhizomania disease in transgenic Nicotiana benthamiana and sugar beet. PLoS One. 2011;6(3):1–9.

368. Lennefors BL, Savenkov EI, Bensefelt J, Wremerth-Weich E, Van Roggen P, Tuvesson S, et al. dsRNA-mediated resistance to Beet Necrotic Yellow Vein Virus infections in sugar beet (Beta vulgaris L. ssp. vulgaris). Mol Breed. 2006;18:313–25.

369. Pavli OI, Tampakaki AP, Skaracis GN. High Level Resistance against Rhizomania Disease by Simultaneously Integrating Two Distinct Defense Mechanisms. PLoS

One. 2012;7(12):1–6.

370. Webb K, Broccardo C, Prenni J, Wintermantel W. Proteomic Profiling of Sugar Beet (Beta vulgaris) Leaves during Rhizomania Compatible Interactions. Proteomes. 2014;2:208–23.

371. Paul H, Henken B, Scholten OE, Lange W. Use of zoospores of Polymyxa betae in screening beet seedlings for resistance to beet necrotic yellow vein virus. Netherlands J Plant Pathol. 1993;99(3):151–60.

372. Şeker Dairesi Başkanlığı. Dünyada şeker sektörü. 2019.

373. Shrestha N, Geerts S, Raes D, Horemans S, Soentjens S, Maupas F, et al. Yield response of sugar beets to water stress under Western European conditions. Agric Water Manag. 2010;97(2):346–50.

374. Qi A, Jaggard KW. Partitioning climatic drought into effects of water stress and hot temperature in the UK. Zuckerindustrie Sugar Ind. 2006;131(6):412–5.

375. Morillo-Velarde R, Ober ES. Water Use and Irrigation. In: Draycott AP, editor. Sugar beet. Blackwell Publishing; 2006. p. 221–55.

376. Ribeiro IC, Pinheiro C, Ribeiro CM, Veloso MM, Simoes-Costa MC, Evaristo I, et al. Genetic Diversity and Physiological Performance of Portuguese Wild Beet (Beta vulgaris spp. maritima) from Three Contrasting Habitats. Front Plant Sci. 2016;7(1293):1–14.

377. Monteiro F, Frese L, Castro S, Duarte MC, Paulo OS, Loureiro J, et al. Genetic and Genomic Tools to Asssist Sugar Beet Improvement: The Value of the Crop Wild Relatives. Front Plant Sci. 2018;9(February):1–8.

378. Lewellen RT. Use of Plant Introductions To Improve Populations and Hybrids of Sugarbeet. In: Shands HL, Weisner LE, editors. Use of plant introductions in cultivator development CSSA Special Publication Number 20. 1992. p. 117–35.

379. Kerr S. Variety interactions with sowing, soils and harvest. Br Sugar Beet Rev. 2000;68:18–22.

380. Koenig R, Holtssculte B, Deml G, Lüddecke P, Schuhmann S, Maaß C, et al. Beet necrotic yellow vein virus genome reassortments in a resistant sugar beet variety showing - in a small area in France - strong rhizomania symptoms. J Plant Dis Prot. 2009;116(1):7–9.

381. Bornemann K, Hanse B, Varrelmann M, Stevens M. Occurrence of resistance-breaking strains of Beet necrotic yellow vein virus in sugar beet in northwestern Europe and identification of a new variant of the viral pathogenicity factor P25. Plant Pathol. 2015;64:25–34.

382. Lange W, Müller J, De BTSM. Virulence in the beet cyst nematode (Heterodera schachtii) versus some alien genes for resistance in beet. Fundam Appl Nematol.

1993;16(5):447–54.

383. Ergül A, Khabbazi SD, Oğuz MÇ, Özmen CY, Gürel S, Gürel E. In vitro multiplication of wild relatives in genus Beta conserves the invaluable threatened germplasms. Plant Cell Tissue Organ Cult. 2018;134(1):169–75.

384. Harju VA, Skelton A, Clover GRG, Ratti C, Boonham N, Henry CM, et al. The use of real-time RT-PCR (TaqMan®) and post-ELISA virus release for the detection of Beet necrotic yellow vein virus types containing RNA 5 and its comparison with conventional RT-PCR. J Virol Methods. 2005;123(1):73–80.

385. Thermo Fisher Scientific [Internet]. Available from: http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/nd-1000-v3.8-users-manual-8 5x11.pdf

386. Fleige S, Pfaffl MW. RNA integrity and the effect on the real-time qRT-PCR performance. Mol Aspects Med. 2006;27(2–3):126–39.

387. Jahn CE, Charkowski AO, Willis DK. Evaluation of isolation methods and RNA integrity for bacterial RNA quantitation. J Microbiol Methods. 2008;75(2):318–24.

388. Agilent [Internet]. Available from: https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5990-9613EN.pdf

389. TruSeq Small RNA Sample Preparation Guide [Internet]. Available from: https://www.utsouthwestern.edu/labs/next-generation-sequencing-core/assets/truseq-small-rna-sample-prep-guide.pdf

390. Illumina [Internet]. Available from: https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms.html

391. Illumina [Internet]. Available from: https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf

392. Qiagen. CLC Genomics Workbench [Internet]. Available from: https://www.qiagenbioinformatics.com/products/clc-genomics-workbench/

393. Statistical Package for the Social Sciences. SPSS [Internet]. Available from: https://www.ibm.com/products/spss-statistics

394. Paicu C, Mohorianu I, Stocks M, Xu P, Coince A, Billmeier M, et al. miRCat2: accurate prediction of plant and animal microRNAs from next-generation sequencing datasets. Bioinformatics. 2017;33(16):2446–54.

395. Dai X, Zhuang Z, Zhao PX. psRNATarget: a plant small RNA target analysis server (2017 release). Nucleic Acids Res. 2018;46:49–54.

396. Kanehisa M, Goto S. KEGG : Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Nucleic Acids Res. 2000;28(1):27–30.

397. Kanehisa M. (KEGG) Toward pathway engineering: A new database of genetic and molecular pathways. Sci Technol Japan. 1996;59:34–8.

398. Mi H, Muruganujan A, Ebert D, Huang X, Thomas PD. PANTHER version 14: More genomes, a new PANTHER GO-slim and improvements in enrichment analysis tools. Nucleic Acids Res. 2019;47:419–26.

399. National Center for Biotechnology Information. NCBI [Internet]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/

400. Ensembl Plant [Internet]. Available from: http://plants.ensembl.org

401. Uniprot [Internet]. Available from: https://www.uniprot.org/

402. TAIR [Internet]. Available from: https://www.arabidopsis.org

403. The Beta vulgaris Resource [Internet]. Available from: http://bvseq.boku.ac.at/Genome/Download/RefBeet-1.2/

404. Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. Nucleic Acids Res. 2008;36(Database issue):154–8.

405. Kozomara A, Griffiths-Jones S. MiRBase: Annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. Nucleic Acids Res. 2014;42(Database issue):68–73.

406. mirBase [Internet]. Available from: http://www.mirbase.org/ftp.shtml

407. Kozomara A, Griffiths-Jones S. MiRBase: Integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. Nucleic Acids Res. 2011;39:152–7.

408. Zhou B, Kang Y, Leng J, Xu Q. Genome-Wide Analysis of the miRNA–mRNAs Network Involved in Cold Tolerance in Populus simonii × P. nigra. Genes (Basel). 2019;10(430):1–17.

409. Huang Y, Ren HT, Xiong JL, Gao XC, Sun XH. Identification and characterization of known and novel microRNAs in three tissues of Chinese giant salamander base on deep sequencing approach. Genomics. 2017;109:258–64.

410. PsRNATarget. A Plant Small RNA Target Analysis Server [Internet]. Available from: http://plantgrn.noble.org/psRNATarget

411. KEGG. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [Internet]. Available from: https://www.genome.jp/kegg/kaas

412. Panther. Protein ANalysis THrough Evolutionary Relationships [Internet]. Available from: http://pantherdb.org

413. Protocol. miScript ® II RT Kit. 2016.

414. Nadiya NAF, Thomas J. Identification and characterization of drought responsive

microRNAs and their target genes in cardamom (Elettaria cardamomum Maton). Plant Growth Regul. 2019;87(2):201–16.

415. Timotijević GS, Milisavljević MD, Nikolić DB, Milovanović BM, Nikolić DS, Nikolic M, et al. Establishment and in-house validation of stem-loop RT PCR method for microRNA398 expression analysis. Genetika. 2015;47(2):405–16.

416. Tijsen AJ. MicroRNAs in cardiac diseases: The devil is in the details. Universiteit van Amsterdam; 2013.

417. Turner M, Adhikari S, Subramanian S. Optimizing stem-loop qPCR assays through multiplexed cDNA synthesis of U6 and miRNAs. Plant Signal Behav. 2013;8(8):1–4.

418. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2−ΔΔCT Method. Methods. 2001;25(4):402–8.

419. Mishra KB, Iannacone R, Petrozza A, Mishra A, Armentano N, La Vecchia G, et al. Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. Plant Sci. 2012;182:79–86.

420. Yin F, Gao J, Liu M, Qin C, Zhang W, Yang A, et al. Genome-wide analysis of Water-stress-responsive microRNA expression profile in tobacco roots. Funct Integr Genomics. 2014;14(2):319–32.

421. Luan Y, Cui J, Zhai J, Li J, Han L, Meng J. High-throughput sequencing reveals differential expression of miRNAs in tomato inoculated with Phytophthora infestans. Planta. 2015;241(6):1405–16.

422. Ergen NZ, Budak H. Sequencing over 13 000 expressed sequence tags from six subtractive cDNA libraries of wild and modern wheats following slow drought stress. Plant, Cell Environ. 2009;32:220–36.

423. Stamm MD, Enders LS, Donze-Reiner TJ, Baxendale FP, Siegfried BD, Heng-Moss TM. Transcriptional response of soybean to thiamethoxam seed treatment in the presence and absence of drought stress. BMC Genomics. 2014;15(1055):1–13.

424. Wang Y-N, Tang L, Hou Y, Wang P, Yang H, Wei C-L. Differential transcriptome analysis of leaves of tea plant (Camellia sinensis) provides comprehensive insights into the defense responses to Ectropis oblique attack using RNA-Seq. Funct Integr Genomics. 2016;16(4):383–98.

425. Wang L, Liu H, Li D, Chen H. Identification and characterization of maize microRNAs involved in the very early stage of seed germination. BMC Genomics. 2011;12(154):1–10.

426. Morin RD, Aksay G, Dolgosheina E, Ebhardt HA, Magrini V, Mardis ER, et al. Comparative analysis of the small RNA transcriptomes of Pinus contorta and Oryza sativa. Genome Res. 2008;18:571–84.

427. Liu H, Wang Q, Yu M, Zhang Y, Wu Y, Zhang H. Transgenic salt-tolerant sugar beet (Beta vulgaris L.) constitutively expressing an Arabidopsis thaliana vacuolar Na+/H+ antiporter gene, AtNHX3, accumulates more soluble sugar but less salt in storage roots. Plant, Cell Environ. 2008;31:1325–34.

428. Araport [Internet]. Available from: https://www.araport.org/

429. Palatnik JF, Wollmann H, Schommer C, Schwab R, Boisbouvier J, Rodriguez R, et al. Sequence and Expression Differences Underlie Functional Specialization of Arabidopsis MicroRNAs miR159 and miR319. Dev Cell. 2007;13:115–25.

430. Singh A, Singh S, Panigrahi KCS, Reski R, Sarkar AK. Balanced activity of microRNA166/165 and its target transcripts from the class III homeodomain-leucine zipper family regulates root growth in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Rep. 2014;33(6):945–53.

431. Iwamoto M, Tagiri A. MicroRNA-targeted transcription factor gene RDD1 promotes nutrient ion uptake and accumulation in rice. Plant J. 2016;85:466–77.

432. Kinoshita N, Wang H, Kasahara H, Liu J, MacPherson C, Machida Y, et al. IAA-Ala Resistant3, an Evolutionarily Conserved Target of miR167, Mediates Arabidopsis Root Architecture Changes during High Osmotic Stress. Plant Cell. 2012;24:3590–602.

433. Meng JG, Zhang XD, Tan SK, Zhao KX, Yang ZM. Genome-wide identification of Cd-responsive NRAMP transporter genes and analyzing expression of NRAMP 1 mediated by miR167 in Brassica napus. Biometals. 2017;30(6):917–31.

434. Pertermann R, Tamilarasan S, Gursinsky T, Gambino G, Schuck J, Weinholdt C, et al. A viral suppressor modulates the plant immune response early in infection by regulating MicroRNA activity. MBio. 2018;9(2):1–19.

435. Ma Z, Hu X, Cai W, Huang W, Zhou X, Luo Q, et al. Arabidopsis miR171-Targeted Scarecrow-Like Proteins Bind to GT cis-Elements and Mediate Gibberellin-Regulated Chlorophyll Biosynthesis under Light Conditions. 2014;10(8):1–12.

436. Marin E, Jouannet V, Herz A, Lokerse AS, Weijers D, Vaucheret H, et al. miR390, Arabidopsis TAS3 tasiRNAs, and Their AUXIN RESPONSE FACTOR Targets Define an Autoregulatory Network Quantitatively Regulating Lateral Root Growth. Plant Cell. 2010;22:1104–17.

437. Wang L, Liu Z, Qiao M, Xiang F. miR393 inhibits in vitro shoot regeneration in Arabidopsis thaliana via repressing TIR1. Plant Sci. 2018;266:1–8.

438. Kim J-S, Mizoi J, Kidokoro S, Maruyama K, Nakajima J, Nakashima K, et al. Arabidopsis GROWTH-REGULATING FACTOR7 Functions as a Transcriptional Repressor of Abscisic Acid- and Osmotic Stress-Responsive Genes, Including DREB2A. Plant Cell. 2012;24:3393–405.

439. Chen L, Luan Y, Zhai J. Sp-miR396a-5p acts as a stress-responsive genes regulator

by conferring tolerance to abiotic stresses and susceptibility to Phytophthora nicotianae infection in transgenic tobacco. Plant Cell Rep. 2015;34(12):2013–25.

440. Liu W, Zhou Y, Li X, Wang X, Dong Y, Wang N, et al. Tissue-Specific Regulation of Gma-miR396 Family on Coordinating Development and Low Water Availability Responses. Front Plant Sci. 2017;8(1112):1–14.

441. Trindade I, Capitão C, Dalmay T, Fevereiro MP, Santos DM dos. miR398 and miR408 are up-regulated in response to water deficit in Medicago truncatula. Planta. 2010;231(3):705–16.

442. Han L, Weng K, Ma H, Xiang G, Li Z, Wang Y, et al. Identification and Characterization of Erysiphe necator-Responsive MicroRNAs in Chinese Wild Vitis pseudoreticulata by High-Throughput Sequencing. Front Plant Sci. 2016;7(621):1–14.

443. Mandadi KK, Scholthof KBG. Genome-Wide Analysis of Alternative Splicing Landscapes Modulated during Plant-Virus Interactions in Brachypodium distachyon. Plant Cell. 2015;27:71–85.

444. He K, Gou X, Yuan T, Lin H, Asami T, Yoshida S, et al. BAK1 and BKK1 Regulate Brassinosteroid-Dependent Growth and Brassinosteroid-Independent Cell-Death Pathways. Curr Biol. 2007;17:1109–15.

445. Guilfoyle TJ. Auxin-regulated genes and promoters. In: Hooykaas PJJ, Hall MA, Libbenga KR, editors. Biochemistry and molecular biology of plant hormones. 1st ed. Amsterdam: Elsevier; 1999. p. 541.

446. Ueguchi-Tanaka M, Ashikari M, Nakajima M, Itoh H, Katoh E, Kobayashi M, et al. GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin. Nature. 2005;437(7059):693–8.

447. Gomi K, Sasaki A, Itoh H, Ueguchi-tanaka M, Ashikari M, Kitano H, et al. GID2, an F-box subunit of the SCF E3 complex , specically interacts with phosphorylated SLR1 protein and regulates the gibberellin-dependent degradation of SLR1 in rice. Plant J. 2004;37:626–34.

448. Itoh H, Matsuoka M, Steber C. A role for the ubiquitin-26S-proteasome pathway in gibberellin signaling. Trends Plant Sci. 2003 Nov 1;8:492–7.

449. Imamura A, Kiba T, Tajima Y, Yamashino T, Mizuno T. In Vivo and In Vitro Characterization of the ARR11 Response Regulator Implicated in the His-to-Asp Phosphorelay Signal Transduction in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Physiol. 2003;44(2):122–31.

450. Kendrick MD, Chang C. Ethylene signaling: new levels of complexity and regulation. Curr Opin Plant Biol. 2008;11(5):479–85.

451. Binder BM, Chang C, Schaller GE. Perception of Ethylene by Plants – Ethylene Receptors. In: McManus MT, editor. Annual Plant Reviews Volume 44: The Plant

Hormone Ethylene. Blackwell Publishing Ltd; 2012.

452. Qu X, Hall BP, Gao Z, Schaller GE. A strong constitutive ethylene-response phenotype conferred on Arabidopsis plants containing null mutations in the ethylene receptors ETR1 and ERS1. BMC Plant Biol. 2007;7(3):1–15.

453. Larson RL, Wintermantel WM, Hill A, Fortis L, Nunez A. Proteome changes in sugar beet in response to Beet necrotic yellow vein virus. Physiol Mol Plant Pathol. 2008;72:62–72.

454. Slattery CJ, Kavakli IH, Okita TW. Engineering starch for increased quantity and quality. Trends Plant Sci. 2000;5(7):291–8.

455. Ramos MLG, Gordon AJ, Minchin FR, Sprent JI, PAarsons R. Effect of Water Stress on Nodule Physiology and Biochemistry of a Drought Tolerant Cultivar of Common Bean (Phaseolus vulgaris L.). Ann Bot. 1999;83(1):57–63.

456. Balibrea ME, Rus-Alvarez AM, Bolarin MC, Perez-Alfocea F. Fast changes in soluble carbohydrates and proline contents in tomato seedlings in response to ionic and non-ionic iso-osmotic stresses. J Plant Physiol. 1997;151(2):221–6.

457. Guy CL. Cold Acclimation and Freezing Stress Tolerance: Role of Protein Metabolism. Annu Rev Plant Physiol. 1990;41:187–223.

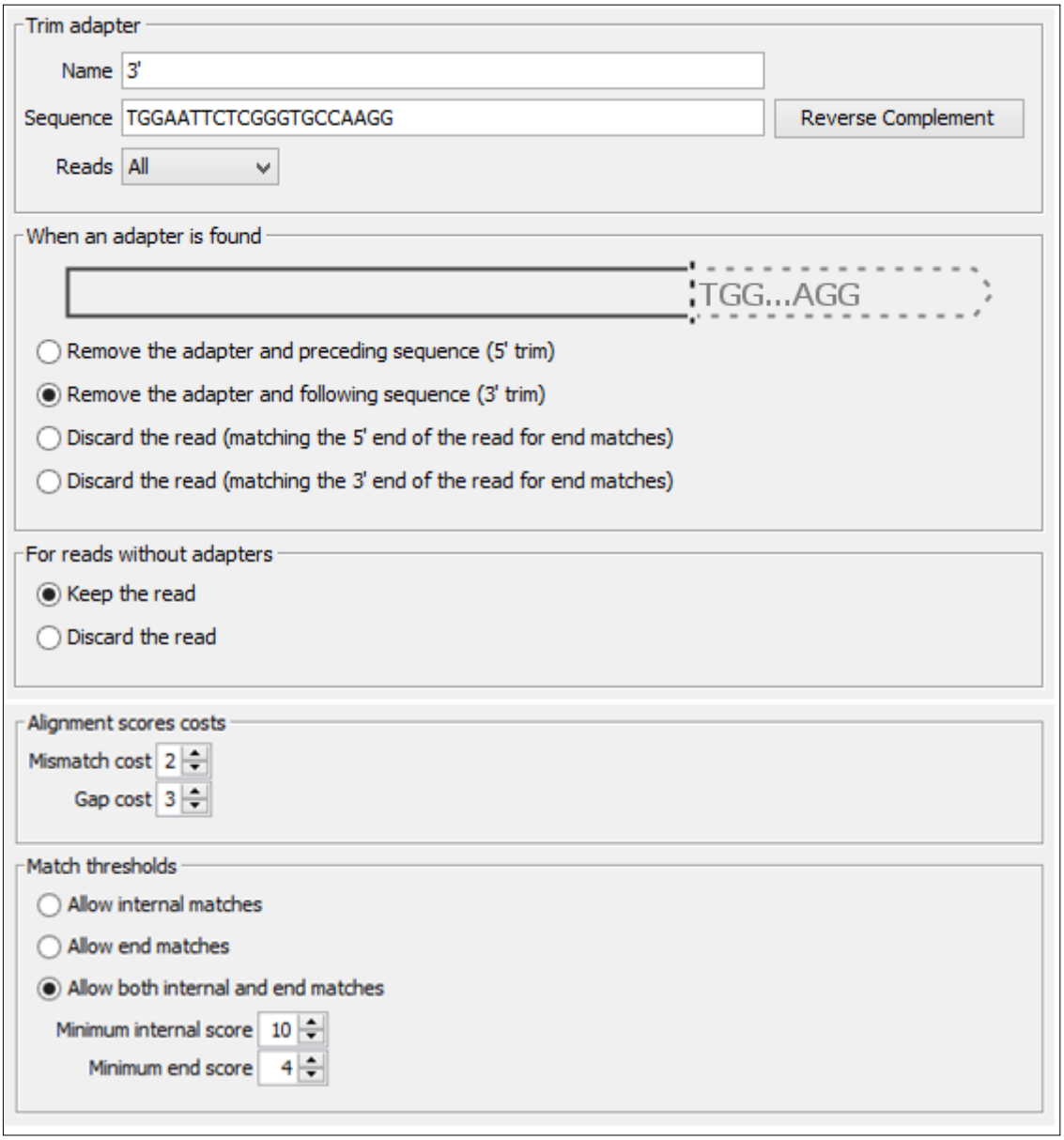
458. Wang HL, Lee P Du, Chen WL, Huang DJ, Su JC. Osmotic stress-induced changes of sucrose metabolism in cultured sweet potato cells. J Exp Bot. 2000;51(353):1991–9.

459. Chen X, Xia J, Xia Z, Zhang H, Zeng C, Lu C, et al. Potential functions of microRNAs in starch metabolism and development revealed by miRNA transcriptome profiling of cassava cultivars and their wild progenitor. BMC Plant Biol. 2015;15(33):1–11.

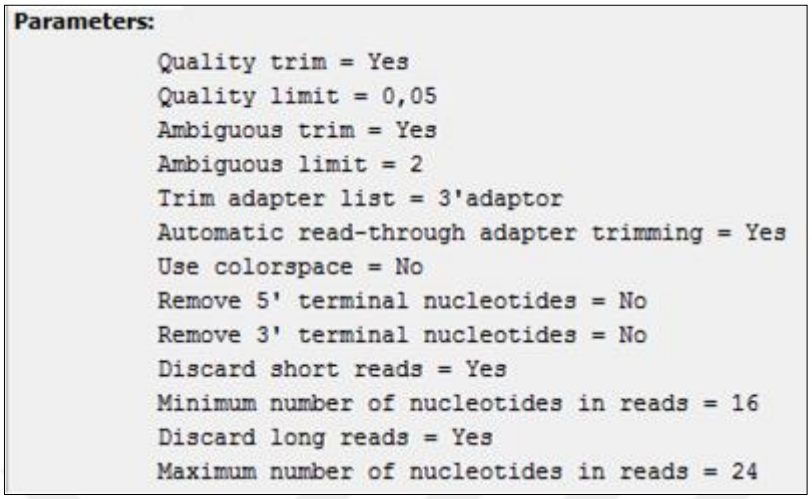
460. Peng T, Sun H, Du Y, Zhang J, Li J, Liu Y, et al. Characterization and Expression Patterns of microRNAs Involved in Rice Grain Filling. PLoS One. 2013;8(1):1–14.

EKLER

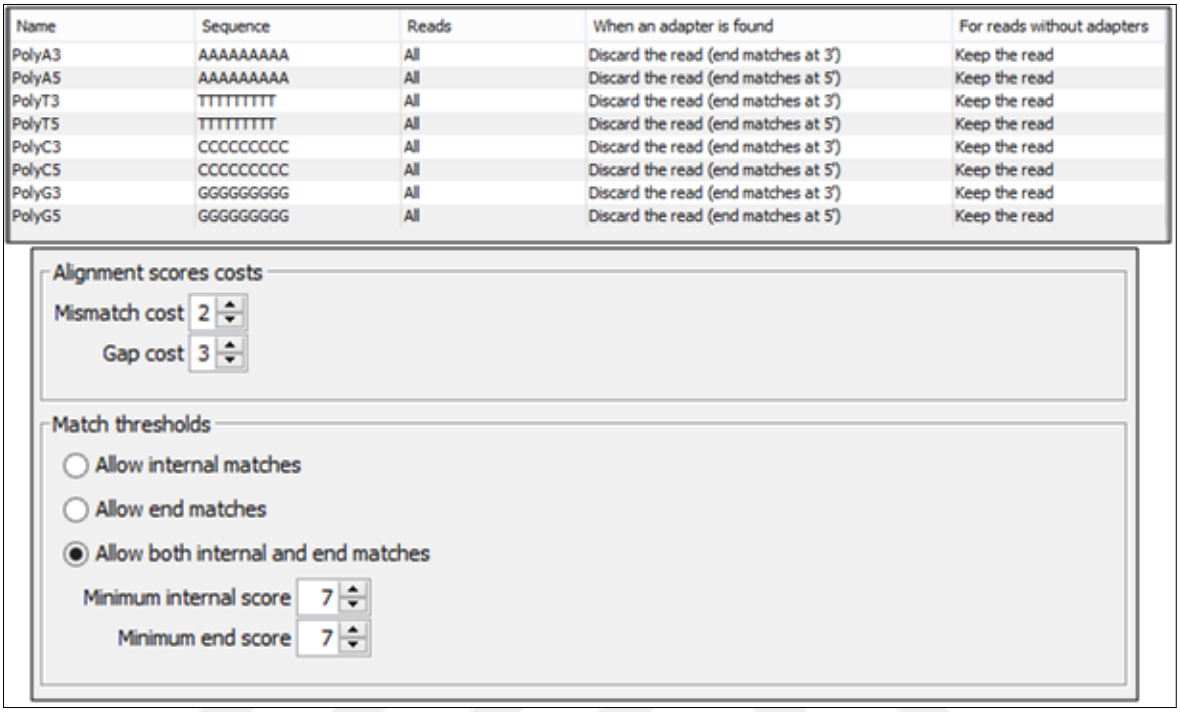
Ek 1: Ham okuma verilerinden adaptör çıkartma işleminde kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü



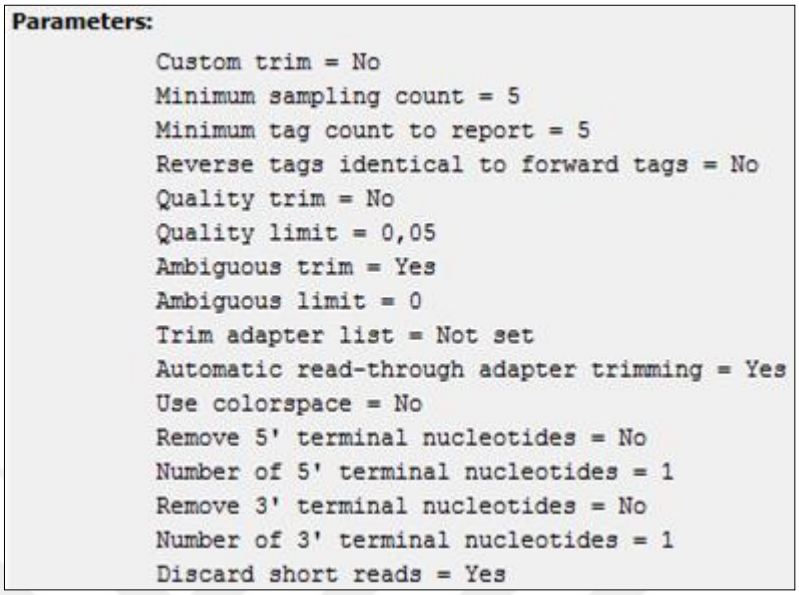
Ek 2: Ham okuma verilerinden adaptör çıkartma ve uzunluk işleminde kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü



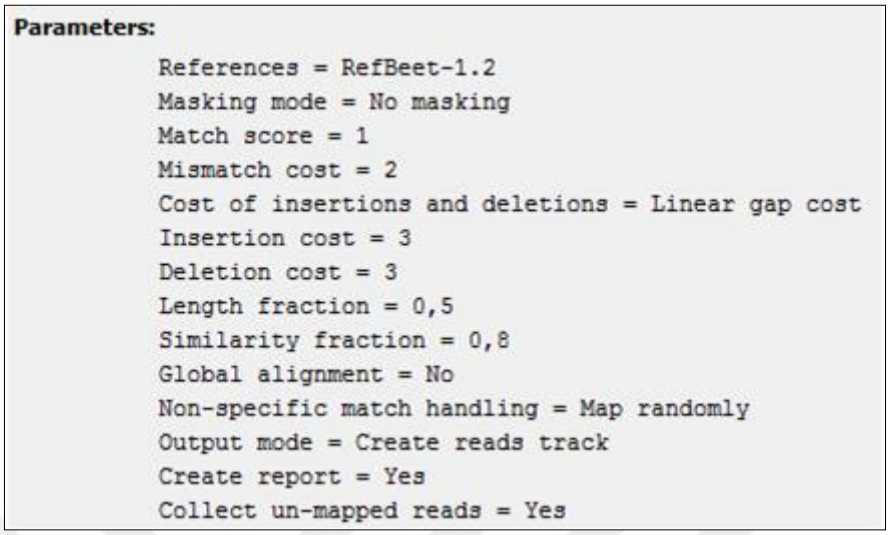
Ek 3: Adaptör çıkarma ve uzunluk filtreleme işleminden sonra çoklu nükleotid tekrarları içeren dizilerin çıkartılması için kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü



Ek 4: Adaptör dizileri çıkartılmış ve uzunluk filtrelemesi yapılmış dizilerden en az 5 okumaya sahip dizilerin filtrelenmesine ait ekran görüntüsü



Ek 5: Analizlere devam edilen dizilerin *Beta Vulgaris* genomuna haritlanması için kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü



Ek 6: Analizlere devam edilen dizilerin *Beta Corolliflora* RNA-dizileme kontiglerine haritalanması için kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü

Parameters:

Contigs = BetaCorollifloraRNAseq
Masking mode = No masking
Update contigs = No
Match score = 1
Mismatch cost = 2
Cost of insertions and deletions = Linear gap cost
Insertion cost = 3
Deletion cost = 3
Length fraction = 0,5
Similarity fraction = 0,8
Global alignment = No
Non-specific match handling = Map randomly
Output mode = Create reads track
Create report = Yes
Collect un-mapped reads = Yes

Ek 7: Bilinen miRNA'ların belirlenmesi amacıyla miRBase anotasyonu sırasında kullanılan türlerin listesi

miRBase anotasyonunda kullanılan türler		
Acacia auriculiformis	*Digitalis purpurea*	*Panax ginseng*
Acacia mangium	*Elaeis guineensis*	*Phaseolus vulgaris*
Aegilops tauschii	*Festuca arundinacea*	*Physcomitrella patens*
Amborella trichopoda	*Glycine max*	*Picea abies*
Aquilegia caerulea	*Glycine soja*	*Pinus densata*
Arabidopsis lyrata	*Gossypium arboreum*	*Pinus taeda*
Arabidopsis thaliana	*Gossypium herbaceum*	*Populus euphratica*
Arachis hypogaea	*Gossypium hirsutum*	*Populus trichocarpa*
Avicennia marina	*Gossypium raimondii*	*Prunus persica*
Brachypodium distachyon	*Helianthus annuus*	*Rehmannia glutinosa*
Brassica napus	*Helianthus argophyllus*	*Ricinus communis*
Brassica oleracea	*Helianthus ciliaris*	*Saccharum officinarum*
Brassica rapa	*Helianthus exilis*	*Saccharum sp*
Bruguiera cylindrica	*Helianthus paradoxus*	*Salvia sclarea*
Bruguiera gymnorhiza	*Helianthus petiolaris*	*Selaginella moellendorffii*
Carica papaya	*Helianthus tuberosus*	*Solanum lycopersicum*
Chlamydomonas reinhardtii	*Hevea brasiliensis*	*Solanum tuberosum*
Citrus clementina	*Hordeum vulgare*	*Sorghum bicolor*
Citrus reticulata	*Linum usitatissimum*	*Theobroma cacao*
Citrus sinensis	*Lotus japonicus*	*Triticum aestivum*
Citrus trifoliata	*Malus domestica*	*Triticum turgidum*
Cucumis melo	*Manihot esculenta*	*Vigna unguiculata*
Cucumis sativus	*Medicago truncatula*	*Vitis vinifera*
Cunninghamia lanceolata	*Nicotiana tabacum*	*Zea mays*
Cynara cardunculus	*Oryza sativa*	

Ek 8: Bilinen miRNA'ların belirlenmesi amacıyla miRBase anotasyonu sırasında kullanılan parametrelere ait ekran görüntüsü

```
Parameters:
          Additional downstream bases = 2
          Additional upstream bases = 2
          Create annotated sample = Yes
          Create Mature-grouped sample = Yes
          Create Precursor/Reference-grouped sample = Yes
          Create report = Yes
          Create unannotated sample = No
          Maximum mismatches = 2
          Missing downstream bases = 2
          Missing upstream bases = 2
          Selected species = Acacia auriculiformis, Acacia mangium, Aegilops tauschii, Amborella trichopoda, Aquilegia caerulea,
Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Arachis hypogaea, Avicennia marina, Brachypodium distachyon, Brassica napus, Brassica oleracea,
Brassica rapa, Bruguiera cylindrica, Bruguiera gymnorhiza, Carica papaya, Chlamydomonas reinhardtii, Citrus clementina, Citrus
reticulata, Citrus sinensis, Citrus trifoliata, Cucumis melo, Cucumis sativus, Cunninghamia lanceolata, Cynara cardunculus, Digitalis
purpurea, Elaeis guineensis, Festuca arundinacea, Glycine max, Glycine soja, Gossypium arboreum, Gossypium herbaceum, Gossypium hirsutum,
Gossypium raimondii, Helianthus annuus, Helianthus argophyllus, Helianthus ciliaris, Helianthus exilis, Helianthus paradoxus, Helianthus
petiolaris, Helianthus tuberosus, Hevea brasiliensis, Hordeum vulgare, Linum usitatissimum, Lotus japonicus, Malus domestica, Manihot
esculenta, Medicago truncatula, Nicotiana tabacum, Oryza sativa, Panax ginseng, Phaseolus vulgaris, Physcomitrella patens, Picea abies,
Pinus densata, Pinus taeda, Populus euphratica, Populus trichocarpa, Prunus persica, Rehmannia glutinosa, Ricinus communis, Saccharum
officinarum, Saccharum sp, Salvia sclarea, Selaginella moellendorffii, Solanum lycopersicum, Solanum tuberosum, Sorghum bicolor,
Theobroma cacao, Triticum aestivum, Triticum turgidum, Vigna unguiculata, Vitis vinifera, Zea mays
          Strand specific = No
          Use miRBase = Yes
          Use other sources = No
```

Ek 9: Ribosomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA), küçük nüklear RNA (snRNA) ve küçük nükleolar RNA (snoRNA)'ların belirlenmesi için yapılan BLAST'a ait parametrelerin ekran görüntüsü

A

```
Parameters:
    Program = blastn
    Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
    Name of database = ENArRNA
    Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
    Expectation value = 10.0
    Word size = 11
    Mask lower case = No
    Filter low complexity = Yes
    Maximum number of hits = 1
    Number of threads = 4
```

B

```
Parameters:
    Program = blastn
    Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
    Name of database = ENAtRNA
    Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
    Expectation value = 10.0
    Word size = 11
    Mask lower case = No
    Filter low complexity = Yes
    Maximum number of hits = 1
    Number of threads = 4
```

C

```
Parameters:
    Program = blastn
    Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
    Name of database = ENAsnRNA
    Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
    Expectation value = 10.0
    Word size = 11
    Mask lower case = No
    Filter low complexity = Yes
    Maximum number of hits = 1
    Number of threads = 4
```

D

```
Parameters:
    Program = blastn
    Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
    Name of database = ENAsnoRNA
    Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
    Expectation value = 10.0
    Word size = 11
    Mask lower case = No
    Filter low complexity = Yes
    Maximum number of hits = 1
    Number of threads = 4
```

Ek 10: BNYVV genomuna haritalanma için kullanılan parametrelerin ekran görüntüsü

Parameters:

References = BNYVV-RNA1, BNYVV-RNA2, BNYVV-RNA3, BNYVV-RNA4, BNYVV-RNA5
Masking mode = No masking
Match score = 1
Mismatch cost = 2
Cost of insertions and deletions = Linear gap cost
Insertion cost = 3
Deletion cost = 3
Length fraction = 0,5
Similarity fraction = 0,8
Global alignment = No
Non-specific match handling = Map randomly
Output mode = Create reads track
Create report = Yes
Collect un-mapped reads = Yes

Ek 11: miRNA, öncü RNA, diğer RNA'lar ve *Beta vulgaris*'e ait CDS (coding sequences, kodlanan diziler) dizileri ile yapılan BLAST'a ait parametrelerin ekran görüntüsü

A

Parameters:

Program = blastn
Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
Name of database = mirna
Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
Expectation value = 10.0
Word size = 15
Mask lower case = No
Filter low complexity = Yes
Maximum number of hits = 1
Number of threads = 4

B

Parameters:

Program = blastn
Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
Name of database = precursorrna
Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
Expectation value = 10.0
Word size = 15
Mask lower case = No
Filter low complexity = Yes
Maximum number of hits = 1
Number of threads = 4

C

Parameters:

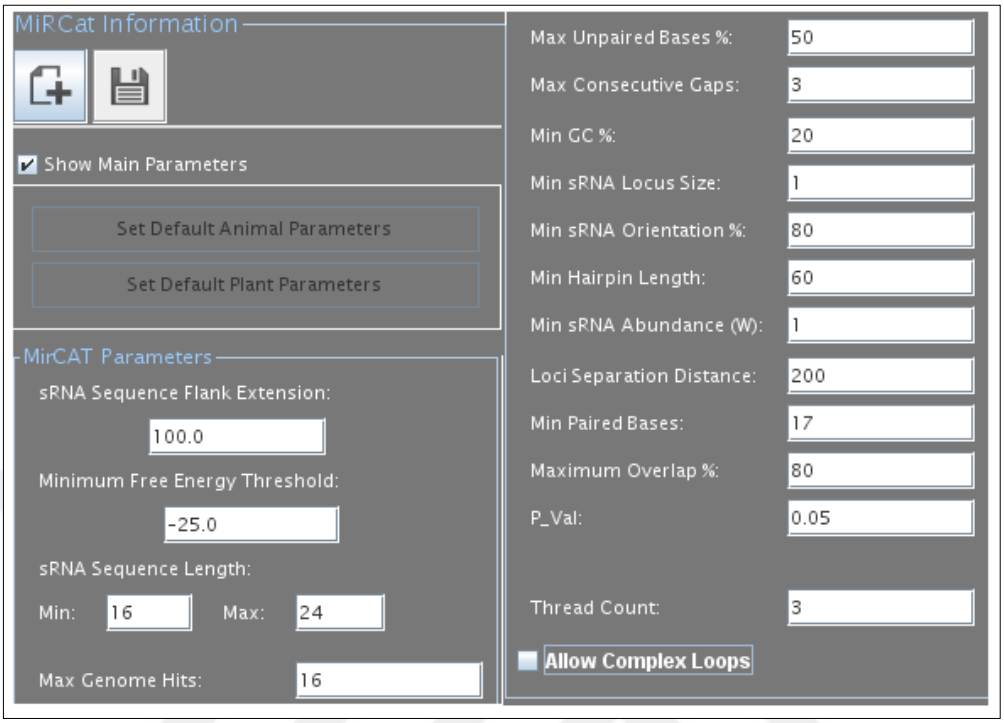
Program = blastn
Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
Name of database = otherOtherrna
Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
Expectation value = 10.0
Word size = 11
Mask lower case = No
Filter low complexity = Yes
Maximum number of hits = 1
Number of threads = 4

D

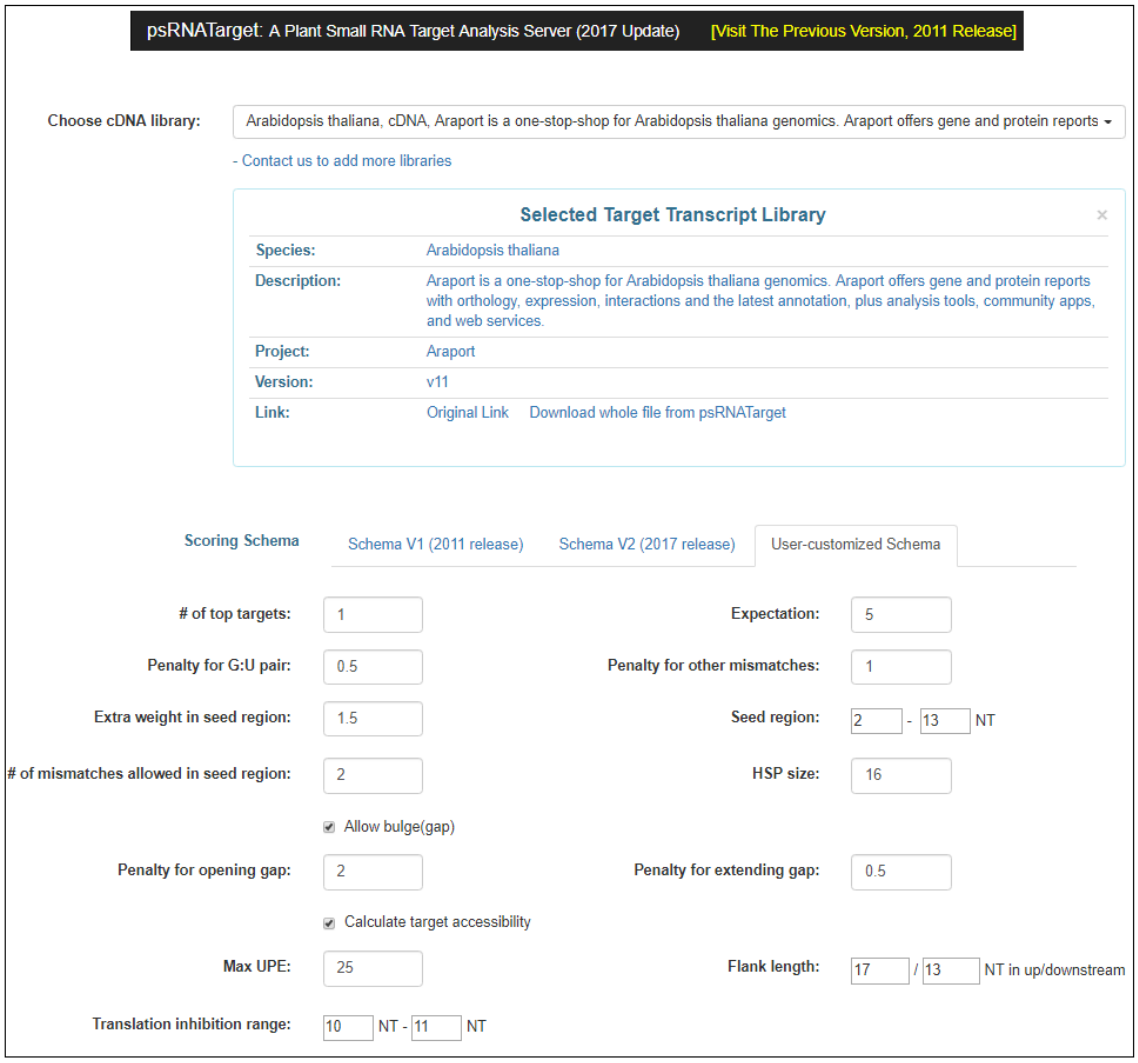
Parameters:

Program = blastn
Blast database path = C:\Users\ukiba\clcdatabases
Name of database = cds
Match/Mismatch and Gap Costs = Match 2 Mismatch 3 Existence 5 Extension 2
Expectation value = 10.0
Word size = 11
Mask lower case = No
Filter low complexity = Yes
Maximum number of hits = 1
Number of threads = 4

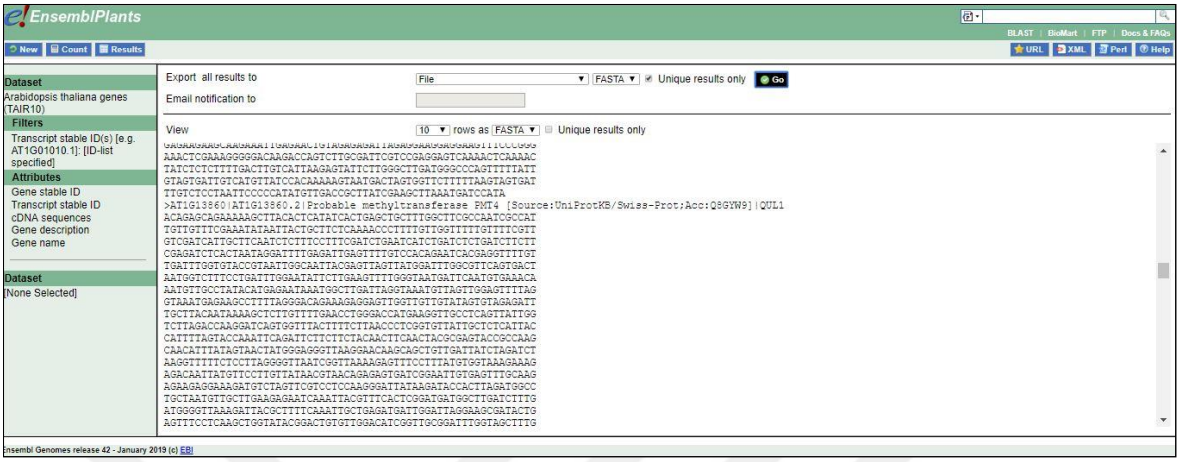
Ek 12: Potansiyel miRNA adaylarının muhtemel saç tokası yapılarının belirlenmesi için kullanılan miRCat programına ait parametrelerin ekran görüntüsü



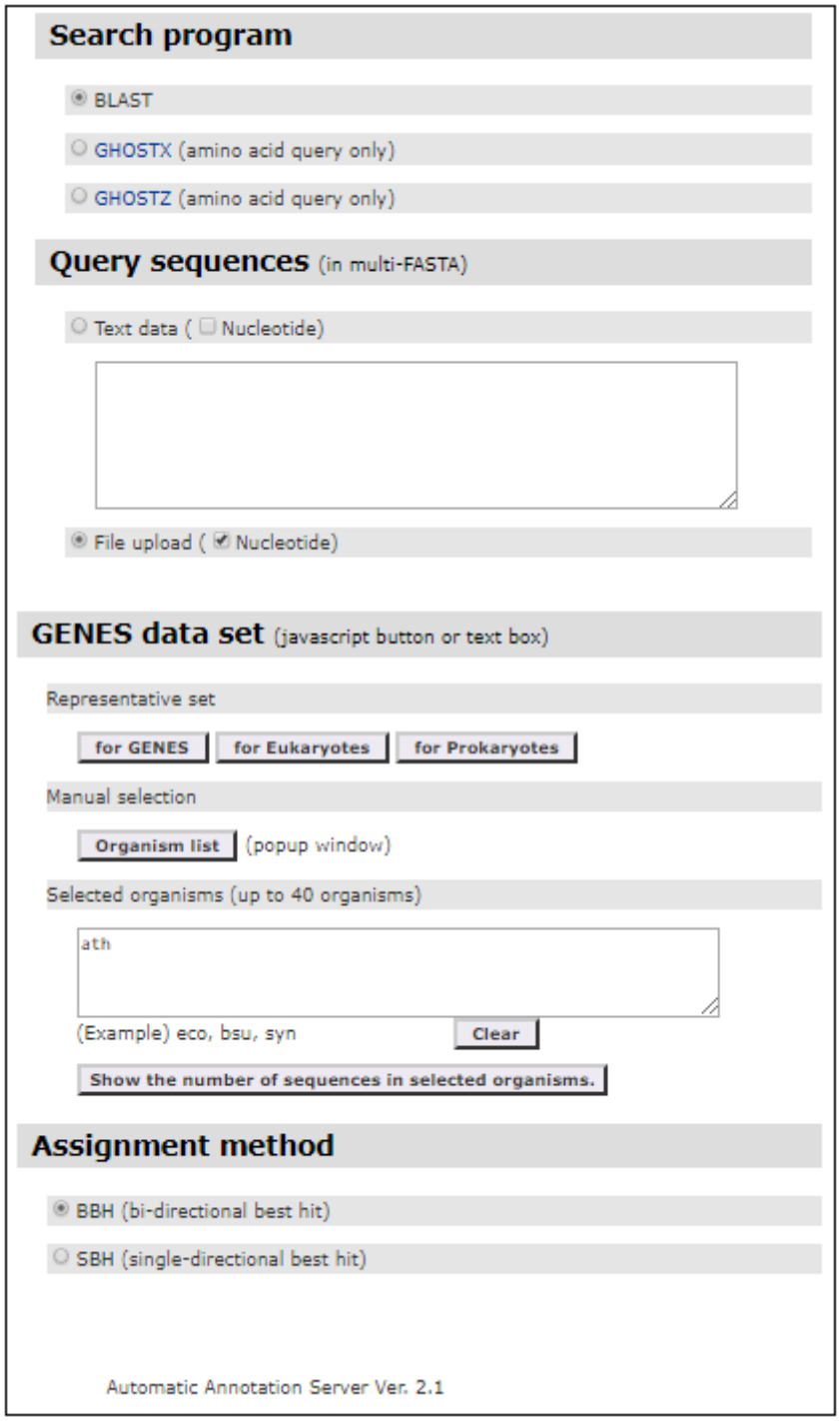
Ek 13: Hedef analizlerinde kullanılan psRNATarget web sunucusuna ait parametlerin ekran görüntüsü



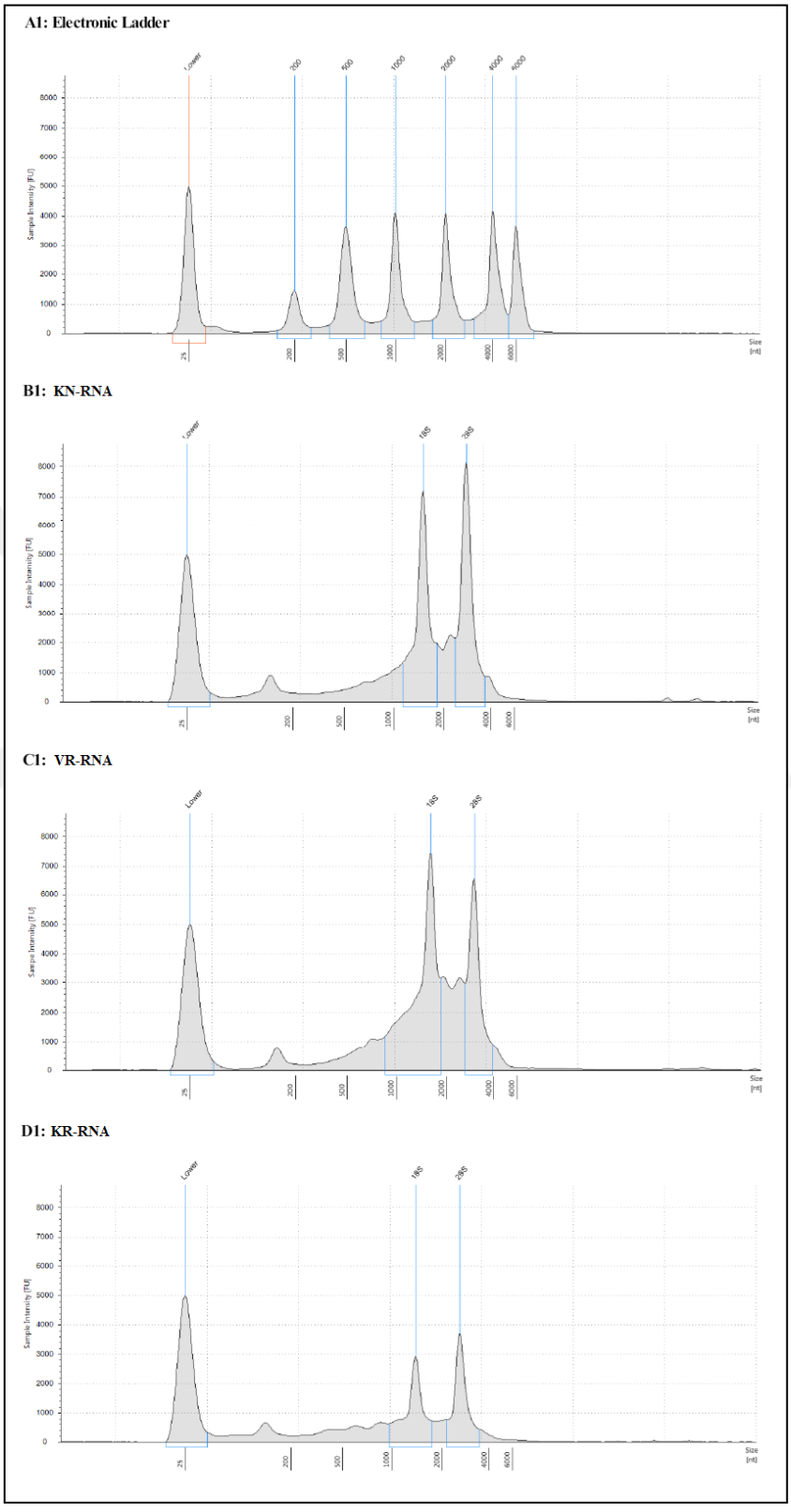
Ek 14: Hedef olarak belirlenen genlerin ID'leri ile Ensembl plant veritabanından elde edilen cDNA dizilerine ait örnek görüntü (cDNA dizilerinin tamamı CD'de Ek 14 olarak verilmiştir)



Ek 15: Yolak analizlerinde kullanılan KEGG-KAAS modülüne ait parametrelerin ekran görüntüsü

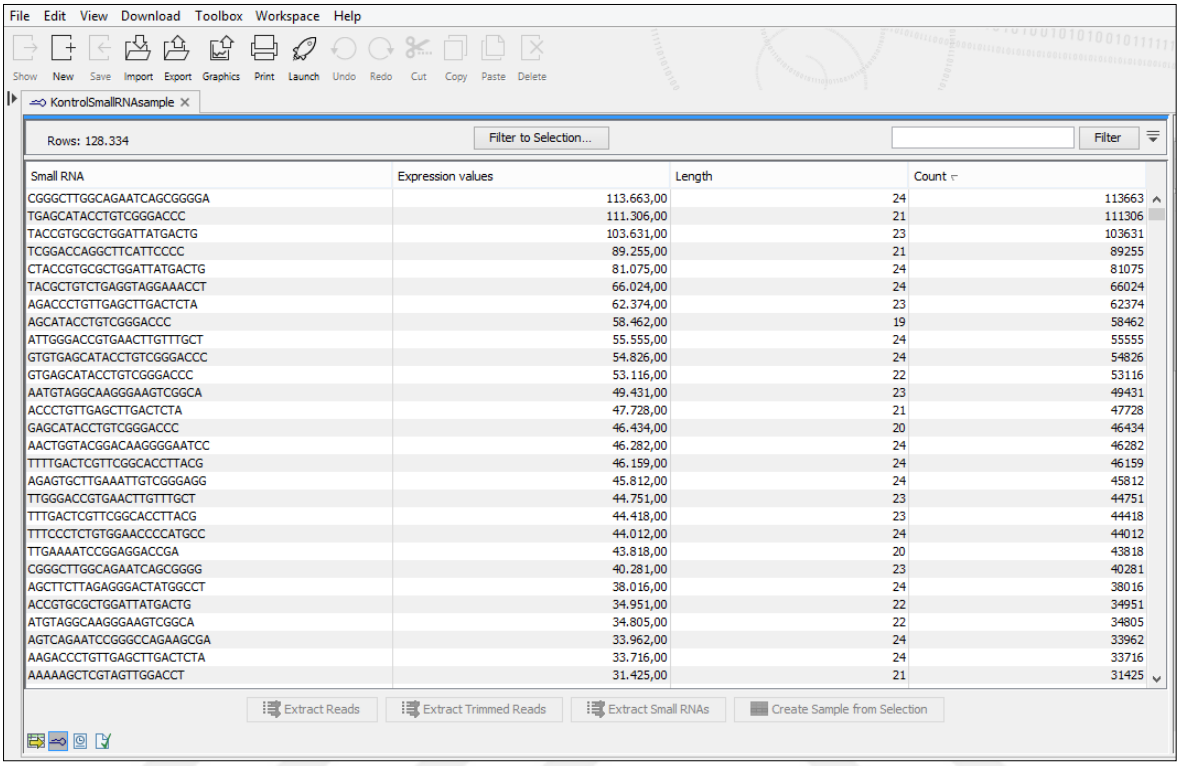


Ek 16: Dizilemede kullanılan RNA örneklerine ait Tape Station ölçüm değerlerine ait grafikler



Ek 17: Dizileme sonrası kalite ölçümlerine ait veriler CD'de Ek 17 olarak verilmiştir

Ek 18: Adaptör dizilerin çıkartılması ve dizi uzunluklarının filtrelenmesi, tekrarlı nükleotidlerin çıkartılması, en az 5 okumaya sahip dizilerin saydırılması sonucunda elde edilen verilere ait ekran görüntüsü (Tüm veriler CD'de Ek 18 olarak verilmiştir)



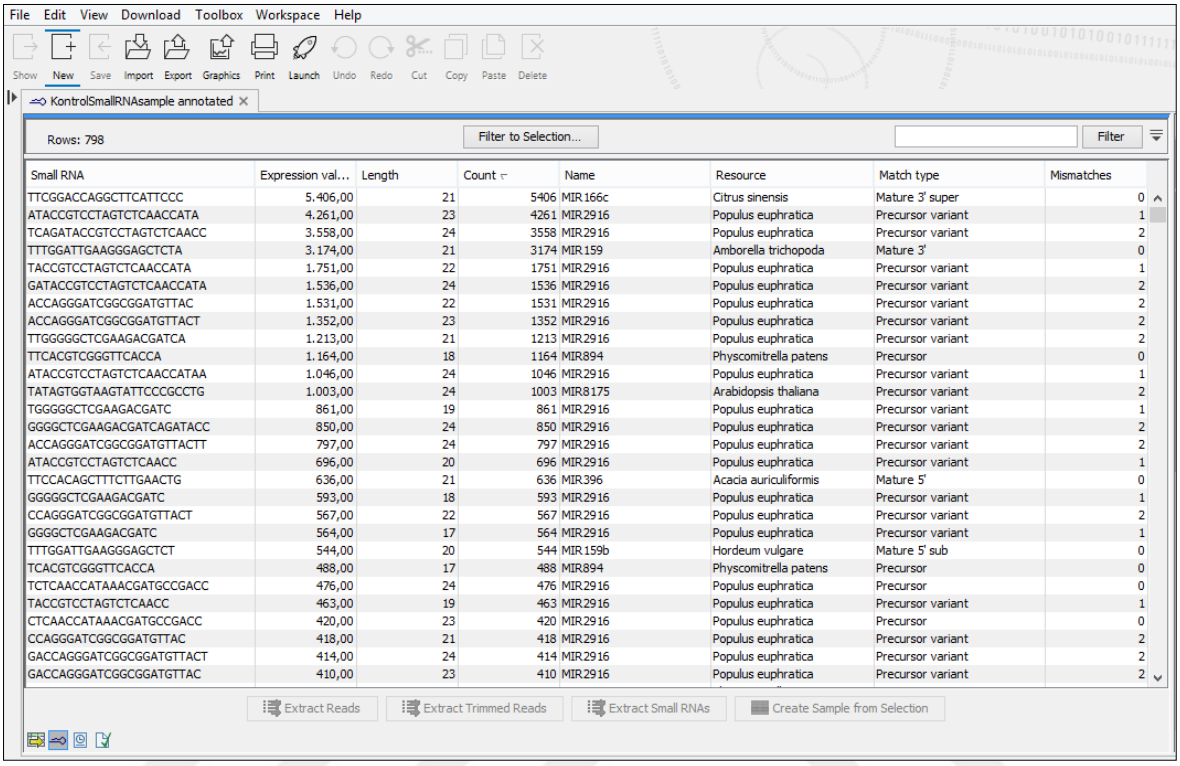
Small RNA	Expression values	Length	Count
CGGGCTTGGCAGAATCAGCGGGGA	113.663,00	24	113663
TGAGCATACCTGTCGGGACCC	111.306,00	21	111306
TACCGTGCGCTGGATTATGACTG	103.631,00	23	103631
TCGGACCAGGCTTCATTCCCC	89.255,00	21	89255
CTACCGTGCGCTGGATTATGACTG	81.075,00	24	81075
TACGCTGTCTGAGGTAGGAAACCT	66.024,00	24	66024
AGACCCTGTTGAGCTTGACTCTA	62.374,00	23	62374
AGCATACCTGTCGGGACCC	58.462,00	19	58462
ATTGGGACCGTGAACTTGTTTGCT	55.555,00	24	55555
GTGTGAGCATACCTGTCGGGACCC	54.826,00	24	54826
GTGAGCATACCTGTCGGGACCC	53.116,00	22	53116
AATGTAGGCAAGGGAAGTCGGCA	49.431,00	23	49431
ACCCTGTTGAGCTTGACTCTA	47.728,00	21	47728
GAGCATACCTGTCGGGACCC	46.434,00	20	46434
AACTGGTACGGACAAGGGGAATCC	46.282,00	24	46282
TTTTGACTCGTTCGGCACCTTACG	46.159,00	24	46159
AGAGTGCTTGAAATTGTCGGGAGG	45.812,00	24	45812
TTGGGACCGTGAACTTGTTTGCT	44.751,00	23	44751
TTTGACTCGTTCGGCACCTTACG	44.418,00	23	44418
TTTCCCTCTGTGGAACCCCATGCC	44.012,00	24	44012
TTGAAAATCCGGAGGACCGA	43.818,00	20	43818
CGGGCTTGGCAGAATCAGCGGGG	40.281,00	23	40281
AGCTTCTTAGAGGGACTATGGCCT	38.016,00	24	38016
ACCGTGCGCTGGATTATGACTG	34.951,00	22	34951
ATGTAGGCAAGGGAAGTCGGCA	34.805,00	22	34805
AGTCAGAATCCGGGCCAGAAGCGA	33.962,00	24	33962
AAGACCCTGTTGAGCTTGACTCTA	33.716,00	24	33716
AAAAAGCTCGTAGTTGGACCT	31.425,00	21	31425

Ek 19: Küçük RNA dizilerinin *Beta vulgaris* genomuna haritalama verileri CD'de Ek 19 olarak verilmiştir

Ek 20: Küçük RNA dizilerinin *Beta corolliflora* RNA-dizileme (RNA-Seq) kontiglerine haritalama verileri CD'de Ek 20 olarak verilmiştir

Ek 21: BNYVV genomuna haritalama verileri CD'de Ek 21 olarak verilmiştir

Ek 22: miRBase anotasyon sonucunda küçük RNA dizileri ile eşleşen bilinen miRNA'ların olgun (mature), öncü (precursor) ve varyant olarak gruplandırılmasına ait ekran görüntüsü (Anotasyona ait tüm veriler CD'de Ek 22 olarak verilmiştir)



Small RNA	Expression val...	Length	Count	Name	Resource	Match type	Mismatches
TTCGGACCAGGCTTCATTCCC	5.406,00	21	5406	MIR166c	Citrus sinensis	Mature 3' super	0
ATACCGTCCTAGTCTCAACCATA	4.261,00	23	4261	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
TCAGATACCGTCCTAGTCTCAACC	3.558,00	24	3558	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	3.174,00	21	3174	MIR159	Amborella trichopoda	Mature 3'	0
TACCGTCCTAGTCTCAACCATA	1.751,00	22	1751	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
GATACCGTCCTAGTCTCAACCATA	1.536,00	24	1536	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
ACCAGGGATCGGCGGATGTTAC	1.531,00	22	1531	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
ACCAGGGATCGGCGGATGTTACT	1.352,00	23	1352	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
TTGGGGGCTCGAAGACGATCA	1.213,00	21	1213	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
TTCACGTCGGGTTCACCA	1.164,00	18	1164	MIR894	Physcomitrella patens	Precursor	0
ATACCGTCCTAGTCTCAACCATAA	1.046,00	24	1046	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
TATAGTGGTAAGTATTCCCGCCTG	1.003,00	24	1003	MIR8175	Arabidopsis thaliana	Precursor variant	2
TGGGGGCTCGAAGACGATC	861,00	19	861	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
GGGGCTCGAAGACGATCAGATACC	850,00	24	850	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
ACCAGGGATCGGCGGATGTTACTT	797,00	24	797	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
ATACCGTCCTAGTCTCAACC	696,00	20	696	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	636,00	21	636	MIR396	Acacia auriculiformis	Mature 5'	0
GGGGGCTCGAAGACGATC	593,00	18	593	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
CCAGGGATCGGCGGATGTTACT	567,00	22	567	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
GGGGCTCGAAGACGATC	564,00	17	564	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
TTTGGATTGAAGGGAGCTCT	544,00	20	544	MIR159b	Hordeum vulgare	Mature 5' sub	0
TCACGTCGGGTTCACCA	488,00	17	488	MIR894	Physcomitrella patens	Precursor	0
TCTCAACCATAAACGATGCCGACC	476,00	24	476	MIR2916	Populus euphratica	Precursor	0
TACCGTCCTAGTCTCAACC	463,00	19	463	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	1
CTCAACCATAAACGATGCCGACC	420,00	23	420	MIR2916	Populus euphratica	Precursor	0
CCAGGGATCGGCGGATGTTAC	418,00	21	418	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
GACCAGGGATCGGCGGATGTTACT	414,00	24	414	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2
GACCAGGGATCGGCGGATGTTAC	410,00	23	410	MIR2916	Populus euphratica	Precursor variant	2

Ek 23: Küçük RNA dizilerinin miRBase anotasyonu sonucunda eşleştiği olgun miRNA'lar, varyantlar dahil gruplandırılmış ifade değerleri (VR-sRNA göre sıralı)

miRNA dizisi (miRBase)	miRNA	KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	MIR159a//MIR159b//MIR159	3433	263770	6462
TCGGACCAGGCTTCATTCCC	MIR166b//MIR166c	5424	245683	3146
TTGGACTGAAGGGAGCTCCC	MIR319a//MIR319c//MIR319b//MIR319g//MIR319k	154	62585	115
TTCCACAGCTTTCTTGAACTG	MIR396	636	61225	192
TTCCACAGCTTTCTTGAACTT	MIR396b//MIR396a//MIR396//MIR396c//MIR396e	372	40652	95
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTG	MIR159b	640	40175	3143
TTGTCAGGCTTGTTATTCTCC	MIR7972	423	27699	49
TGACGACGAGAGAGAGCACGC	MIR535d	385	26804	190
TCGGACCAGGCTTCATTCCTC	MIR166c//MIR166a//MIR166d//MIR166e//MIR166b	404	21256	71
TTAGATTCACGCACAAACTCG	MIR403a//MIR403b	323	13764	47
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTT	MIR159b	106	13612	201
TCGGACCAGGCTTCATTCCCC	MIR166a//MIR166h//MIR166i//MIR166d//MIR166e//MIR166b	401	11340	176
TGAAGCTGCCAGCATGATCTG	MIR167	204	10037	233
TGTGTTCTCAGGTCGCCCCTG	MIR398b	91	9444	352
ATTGGACTGAAGGGAGCTCC	MIR319		8151	8
CTTGGACTGAAGGGAGCTCCC	MIR159c	47	7524	49
TGGGGACTCGAAGACGATCATAT	MIR2916	1577	6528	11871
GATCCCCGGCAACGGCGCCA	MIR8175	465	5595	1862
ATTTCGGACCAGGCTTCATTCCCC	MIR166	410	5552	194
TCGATAAACCTCTGCATCCAG	MIR162a//MIR162	358	5521	75
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAA	MIR168b//MIR168	130	5249	432
CGTTTCACGTCGGGTTCACC	MIR894	198	4259	6256
TGGAGAAGCAGGGCACGTGCA	MIR164b//MIR164c	32	3866	36
TTGGACTGAAGGGAGCTCCCT	MIR319c//MIR319f//MIR319a//MIR319//MIR319b	34	3747	
GAGCTCCTTGAAGTCCAAAAG	MIR159a	100	3509	48
TGAAGCTGCCAGCATGATCTC	MIR167a	19	3252	
TCCACAGCTTTCTTGAACTG	MIR396h		3098	
TCGGACCAGGCTTCATTCCTT	MIR166q//MIR166f//MIR166j//MIR166c	233	3065	23
TGGCGCTAGAAGGAGGGCCT	MIR3711	86	2793	3238

Ek 23 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	miRNA	KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
CCGACCTTAGCTCAGTTGGTG	MIR6478	210	2757	342
TCCAAAGGGATCGCATTGATCT	MIR393b//MIR393a//MIR393//MIR393c//MIR393d	79	2249	16
TCGGACCAGGCTTCATTCCCT	MIR166f	35	2163	13
TCGAACCAGGCTTCATTCCCC	MIR166e	17	2115	23
TCGGACCAGGCTTCATTCTC	MIR166i	30	2083	12
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTC	MIR159b	49	1993	17
TCGGACCAGGCTTCATTCCCCC	MIR166	31	1990	14
TTTGGATTGAAGGGAGCTCCT	MIR159c	119	1817	19
TCGGACCAGGCTTCATCCCCC	MIR165a//MIR165b	20	1803	21
TCGGACCAGGCTTCATTCCCG	MIR166d	17	1740	13
CCGGACCAGGCTTCATTCCCC	MIR166j	32	1618	25
TTGGCATTCTGTCCACCTCC	MIR394a//MIR394b//MIR394	10	1584	
GTCGTTGTAGTATAGTGG	MIR6300	9	1512	8
TGCACTGCCTCTTCCCTGGCT	MIR408b//MIR408	62	1475	230
CGGACCAGGCTTCATTCCCC	MIR166m	26	1448	23
TTGGACCAGGCTTCATTCCCC	MIR166i	12	1385	9
AAACCTGGCTCTGATACCA	MIR5139	93	1320	354
TCCAAAGGGATCGCATTGATCC	MIR393a//MIR393b//MIR393	77	1200	15
AAGCTCAGGAGGGATAGCGCC	MIR390a//MIR390b//MIR390	24	1103	14
ATGCACTGCCTCTTCCCTGGC	MIR408	25	966	106
TTGACAGAAGAGAGTGAGCAC	MIR156k//MIR156n//MIR156o	29	863	36
GGAATGTTGGCTGGCTCGAGG	MIR166e	130	846	351
TCCAAAGGGATCGCATTGATC	MIR393a//MIR393b	12	841	
TCATTTTTGCGTGCAATGATCC	MIR1515a//MIR1515b	126	788	13
TCGGACCAGGCTTCATTCCT	MIR166c	79	729	
CTCGGACCAGGCTTCATTCCC	MIR166e	26	716	10
TCGCAGGAGAGATGGCACTGTC	MIR3627	63	632	52
TTGAGCCGTGCCAATATCACG	MIR171c	26	614	24
TTAGATGACCATCAACAAACA	MIR827	40	529	
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGA	MIR168	82	517	230
TCGGACCAGGCTTCATTCCTA	MIR166b	37	493	
CGCCAAAGGAGAGTTGCCCTC	MIR399e		466	
TCGATAAACCTCTGCATCCA	MIR162a	33	399	5

Ek 23 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	miRNA	KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
CACTTATTTTGGACCGGAGGG	MIR5181	9	395	
ACATTATGGGACGGAGGGAGT	MIR1436	16	365	45
TTTGGACTGAAGGGAGCTCCT	MIR319b//MIR319d//MIR319e	8	346	17
TTCCACAGCTTTCTTGAACTGT	MIR396e		318	
GTTCAATAAAGCTGTGGGAAG	MIR396a	12	317	5
CACTACATTATGGAATGGAGGGA	MIR1118	25	297	8
TTGAGCCGCGCCAATATCACT	MIR171k//MIR171j		291	11
TCTCGGACCAGGCTTCATTCC	MIR166b	5	278	24
TCCCCACGGTCGGCGCCA	MIR5054	14	269	134
CTGACAGAAGATAGAGAGCAC	MIR156e	29	265	25
AGACTACAATTATCTGATCA	MIR5083		238	
TGAAGCTGCCAGCATGATCTA	MIR167a//MIR167b//MIR167c//MIR167e		226	
GGCAGTCTCCTTGGCTATC	MIR169j//MIR169k//MIR169l		224	
TTCCACAGCTTTCTTGAACTA	MIR396a		218	
TTTTCCCAAGACCTCCCATACC	MIR482c	33	200	51
TCCCACAGCTTTATTGAACTG	MIR396b	8	199	15
GGAATGTTGTCTGGCTCGAGG	MIR166a//MIR166c//MIR166d	25	197	5
TCGGACCAGGCTTCATCCCC	MIR165a//MIR165b		186	
TCCGGACCAGGCTTCATTCCC	MIR166j//MIR166k//MIR166l		171	
CTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	MIR159f		143	
TGCCTGGCTCCCTGTATGCC	MIR160a		143	
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAAC	MIR168	10	138	8
TCATTGAGTGCAGCGTTGATG	MIR397a//MIR397b		137	
GCTCACTGCTCTTTCTGTCAGCT	MIR156b	18	129	
CCCGCCTTGCATCAACTGAAT	MIR168a	6	127	10
TGAAGCTGCCAGCATGATCT	MIR167d		124	
ATTCAAGAAAGCTGTGGAAAA	MIR396a		119	
CAAGTAATATGGATCGGAGGAAGT	MIR5049		115	
GTTCAAGAAAGCTGTGGGAAA	MIR396a		111	6
GGCAAGTTGTCCTTGGCTAC	MIR169a		105	
TTGGACTGAAGGGAGCTCCTT	MIR319c//MIR319d	6	105	
TACTACTCCCTCCGTCCCAAA	MIR1128		102	15
TTTGGGAATCTCTCTGATGCAC	MIR3630	5	100	

Ek 23 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	miRNA	KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
TCAATCAGAACATGACACGTGACA	MIR1520n		98	7
TGTGTTCTCAGGTCGCCCCCG	MIR398f//MIR398g		97	8
TTCAATAAAGCTGTGGGAAG	MIR396a		97	
AACTACTCCCTCCGTCCGATA	MIR1127		96	7
GGGAATGACGCCGGGTCCGAAA	MIR166b		94	
TTGGACTGAAGGGAGCTCCT	MIR319c//MIR319d		92	
TTAGATGACCATCAACAAACT	MIR827	5	85	
TGACAGAAGAGAGTGAGCAC	MIR156d		83	7
AGAATCTTGATGATGCTGCAT	MIR172a//MIR172f		82	
TCGCTTGGTGCAGGTCGGG	MIR168b	12	79	20
TTTGGACTGAAGGGAGCTCTA	MIR159		77	
TGAAGCTGCCAGCATGATCTGA	MIR167b//MIR167d		74	
TTCAAGAAAGCTGTGGGAAAA	MIR396c		71	
CTTATAATTAGGGACGGAGGGAGT	MIR5205b		63	
TTGAGTGCAGCGTTGATGAAA	MIR397a//MIR397b		63	
TGCACTGCCTCTTCCCTGGC	MIR408d		62	
TTCCAAAGGGATCGCATTGAT	MIR393		59	
GGAGGCAGCGGTTCATCGATC	MIR162a//MIR162b	5	58	19
TGACAGAAGAGAGTGAGCACT	MIR156q//MIR156s		58	6
TTTGGTTTGAAGGGAGCTCTA	MIR159		57	
TGACAATGAGAGAGAGCACAC	MIR535b//MIR535c//MIR535d//MIR535e//MIR535f		50	
TTGACAGAAGATAGAGAGCAC	MIR157c//MIR156a//MIR156c		50	
GGGTCGACATGAGAACACATG	MIR398	6	49	84
TGCCAAAGGAGAGTTGCCCTG	MIR399a		49	
TTGACAGAAGAGAGAGAGCAC	MIR156c		48	
CTTGGACTGAAGGGAGCTCCT	MIR319h		45	
GGAATGTTGTTTGGCTCGAGG	MIR166g		41	
TTCCACAGGCTTTCTTGAACTG	MIR396e		38	
CTTGGATTGAAGGGAGCTCT	MIR159a		36	
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAC	MIR168b		36	33
CATATACTCCCTCCGTCCGAAA	MIR1133		35	5
TACTACTCCCTCCGTCCGAAA	MIR1128		33	
TGGAACGGAGGAATTTTATAG	MIR1320		32	

Ek 23 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	miRNA	KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
GTTCAAGAAAGCTGTGGAAGA	MIR396g		31	
TGACAGAAGATAGAGAGCAC	MIR157d		31	
TGAAGCTGCCAGCATGATCTT	MIR167		29	
ACTTATTATGGACCGGAGGGA	MIR5181d		28	
TAGCCAAGGATGACTTGCCTG	MIR169i		28	
TGCCTGGCTCCCTGTATGCTT	MIR160c	5	26	
GGGCAATTCTCCTTTGGCAGA	MIR399f		25	
TCTGGATCAGAGGGAGTATA	MIR5161		22	
TGAAGCTGCCAGCATGATCTGC	MIR167f		22	
TTGGACTGAAGGGAGCTCCCA	MIR319c		22	
ATTCAGTTGATGCAAGGCGGGATC	MIR168		20	
CTTATAATTAGGGACGGAGGTAGT	MIR5205c//MIR5205d		20	
CTTGGACTGAAGGGAGCTCC	MIR319a//MIR319b		20	
TCGGACCAGGCTTCATTCCCTT	MIR166b		20	
TTGACGACGAGAGAGAGCACG	MIR535d		20	
TTCCGAGGCCACCCATTCCAAC	MIR6118		19	
TTGGACTGAAGGGTGCTCCC	MIR319b		19	
AGCCGTAAACGATGGATACT	MIR6173		18	12
GGACAGTCTCAGGTAGACA	MIR5368	6	18	10
AGAATCTTGATGATGCTGCAG	MIR172c//MIR172d//MIR172f		17	
AGGCAGTGGCTTGGTTAAGGG	MIR4995		17	47
TAACCTGGCTCTGATACCA	MIR8155		17	
TTAGATGACCATCAACAAACG	MIR827		17	
AGTTTGTGCGTGAATCTAACC	MIR403b		16	
TTTTGGAACGGAGTGAGTATT	MIR1439		16	
AGAGCTTCCTTCAGCCCACTC	MIR319c		14	
CATCCAAAGGGATCGCATTGA	MIR393a		14	
TGAAGTGTTTGGGGGAACTTT	MIR395d//MIR395e//MIR395f//MIR395g		14	
CCCCAAGCTGAGAGCTCTCCC	MIR7767		13	
TTGGACAGAGAAATCACGGTCA	MIR3954b		13	
CGGCTCTGATACCAGTTGATG	MIR845a		12	
TAAAGCTGCCAGCATGATCTGG	MIR167b		12	
TACTCCCTCTGTTCCATAAAG	MIR5174e		12	

Ek 23 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	miRNA	KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
TCAACATGGTATCAGAGCTGGAAG	MIR1873		12	
TTCCACGGCTTTCTTGAACTG	MIR396e		12	
TTGAACTGAAGGGAGCTCCC	MIR319e		12	
ATCATGCTATCCCTTTGGATT	MIR393c		11	
CAGCCAAGGATGACTTGCCTA	MIR169		11	
CTGAAGTGTTTGGGGGAACTC	MIR395d		11	
GGAGCGACCTGAGATCACATG	MIR398		11	
TCTTATATTATGGGACGGAGG	MIR1130b		11	
TGCACTGCCTCTTCCCTGCC	MIR408		11	
TCTTTCCTACTCCTCCCATACC	MIR482e		10	
TGTGTTCTCAGGTCACCCCTT	MIR398a		10	
TTGGTTTGAAGGGAGCTCTAC	MIR159a		10	
TCGGACCAGGCTTCAATCCCT	MIR166g		9	
TGGAGAAGGGGAGCACGTGCA	MIR164		9	
AGCTCAGGAGGGATAGCGCC	MIR390b		8	
ATTGTCACGTGTCATGTTCTGATT	MIR1520f		8	
CAATCTTTATGGAACGGAGAGAGT	MIR5174d		8	
TGGAGGCAGCGGTTCATCGATC	MIR162a//MIR162b		8	
AGAGCTTTCTTCGGTCCACTC	MIR319b		7	
AGATATTGGTACGGTTCAATC	MIR171o		7	
AGGGCTTCTCTCCTTTGGCAG	MIR399b		7	
CCGTGTTTCCTTGTATAAAG	MIR7122b		7	
TCGATAAACCTCTGCATCCGG	MIR162		7	
TCGGATCAGGCTTCATTCCTC	MIR166i		7	
TGATTGAGCCGTGCCAATATC	MIR171g//MIR171k		7	
TTCCAAAGGGATCGCATTGATC	MIR393b		7	
TTCCACGGCTTTCTTGAACTT	MIR396b//MIR396c//MIR396i//MIR396j//MIR396k//MIR396l//MIR396m//MIR396n//MIR396o//MIR396p//MIR396q//MIR396r//MIR396s//MIR396t		7	
TTGGACTGAAGGGAGCTCC	MIR319		7	
TTGGACTGAAGGGAGCTCCTTC	MIR319g//MIR319l		7	
ACCTAGCTCTGATACCATGAA	MIR1511		6	
ACTTAATATGGGACGGAAGAA	MIR5171a		6	

Ek 23 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	miRNA	KN-sRNA	VR-sRNA	KR-sRNA
ATTGAGTGCAGCGTTGATGAA	MIR397b		6	
GAGCTCCCTTCGATCCAATCC	MIR159c//MIR159d		6	
TTCCCAAGCCCGCCCATTCCAA	MIR482c		6	
AGAGGTGCTCATGGGCTGGGTCGG	MIR8689		5	
AGCTCTGGTACCATGTTAGATT	MIR1863		5	
CTGAAGTGTTTGGGGGAACTCC	MIR395a		5	
CTTGGATTGAAGGGAGCTCCC	MIR159c		5	
GCGTATGAGGAGCCAAGCATA	MIR160a		5	
GCTCACTCTCTATCTGTCACC	MIR156f	6	5	
GGCAGTCTCCTTGGCTATT	MIR169h		5	
GTGGCATCATCAAGATTCACACA	MIR172c		5	
GTTCGCGTCGGGTTCACCA	MIR5077		5	16
TAAAGCTCAGGAGGGATAGCG	MIR390		5	
TCGCAGGAGAGATGGCACTA	MIR3627a//MIR3627b//MIR3627c		5	
TGAAGTGTTTGGGGGAACTC	MIR395b		5	
TTGACGACGAGAGAGAGCACA	MIR535c		5	
TTGGGCTGAAGGGAGCTCCC	MIR319i		5	
ATGATGATGATGATGATGAAA	MIR5658			5
GGCAGGTTGTCCTTGGCTAC	MIR169c	10		

Ek 24: Küçük RNA dizileri ile eşleşen olgun miRNA'ların TPM (transcripts per million) normalizasyon sunucuna göre kontrol ve virüs stresi uygulanmış örneklerde ifade kat değişimleri

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000		C(x)/E(x)*1000000		EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		
A-miRNA	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR1118	25	297	12.536.752	66.597.354	1,99	4,46	2,24
miR1127		96	12.536.752	66.597.354	0	1,44	-
miR1128		33	12.536.752	66.597.354	0	0,50	-
miR1128		102	12.536.752	66.597.354	0	1,53	-
miR1130b		11	12.536.752	66.597.354	0	0,17	-
miR1133		35	12.536.752	66.597.354	0	0,53	-
miR1320		32	12.536.752	66.597.354	0	0,48	-
miR1436	16	365	12.536.752	66.597.354	1,28	5,48	4,29
miR1439		16	12.536.752	66.597.354	0	0,24	-
miR1511		6	12.536.752	66.597.354	0	0,09	-
miR1515a//miR1515b	126	788	12.536.752	66.597.354	10,05	11,83	1,18
miR1520f		8	12.536.752	66.597.354	0	0,12	-
miR1520n		98	12.536.752	66.597.354	0	1,47	-
miR156b	18	129	12.536.752	66.597.354	1,44	1,94	1,35
miR156c		48	12.536.752	66.597.354	0	0,72	-
miR156d		83	12.536.752	66.597.354	0	1,25	-
miR156e	29	265	12.536.752	66.597.354	2,31	3,98	1,72
miR156f	6	5	12.536.752	66.597.354	0,48	0,08	-6,37
miR156k//miR156n//miR156o	29	863	12.536.752	66.597.354	2,31	12,96	5,60
miR156q//miR156s		58	12.536.752	66.597.354	0	0,87	-
miR157c//miR156a//miR156c		50	12.536.752	66.597.354	0	0,75	-
miR157d		31	12.536.752	66.597.354	0	0,47	-
miR159		57	12.536.752	66.597.354	0	0,86	-
miR159		77	12.536.752	66.597.354	0	1,16	-

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000	C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))	
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri	
A-miRNA	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR159a		10	12.536.752	66.597.354	0	0,15	-
miR159a		36	12.536.752	66.597.354	0	0,54	-
miR159a	100	3.509	12.536.752	66.597.354	7,98	52,69	6,61
miR159a//miR159b//miR159	3.433	263.770	12.536.752	66.597.354	273,83	3960,67	14,46
miR159b	49	1.993	12.536.752	66.597.354	3,91	29,93	7,66
miR159b	106	13.612	12.536.752	66.597.354	8,46	204,39	24,17
miR159b	640	40.175	12.536.752	66.597.354	51,05	603,25	11,82
miR159c		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR159c	119	1.817	12.536.752	66.597.354	9,49	27,28	2,87
miR159c	47	7.524	12.536.752	66.597.354	3,75	112,98	30,14
miR159c//miR159d		6	12.536.752	66.597.354	0	0,09	-
miR159f		143	12.536.752	66.597.354	0	2,15	-
miR160a		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR160a		143	12.536.752	66.597.354	0	2,15	-
miR160c	5	26	12.536.752	66.597.354	0,40	0,39	-1,02
miR162		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR162a	33	399	12.536.752	66.597.354	2,63	5,99	2,28
miR162a//miR162	358	5.521	12.536.752	66.597.354	28,56	82,90	2,90
miR162a//miR162b		8	12.536.752	66.597.354	0	0,12	-
miR162a//miR162b	5	58	12.536.752	66.597.354	0,40	0,87	2,18
miR164		9	12.536.752	66.597.354	0	0,14	-
miR164b//miR164c	32	3.866	12.536.752	66.597.354	2,55	58,05	22,74
miR165a//miR165b		186	12.536.752	66.597.354	0	2,79	-
miR165a//miR165b	20	1.803	12.536.752	66.597.354	1,60	27,07	16,97
miR166	31	1.990	12.536.752	66.597.354	2,47	29,88	12,08
miR166	410	5.552	12.536.752	66.597.354	32,70	83,37	2,55

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000		C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri	
A-miRNA	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR166a//miR166c//miR166d	25	197	12.536.752	66.597.354	1,99	2,96	1,48
miR166a//miR166h//miR166i//miR166d//miR166e//miR166b	401	11.340	12.536.752	66.597.354	31,99	170,28	5,32
miR166b		20	12.536.752	66.597.354	0	0,30	-
miR166b		94	12.536.752	66.597.354	0	1,41	-
miR166b	5	278	12.536.752	66.597.354	0,40	4,17	10,47
miR166b	37	493	12.536.752	66.597.354	2,95	7,40	2,51
miR166b//miR166c	5.424	245.683	12.536.752	66.597.354	432,65	3689,08	8,53
miR166c	79	729	12.536.752	66.597.354	6,30	10,95	1,74
miR166c//miR166a//miR166d//miR166e//miR166b	404	21.256	12.536.752	66.597.354	32,23	319,17	9,90
miR166d	17	1.740	12.536.752	66.597.354	1,36	26,13	19,27
miR166e	26	716	12.536.752	66.597.354	2,07	10,75	5,18
miR166e	130	846	12.536.752	66.597.354	10,37	12,70	1,23
miR166e	17	2.115	12.536.752	66.597.354	1,36	31,76	23,42
miR166f	35	2.163	12.536.752	66.597.354	2,79	32,48	11,63
miR166g		9	12.536.752	66.597.354	0	0,14	-
miR166g		41	12.536.752	66.597.354	0	0,62	-
miR166i		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR166i	12	1.385	12.536.752	66.597.354	0,96	20,80	21,73
miR166i	30	2.083	12.536.752	66.597.354	2,39	31,28	13,07
miR166j	32	1.618	12.536.752	66.597.354	2,55	24,30	9,52
miR166j//miR166k//miR166l		171	12.536.752	66.597.354	0	2,57	-
miR166m	26	1.448	12.536.752	66.597.354	2,07	21,74	10,48

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*10 00000	C(x)/E(x)*1 000000	EĞER(G(x)> F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		
A-miRNA	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR166q//miR166f//miR166j//miR166c	233	3.065	12.536.752	66.597.354	18,59	46,02	2,48
miR167		29	12.536.752	66.597.354	0	0,44	-
miR167	204	10.037	12.536.752	66.597.354	16,27	150,71	9,26
miR167a	19	3.252	12.536.752	66.597.354	1,52	48,83	32,22
miR167a//miR167b//miR167c//miR167e		226	12.536.752	66.597.354	0	3,39	-
miR167b		12	12.536.752	66.597.354	0	0,18	-
miR167b//miR167d		74	12.536.752	66.597.354	0	1,11	-
miR167d		124	12.536.752	66.597.354	0	1,86	-
miR167f		22	12.536.752	66.597.354	0	0,33	-
miR168		20	12.536.752	66.597.354	0	0,30	-
miR168	10	138	12.536.752	66.597.354	0,80	2,07	2,60
miR168	82	517	12.536.752	66.597.354	6,54	7,76	1,19
miR168a	6	127	12.536.752	66.597.354	0,48	1,91	3,98
miR168b		36	12.536.752	66.597.354	0	0,54	-
miR168b	12	79	12.536.752	66.597.354	0,96	1,19	1,24
miR168b//miR168	130	5.249	12.536.752	66.597.354	10,37	78,82	7,60
miR169		11	12.536.752	66.597.354	0	0,17	-
miR169a		105	12.536.752	66.597.354	0	1,58	-
miR169h		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR169i		28	12.536.752	66.597.354	0	0,42	-
miR169j//miR169k//miR169l		224	12.536.752	66.597.354	0	3,36	-
miR171c	26	614	12.536.752	66.597.354	2,07	9,22	4,45
miR171g//miR171k		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000	C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))	
A-miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		H- Kat değişimi
	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	
miR171k//miR171j		291	12.536.752	66.597.354	0	4,37	-
miR171o		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR172a//miR172f		82	12.536.752	66.597.354	0	1,23	-
miR172c		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR172c//miR172d//miR172f		17	12.536.752	66.597.354	0	0,26	-
miR1863		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR1873		12	12.536.752	66.597.354	0	0,18	-
miR2916	1.577	6.528	12.536.752	66.597.354	125,79	98,02	-1,28
miR319		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR319		8.151	12.536.752	66.597.354	0	122,39	-
miR319a//miR319b		20	12.536.752	66.597.354	0	0,30	-
miR319a//miR319c//miR319b//miR319g//miR319k	154	62.585	12.536.752	66.597.354	12,28	939,75	76,50
miR319b		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR319b		19	12.536.752	66.597.354	0	0,29	-
miR319b//miR319d//miR319e	8	346	12.536.752	66.597.354	0,64	5,20	8,14
miR319c		14	12.536.752	66.597.354	0	0,21	-
miR319c		22	12.536.752	66.597.354	0	0,33	-
miR319c//miR319d		92	12.536.752	66.597.354	0	1,38	-
miR319c//miR319d	6	105	12.536.752	66.597.354	0,48	1,58	3,29
miR319c//miR319f//miR319a//miR319//miR319b	34	3.747	12.536.752	66.597.354	2,71	56,26	20,75
miR319e		12	12.536.752	66.597.354	0	0,18	-

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000		C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri	
A-miRNA	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR319g//miR319l		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR319h		45	12.536.752	66.597.354	0	0,68	-
miR319i		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR3627	63	632	12.536.752	66.597.354	5,03	9,49	1,89
miR3627a//miR3627b//miR3627c		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR3630	5	100	12.536.752	66.597.354	0,40	1,50	3,76
miR3711	86	2.793	12.536.752	66.597.354	6,86	41,94	6,11
miR390		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR390a//miR390b//miR390	24	1.103	12.536.752	66.597.354	1,91	16,56	8,65
miR390b		8	12.536.752	66.597.354	0	0,12	-
miR393		59	12.536.752	66.597.354	0	0,89	-
miR393a		14	12.536.752	66.597.354	0	0,21	-
miR393a//miR393b	12	841	12.536.752	66.597.354	0,96	12,63	13,19
miR393a//miR393b//miR393	77	1.200	12.536.752	66.597.354	6,14	18,02	2,93
miR393b		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR393b//miR393a//miR393//miR393c//miR393d	79	2.249	12.536.752	66.597.354	6,30	33,77	5,36
miR393c		11	12.536.752	66.597.354	0	0,17	-
miR394a//miR394b//miR394	10	1.584	12.536.752	66.597.354	0,80	23,78	29,82
miR3954b		13	12.536.752	66.597.354	0	0,20	-
miR395a		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR395b		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR395d		11	12.536.752	66.597.354	0	0,17	-

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000		C(x)/E(x)*1000000		EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
A-miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		
	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR395d//miR395e//miR395f//miR395g		14	12.536.752	66.597.354	0	0,21	-
miR396	636	61.225	12.536.752	66.597.354	50,73	919,33	18,12
miR396a		97	12.536.752	66.597.354	0	1,46	-
miR396a		111	12.536.752	66.597.354	0	1,67	-
miR396a		119	12.536.752	66.597.354	0	1,79	-
miR396a		218	12.536.752	66.597.354	0	3,27	-
miR396a	12	317	12.536.752	66.597.354	0,96	4,76	4,97
miR396b	8	199	12.536.752	66.597.354	0,64	2,99	4,68
miR396b//miR396a//miR396//miR396c//miR396e	372	40.652	12.536.752	66.597.354	29,67	610,41	20,57
miR396b//miR396c//miR396i//miR396j//miR396k//miR396l//miR396m//miR396n//miR396o//miR396p//miR396q//miR396r//miR396s//miR396t		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR396c		71	12.536.752	66.597.354	0	1,07	-
miR396e		12	12.536.752	66.597.354	0	0,18	-
miR396e		38	12.536.752	66.597.354	0	0,57	-
miR396e		318	12.536.752	66.597.354	0	4,77	-
miR396g		31	12.536.752	66.597.354	0	0,47	-
miR396h		3.098	12.536.752	66.597.354	0	46,52	-
miR397a//miR397b		63	12.536.752	66.597.354	0	0,95	-
miR397a//miR397b		137	12.536.752	66.597.354	0	2,06	-

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000	C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		
A-miRNA	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR397b		6	12.536.752	66.597.354	0	0,09	-
miR398		11	12.536.752	66.597.354	0	0,17	-
miR398	6	49	12.536.752	66.597.354	0,48	0,74	1,54
miR398a		10	12.536.752	66.597.354	0	0,15	-
miR398b	91	9.444	12.536.752	66.597.354	7,26	141,81	19,54
miR398f//miR398g		97	12.536.752	66.597.354	0	1,46	-
miR399a		49	12.536.752	66.597.354	0	0,74	-
miR399b		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR399e		466	12.536.752	66.597.354	0	7,00	-
miR399f		25	12.536.752	66.597.354	0	0,38	-
miR403a//miR403b	323	13.764	12.536.752	66.597.354	25,76	206,67	8,02
miR403b		16	12.536.752	66.597.354	0	0,24	-
miR408		11	12.536.752	66.597.354	0	0,17	-
miR408	25	966	12.536.752	66.597.354	1,99	14,51	7,27
miR408b//miR408	62	1.475	12.536.752	66.597.354	4,95	22,15	4,48
miR408d		62	12.536.752	66.597.354	0	0,93	-
miR482c		6	12.536.752	66.597.354	0	0,09	-
miR482c	33	200	12.536.752	66.597.354	2,63	3,00	1,14
miR482e		10	12.536.752	66.597.354	0	0,15	-
miR4995		17	12.536.752	66.597.354	0	0,26	-
miR5049		115	12.536.752	66.597.354	0	1,73	-
miR5054	14	269	12.536.752	66.597.354	1,12	4,04	3,62
miR5077		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR5083		238	12.536.752	66.597.354	0	3,57	-
miR5139	93	1.320	12.536.752	66.597.354	7,42	19,82	2,67
miR5161		22	12.536.752	66.597.354	0	0,33	-
miR5171a		6	12.536.752	66.597.354	0	0,09	-
miR5174d		8	12.536.752	66.597.354	0	0,12	-
miR5174e		12	12.536.752	66.597.354	0	0,18	-

Ek 24 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*10 00000	C(x)/E(x)*1 000000	EĞER(G(x)> F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		
A-miRNA	B- KN-sRNA	C- VR-sRNA	D- KN-sRNA	E- VR-sRNA	F- KN-sRNA	G- VR-sRNA	H- Kat değişimi
miR5181	9	395	12.536.752	66.597.354	0,72	5,93	8,26
miR5181d		28	12.536.752	66.597.354	0	0,42	-
miR5205b		63	12.536.752	66.597.354	0	0,95	-
miR5205c//miR5205d		20	12.536.752	66.597.354	0	0,30	-
miR535b//miR535c//miR535d//miR535e//miR535f		50	12.536.752	66.597.354	0	0,75	-
miR535c		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR535d		20	12.536.752	66.597.354	0	0,30	-
miR535d	385	26.804	12.536.752	66.597.354	30,71	402,48	13,11
miR5368	6	18	12.536.752	66.597.354	0,48	0,27	-1,77
miR6118		19	12.536.752	66.597.354	0	0,29	-
miR6173		18	12.536.752	66.597.354	0	0,27	-
miR6300	9	1.512	12.536.752	66.597.354	0,72	22,70	31,63
miR6478	210	2.757	12.536.752	66.597.354	16,75	41,40	2,47
miR7122b		7	12.536.752	66.597.354	0	0,11	-
miR7767		13	12.536.752	66.597.354	0	0,20	-
miR7972	423	27.699	12.536.752	66.597.354	33,74	415,92	12,33
miR8155		17	12.536.752	66.597.354	0	0,26	-
miR8175	465	5.595	12.536.752	66.597.354	37,09	84,01	2,27
miR827		17	12.536.752	66.597.354	0	0,26	-
miR827	5	85	12.536.752	66.597.354	0,40	1,28	3,20
miR827	40	529	12.536.752	66.597.354	3,19	7,94	2,49
miR845a		12	12.536.752	66.597.354	0	0,18	-
miR8689		5	12.536.752	66.597.354	0	0,08	-
miR894	198	4.259	12.536.752	66.597.354	15,79	63,95	4,05

Ek 25: Küçük RNA dizileri ile eşleşen olgun miRNA'ların TPM (transcripts per million) normalizasyon sunucuna göre kontrol ve kuraklık stresi uygulanmış örneklerde ifade kat değişimleri

TPM normalizasyon formül:					B(x)/D(x)*1000000	C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		
(A) miRNA	(B) KN-sRNA	(C) KR-sRNA	(D) KN-sRNA	(E) KR-sRNA	(F) KN-sRNA	(G) KR-sRNA	(H) Kat değişimi
miR1118	25	8	12.536.752	20.410.254	1,99	0,39	-5,09
miR1127		7	12.536.752	20.410.254	0	0,34	-
miR1128		15	12.536.752	20.410.254	0	0,73	-
miR1133		5	12.536.752	20.410.254	0	0,24	-
miR1436	16	45	12.536.752	20.410.254	1,28	2,20	1,73
miR1515a//miR1515b	126	13	12.536.752	20.410.254	10,05	0,64	-15,78
miR1520n		7	12.536.752	20.410.254	0	0,34	-
miR156d		7	12.536.752	20.410.254	0	0,34	-
miR156e	29	25	12.536.752	20.410.254	2,31	1,22	-1,89
miR156k//miR156n//miR156o	29	36	12.536.752	20.410.254	2,31	1,76	-1,31
miR156q//miR156s		6	12.536.752	20.410.254	0	0,29	-
miR159a	100	48	12.536.752	20.410.254	7,98	2,35	-3,39
miR159a//miR159b//miR159	3.433	6.462	12.536.752	20.410.254	273,83	316,61	1,16
miR159b	49	17	12.536.752	20.410.254	3,91	0,83	-4,69
miR159b	106	201	12.536.752	20.410.254	8,46	9,85	1,16
miR159b	640	3.143	12.536.752	20.410.254	51,05	153,99	3,02
miR159c	119	19	12.536.752	20.410.254	9,49	0,93	-10,20
miR159c	47	49	12.536.752	20.410.254	3,75	2,40	-1,56
miR162	358	75	12.536.752	20.410.254	28,56	3,67	-7,77
miR162a	33	5	12.536.752	20.410.254	2,63	0,24	-10,75
miR162a//miR162b	5	19	12.536.752	20.410.254	0,40	0,93	2,33
miR164b//miR164c	32	36	12.536.752	20.410.254	2,55	1,76	-1,45
miR165a//miR165b	20	21	12.536.752	20.410.254	1,60	1,03	-1,55
miR166	31	14	12.536.752	20.410.254	2,47	0,69	-3,60

Ek 25 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000		C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
(A) miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		(H) Kat değişimi
	(B) KN-sRNA	(C) KR-sRNA	(D) KN-sRNA	(E) KR-sRNA	(F) KN-sRNA	(G) KR-sRNA	
miR166	410	194	12.536.752	20.410.254	32,70	9,51	-3,44
miR166a//miR166c//miR166d	25	5	12.536.752	20.410.254	1,99	0,24	-8,14
miR166a//miR166d	404	71	12.536.752	20.410.254	32,23	3,48	-9,26
miR166a//miR166e//miR166b//miR166d	401	176	12.536.752	20.410.254	31,99	8,62	-3,71
miR166b	5	24	12.536.752	20.410.254	0,40	1,18	2,95
miR166c	5.424	3.146	12.536.752	20.410.254	432,65	154,14	-2,81
miR166d	17	13	12.536.752	20.410.254	1,36	0,64	-2,13
miR166e	26	10	12.536.752	20.410.254	2,07	0,49	-4,23
miR166e	130	351	12.536.752	20.410.254	10,37	17,20	1,66
miR166e	17	23	12.536.752	20.410.254	1,36	1,13	-1,20
miR166f	35	13	12.536.752	20.410.254	2,79	0,64	-4,38
miR166i	12	9	12.536.752	20.410.254	0,96	0,44	-2,17
miR166i	30	12	12.536.752	20.410.254	2,39	0,59	-4,07
miR166j	32	25	12.536.752	20.410.254	2,55	1,22	-2,08
miR166j	233	23	12.536.752	20.410.254	18,59	1,13	-16,49
miR166m	26	23	12.536.752	20.410.254	2,07	1,13	-1,84
miR167	204	233	12.536.752	20.410.254	16,27	11,42	-1,43
miR168	10	8	12.536.752	20.410.254	0,80	0,39	-2,04
miR168	82	230	12.536.752	20.410.254	6,54	11,27	1,72
miR168a	6	10	12.536.752	20.410.254	0,48	0,49	1,02
miR168b		33	12.536.752	20.410.254	0	1,62	-
miR168b	12	20	12.536.752	20.410.254	0,96	0,98	1,02
miR168b//miR168	130	432	12.536.752	20.410.254	10,37	21,17	2,04
miR171c	26	24	12.536.752	20.410.254	2,07	1,18	-1,76
miR171k		11	12.536.752	20.410.254	0	0,54	-
miR2916	1.577	11.871	12.536.752	20.410.254	125,79	581,62	4,62
miR319		8	12.536.752	20.410.254	0	0,39	-

Ek 25 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000		C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
(A) miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		(H) Kat değişimi
	(B) KN-sRNA	(C) KR-sRNA	(D) KN-sRNA	(E) KR-sRNA	(F) KN-sRNA	(G) KR-sRNA	
miR319a//miR319c	154	115	12.536.752	20.410.254	12,28	5,63	-2,18
miR319b//miR319d//miR319e	8	17	12.536.752	20.410.254	0,64	0,83	1,31
miR3627	63	52	12.536.752	20.410.254	5,03	2,55	-1,97
miR3711	86	3.238	12.536.752	20.410.254	6,86	158,65	23,13
miR390	24	14	12.536.752	20.410.254	1,91	0,69	-2,79
miR393	77	15	12.536.752	20.410.254	6,14	0,73	-8,36
miR393	79	16	12.536.752	20.410.254	6,30	0,78	-8,04
miR396	636	192	12.536.752	20.410.254	50,73	9,41	-5,39
miR396a		6	12.536.752	20.410.254	0	0,29	-
miR396a	12	5	12.536.752	20.410.254	0,96	0,24	-3,91
miR396b	8	15	12.536.752	20.410.254	0,64	0,73	1,15
miR396c	372	95	12.536.752	20.410.254	29,67	4,65	-6,38
miR398	6	84	12.536.752	20.410.254	0,48	4,12	8,60
miR398b	91	352	12.536.752	20.410.254	7,26	17,25	2,38
miR398f//miR398g		8	12.536.752	20.410.254	0	0,39	-
miR403a//miR403b	323	47	12.536.752	20.410.254	25,76	2,30	-11,19
miR408	25	106	12.536.752	20.410.254	1,99	5,19	2,60
miR408	62	230	12.536.752	20.410.254	4,95	11,27	2,28
miR482c	33	51	12.536.752	20.410.254	2,63	2,50	-1,05
miR4995		47	12.536.752	20.410.254	0	2,30	-
miR5054	14	134	12.536.752	20.410.254	1,12	6,57	5,88
miR5077		16	12.536.752	20.410.254	0	0,78	-
miR5139	93	354	12.536.752	20.410.254	7,42	17,34	2,34
miR535d	385	190	12.536.752	20.410.254	30,71	9,31	-3,30
miR5368	6	10	12.536.752	20.410.254	0,48	0,49	1,02
miR5658		5	12.536.752	20.410.254	0	0,24	-
miR6173		12	12.536.752	20.410.254	0	0,59	-
miR6300	9	8	12.536.752	20.410.254	0,72	0,39	-1,83
miR6478	210	342	12.536.752	20.410.254	16,75	16,76	1,00

Ek 25 (devamı)

TPM normalizasyon formül:			B(x)/D(x)*1000000	C(x)/E(x)*1000000	EĞER(G(x)>F(x);G(x)/F(x);-F(x)/G(x))
(A) miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Filtrelenmiş temiz okulamarın sayısı		Normalize edilmiş ifade değeri		(H) Kat değişimi
	(B) KN-sRNA	(C) KR-sRNA	(D) KN-sRNA	(E) KR-sRNA	(F) KN-sRNA	(G) KR-sRNA	
miR7972	423	49	12.536.752	20.410.254	33,74	2,40	-14,05
miR8175	465	1.862	12.536.752	20.410.254	37,09	91,23	2,46
miR894	198	6.256	12.536.752	20.410.254	15,79	306,51	19,41

Ek 26: Küçük RNA dizileri ve gerçekleştirilen BLAST işlemi sonucu elde edilen sınıflandırma CD'de Ek 26 olarak verilmiştir

Ek 27: BLAST sonucu eşleşme göstermeyen ve saç tokası yapısı analizinde kullanılan diziler CD'de Ek 27 olarak verilmiştir

Ek 28: miRCat programı ile saç tokası yapısı belirlenen küçük RNA'lar, saç tokası dizileri ve kaynakları

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGG	ATTCAAGTCTAATTTTTGCTCATTTGGAACCTCTATATGAGTATAGTGAGAG CTCCAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGGT	*Beta vulgaris*
CGGTAGTACGCGACTTGGCATG	CCCGGTAGTACGCGACTTGGCATGAAGTCTTTCCAAACCATAGGTTGGATA GCCAATGAGCGTACTCGAGGTGGG	*Beta corolliflora DNA contig*
AAACAGAATACACGTCGCGACCCG	CAAAACAGAATACACGTCGCGACCCGCGATACAGATCGCGAGTCGCGAAA GTGCACTGGTCTTG	*Beta corolliflora DNA contig*
ACCCTGGGGGGGACTGAGGTTC	CAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTTCCCCGGGGGATAAAGGCTTCGGGAATGT GGCTCTCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGTTGCGTAATACCCTGGGGGGGACT GAGGTTCGCGCTTCTG	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
AGCGACGATAGGCCCCCCCCT	CTCCCGGCGTCCGTGCCGAGCGACGATAGGCCCCCCCCTTCCCGGGGGGGG CCCCGCGCCGTAAGACTCGCCCCGGAG	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
AAAAAATAAAAAATGGGC	TAGTATGGGTAAAAAAAAATAAAAAATGGGCTATGAAATAAAGCTCGTTTT TTATTTTTTATTTTTTTTTTAAAGTGCTA	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
GTAAGGAGAGAGAGAGAACAGAGA	GCAGTTGAGTGTGATTTCTTTTTTTTTAAGGAGTTGAGCGTGATTCAGTAAG GAGAGAGAGAGAACAGAGAAGTGC	*Beta corolliflora DNA contig*
GATAGCTGGGTCGGGTC	CAAGGTGTGTGGAACACGGATCCAGATAGCTGGGTCGGGTCTTGGGCTGGC TTTATGCTGGCCTGCCCTGTCCAAGTTGGGAGTTGATCCATGGGCCTTG	*Beta corolliflora DNA contig*
GTAGGTGCACACGTTCGTATGGTG	GTTCATTTCTGCACCATTTCATTAATTTGGGCTGCGGTTGCTGTTTTAAAGTG CAAATTAGTAGGTGCACACGTTCGTATGGTGAGGAAGGTGCGCATGATGAA C	*Beta corolliflora DNA contig*
GACCGAGCGCGGACTAG	GGCGGCCTACGTTGGGCTGTGTTTGGACCTTTCGGGGACCGAGCGCGGACT AGCGGTCGGGCTGCT	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
TGGGGACGCTGGGCAC	GGCGCCGGGTTTCCGTGGTGGGGACGCTGGGCACCCTGTGCTCAGCTACTC GCCTCGGGGGCCTACACGACGCT	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
CGTAGTCCGCGCGGGC	GAGCCCCTGGGTACGAGCTGCAGCGGCATTTGGTGGAAGACAAGGCCTTGC CTAGGATGCATCGGCGTCGCTCAGCACGTAGTCCGCGCGGGCTC	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	GATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCCGTTTTTTTTTGGCCAAATTTCCCTATAT TTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCATC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCG	AAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCGGCCCTTTATTACTTAAAGAGCCGC GTTTTTAAAAAACCGCAACCCTTT	*Beta vulgaris*
AATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGG	GTACACCTAAGATTAATGTTTGCTCATTTGAGACCCTCCTTTTTTTTTTTAAGC ACATTATTTGCTTATATGGATGTGGACTATTTCAAATGAGCAAAAAAAAATAG CCTTGGGTATGC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTAGAGTGAAGGG CTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCAGTTTAC	*Beta vulgaris*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCCTCAGATTTTTTTGGCCAAATTTCCCT CCCATATTTTGGTTGATTTTCGGATGCAGTTTTACAAAAACCGCATATGAT	*Beta vulgaris*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
ACATAGATATGAGAGAGAGAGAGA	CTACCTTACTTTACAATTTTGTTGTTGACAGCTACCTTATGCCGGTTTCCGGC GTTGATTCTTGTTTTTTCAGTTCAAAATTGTGGGAAAAACAAAATTACCCTT GTGAGGGTGATTGTTTCAATTTTAGTTTAAGTAGAAGAGGAATTTAATGGTG GACTGGTATTACAAAGTGTCACATAGATATGAGAGAGAGAGAG	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	CCATAAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTATAAGCCATAAAGG GCTGTGTTTTTTTTTAAATTGCAGCCCTTTATGGCTAATAGGGCTGCGTTTTC AAAAAACGCAGCCCTTTATGG	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	AGGGCTGCGTTTTTAAAGAAAACCGCAGCCCTTTTAGTGAAGGGCTGCGTTT TTTTAAAAACCGCAGCCCT	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	AGGGTTGCATTTTTCAAGAAAATCGCAGCCCTTTTAATGAAGGGCTGCGTTT TTTTAAAAACCGCAACCCT	*Beta vulgaris*
AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	TATTACTTTATGTTCCTTCCACCATTCTTAAATAATTGCAACATGTGGGGGTT GCACATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGAGATG	*Beta vulgaris*
AGCGAACGTCTGGCCTGG	TCCTATGGGGCGAACGTCTGGCTGGACGTTCGCCCTATGGAGCGAACGTCT GGCCTGGACGTTCGCTCCATAGGG	*Beta vulgaris*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	TCTGATGTGGTCCAAAAACCGCATCAGATTAATAAAAAAACGGCAGCGGTT TATTAATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGA	*Beta vulgaris*
AGCGAACGTCTGGCCTGG	CGGACGTCTGCCTTGGAAGTTCGTCCCATGGAGCGAACGTCTGGCCTGGAC GTTCGGGGCCAGAGGTTCGCTCCGTGGGCCGAACGTCCAGGGCAGACGTTC G	*Beta vulgaris*
AAGGATAAAAAAAACAGAGGGAGT	GAGACGTGCATAGAAAAGTGAGAAGGATAAAAAAAAACAGAGGGAGTATTA TACTCCCTCCGTTGCCTTTTGTTCTTGTTTTATTTTTTAGGCCGTTTC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	TGCAGTTTTTAAAAAACCGCAGCCCTTTATTACTTAAAGGGCTGCGGTTTTT TTAAAAACGCA	*Beta vulgaris*
AGCGAACGTCTGGCCTGG	GCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCCCCGTGGCTTGAACGGCTAGACGTTC GAGCCATGGAGCGAACGTCCTAGCCAAACGTTCGC	*Beta vulgaris*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	GTGTATCATGTACATGGTACACAAAAGCTATTATTTTCTCGTTTGCTCATTTG GAGCTAACCATTTTGTCATTATGCTCATTTGGAGGTTTCAAATAAGCAATGA GCAAAAAAAATAGCCTTGGGTATACCACGAGCATGGTACAC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCG	AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTATGAAGGGCT GCGGTTTTTGGGCTAATCGCAGCCCTTCACTTATAGGGCTGCGGTTAGCCTA AAAATCGCAGCCCTTCATACAGTACGAAGGGCTGCGATTTCTTGTTAACCGT AGCCCTTCACT	*Beta vulgaris*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	CCATGCATATTTTTTACTCATTTACTCATTTGGAGCTGCACCTATTATGTGAT TATGCTCATTTGGAGTTTCAAATGAGCAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	GAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAACCCTTCGTTTATGAAGGGCTGCG GTTTTTGGGCTAATCGCAGCCCTTC	*Beta vulgaris*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	GTTTTTTAATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATTTTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCATCTAATACTAAGTGAC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAACCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCCCTTCGTATATGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTTTAGTG	*Beta vulgaris*
AATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCC	TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCTATAATGCCCTGTTCAATAAAAGCCCTGTAAATTTGA	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	TGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCATCCCTTCGTTTTTGAAGGGTTGCGGTTTTTGGGATGATCGCAGCCCTTCA	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GTGAAGGACTACGGTTAACCCAAAAACCGCAGCCCTTCGTAAATGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTAAC	*Beta vulgaris*
GAGAGAGAATAGATGAGAGAGAGT	GAAGAGAGAGAATAGATGAGAGAGAGTGGAGAGCTAGTTGGAGAGCCATGTACCATTGTACATGCTCTAAAACTACTACATTTACTTTCTACTCTTTCCTTTTTTTTTACTTC	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGG	TGTACCATGTATATGGTACATCCAAGGCTATTTTTTGCCCATTTGCTCATTTGGAGCTTATCTAGTATGTGATTATGCTCATTTGGAAGTTCAAATGAGTAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAGCATGGTACA	*Beta vulgaris*
AATGAGTAAAAAAAATAGCCTTGGG	TGTACTATGTGCATGGTATAGAACCGAAGACTAATTTTTGCTTATTTAGAACTCTTCTTTTTTTGCGCATTTCAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATACCCATGGTATA	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGTAAAAAAAATAGCCTTGGG	GTACACCCAAGACTATTTTTTGCTCATTTGCTCATTTAGAACTCTATCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGGTTTCAAATGAGTAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTAT	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	AAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCCCTTTATTACTTAAAGGGCTGCGTTTTTAAAAAAACCGCAGCCCTTT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGTAAAAAAAATAGCCTTGGG	CATGTGCATGGTACACCCAAAGGCTATTTATTGCTCATTTGCTCATTTGAAGCTCTACTTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGGTTTCAAATGAGCAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTAGCATGAACATG	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGG	TTTATCATACACTCGAGTGTACCATGTGCATGGTACATCCAAGACTATTTTTTGCTCATTTGGGACCTCTAAATAAATGAGATAATGAGAGCTCTAAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATAAACATAGTACACCTGAGTGTATGATAAA	*Beta vulgaris*
CGGAATCTGGAAAAAAAATTGGACC	GGTCCAGGACCGGACCGGAACCGGCTGGACCGGTGGACCGGAATCTGGAAAAAAATTGGACCTGGACCAGACCGAAATTTTTCCGGTCCGGTCCCGTCTGGACCTGAATTTTTCCGGTCCGGTCCGGTTTTAGACC	*Beta corolliflora DNA contig*
CCACGGGCCAAAAAAACTGCC	GGGCCGGGCCAAAAATTAGGCTAAAAAGTGTTTTTTGGCTTGTCCAAAGCCCGCCCAAAAAAAAAATCCGGGTTGGGCCCACGGGCCAAAAAAACTGCCCAAAGCCGCCCAAAAACCGGGCCGAGCCC	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCCCTTCGTCTACGAAGGGCTG CGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTT	*Beta vulgaris*
AATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCC	TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCTATTCAATAACGACCTTGTCCAAT AAAAGCCCTATAAATTTGA	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAG CCCAAAAATCGCGGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG CAGCC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGG CTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTTTAGTG	*Beta vulgaris*
AATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG	TGTGCCATGTGCATGGTACATTTTAGGCTATTTTTTGCTCATTTACTCATTTG GAGCTCTACCTTTTATGTGATTATGCTCATTTGGAGTTTCAAATGAGCAATG AGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTATCATGCTCATGGTGCA	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACG	TAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAACACCGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTG CGGTTTTTTTAAATACGCAGCCCTTA	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	GTATCATGTGCATGGTACACTCAAAACTATTTTTTGCTCATTTGATCATTTGG AGCTCTACCTATTAATTGATTATGCTCATTTGGAGGTTTCAATGAGTAATGA GCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAGCATGGTAC	*Beta vulgaris*
CGGAATCTGGAAAAAAATTGGACC	AAAAATTCCGATCCGGACCGGTGGACCGGAATCTGGAAAAAAAATTGGACCT GGACCAGAATTTTTCCCGATTCCGGGTTTTGGACCTGTTAGACCGGAATTTT T	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGAAGAGAGAGAAGAGA	TTCATCTTTCTCTCTCTTATCTTTGAGTTATGGTGAGCTTCGAACAGCTGCAA AAATGGCGAAACAAGAAGAGAGAGAAGAGAAGAA	*Beta corolliflora DNA contig*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTGGCCAAATTTCCCT CCCATTTTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCGTTTGGT	*Beta vulgaris*
AAGAAGAGAGAGAAGAGA	GAAAGAAGAGAGAGAAGAGAAAGGAGAGAGAAAATAATTAGGTACATTTC TTTTTTGTTGTTTTTATCTTTTTTTTTTT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	ATGGTACACCCAAGGCTGATTTTTGCTCATTTACTCATTTGAAGCTCCACCT ATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGTTTCAAATGAGTAATGAGCAAAAAAA ATAGCCTTGGGTGTATGAT	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTATGAAGGGCT GCGGTTTTTGGGCTAATCGCGGCCCTTCACT	*Beta vulgaris*
ATATATATATATAGAGTCGGGATC	ATTCTTTTTTTGGCTTTTATATATATATATATATATATATATAGAGTCGGG ATCATGTGAGAAT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	TACCATGTGTATGGTATACCCAAGGCTATTTTTTGCTTATTTGCTCATTTGGA GCTCCACCTATTATGTGATTATGCTTATTTGAAGTTTTAAATGAGCAATGAG CAAAAAAAATAGCCTTGGATGTACCATGCTCATGGTA	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	GCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCCCTTCTTGTATGAAGGGTT GCGGTTTTAAAGGAAACTGCAGCCCTTTTAGT	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AGCAACTAAAAAAACGGATGAAGT	GTAGCAACTAAAAAAACGGATGAAGTAGTATGTACTTCCTCCGTTCTTTTTC TATTGCAAC	*Beta corolliflora DNA contig*
CGAGTAAAAAAAACGGAGGAAGT	AGTGTTGCGAGTAAAAAAAACGGAGGAAGTATTAGTTTTCCTCTGTTTAGTT TGATGGAAAACT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAACAAAAAAATAGCCTTGG	GTACCATGTGCATGGTACACCCAATGCTATTTTTTACTCATTTACTCATTTAG AGCTCCACCTATTATATGATTATGCTCATTTGGAGTTTCAAATGAGCAATGA ACAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTAC	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GGGCTGCGTTTTTTGGAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAG CCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG CAACCC	*Beta vulgaris*
AAGGTTTTTTTCGACGGCGCT	AGCGTTGATGATAGAATTTTGTTGGCTTAACTTCACGGTTGAAGTGCGTCCA AAAAGGTTTTTTTCGACGGCGCT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGG	ACTGTACATGGTACACCCAAGACTAATTTTTGTTCATTTGCTCATTCGAAAC TCTCTTTTTAGTACATTTACGTCATTTGGATGATTTCAAATGAGCAATGAGC AAAAAAAATAGCCTTGGATGTACCATGTTCACGT	*Beta vulgaris*
AAGGCCCTGTTTTTTTGGACT	ACTGAACTGAACTGAAAATAAGTTGGGGAGAACAGGCCCTAAGGCCCTGTT TTTTTGGACTTATTTTCAGTTCAGTTCAGT	*Beta corolliflora DNA contig*
AAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	ATACACCCGGGTGTATCATGAGCATGGTACACCCAAGACTGTTTTTTCTCAT TTGCTCATTTGGAGCTCTTACTATCTCATTTGGAAGTTTCAAATGATCAAAT GAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAACATGGTACATCCGGGTGTA T	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	TATATTATACACTTGGGTGTACCATATACAAGGGCATTTATTTGCTTATATC GCATTTGTAGAGTTCTAAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGGGTTTATTAT ATACTCGAGTGTACGGTGTA	*Beta vulgaris*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	GGTAGATTTCAAATGAGTAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCAT TCTCGGGGTACACTCGAGTGTATGATTGAATTTGTAGTATTAGAAAAAAAGT TGTTTACC	*Beta vulgaris*
TGGGGGAGGGGGGCTGC	GGTGGCTCATTCCCCTTCTTTTTGCGACATTACTTGGGGGAAGGGGCTGCGG GGGGTGGGGGAGGGGGGCTGCT	*Beta corolliflora DNA contig*
CGGGGGTGGGGGAGGGGG	CCTCTTTCTCGCCCAGATTCGAACTCTCTCTAGCCCAGAGCCTTTTTCGCGGA ATTCGACGGGGGTGGGGGAGGGTGGGGAATTCGACGGGGGTGGGGGAGGG G	*Beta corolliflora DNA contig*
AATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCC	TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCAATAACGACCCTGTCAAATAAAA GCCCTATAAATTTGA	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGG CTGTGGTTAGCCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTT TTTAAAAACGCAGCCCTTTTAGTG	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GTAGCCCTTCGTTACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCATTTA GTGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCCCTTCATTTACGAAGGGC TGC	*Beta vulgaris*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	AGGGCTGCGTTTTTTGAAAAACGCAGCCCTTAATAGTGAAGGACTGCGGTT AGCCCAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTACGAAGGGCTGCGGTCAATGCAAAA ACCGCAGCCCTATAAGTAATAAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAACCCT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG	TACCATGTCTATGCATTGTAGACTCAAGACTAATTTTTGCTCATATGAAACT CTCCTTTTGAGTATATATTTTGCTCATTTTTGGATTGTTTCAAATGCAATGAG TAAAAAAATAGCCTTGGGTATAACATGCTCATGGTA	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAACAAAAAAATAGCCTTGG	GGTTTTTATATACTAATTTTTTGTTAATTTGCTCATTTGGAACTCTTCTTTTTA GTACATTTTGCTTATTTTGATGATTTCAAATGAGCAATGAACAAAAAAATAG CCTTGGGTGTACC	*Beta corolliflora DNA contig*
CTAGGGGGTTATTTTTTTGTAATT	TAGGGGGTTATTTTTTTGTAATTGTAAGGGGTTACTTTTGTAATTATAAGGG GATATATTTACTA	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGA	CCAAGGCTTTTTTTTCCATTTGAAACTCTCTATATTGGGCGAATTTTGCACAT TTTGAGGTTTAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAATAAAAAAATAGCCTTGGG	GTACCATGTGCATGGTACACCCAAGATTAATTTTTGCTCATTGCTTATTTATA ACTCTTGCTTTTTAGTACATATTGCTCATTTGGATGATTGCAAATGAGCAAT GAATAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACTATGCTCACGGTAC	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GTGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTTTACGAAGGGC TGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTCAC	*Beta vulgaris*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	GTACACCCAATGCTATTTTTTGTTCATTTGCTCATTTAGAGTTCTACCTATTA TGTGATTATGCTCATTTGAAGGATTAAAATGAGCAATGAGCAAAAAAAATA GCCTTGGGTGTAT	*Beta vulgaris*
AATGAATAAAAAAATAGCCTTGGG	GTACCATGCACATGGTACATCTAAGGCTATTTTTTGTTCATTTACTCATTTGG AGCTCTACCTATTATGTGATTATGCTTATTTGGAGTTTCAAATGAGCAATGA ATAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTAC	*Beta corolliflora DNA contig*
AAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	TACACCCAAGGCTATGTTTTTTCTCATTGCTAATTTGAAACCTCCAAATGAT CATAATCACATAATAGGTAGAACTCCAAATGAGCAAATGAGCAAAAAAATA GCCTTGGGTGTG	*Beta corolliflora DNA contig*
CTTGGGCAGTTTTTTTTGGGC	TTGGGCGGGCTTGGGCAGTTTTTTTTGGGCGGGCTTTGGACAAGCCAAAAA AGACGTTTTAGTCTTTTTTTTTTGTCCCGGCCCGTTTTAGCCCGAAAAAGTCC GCTCGGCCCGGCCCGA	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG	GGGTGTATCATGTGCATGGTACACCCAATGTTATTTTTTGCTCATTTGCTCAT TTGAGACCTCCAAATGAGCAAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCA TGCTCATGGTACACCC	*Beta corolliflora DNA contig*
ACACACGCGCGCGCGCGCCGGCCG	ATGGCAAGCCACACACGCGCGCGCGCCGGCCGGGCTGGGCTCGTGGCGC GCGCGGGTTGTGGGCCTGCGGT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGA	CCATGACTTATTTGTGCTTATTTGCTCATTTGAAACTCTCATTTTTAGTACAT TTTGTTCATTTAGATGATTTCAAATGATCAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	AGGGCTGCGTTTTTAAAAAACGTAGCCCTTAATAGTGAAGGGTTGCGGTTAGCCCAAAATCCGCAGCCCTTCGTTAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCT	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACG	CGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACGCAGCCCTTTTAGTGAAGGGTTGTGGTTAGCCCAAAAACGCAGCCCTTCGTTTTACGAAGGGCTGTG	*Beta corolliflora DNA contig*
CTTGGGCAGTTTTTTTTGGGC	GGCCCGGTTTTTGGGCGGCTTGGGCAGTTTTTTTTGGGCGGGCTTTGGACAAGCCAAAAAAGAGGTTTTAGTCTAATTTTTTGGCCCGGCCCGATTGGCCTGAAAAATCTCGCTCGGCCTGGCCCGAAATAACGGGCT	*Beta corolliflora DNA contig*
AGCAGCCCCCCCTCCCACCACC	CCCTTCCCCCCACCCTCCCAGCAGCCCCCCCTCCCACCACCCCTTCCCCCACCCTTCCAACCAGGTCTGGGGAGAGGGGTTGCTGGGAGGGTGGGGGAAGGGGTGGTGGGAGGGAGGGCTGCTGGGAGGGTGGGGGAAGGG	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGTTTTTTTCGACGGCGCT	GCATGAGCGTTGATGATAGAATTTTGTTGGTTTAACTTCACGTTTGAAGTGCGTCCGAAAAAGGTTTTTTTCGACGGCGCTTGTTAATGT	*Beta corolliflora DNA contig*
ACATAGATATGAGAGAGAGAGAGA	CTTACTTTACCATTTTGTTGTTGACAACTACCTTATGCCGGTTTCCGGCGTTGACTTTTTTTTCAGTTTAAAATTGTGGGAAAAACAAAATTACCCTTGTGGAAATTGAGGAGGGTGATTGTTTCAATTTTAGTTGAAGTAGAAGAAGAATTTAATGGTGGATTGGTGGTACAAAGTGTCACATAGATATGAGAGAGAGAG	*Beta vulgaris*
AAGGCCCTGTTTTTTTGGACT	AACTAAACTGAACTAACTGATTGGAACTGAACTGAACTGCACTGATTGCAACTGAACTGAACTCAATTGAATTGAAAATAAGCTGGGGAGAACAGGCCCTAAGGCCCTGTTTTTTTGGACTTATTTTCAGTTCAGTTCAGTTCAATTCAGTTCAGTTCAGTTCAGCTCACTTCAGTTCAGTTTAGTTCAGTT	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GGGCTGTGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGTAGCCC	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	AACCGCAGCCCTTCACTAAAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCACTAAAAGGGCTGCGGTTTTTGCATTGACCGCAACCCTTCGTAAGTAAAGGGCTGCGGTT	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	CGCTGAAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCACTTCGTGTATATGAAAGGCTGCGGTTTTCAAGGAAACCGCAGCCCTTTTAGTG	*Beta corolliflora DNA contig*
TTTTAAGTAAAAAAATTAGGGTGT	ACCCTAATTTTTTTTACTTAAACAAAAAAAAGTCATGTGCCTTCATTTTCTCCTTTCCCCTCTTTATCCTCATCCTTCCCCAACTGAAGAAACCCACCCATTCTTGAGCAAGAAAACCCACCAACTATTGAGCAAGGATGAGTAAAGGGGGGAAAGGAGAAAATGAAGGCACGTGTCTTTTTTTTAAGTAAAAAAATTAGGGT	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGAAGAGAGAGAAGAGA	TTCATCTTTCTCTCTCTTATCTTTGAGTTATGGTGAGCTTCGAAAAGCTGCAAAAATGGCGAAACAAGAAGAGAGAGAAGAGAAGAA	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTATGAAGGGCT GCGGTTTTTGGGCTAATCGCAGCCCTTCACT	*Beta vulgaris*
CGGGGGTGGGGGAGGGGG	CACCCCAGCAGCCCCCCACCCCCACCCTAGCACCCCCACCCTAGCACCCCCA TCCCAGCTGCGGAGTTCATCGATGAGAATGGGTTGTGGTGGGGAGCTGCGG GGGTGGGGGAGGGGGATGCTGGGGGTGAGGGAGGGGGCCTGCAGGGGTG	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGGGAAGAAAAAAAGTTGAATC	GGTCTACCAATGGGAAGAAAAAAAGTTGAATCTACCATTGGGAATTCTCAA TAATAGGAGCCTACCTGTGGGAATTTCCCTTTCGGTTTTCTTTTTTTTTATTT GGTACC	*Beta corolliflora DNA contig*
ACACACGCGCGCGCGCGCCGGCCG	CCACACACGCGCGCGCGCCGGCCGGGCCGGGCTCGGCCTCGTGGCGAGC GCGGTGTGG	*Beta corolliflora DNA contig*
AACAATGAGCAAAAAAAATAGCCT	GATACATTCAAGACTAATTTTTGCTCATTTGATCATTTGAAACTCTCCTTTTA AGTACATTTTGTTCATTTGGATGATTTCAAATGAACAATGAGCAAAAAAAAT AGCCTTGAGTGTGTC	*Beta corolliflora DNA contig*
ACTTCCTCCGTTTTTTTATAGATG	TCTATCTTAACACTTCCTCCGTTTTTTTATAGATGCTACATAGAGAAAGTGG GGAGTTTTTAAGAAAGG	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAACAAAAAAATAGCCTTGGG	TACACCCGGGTGTATCATGAGCATGGTACACCCAAGACTATTTTTTCTCATT TGCTCATTTGGAGCTCTTACTATCTCATTTGGAAGTCTCAAATGATCAAATG AACAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAACATGGTACATCTGGGTGTA	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGCCCTGTTTTTTTGGACT	AGTAAGGCCCTGTTTTTTTGGACTGAACTGAACTAAAACTGTGCCCAAAAA AATAGGGCTAACT	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	GGCTGCGTTTTTTGAAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGTTGCGGTTAG CCCAAAAATCGCAGTCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG CAGCC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	CCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG CAGCCCTTTTAGTGAAGGGCTGCGGTTAGTCGAAAACCGCAGCCCTATAAG TAATAAAAGGCTGCGGTTTTTGGG	*Beta vulgaris*
AATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG	GTATGGTACACCCAAGACTAATTTTTGCTCATTTAATTTGCTCATTTGGAAG TCTCCTTTTTTAGTATATTTTGCTCATTTGGATAATTTCAAATGAGTAATGAG TAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGC	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	GCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTTTTAAAACGCAGCCTTCTTATATGAAGGGCTG CGGTTTTAAAGAAACCGCAGCCCTTTTAGT	*Beta corolliflora DNA contig*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCATATTTTTTTTGGCCAAATTTCCCT CCCATTTTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTCTTACAAAAACCGCATCTGAT	*Beta vulgaris*
ACACTAAGGGGGGGTTTGGTTTG	TCCAATTGAAACAAACTCATAGCGTGTAGCAGGTGCTAAACACTAAGGGGG GGTTTGGTTTGGG	*Beta corolliflora DNA contig*
AGTTCAGTCCAAAAAAATAGAGCC	TTAAGTTCAGTTCAGTTCAGACAAATTCAATTCAGTTCAGTCCAAAAAAATA GAGCCTTATTTTTGCTAAAAGTGAGGTAGGCCTTATTTTTTTGAACTGAGAA AAACTGAATTACAGAGAGTAACTGAACTGAACTGAAAATAA	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
ATTGAGTAAAAAAATAGCCTTGGA	GTACTATGTACTTGGTACACCTAAGGCTATTTTTTGTTCATTTACTCATTTGG AGCTCTACCTATTATGTGATTATGCTCATTTCGAGTTTCAAACGAGCATTGA GTAAAAAAATAGCCTTGGATGTACTATACTCATGGTAC	*Beta corolliflora DNA contig*
ATTGAGTAAAAAAATAGCCTTGGA	TACTATGTACTTGGTACACCTAAGGCTATTTTTTGTTCATTTACTCATTTGGA GCTCTACCTATTATGTGATTATGCTCATTTCGAGTTTCAAATAAGCATTGAG TAAAAAAATAGCCTTGGATGTACTATACTCATGGTA	*Beta corolliflora DNA contig*
TTGCGCGGCCTGACCC	GCGAGTTGCGCGGCCTGACCCTTTCTCTTCCGGCCTTTACTCAGATACATTA TGTATCTAAGGTTTCGAGGACGGTGGACGGAGCTTGGTTCAGCGTCTGTAAC CGC	*Beta corolliflora DNA contig*
ACACGCGCGCGCGCGCCGGGCTCG	GGGCTAAAAGGATTGGTAACCACACACGCGCGCGCGCGCCGGGCTCGTGGG GAGCGCGGCGCGGGCGGGGTCTGTGGGTCTGTGGGTCTGTGGTCC	*Beta corolliflora DNA contig*
ATCGGCCTAAAAAAATTTCGC	CCACCACCCACCTGGAAGCAGACGAAATTTTTTTAGGCCGATGGCAGGCCA GACGTTCGCCCATCGGCCTAAAAAAATTTCGCCTGCTTCTAGGTGGGTGGTG G	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAACAAAAAAAATAGCCTTGG	GTACCATTTGCACTGTACATCTAAGACTATTATTTGCTCATCTGCTCATTTGG AGCTCTACCTATTATGTGATTATGTTTATTTGGAGGTTTCAAATGAGCAATG AACAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTATCATGTTCATGGTAT	*Beta corolliflora DNA contig*
CCGCGGGCCAAAAAAACTGCC	GGCTGAAAAGTCTTTTTTGGCTTGCCCAAAGCTCACCCAAAAAAAAAAACGG GCCGCCCCGCGGGCCAAAAAAACTGCCCAAGCC	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAACAAAAAAATAGCCTTGG	GTTCATTCATCATACACCCGGGTGTACCATGTGCATGGTACGCCCAAGACTA ACTTTTGCTCATTTGCTCATTTAGAACTCTGTATGATTTCAACTGAACAATGA ACAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCAAGGTACACCCGGGTGTATC ATAAATTGTTTGC	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	GTACCATGCGCATGGTACACCCAAGACTAATTTTTGCTCATTTGCTCATTTG AAACTCTCCTTTTTAGTATATCTTGCCCATTTAGATGATTTCAAATTAGCAAT GAGCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTAC	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	AAGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTATGAAGGGT TGCGGTTTTTGGGCTAATCGCAGCCCTTCACTT	*Beta vulgaris*
TTAGTAAGAAAAAAAAATGGCGGC	ATGGCGTTAGTAAGAAAAAAAATGGCGGCATTTAGCAAATGAGTTCTTTAA TCAATAAAAAAAAATACTTTTAATTTACTCATTTGCTAAATGCCGCCATTTTTT TTCCTAAATTCTGT	*Beta corolliflora DNA contig*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTGGCCAAATTTCCCT CCCATTTTTTGGTTGATTTTTGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCATCTGAT	*Beta vulgaris*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTGGCCAAATATCCCT CTCATTTTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTTTTATAAAAACCGCATCTGAT	*Beta vulgaris*
AATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCC	TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCAGTAACGGCCATGTCCAATAAAA GCCTTATAAATTTGA	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG	TGTACCATGTGCATGGTACACCCAATGCTATTTTTTTTCTCATTTACTCATTTGTAGCTCCACCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGTTTTAAATGAGCAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTACA	*Beta corolliflora DNA contig*
CGGAATCTGGAAAAAAATTGGACC	CCGGAATCTGGAAAAAAATTGGACCAGGACCGGACCGTCCGGTTCGGTCCGGTTTTGTGCCGGTTAGACCGG	*Beta corolliflora DNA contig*
AGCGGTTAACCTTTTTTTCGGTAC	GAACCGTAACCGTTTAGACTGGTTACCGTCTAAGCGGTTAACCTTTTTTTCGGTACGGTTT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	GTACATCTAAAACTAATTTTTGCTTATTTGCTCATTTGGACTCACTTTTTCAATACATTTTGCTCATTTAGATGATTTCAAATGAACAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTAC	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	AGGGCTGCGGTTTTCGATTAACCGCAGCCCTTCACTAAAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCT	*Beta vulgaris*
AATTCACCCCCCCTCTTGTACGTG	CTTTGCCAAAAGTTCCAAAGTACAATTCACCCCCCCTCTTGTACGTGTTCCATTAAAGTATCAGTGGGCGTGGTTGTGATGGTTGTGCGTGAACCACGGCGAGG	*Beta corolliflora DNA contig*
ATAATTCACCCCCCCTCTTGTAGT	TTGTTAACTTGGAAGGAACTACAAGAGGGGGGTGAATTGTTGTGTGGAACTTATTGCCAAATAATGCGGAATTTAAAACATAAGTAATAAGTTCCACACTATAATTCACCCCCCCTCTTGTAGTTCCTTCCAAGTTAACAA	*Beta corolliflora DNA contig*
AGCGAACGTCTGGCCTGG	GAGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCTCCATGGGGCAAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCTC	*Beta vulgaris*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	AAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAATCCGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTT	*Beta vulgaris*
CGAACGTCTGGCCTGGA	ATGGGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCTCCATGGGGCGAACGGCTGGCCTGGACGTTCGCTCCAT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG	GTACACCCAAGACTATTTTTTGCTCATTTGCTCATTTGGAACTCTATCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGGTTTCAAATGAGTAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTAT	*Beta corolliflora DNA contig*
CGAACGTCTGGCCTGGA	TCGACCCATGGCCCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGGGCCATGGGTCGAACTTCCTGGCCAAACGTTCGCCCCATGGCCTGAACGTCCAGACCAGATGTTCGGGCCATGGGTCGA	*Beta corolliflora DNA contig*
ATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGC	CGATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGCATTGGGGTAGGTTGTATTAGGTGCCATGTGAGAGTGCG	*Beta corolliflora DNA contig*
ATTGAGTAAAAAAATAGCCTTGGA	GTACTATGTACTTGGTACACCTAAGGCTATTTTTTGTTCATTTACTCATTTGGAGCTCTACCTATTATGTGATTATGCTCATTTCGAGTTTCAAATGAGCATTGAGTAAAAAAATAGCCTTGGATGTACTATACTCATGGTAC	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTCGTGTAAGAAGGGCTCCGTTTTCAGGGAACGGGCAGCCCT	*Beta vulgaris*
CGAACGTCTGGCCTGGA	GGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCTCTCCATGGGGCCAACGTCCAGGCCAGACGTTTGCC	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	GGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAACCCTTTAAGTAATAAAAGGGCTGCGTTTTTTAAAAAAAACGCAGCCC	*Beta corolliflora DNA contig*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	TCTGATGCGGTCAAAAAACCGCATCAGATTTTTAAAAAATCGCAACAGTTTTTTAATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGA	*Beta vulgaris*
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCCCTTCTTGTATGGAGGGTTGCGGCTTTAAAGGAAACCGCAGCCCTTTTAGTG	*Beta corolliflora DNA contig*
AACAATGAGCAAAAAAAATAGCCT	GTACACCCAAGACTAATTTTTGCTCATTTACTTATTTGAAACTCTCCTTTTTAATATATTTTACTCATTTGGATGATATCAAATGAACAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTAC	*Beta corolliflora DNA contig*
CGAACGTCTGGCCTGGA	TTGGGACCATGGGGGCGAACATCCCGCCTGGACGTTCCACCCATGGCCCGAACGTCTGGCCTGGATGTTCCACCCATGGCCCGA	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCG	AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCATACTGTATGAAGGGCTGCGATTTCTTGTTAACCGCATCCCTTCACT	*Beta vulgaris*
CATCGGCCTAAAAAAATTTCGC	GGGCGAAATTTTTTAGGCCGATGGGCGAACGTCTGACCTGGACGTTCGCTCCATGGGGCAAACGTCCAGACCAGACGTTCGCCCATCGGCCTAAAAAAATTTCGCCT	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGCCCTGTTTTTTTGGACT	AGGCCCTGTTTTTTTGGACTTATTTTTTGTTAAGTTTATATTCTCTCAGTGACTCAGTCCAAAAGAACGGTGCCT	*Beta corolliflora DNA contig*
AATGAGCAAAAAAAGTCTTGGGTG	TACATCCAAGGCTTTTTTTTTTGCTCATTTACTCTTTTAAAGATCTTTTCGTTGTGCGAATTTTGCTAATTTGGAGGTTTTAAATAAGTAATGAGCAAAAAAAGTCTTGGGTGTA	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	CATCCTAGTTTGTACTTCCTCCGTTCTTTAATAATTGCAACATGTAGGGGTTGCACATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGAGATG	*Beta vulgaris*
AGCGGTTAACCTTTTTTTCGGTAC	GAACCGTAACCGTTTAGACCGGTTACCGCCTAAGCGGTTAACCTTTTTTTCGGTACGATTC	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	CTATTTTACTTCCTCCGTTCTTTAATTATTGCAACATGTAGGGGTTGCAAATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAG	*Beta vulgaris*
ATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGT	CGTCCATAAAAGTTTCCCCTTTTCTGTCATTGCAGAATTCTCCATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGTGTTGGATG	*Beta corolliflora DNA contig*
ATGGACCGGGAAAAAAAGTGAAAA	TACTCCTTTAGTCTTTTTTTTAATTGGGATATTTGTGTTTACACATGGACCGGGAAAAAAAGTGAAAAGGTGGAGTA	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACG	CGCAGCCCTTAATAGTGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAACACCGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACGCAGCCCTTTAAGTGAAGGGCTGCG	*Beta corolliflora DNA contig*
CGGAATCTGGAAAAAAATTGGACC	GGTCCAGGACCGGACCGGAACCGGTTGGACCGGTGGACCGGAATCTGGAAAAAAATTGGACCTGGAAAGGACCGGAATTTTTCCGGTCCGGTCCGGTCTGGACCTGAATTTTTCCGGTCCGGTCCGGTCTTGGACC	*Beta corolliflora DNA contig*
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	GATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATTTTTTGGTTGAATTTCGAATGCGGTTTTACAAAAACCGCATC	*Beta vulgaris*

Ek 28 (devamı)

Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi	Saç tokası kaynağı
AATACCCTGGGGGGGACT	GAATGTGGCTCTCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGTTGCGTAATACCCTGGGG GGGACTGAGGTTC	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
TGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	CTAGGGCTATTTTTTTGCTCATCTGGAGCTCTCACTCTAATGAGCAAAAAAA TAGCCTTGG	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	TATATTATACACTTGGGTGTACCATATACAAGGGCATTTATTTGCTTATATC GCATTTGTAGAGTTCTAAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTTTATTAT ATACTCGAGTGTACGGTGTA	*Beta vulgaris*
TCCGATTTTTTTGCCTAACCG	AACTGATCCGGTTGGGCAAGAAAACCGAACCAGTTAATCAACTTAAGTGGT CCGATTTTTTTGCCTAACCGGATTAGTT	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
CGAACGTCTGGCCTGGA	TTTTAATTGGGGCTAAGGGTCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGACCCATGGC CCGAACGTTTGGCCTGGACGTTTGGGCCATGGGGCGAAAGTCTGGACGTTC GGGCCCGCCAGATGTTCGGGCCATGCGTCAAACTTCCTGGCCAGAAGTTCG ACCTTTAGCCCCAATTAAAA	*Beta corolliflora DNA contig*
AGGAGAGAGAGAGAATTCAGAA	GAAGAAAGAATTTAAGGAGAGAGAGAGAATTCAGAATACAACAACTGGGC TCTTCTTCTTCTTGTTCACTTGTTCTTC	*Beta corolliflora RNA-dizileme*
ATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGT	CGTCCATAAAAGTTTCCCCTTTTCTGTCATTGCAGAATTCTCCATGATGACG AGAGAGAGAGAGAGTGCTGGATG	*Beta corolliflora DNA contig*
AAGGTTTTTTTCGACGGCGCT	CATGAGCGTTGATGATAGAATTTTGTTGGCTTAACTTCACGGTTGAAGTGCG TCCAAAAAGGTTTTTTTCGACGGCGCTTGTG	*Beta corolliflora DNA contig*

Ek 29: Bilinmeyen küçük RNA'ların ve saç tokası yapılarının değerlendirilmesi CD'de Ek 29 olarak verilmiştir

Ek 30: Saç tokası yapısı belirlenen küçük RNA dizilerinin kodlanmayan RNA'lar ile gerçekleştirilen BLAST sonucu

Küçük RNA	BLAST	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
AATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGG	PREDICTED: Medicago truncatula uncharacterized LOC112421192 (LOC112421192), ncRNA	70	100	XR_003011342.1
CGGTAGTACGCGACTTGGCATG	PREDICTED: Glycine soja uncharacterized LOC114425671 (LOC114425671), ncRNA	59	100	XR_003669264.1
AAACAGAATACACGTCGCGACCCG	PREDICTED: Sesamum indicum uncharacterized LOC105180026 (LOC105180026), ncRNA	66	100	XR_002286462.1
ACCCTGGGGGGGACTGAGGTTC	PREDICTED: Eucalyptus grandis uncharacterized LOC104425329 (LOC104425329), ncRNA	68	100	XR_721630.1
AGCGACGATAGGCCCCCCCCT	PREDICTED: Rosa chinensis uncharacterized LOC112194943 (LOC112194943), transcript variant X11, ncRNA	66	100	XR_002934212.1
AAAAAATAAAAAATGGGC	PREDICTED: Helianthus annuus uncharacterized LOC110922924 (LOC110922924), transcript variant X2, ncRNA	94	100	XR_002583573.1
GTAAGGAGAGAGAGAGAACAGAGA	PREDICTED: Chenopodium quinoa uncharacterized LOC110707056 (LOC110707056), ncRNA	95	100	XR_002508423.1
GATAGCTGGGTCGGGTC	PREDICTED: Nicotiana tomentosiformis zinc finger BED domain-containing protein RICESLEEPER 3-like (LOC104092790), transcript variant X17, misc_RNA	88	100	XR_001968588.1
GTAGGTGCACACGTTCGTATGGTG	PREDICTED: Raphanus sativus uncharacterized LOC108847432 (LOC108847432), ncRNA	62	100	XR_001948958.1
GACCGAGCGCGGACTAG	PREDICTED: Physcomitrella patens uncharacterized LOC112293229 (LOC112293229), ncRNA	82	100	XR_002972928.1
TGGGGACGCTGGGCAC	PREDICTED: Malus domestica uncharacterized LOC114824017 (LOC114824017), ncRNA	81	100	XR_003772248.1
CGTAGTCCGCGCGGGC	PREDICTED: Zea mays uncharacterized LOC103638280 (LOC103638280), transcript variant X2, ncRNA	75	100	XR_002265067.1
TCTGATGCGGTTTTTTTAGGAC	PREDICTED: Arachis hypogaea uncharacterized LOC112758012 (LOC112758012), transcript variant X2, ncRNA	68	100	XR_003179472.1
AGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCG	PREDICTED: Papaver somniferum uncharacterized LOC113309378 (LOC113309378), ncRNA	66	100	XR_003340553.1
AATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGG	PREDICTED: Oryza sativa Japonica Group uncharacterized LOC9270173 (LOC9270173), transcript variant X8, ncRNA	70	100	XR_001548467.2
AATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	PREDICTED: Medicago truncatula uncharacterized LOC112421192 (LOC112421192), ncRNA	73	100	XR_003011342.1
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACG	PREDICTED: Papaver somniferum uncharacterized LOC113286995 (LOC113286995), transcript variant X2, ncRNA	66	100	XR_003329634.1
ACATAGATATGAGAGAGAGAGAGA	PREDICTED: Brachypodium distachyon uncharacterized LOC106865790 (LOC106865790), ncRNA	83	100	XR_001405121.2
AAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACC	PREDICTED: Beta vulgaris subsp. vulgaris uncharacterized LOC109135611 (LOC109135611), ncRNA	66	100	XR_002040492.1
AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	PREDICTED: Helianthus annuus uncharacterized LOC110911544 (LOC110911544), ncRNA	87	100	XR_002577012.1

Ek 30 (devamı)

Küçük RNA	BLAST	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
AGCGAACGTCTGGCCTGG	PREDICTED: Selaginella moellendorffii uncharacterized LOC112346521 (LOC112346521), transcript variant X1, ncRNA	77	100	XR_002992458.1
AAGGATAAAAAAAACAGAGGGAGT	PREDICTED: Daucus carota subsp. sativus uncharacterized LOC108218345 (LOC108218345), ncRNA	83	100	XR_001806367.1
AATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCC	PREDICTED: Cucumis melo uncharacterized LOC103493065 (LOC103493065), ncRNA	70	100	XR_538382.2
GAGAGAGAATAGATGAGAGAGAGT	PREDICTED: Amborella trichopoda uncharacterized LOC110006993 (LOC110006993), transcript variant X2, ncRNA	95	95,65	XR_002280423.1
AATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG	PREDICTED: Solanum lycopersicum uncharacterized LOC104645721 (LOC104645721), transcript variant X13, ncRNA	66	100	XR_003245578.1
AAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACG	PREDICTED: Helianthus annuus uncharacterized LOC110899304 (LOC110899304), transcript variant X26, ncRNA	75	100	XR_002570121.1
CGGAATCTGGAAAAAAATTGGACC	PREDICTED: Brassica napus uncharacterized LOC111216029 (LOC111216029), ncRNA	70	100	XR_002664750.1
CCACGGGCCAAAAAAACTGCC	REDICTED: Gossypium hirsutum uncharacterized LOC107941378 (LOC107941378), transcript variant X5, misc_RNA	80	100	XR_001695604.1
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACG	PREDICTED: Camelina sativa uncharacterized LOC104724135 (LOC104724135), ncRNA	66	100	XR_757528.1
AAGAAGAGAGAGAAGAGA	PREDICTED: Camellia sinensis uncharacterized LOC114321277 (LOC114321277), ncRNA	100	100	XR_003650218.1
ATATATATATATAGAGTCGGGATC	PREDICTED: Beta vulgaris subsp. vulgaris uncharacterized LOC109134382 (LOC109134382), ncRNA	87	100	XR_002039341.1
AGCAACTAAAAAAAACGGATGAAGT	PREDICTED: Camellia sinensis uncharacterized LOC114300625 (LOC114300625), ncRNA	66	100	XR_003642734.1
CGAGTAAAAAAAACGGAGGAAGT	REDICTED: Chenopodium quinoa uncharacterized LOC110720426 (LOC110720426), ncRNA	82	100	XR_002511327.1
AATGAACAAAAAAATAGCCTTGG	PREDICTED: Coffea eugenioides uncharacterized LOC113779887 (LOC113779887), transcript variant X15, ncRNA	73	100	XR_003469510.1
AAGGTTTTTTTCGACGGCGCT	PREDICTED: Nelumbo nucifera uncharacterized LOC109115328 (LOC109115328), ncRNA	85	100	XR_002023160.1
AGGAGAGAGAGAGAACAGAGAAGT	PREDICTED: Brassica rapa uncharacterized LOC108871390 (LOC108871390), ncRNA	87	100	XR_001958134.1
AAGGCCCTGTTTTTTTGGACT	PREDICTED: Brachypodium distachyon uncharacterized LOC112271138 (LOC112271138), ncRNA	100	95,24	XR_002964058.1
AAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	PREDICTED: Medicago truncatula uncharacterized LOC112421192 (LOC112421192), ncRNA	70	100	XR_003011342.1
TGGGGGAGGGGGGCTGC	PREDICTED: Helianthus annuus uncharacterized LOC110873076 (LOC110873076), transcript variant X1, ncRNA	94	100	XR_002554928.1
CGGGGGTGGGGGAGGGGG	PREDICTED: Physcomitrella patens uncharacterized LOC112293959 (LOC112293959), transcript variant X7, ncRNA	94	100	XR_002973181.1

Ek 30 (devamı)

Küçük RNA	BLAST	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
CTAGGGGGTTATTTTTTTGTAATT	PREDICTED: Nicotiana tabacum uncharacterized LOC107818119 (LOC107818119), ncRNA	70	100	XR_001655344.1
AATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGA	PREDICTED: Medicago truncatula uncharacterized LOC112421192 (LOC112421192), ncRNA	70	100	XR_003011342.1
AATGAATAAAAAAATAGCCTTGGG	PREDICTED: Solanum lycopersicum uncharacterized LOC104645721 (LOC104645721), transcript variant X13, ncRNA	70	100	XR_003245578.1
CTTGGGCAGTTTTTTTTGGGC	PREDICTED: Camellia sinensis uncharacterized LOC114258385 (LOC114258385), transcript variant X2, ncRNA	76	100	XR_003627960.1
ACACACGCGCGCGCGCGCCGGCCG	PREDICTED: Oryza sativa Japonica Group uncharacterized LOC112939306 (LOC112939306), ncRNA	95	95,65	XR_003242909.1
AGCAGCCCCCCCTCCCACCACC	PREDICTED: Brachypodium distachyon uncharacterized LOC112271814 (LOC112271814), ncRNA	90	95	XR_002965272.1
TTTTAAGTAAAAAAATTAGGGTGT	PREDICTED: Arachis duranensis uncharacterized LOC107469615 (LOC107469615), ncRNA	75	100	XR_001588208.2
AATGGGAAGAAAAAAAGTTGAATC	PREDICTED: Oryza brachyantha uncharacterized LOC107303487 (LOC107303487), transcript variant X2, ncRNA	70	100	XR_001549493.1
AACAATGAGCAAAAAAAATAGCCT	PREDICTED: Oryza sativa Japonica Group uncharacterized LOC9270173 (LOC9270173), transcript variant X8, ncRNA	70	100	XR_001548467.2
ACTTCCTCCGTTTTTTTATAGATG	PREDICTED: Chenopodium quinoa uncharacterized LOC110722075 (LOC110722075), transcript variant X4, ncRNA	79	100	XR_002511519.1
AATGAACAAAAAAATAGCCTTGGG	PREDICTED: Coffea eugenioides uncharacterized LOC113779887 (LOC113779887), transcript variant X15, ncRNA	70	100	XR_003469510.1
ACACTAAGGGGGGGTTTGGTTTG	PREDICTED: Nicotiana tabacum uncharacterized LOC107766534 (LOC107766534), ncRNA	73	100	XR_001643734.1
AGTTCAGTCCAAAAAAATAGAGCC	PREDICTED: Brassica napus uncharacterized LOC106449609 (LOC106449609), ncRNA	70	100	XR_001289206.2
ATTGAGTAAAAAAATAGCCTTGGA	PREDICTED: Solanum lycopersicum uncharacterized LOC104645721 (LOC104645721), transcript variant X13, ncRNA	66	100	XR_003245578.1
TTGCGCGGCCTGACCC	PREDICTED: Setaria italica uncharacterized LOC111255899 (LOC111255899), ncRNA	87	100	XR_002676044.1
ACACGCGCGCGCGCGCCGGGCTCG	PREDICTED: Asparagus officinalis uncharacterized LOC109836609 (LOC109836609), transcript variant X3, ncRNA	70	100	XR_002246022.1
ATCGGCCTAAAAAAATTTCGC	PREDICTED: Beta vulgaris subsp. vulgaris uncharacterized LOC109134730 (LOC109134730), ncRNA	95	95	XR_002039571.1
AATGAACAAAAAAAATAGCCTTGG	PREDICTED: Coffea arabica uncharacterized LOC113693706 (LOC113693706), transcript variant X2, ncRNA	75	100	XR_003449133.1
CCGCGGGCCAAAAAAACTGCC	PREDICTED: Tarenaya hassleriana uncharacterized LOC104826423 (LOC104826423), ncRNA	76	100	XR_773771.1
TTAGTAAGAAAAAAAATGGCGGC	PREDICTED: Oryza sativa Japonica Group uncharacterized LOC112936383 (LOC112936383), ncRNA	78	100	XR_003238484.1

Ek 30 (devamı)

Küçük RNA	BLAST	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
AGCGGTTAACCTTTTTTTCGGTAC	PREDICTED: Glycine soja uncharacterized LOC114369725 (LOC114369725), ncRNA	66	100	XR_003657688.1
AATTCACCCCCCCTCTTGTACGTG	PREDICTED: Chenopodium quinoa uncharacterized LOC110713239 (LOC110713239), ncRNA	83	100	XR_002509828.1
ATAATTCACCCCCCCTCTTGTAGT	PREDICTED: Chenopodium quinoa uncharacterized LOC110713239 (LOC110713239), ncRNA	91	100	XR_002509828.1
CGAACGTCTGGCCTGGA	PREDICTED: Selaginella moellendorffii uncharacterized LOC112346521 (LOC112346521), transcript variant X1, ncRNA	82	100	XR_002992458.1
ATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGC	PREDICTED: Phoenix dactylifera uncharacterized LOC103713730 (LOC103713730), ncRNA	62	100	XR_605092.3
CATCGGCCTAAAAAAATTTCGC	PREDICTED: Beta vulgaris subsp. vulgaris uncharacterized LOC109134730 (LOC109134730), ncRNA	95	95,24	XR_002039571.1
AATGAGCAAAAAAAGTCTTGGGTG	PREDICTED: Quercus suber uncharacterized LOC112036507 (LOC112036507), ncRNA	66	100	XR_002885676.1
ATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGT	PREDICTED: Oryza sativa Japonica Group uncharacterized LOC112939386 (LOC112939386), ncRNA	87	100	XR_003243064.1
ATGGACCGGGAAAAAAAAGTGAAAA	PREDICTED: Nicotiana tabacum uncharacterized LOC107823492 (LOC107823492), ncRNA	70	100	XR_001656644.1
AATACCCTGGGGGGGACT	PREDICTED: Chenopodium quinoa uncharacterized LOC110689008 (LOC110689008), ncRNA	77	100	XR_002504767.1
TGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	PREDICTED: Eucalyptus grandis uncharacterized LOC104430231 (LOC104430231), ncRNA	95	95	XR_722571.2
TCCGATTTTTTTGCCTAACCG	PREDICTED: Gossypium arboreum uncharacterized LOC108489669 (LOC108489669), transcript variant X8, misc_RNA	80	100	XR_001872049.1
TCAGCACGTAGTCCGC	PREDICTED: Glycine max uncharacterized LOC106799774 (LOC106799774), ncRNA	87	100	XR_001389550.2
AGGAGAGAGAGAGAATTCAGAA	PREDICTED: Amborella trichopoda uncharacterized LOC105421053 (LOC105421053), transcript variant X10, ncRNA	86	100	XR_002281848.1

Ek 31: Saç tokası dizilerin kodlanmayan RNA'lar ve protein dizileri ile BLAST sonucu

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
ATTCAAGTCTAATTTTTGCTCATTTGGAACCTCTATATGAGTATAGTGAGAGCTCCAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGGT	86	78,38	XR_002040462.1			
CCCGGTAGTACGCGACTTGGCATGAAGTCTTTCCAAACCATAGGTTGGATAGCCAATGAGCGTACTCGAGGTGGG	30	91,30	XR_002281634.1	100	68	KMS94829.1
CAAAACAGAATACACGTCGCGACCCGCGATACAGATCGCGAGTCGCGAAAGTGCACTGGTCTTG	53	82,35	XR_002038811.1			
CAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTTCCCCGGGGGATAAAGGCTTCGGGAATGTGGCTCTCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGTTGCGTAATACCCTGGGGGGGACTGAGGTTCGCGCTTCTG	94	78,76	XR_002883377.1	98	94,87	XP_023427131.1
CTCCCGGCGTCCGTGCCGAGCGACGATAGGCCCCCCCCTTCCCGGGGGGGGCCCCGCGCCGTAAGACTCGCCCCGGAG	34	96,30	XM_025145805.1			
TAGTATGGGTAAAAAAAAATAAAAAATGGGCTATGAAATAAAGCTCGTTTTTTATTTTTTATTTTTTTTTTAAAGTGCTA	45	86,11	XR_003056057.1			
GCAGTTGAGTGTGATTTCTTTTTTTTTAAGGAGTTGAGCGTGATTCAGTAAGGAGAGAGAGAGAACAGAGAAGTGC	34	88,46	XR_002451474.1			
CAAGGTGTGTGGAACACGGATCCAGATAGCTGGGTCGGGTCTTGGGCTGGCTTTATGCTGGCCTGCCCTGTCCAAGTTGGGAGTTGATCCATGGGCCTTG	66	82,09	NR_140498.1	69	91,30	KMT07476.1
GTTCATTTCTGCACCATTTCATTAATTTGGGCTGCGGTTGCTGTTTTAAAGTGCAAATTAGTAGGTGCACACGTTCGTATGGTGAGGAAGGTGCGCATGATGAAC	52	74,60	XR_002040730.1			
GGCGGCCTACGTTGGGCTGTGTTTGGACCTTTCGGGGACCGAGCGCGGACTAGCGGTCGGGCTGCT	34	91,30	XR_003638788.1			
GGCGCCGGGTTTCCGTGGTGGGGACGCTGGGCACCCTGTGCTCAGCTACTCGCCTCGGGGGCCTACACGACGCT	54	85	XM_023541523.1			
GAGCCCCTGGGTACGAGCTGCAGCGGCATTTGGTGGAAGACAAGGCCTTGCCTAGGATGCATCGGCGTCGCTCAGCACGTAGTCCGCGCGGGCTC	100	98,95	AY858595.1	50	93,75	KMS64667.1
GATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCCGTTTTTTTTGGCCAAATTTCCCTATATTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCATC	30	92,86	XR_003649707.1	96	86,67	KMT04062.1
AAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCGGCCCTTTATTACTTAAAGAGCCGCGTTTTTAAAAAACCGCAACCCTTT	30	91,30	XR_003449621.1			
GTACACCTAAGATTAATGTTTGCTCATTTGAGACCCTCCTTTTTTTTTTAAGCACATTATTTGCTTATATGGATGTGGACTATTTCAAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTATGC	21	92	XR_002881315.1			
GTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTAGAGTGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCAGTTTAC	44	83,33	XR_002040492.1			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCCTCAGATTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATATTTTGGTTGATTTTCGGATGCAGTTTTACAAAAACCGCATATGAT	25	92,59	XR_001173555.1	63	81,82	KMT04062.1
CTACCTTACTTTACAATTTTGTTGTTGACAGCTACCTTATGCCGGTTTCCGGCGTTGATTCTTGTTTTTTCAGTTCAAAATTGTGGGAAAAACAAAATTACCCTTGTGAGGGTGATTGTTTCAATTTTAGTTTAAGTAGAAGAGGAATTTAATGGTGGACTGGTATTACAAAGTGTCACATAGATATGAGAGAGAGAGAG	18	84,21	XR_002571525.1			
CCATAAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTATAAGCCATAAAGGGCTGTGTTTTTTTTTAAATTGCAGCCCTTTATGGCTAATAGGGCTGCGTTTTCAAAAAACGCAGCCCTTTATGG	20	96,15	XR_002883686.1			
AGGGCTGCGTTTTTAAAGAAAACCGCAGCCCTTTTAGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCT	46	84,85	XR_002040492.1			
AGGGTTGCATTTTTCAAGAAAATCGCAGCCCTTTTAATGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAACCCT	46	87,88	XR_002040492.1			
TATTACTTTATGTTCCTTCCACCATTCTTAAATAATTGCAACATGTGGGGGTTGCACATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGAGATG	83	84,42	XR_002039339.1			
TCCTATGGGGCGAACGTCTGGCTGGACGTTCGCCCTATGGAGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCTCCATAGGG	92	78,79	EF036526.1			
TCTGATGTGGTCCAAAAACCGCATCAGATTAATAAAAAAACGGCAGCGGTTTATTAATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGA	60	89,29	XR_002512606.1	81	50	OSC98858.1
CGGACGTCTGCCTTGGAAGTTCGTCCCATGGAGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGGGGCCAGAGGTTCGCTCCGTGGGCCGAACGTCCAGGGCAGACGTTCG	26	88,89	XR_002363994.1	66	43,48	EKD42531.1
GAGACGTGCATAGAAAAGTGAGAAGGATAAAAAAAACAGAGGGAGTATTATACTCCCTCCGTTGCCTTTTGTTCTTGTTTTATTTTTTAGGCCGTTTC	23	100	XR_001806367.1			
TGCAGTTTTTAAAAAACCGCAGCCCTTTATTACTTAAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCA	85	75,44	XR_002506946.1			
GCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCCCCGTGGCTTGAACGGCTAGACGTTCGAGCCATGGAGCGAACGTCCTAGCCAAACGTTCGC	97	76,40	EF036526.1			
GTGTATCATGTACATGGTACACAAAAGCTATTATTTTCTCGTTTGCTCATTTGGAGCTAACCATTTTGTCATTATGCTCATTTGGAGGTTTCAAATAAGCAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTATACCACGAGCATGGTACAC	32	79,17	XR_002039326.1			
AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTATGAAGGGCTGCGGTTTTTGGGCTAATCGCAGCCCTTCACTTATAGGGCTGCGGTTAGCCTAAAAATCGCAGCCCTTCATACAGTACGAAGGGCTGCGATTTCTTGTTAACCGTAGCCCTTCACT	49	84,78	XR_002040492.1			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
CCATGCATATTTTTTACTCATTTACTCATTTGGAGCTG CACCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGTTTCAAA TGAGCAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGG	48	84,62	XR_791372.2			
GAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAACCCTTCGT TTATGAAGGGCTGCGGTTTTTGGGCTAATCGCAGCCC TTC	100	86,84	XR_002040492.1			
GTTTTTTAATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCA GATTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATTTTTTGGTTG ATTTTCGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCATCTAATA CTAAGTGAC	21	92,31	XR_002935038.1	86	85,71	KMT04062.1
CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAACCCT TCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAACCGC AGCCCTTCGTATATGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAA ACGCAGCCCTTTTAGTG	86	94,29	XR_002040492.1			
TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCTATAATGCC CTGTTCAATAAAAGCCCTGTAAATTTGA	36	91,67	XR_002855338.1			
TGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCATCCCTTCG TTTTTGAAGGGTTGCGGTTTTTGGGATGATCGCAGCC CTTCA	48	84,21	XR_002040492.1			
GTGAAGGACTACGGTTAACCCAAAAACCGCAGCCCT TCGTAAATGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAG CCCTTAAC	72	95,65	XR_002040492.1			
GAAGAGAGAGAATAGATGAGAGAGAGTGGAGAGCT AGTTGGAGAGCCATGTACCATTGTACATGCTCTAAAA CTACTACATTTACTTTCTACTCTTTCCTTTTTTTTTACT TC	24	92,86	XR_002041203.1			
TGTACCATGTATATGGTACATCCAAGGCTATTTTTTG CCCATTTGCTCATTTGGAGCTTATCTAGTATGTGATT ATGCTCATTTGGAAGTTCAAATGAGTAATGAGCAAA AAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAGCATGGTACA	53	78,57	XR_791372.2	88	32,56	WP_107834202.1
TGTACTATGTGCATGGTATAGAACCGAAGACTAATTT TTGCTTATTTAGAACTCTTCTTTTTTGCGCATTTCAAT GAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATACCCATG GTATA	25	89,66	XR_001458363.2			
GTACACCCAAGACTATTTTTTGCTCATTTGCTCATTTA GAACTCTATCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGG TTTCAAATGAGTAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG TGTAT	31	88,89	XR_791537.2			
AAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCCCTTTATT ACTTAAAGGGCTGCGTTTTTAAAAAACCGCAGCCCTT T	26	100	XR_002067529.1			
CATGTGCATGGTACACCCAAAGGCTATTTATTGCTCA TTTGCTCATTTGAAGCTCTACTTATTATGTGATTATGC TCATTTGGAGGTTTCAAATGAGCAATGAGTAAAAAA ATAGCCTTGGGTGTAGCATGAACATG	81	82,54	XR_791372.2			
TTTATCATACACTCGAGTGTACCATGTGCATGGTACA TCCAAGACTATTTTTTGCTCATTTGGGACCTCTAAAT AAATGAGATAATGAGAGCTCTAAATGAGCAAAAAAA ATAGCCTTGGGTGTACCATAAACATAGTACACCTGA GTGTATGATAAA	97	81,67	XR_791372.2			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
GGTCCAGGACCGGACCGGAACCGGCTGGACCGGTGGACCGGAATCTGGAAAAAAAATTGGACCTGGACCAGACCGAAATTTTTCCGGTCCGGTCCCGTCTGGACCTGAATTTTCCGGTCCGGTCCGGTTTTAGACC	49	75	XR_002038837.1	70	43,75	CCI42088.1
GGGCCGGGCCAAAAATTAGGCTAAAAAGTGTTTTTTGGCTTGTCCAAAGCCCGCCCAAAAAAAAAATCCGGGTTGGGCCCACGGGCCAAAAAAACTGCCCAAAGCCGCCCAAAAACCGGGCCGAGCCC	35	78,72	XR_002039588.1	82	34,29	PZO35754.1
GAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCCCTTCGTCTACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTT	97	86,84	XR_002040492.1			
TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCTATTCAATAACGACCTTGTCCAATAAAAGCCCTATAAATTTGA	30	95,45	XR_788729.2			
GGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAATCGCGGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCC	58	90,32	XR_002040492.1			
CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTTTAGTG	83	91,43	XR_002040492.1			
TGTGCCATGTGCATGGTACATTTTAGGCTATTTTTTGCTCATTTACTCATTTGGAGCTCTACCTTTTATGTGATTATGCTCATTTGGAGTTTCAAATGAGCAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTATCATGCTCATGGTGCA	88	82,43	XR_791372.2	57	46,43	OJY54751.1
TAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAACACCGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACGCAGCCCTTA	97	84,62	XR_002040492.1			
GTATCATGTGCATGGTACACTCAAAACTATTTTTTGCTCATTTGATCATTTGGAGCTCTACCTATTAATTGATTATGCTCATTTGGAGGTTTCAATGAGTAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAGCATGGTAC	29	85,71	XR_791537.2			
AAAAATTCCGATCCGGACCGGTGGACCGGAATCTGGAAAAAAATTGGACCTGGACCAGAATTTTTCCCGATTCCGGGTTTTGGACCTGTTAGACCGGAATTTTT	30	87,50	XR_665472.2	60	57,14	ELU12189.1
TTCATCTTTCTCTCTCTTATCTTTGAGTTATGGTGAGCTTCGAACAGCTGCAAAAATGGCGAAACAAGAAGAGAGAGAAGAGAAGAA	86	86,08	XR_788574.2			
ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATTTTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCGTTTGGT	93	83,67	DQ374019.1	89	87,10	KMT04062.1
GAAAGAAGAGAGAGAAGAGAAAGGAGAGAGAAAATAATTAGGTACATTTCTTTTTTGTTGTTTTTATCTTTTTTTTTTT	41	81,82	XR_968945.1			
ATGGTACACCCAAGGCTGATTTTTGCTCATTTACTCATTTGAAGCTCCACCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGTTTCAAATGAGTAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTATGAT	27	88,57	XR_003263824.1			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTATGAAGGGCTGCGGTTTTTGGGCTAATCGCGGCCCTTCACT	92	84,21	XR_002040492.1			
ATTCTTTTTTTGGCTTTTATATATATATATATATATATATATAGAGTCGGGATCATGTGAGAAT	72	87,50	XR_003070099.1			
TACCATGTGTATGGTATACCCAAGGCTATTTTTTGCTTATTTGCTCATTTGGAGCTCCACCTATTATGTGATTATGCTTATTTGAAGTTTTAAATGAGCAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGATGTACCATGCTCATGGTA	91	82,19	XR_791372.2			
GCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCCCTTCTTGTATGAAGGGTTGCGGTTTTAAAGGAAACTGCAGCCCTTTTAGT	40	85,71	XR_002040492.1			
GTAGCAACTAAAAAAACGGATGAAGTAGTATGTACTTCCTCCGTTCTTTTTCTATTGCAAC	44	96,30	XR_002506536.1			
AGTGTTGCGAGTAAAAAAAACGGAGGAAGTATTAGTTTTCCTCTGTTTAGTTTGATGGAAAACT	48	93,75	XR_002040756.1			
GTACCATGTGCATGGTACACCCAATGCTATTTTTTACTCATTTACTCATTTAGAGCTCCACCTATTATATGATTATGCTCATTTGGAGTTTCAAATGAGCAATGAACAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTAC	76	84,93	XR_791372.2			
GGGCTGCGTTTTTTGGAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAACCC	94	87,18	XR_002040492.1	40	73,33	QAA76122.1
AGCGTTGATGATAGAATTTTGTTGGCTTAACTTCACGGTTGAAGTGCGTCCAAAAAGGTTTTTTTCGACGGCGCT	36	88,89	NR_159510.1			
ACTGTACATGGTACACCCAAGACTAATTTTTGTTCATTTGCTCATTCGAAACTCTCTTTTTAGTACATTTACGTCATTTGGATGATTTCAAATGAGCAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGATGTACCATGTTCACGT	46	82,81	XR_791372.2	60	50	XP_018491080.1
ACTGAACTGAACTGAAAATAAGTTGGGGAGAACAGGCCCTAAGGCCCTGTTTTTTTGGACTTATTTTCAGTTCAGTTCAGT	97	88,10	XR_002503760.1			
ATACACCCGGGTGTATCATGAGCATGGTACACCCAAGACTGTTTTTTCTCATTTGCTCATTTGGAGCTCTTACTATCTCATTTGGAAGTTTCAAATGATCAAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAACATGGTACATCCGGGTGTAT	50	88,64	XR_002039326.1			
TATATTATACACTTGGGTGTACCATATACAAGGGCATTTATTTGCTTATATCGCATTTGTAGAGTTCTAAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGGGTTTATTATATACTCGAGTGTACGGTGTA	65	78,31	XR_790694.2			
GGTAGATTTCAAATGAGTAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATTCTCGGGGTACACTCGAGTGTATGATTGAATTTGTAGTATTAGAAAAAAAGTTGTTTACC	36	82,50	XR_002039383.1			
GGTGGCTCATTCCCCTTCTTTTTGCGACATTACTTGGGGGAAGGGGCTGCGGGGGGTGGGGGAGGGGGGCTGCT	31	91,30	XR_001124936.1	60	93,33	XP_006353237.1

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
CCTCTTTCTCGCCCAGATTCGAACTCTCTCTAGCCCAGAGCCTTTTTCGCGGAATTCGACGGGGGTGGGGGAGGGTGGGGAATTCGACGGGGGTGGGGGAGGGG	33	85,71	XR_003010541.1			
TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCAATAACGACCCTGTCAAATAAAAGCCCTATAAATTTGA	35	91,67	XR_002855338.1			
CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGTGGTTAGCCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTTTAGTG	86	91,43	XR_002040492.1			
GTAGCCCTTCGTTACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCATTTAGTGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCCCTTCATTTACGAAGGGCTGC	67	86,11	XR_002040492.1	67	54,17	RAP75036.1
AGGGCTGCGTTTTTTGAAAAACGCAGCCCTTAATAGTGAAGGACTGCGGTTAGCCCAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTACGAAGGGCTGCGGTCAATGCAAAAACCGCAGCCCTATAAGTAATAAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAACCCT	44	84,21	XR_002040492.1			
TACCATGTCTATGCATTGTAGACTCAAGACTAATTTTTGCTCATATGAAACTCTCCTTTTGAGTATATATTTTGCTCATTTTTGGATTGTTTCAAATGCAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTATAACATGCTCATGGTA	21	90	XR_002446034.1			
GGTTTTTATATACTAATTTTTTTGTTAATTTGCTCATTTGGAACTCTTCTTTTTAGTACATTTTGCTTATTTTGATGATTTCAAATGAGCAATGAACAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACC	58	84	XR_791537.2			
TAGGGGGTTATTTTTTTGTAATTGTAAGGGGTTACTTTTGTAATTATAAGGGGATATATTTACTA	41	92,59	XR_003668199.1			
CCAAGGCTTTTTTTTCCATTTGAAACTCTCTATATTGGGCGAATTTTGCACATTTTGAGGTTTAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	29	92	XR_001701406.1			
GTACCATGTGCATGGTACACCCAAGATTAATTTTTGCTCATTGCTTATTTATAACTCTTGCTTTTTAGTACATATTGCTCATTTGGATGATTGCAAATGAGCAATGAATAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACTATGCTCACGGTAC	48	80,28	XR_791372.2			
GTGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTTTACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTCAC	95	84,62	XR_002040492.1			
GTACACCCAATGCTATTTTTTGTTCATTTGCTCATTTAGAGTTCTACCTATTATGTGATTATGCTCATTTGAAGGATTAAAATGAGCAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTAT	43	79,25	XR_002215760.1			
GTACCATGCACATGGTACATCTAAGGCTATTTTTTGTTCATTTACTCATTTGGAGCTCTACCTATTATGTGATTATGCTTATTTGGAGTTTCAAATGAGCAATGAATAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTAC	88	82,19	XR_791372.2			
TACACCCAAGGCTATGTTTTTTCTCATTGCTAATTTGAAACCTCCAAATGATCATAATCACATAATAGGTAGAACTCCAAATGAGCAAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGGGTGTG	27	87,50	XR_003454670.1			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
TTGGGCGGGCTTGGGCAGTTTTTTTTGGGCGGGCTTTGGACAAGCCAAAAAAGACGTTTTAGTCTTTTTTTTTTGTCCCGGCCCGTTTTAGCCCGAAAAAGTCCGCTCGGCCCGGCCCGA	24	86,21	XR_001763919.1	87	34,29	XP_003713326.1
GGGTGTATCATGTGCATGGTACACCCAATGTTATTTTTTGCTCATTTGCTCATTTGAGACCTCCAAATGAGCAAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTACACCC	98	77,48	XR_791372.2	90	36,11	KZV67468.1
ATGGCAAGCCACACACGCGCGCGCGCGCCCGGCCGGGCTGGGCTCGTGGCGCGCGCGGGTTGTGGGCCTGCGGT	54	85,37	XR_001134633.1			
CCATGACTTATTTGTGCTTATTTGCTCATTTGAAACTCTCATTTTTAGTACATTTTGTTCATTTAGATGATTTCAAATGATCAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	24	92,31	XR_001455112.2			
AGGGCTGCGTTTTTAAAAAACGTAGCCCTTAATAGTGAAGGGTTGCGGTTAGCCCAAAATCCGCAGCCCTTCGTTAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCT	67	86,84	XR_002040492.1			
CGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACGCAGCCCTTTTAGTGAAGGGTTGTGGTTAGCCCAAAAACGCAGCCCTTCGTTTTACGAAGGGCTGTG	33	86,49	XR_002040492.1			
GGCCCGGTTTTTGGGCGGCTTGGGCAGTTTTTTTTGGGCGGGCTTTGGACAAGCCAAAAAAGAGGTTTTAGTCTAATTTTTTGGCCCGGCCCGATTGGCCTGAAAAATCTCGCTCGGCCTGGCCCGAAATAACGGGCT	19	88,89	XR_002513846.1			
CCCTTCCCCCCACCCTCCCAGCAGCCCCCCCTCCCACCACCCCTTCCCCCACCCTTCCAACCAGGTCTGGGGAGAGGGGTTGCTGGGAGGGTGGGGGAAGGGGTGGTGGGAGGGAGGGCTGCTGGGAGGGTGGGGGAAGGG	14	100	FQ014231.1			
GCATGAGCGTTGATGATAGAATTTTGTTGGTTTAACTTCACGTTTGAAGTGCGTCCGAAAAAGGTTTTTTTCGACGGCGCTTGTTAATGT	38	85,71	XR_003577171.1			
CTTACTTTACCATTTTGTTGTTGACAACTACCTTATGCCGGTTTCCGGCGTTGACTTTTTTTTCAGTTTAAAATTGTGGGAAAAACAAAATTACCCTTGTGGAAATTGAGGAGGGTGATTGTTTCAATTTTAGTTGAAGTAGAAGAAGAATTTAATGGTGGATTGGTGGTACAAAGTGTCACATAGATATGAGAGAGAGAG	12	96,15	XR_002704433.1			
AACTAAACTGAACTAACTGATTGGAACTGAACTGAACTGCACTGATTGCAACTGAACTGAACTCAATTGAATTGAAAATAAGCTGGGGAGAACAGGCCCTAAGGCCCTGTTTTTTTGGACTTATTTTCAGTTCAGTTCAGTTCAATTCAGTTCAGTTCAGTTCAGCTCACTTCAGTTCAGTTTAGTTCAGTT	40	76,92	XR_002512806.1			
GGGCTGTGTTTTTTGGAAAACGCAGCCCTTCGTGTATGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGTAGCCC	35	87,18	XR_002040492.1			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
AACCGCAGCCCTTCACTAAAAGGGCTGCGTTTTTTTA AAAACCGCAGCCCTTCACTAAAAGGGCTGCGGTTTTT GCATTGACCGCAACCCTTCGTAAGTAAAGGGCTGCG GTT	30	82,35	XR_002040492.1	55	57,14	ROT81558.1
CGCTGAAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCACT TCGTGTATATGAAAGGCTGCGGTTTTCAAGGAAACC GCAGCCCTTTTAGTG	29	92,31	AC182682.2			
ACCCTAATTTTTTTACTTAAACAAAAAAAAAGTCATGT GCCTTCATTTTCTCCTTTCCCCTCTTTATCCTCATCCTT CCCCAACTGAAGAAACCCACCCATTCTTGAGCAAGA AAACCCACCAACTATTGAGCAAGGATGAGTAAAGGG GGGAAAGGAGAAAATGAAGGCACGTGTCTTTTTTTT AAGTAAAAAAATTAGGGT	14	93,33	XR_002965494.1			
TTCATCTTTCTCTCTCTTATCTTTGAGTTATGGTGAGC TTCGAAAAGCTGCAAAAATGGCGAAACAAGAAGAG AGAGAAGAGAAGAA	86	86,08	XR_788574.2			
AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTT CGTTTATGAAGGGCTGCGGTTTTTGGGCTAATCGCAG CCCTTCACT	92	85	XR_002040492.1			
CACCCCAGCAGCCCCCCACCCCCACCCTAGCACCCCC ACCCTAGCACCCCCATCCCAGCTGCGGAGTTCATCGA TGAGAATGGGTTGTGGTGGGGAGCTGCGGGGGTGGG GGAGGGGGATGCTGGGGGTGAGGGAGGGGGCCTGC AGGGGTG	14	100	XM_005652125.1			
GGTCTACCAATGGGAAGAAAAAAAGTTGAATCTACC ATTGGGAATTCTCAATAATAGGAGCCTACCTGTGGG AATTTCCCTTTCGGTTTTCTTTTTTTTTATTTGGTACC	33	86,49	XR_003057892.1	76	53,57	KZT58124.1
CCACACACGCGCGCGCGCCGGCCGGGCCGGGCTC GGCCTCGTGGCGAGCGCGGTGTGG	41	92,31	XR_603775.2			
GATACATTCAAGACTAATTTTTGCTCATTTGATCATTT GAAACTCTCCTTTTAAGTACATTTTGTTCATTTGGATG ATTTCAAATGAACAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTG AGTGTGTC	29	88,57	XR_791537.2			
TCTATCTTAACACTTCCTCCGTTTTTTTATAGATGCTA CATAGAGAAAGTGGGGAGTTTTTAAGAAAGG	84	87,93	XR_002039600.1			
TACACCCGGGTGTATCATGAGCATGGTACACCCAAG ACTATTTTTTCTCATTTGCTCATTTGGAGCTCTTACTA TCTCATTTGGAAGTCTCAAATGATCAAATGAACAAA AAAATAGCCTTGGGTGTACCATGAACATGGTACATCT GGGTGTA	52	81,03	XR_791372.2			
AGTAAGGCCCTGTTTTTTTGGACTGAACTGAACTAAA ACTGTGCCCAAAAAAATAGGGCTAACT	39	92	XR_002219613.1			
GGCTGCGTTTTTTGAAAAACGCAGCCCTTCGTGTATG AAGGGTTGCGGTTAGCCCAAAAATCGCAGTCCTTCGT ATACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCC	94	87,18	XR_002040492.1			
CCCAAAAATCGCAGCCCTTCGTATACGAAGGGCTGC GGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTTTAGTGAAGGGCT GCGGTTAGTCGAAAACCGCAGCCCTATAAGTAATAA AAGGCTGCGGTTTTTGGG	46	83,78	XR_002040492.1			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
GTATGGTACACCCAAGACTAATTTTTGCTCATTTAATTTGCTCATTTGGAAGTCTCCTTTTTTTAGTATATTTTGCTCATTTGGATAATTTCAAATGAGTAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGC	21	89,29	XR_003263824.1			
GCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTTTTAAAACGCAGCCTTCTTATATGAAGGGCTGCGGTTTTAAAGAAACCGCAGCCCTTTTAGT	29	91,67	XR_002369840.1			
ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCATATTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATTTTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTCTTACAAAAACCGCATCTGAT	33	88,57	CP017818.1	72	48	WP_056757719.1
TCCAATTGAAACAAACTCATAGCGTGTAGCAGGTGCTAAACACTAAGGGGGGGTTTGGTTTGGG	39	92	XR_001265907.1			
TTAAGTTCAGTTCAGTTCAGACAAATTCAATTCAGTTCAGTCCAAAAAAATAGAGCCTTATTTTTGCTAAAAGTGAGGTAGGCCTTATTTTTTTGAACTGAGAAAAACTGAATTACAGAGAGTAACTGAACTGAACTGAAAATAA	28	92,68	XR_002040137.1			
GTACTATGTACTTGGTACACCTAAGGCTATTTTTTGTTCATTTACTCATTTGGAGCTCTACCTATTATGTGATTATGCTCATTTCGAGTTTCAAACGAGCATTGAGTAAAAAAATAGCCTTGGATGTACTATACTCATGGTAC	22	90,62	XR_003454670.1			
TACTATGTACTTGGTACACCTAAGGCTATTTTTTGTTCATTTACTCATTTGGAGCTCTACCTATTATGTGATTATGCTCATTTCGAGTTTCAAATAAGCATTGAGTAAAAAAATAGCCTTGGATGTACTATACTCATGGTA	22	90,62	XR_003454670.1	57	48,15	EPY42220.1
GCGAGTTGCGCGGCCTGACCCTTTCTCTTCCGGCCTTTACTCAGATACATTATGTATCTAAGGTTTCGAGGACGGTGGACGGAGCTTGGTTCAGCGTCTGTAACCGC	23	96	XR_002580971.1	95	67,65	XP_010696286.1
GGGCTAAAAGGATTGGTAACCACACACGCGCGCGCGCGCCGGGCTCGTGGGGAGCGCGGCGCGGGCGGGGTCTGTGGGTCTGTGGGTCTGTGGTCC	22	100	CP025644.1			
CCACCACCCACCTGGAAGCAGACGAAATTTTTTTAGGCCGATGGCAGGCCAGACGTTCGCCCATCGGCCTAAAAAAATTTCGCCTGCTTCTAGGTGGGTGGTGG	18	100	XR_001957104.1			
GTACCATTTGCACTGTACATCTAAGACTATTATTTGCTCATCTGCTCATTTGGAGCTCTACCTATTATGTGATTATGTTTATTTGGAGGTTTCAAATGAGCAATGAACAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTATCATGTTCATGGTAT	49	78,08	XR_791372.2			
GGCTGAAAAGTCTTTTTTGGCTTGCCCAAAGCTCACCCAAAAAAAAAACGGGCCGCCCCGCGGGCCAAAAAAACTGCCCAAGCC	94	76,47	FJ752586.1			
GTTCATTCATCATACACCCGGGTGTACCATGTGCATGGTACGCCCAAGACTAACTTTTGCTCATTTGCTCATTTAGAACTCTGTATGATTTCAACTGAACAATGAACAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCAAGGTACACCCGGGTGTATCATAAATTGTTTGC	44	79,75	XR_791372.2			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
GTACCATGCGCATGGTACACCCAAGACTAATTTTTGCTCATTTGCTCATTTGAAACTCTCCTTTTTAGTATATCTTGCCCATTTAGATGATTTCAAATTAGCAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTAC	90	78,21	XR_791372.2	67	44,44	SEN33705.1
AAGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTTCGTTTATGAAGGGTTGCGGTTTTTGGGCTAATCGCAGCCCTTCACTT	44	84,21	XR_002040492.1			
ATGGCGTTAGTAAGAAAAAAAATGGCGGCATTTAGCAAATGAGTTCTTTAATCAATAAAAAAAATACTTTTAATTTACTCATTTGCTAAATGCCGCCATTTTTTTTCCTAAATTCTGT	32	84,21	XR_002286558.1			
ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATTTTTTGGTTGATTTTTGGATGCGGTTTTACAAAAACCGCATCTGAT	35	84,21	DQ374020.1	95	87,88	KMT04062.1
ATCTGATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTGGCCAAATATCCCTCTCATTTTTTGGTTGATTTTCGGATGCGGTTTTATAAAAACCGCATCTGAT	30	90,62	XR_001173555.1	95	81,82	KMT04062.1
TCAAAATTATTGGGTTTTTTTGTTGGCCCAGTAACGGCCATGTCCAATAAAAGCCTTATAAATTTGA	35	91,67	XR_002855338.1			
TGTACCATGTGCATGGTACACCCAATGCTATTTTTTTTCTCATTTACTCATTTGTAGCTCCACCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGTTTTAAATGAGCAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGGTGTACCATGCTCATGGTACA	49	83,78	XR_791372.2			
CCGGAATCTGGAAAAAAATTGGACCAGGACCGGACCGTCCGGTTCGGTCCGGTTTTGTGCCGGTTAGACCGG	36	96,15	XR_002884356.1			
GAACCGTAACCGTTTAGACTGGTTACCGTCTAAGCGGTTAACCTTTTTTTCGGTACGGTTT	37	100	LR131990.1			
GTACATCTAAAACTAATTTTTGCTTATTTGCTCATTTGGACTCACTTTTTCAATACATTTTGCTCATTTAGATGATTTCAAATGAACAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTAC	35	80,95	XR_002967932.1			
AGGGCTGCGGTTTTCGATTAACCGCAGCCCTTCACTAAAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCT	30	95,24	XR_002833749.1	90	61,90	XP_009306596.1
CTTTGCCAAAAGTTCCAAAGTACAATTCACCCCCCCTCTTGTACGTGTTCCATTAAAGTATCAGTGGGCGTGGTTGTGATGGTTGTGCGTGAACCACGGCGAGG	21	95,45	XR_003353999.1			
TTGTTAACTTGGAAGGAACTACAAGAGGGGGGTGAATTGTTGTGTGGAACTTATTGCCAAATAATGCGGAATTTAAAACATAAGTAATAAGTTCCACACTATAATTCACCCCCCCTCTTGTAGTTCCTTCCAAGTTAACAA	21	90,62	XR_002040228.1			
GAGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCTCCATGGGGCAAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCTC	90	83,33	EF036526.1			
AAGGGCTGCGGTTAGCCCAAAATCCGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTT	100	84,62	XR_002040492.1			

Ek 31 (devamı)

Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
ATGGGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGCTCCATGG GGCGAACGGCTGGCCTGGACGTTCGCTCCAT	100	78,46	EF036526.1	94	68	KMT06962.1
GTACACCCAAGACTATTTTTTGCTCATTTGCTCATTTG GAACTCTATCTATTATGTGATTATGCTCATTTGGAGG TTTCAAATGAGTAATGAGTAAAAAAATAGCCTTGGG TGTAT	31	88,89	XR_791537.2	87	41,18	SOV73826.1
TCGACCCATGGCCCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGG GCCATGGGTCGAACTTCCTGGCCAAACGTTCGCCCCA TGGCCTGAACGTCCAGACCAGATGTTCGGGCCATGG GTCGA	17	100	XR_001978074.1	96	48,72	KMT06962.1
CGATTCTCATTAGGGGGGTTGGGGGCATTGGGGTAG GTTGTATTAGGTGCCATGTGAGAGTGCG						
GTACTATGTACTTGGTACACCTAAGGCTATTTTTTGTT CATTTACTCATTTGGAGCTCTACCTATTATGTGATTAT GCTCATTTCGAGTTTCAAATGAGCATTGAGTAAAAAA ATAGCCTTGGATGTACTATACTCATGGTAC	49	80,82	XR_791372.2			
AGGGCTGCGGTTTTTTTAAAAACGCAGCCCTTCGTGT AAGAAGGGCTCCGTTTTCAGGGAACGGGCAGCCCT	48	82,86	XR_002040492.1			
GGCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCTCTCCATGGGGCC AACGTCCAGGCCAGACGTTTGCC	46	85,71	NR_156696.1	100	66,67	KMT06962.1
GGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAACCCTTTAAGTAA TAAAAGGGCTGCGTTTTTTAAAAAAAACGCAGCCC	29	95,24	XR_002572294.1			
TCTGATGCGGTCAAAAAACCGCATCAGATTTTTAAAA AATCGCAACAGTTTTTTAATCTGATGCGGTTTTTTTA GGACCGCATCAGA	33	86,21	XR_003771136.1	89	46,15	OZG55444.1
CGCTGGAAGGGCTGCGTTTTTTTTAAAACGCAGCCCT TCTTGTATGGAGGGTTGCGGCTTTAAAGGAAACCGC AGCCCTTTTAGTG	39	85,71	XR_002040492.1			
GTACACCCAAGACTAATTTTTGCTCATTTACTTATTTG AAACTCTCCTTTTTAATATATTTTACTCATTTGGATGA TATCAAATGAACAATGAGCAAAAAAAAATAGCCTTGG GTGTAC	81	76	XR_791537.2			
TTGGGACCATGGGGGCGAACATCCCGCCTGGACGTT CCACCCATGGCCCGAACGTCTGGCCTGGATGTTCCAC CCATGGCCCGA	63	86,79	FJ752587.1	67	57,89	OTA76415.1
AGTGAAGGGCTGCGTTTTTTTAAAAACCGCAGCCCTT CATACTGTATGAAGGGCTGCGATTTCTTGTTAACCGC ATCCCTTCACT	44	85,71	XR_002040492.1			
GGGCGAAATTTTTTAGGCCGATGGGCGAACGTCTGA CCTGGACGTTCGCTCCATGGGGCAAACGTCCAGACC AGACGTTCGCCCATCGGCCTAAAAAAATTTCGCCT	61	80,65	EF036526.1	84	55,88	KMT06962.1
AGGCCCTGTTTTTTTGGACTTATTTTTTGTTAAGTTTA TATTCTCTCAGTGACTCAGTCCAAAAGAACGGTGCCT	44	87,88	XR_003474140.1			
TACATCCAAGGCTTTTTTTTTTGCTCATTTACTCTTTT AAAGATCTTTTCGTTGTGCGAATTTTGCTAATTTGGA GGTTTTAAATAAGTAATGAGCAAAAAAAGTCTTGGG TGTA	25	86,21	XR_002268953.1			

Ek 31 (devamı)

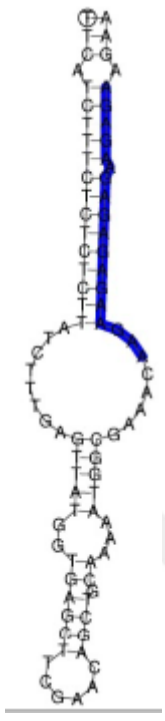
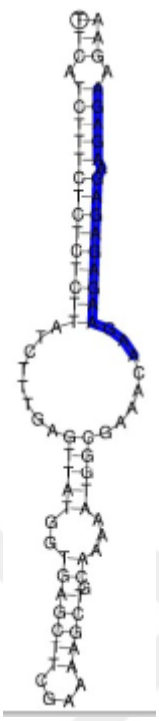
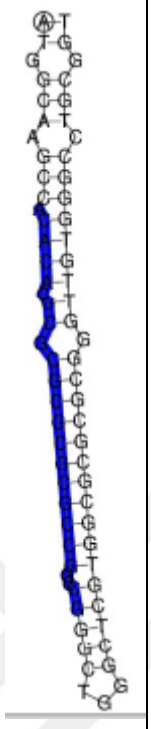
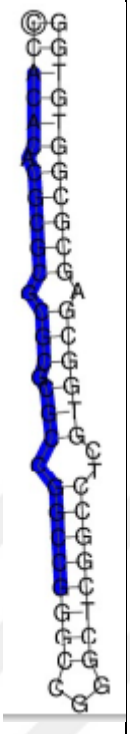
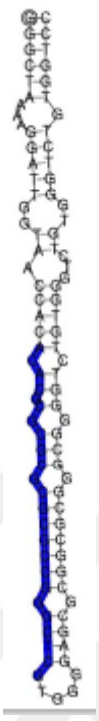
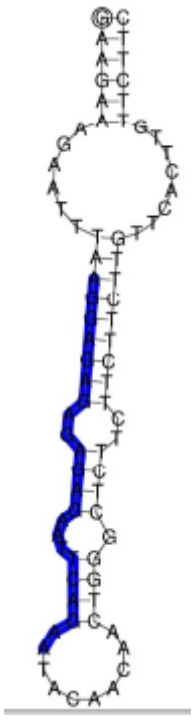
Saç tokası dizi	Kodlanmayan RNA'lar ile BLAST			Protein dizileri ile BLAST		
	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)	NCBI ID
CATCCTAGTTTGTACTTCCTCCGTTCTTTAATAATTGCAACATGTAGGGGTTGCACATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGAGATG	87	90	XR_002039339.1			
GAACCGTAACCGTTTAGACCGGTTACCGCCTAAGCGGTTAACCTTTTTTTCGGTACGATTC						
CTATTTTACTTCCTCCGTTCTTTAATTATTGCAACATGTAGGGGTTGCAAATTTTTTAAGGAGATGAGAGAGATAGAGAG	92	86,49	XR_002039339.1			
CGTCCATAAAAGTTTCCCCTTTTCTGTCATTGCAGAATTCTCCATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGTGTTGGATG	32	91,67	XR_001691551.1			
TACTCCTTTAGTCTTTTTTTTAATTGGGATATTTGTGTTTACACATGGACCGGGAAAAAAAGTGAAAAGGTGGAGTA	23	100	XR_001808190.1			
CGCAGCCCTTAATAGTGAAGGGCTGCGGTTAGCCCAAACACCGCAGCCCTTCGTAAACGAAGGGCTGCGGTTTTTTTAAATACGCAGCCCTTTAAGTGAAGGGCTGCG	37	85	XR_002040492.1			
GGTCCAGGACCGGACCGGAACCGGTTGGACCGGTGGACCGGAATCTGGAAAAAAATTGGACCTGGAAAGGACCGGAATTTTTCCGGTCCGGTCCGGTCTGGACCTGAATTTTTCCGGTCCGGTCCGGTCTTGGACC	38	81,48	XR_002511430.1	66	56,67	GBB92689.1
GATGCGGTTTTTTTAGGACCGCATCAGATTTTTTTTGGCCAAATTTCCCTCCCATTTTTTGGTTGAATTTCGAATGCGGTTTTACAAAAACCGCATC	39	84,21	XR_003702231.1	89	72,41	KMT04062.1
GAATGTGGCTCTCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGTTGCGTAATACCCTGGGGGGGACTGAGGTTC	66	86,05	XR_002883377.1	96	90,48	OMP13564.1
CTAGGGCTATTTTTTTGCTCATCTGGAGCTCTCACTCTAATGAGCAAAAAAATAGCCTTGG	32	100	XR_003579967.1			
TATATTATACACTTGGGTGTACCATATACAAGGGCATTTATTTGCTTATATCGCATTTGTAGAGTTCTAAATGAGCAAAAAAAATAGCCTTGGGTGTTTATTATATACTCGAGTGTACGGTGTA	65	78,31	XR_790694.2			
AACTGATCCGGTTGGGCAAGAAAACCGAACCAGTTAATCAACTTAAGTGGTCCGATTTTTTTGCCTAACCGGATTAGTT	29	91,30	XR_002453747.1			
TTTTAATTGGGGCTAAGGGTCGAACGTCTGGCCTGGACGTTCGACCCATGGCCCGAACGTTTGGCCTGGACGTTTGGGCCATGGGGCGAAAGTCTGGACGTTCGGGCCCGCCCAGATGTTCGGGCCATGCGTCAAACTTCCTGGCCAGAAGTTCGACCTTTAGCCCCAATTAAAA	100	79,38	EF036526.1	74	43,18	XP_002599078.1
GAAGAAAGAATTTAAGGAGAGAGAGAGAATTCAGAATACAACAACTGGGCTCTTCTTCTTCTTGTTCACTTGTTCTTC	35	92,86	XR_002214258.1			
CGTCCATAAAAGTTTCCCCTTTTCTGTCATTGCAGAATTCTCCATGATGACGAGAGAGAGAGAGAGTGCTGGATG	32	91,67	XR_001691551.1			
CATGAGCGTTGATGATAGAATTTTGTTGGCTTAACTTCACGGTTGAAGTGCGTCCAAAAAGGTTTTTTTCGACGGCGCTTGTG	32	88,89	NR_159510.1			

Ek 32: miRBase veritabanında kayıtlı miRNA dizileri (V.22) CD'de Ek 32 olarak verilmiştir

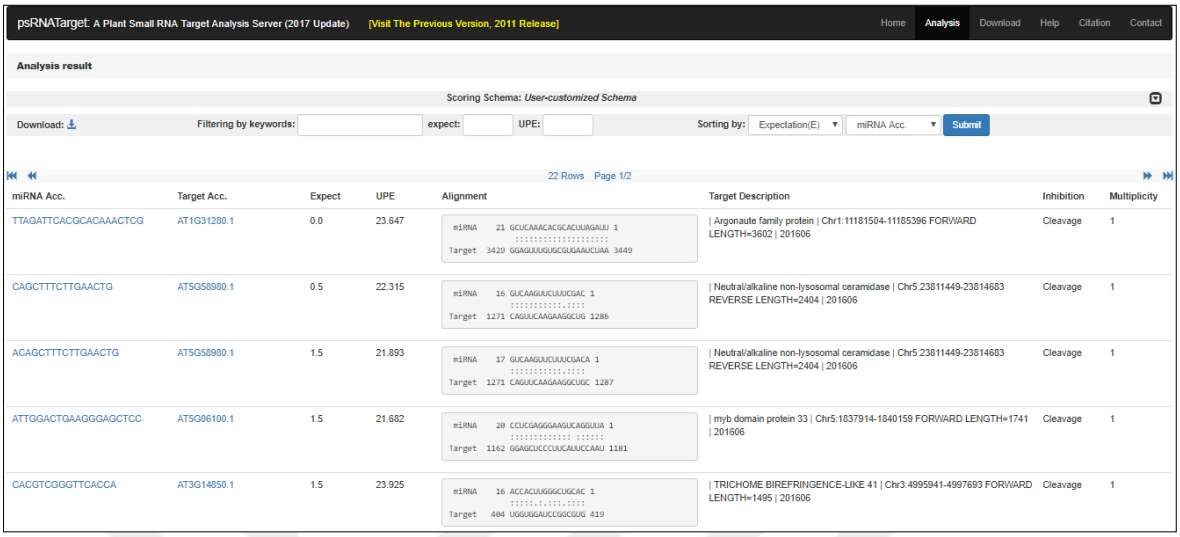
Ek 33: Saç tokası yapıları bakımından potansiyel miRNA adayı olarak değerlendirilmesine karar verilemeyen küçük RNA ve saç tokası dizileri

No	Küçük RNA dizisi	Saç tokası dizisi
1	AAGAAGAGAGAGAAGAGA	TTCATCTTTCTCTCTCTTATCTTTGAGTTATGGTGAGCTTCGAACAGCTGCAAAAATGGC GAAACAAGAAGAGAGAGAAGAGAAGAA
2	AAGAAGAGAGAGAAGAGA	TTCATCTTTCTCTCTCTTATCTTTGAGTTATGGTGAGCTTCGAAAAGCTGCAAAAATGGC GAAACAAGAAGAGAGAGAAGAGAAGAA
3	ACACACGCGCGCGCGCGCCGGCCG	ATGGCAAGCCACACACGCGCGCGCGCCGGCCGGGCTGGGCTCGTGGCGCGCGCGGG TTGTGGGCCTGCGGT
4	ACACACGCGCGCGCGCGCCGGCCG	CCACACACGCGCGCGCGCCGGCCGGGCCGGGCTCGGCCTCGTGGCGAGCGCGGTGT GG
5	ACACGCGCGCGCGCGCCGGGCTCG	GGGCTAAAAGGATTGGTAACCACACACGCGCGCGCGCCGGGCTCGTGGGGAGCGCG GCGCGGGCGGGGTCTGTGGGTCTGTGGGTCTGTGGTCC
6	ACATAGATATGAGAGAGAGAGAGA	CTACCTTACTTTACAATTTTGTTGTTGACAGCTACCTTATGCCGGTTTCCGGCGTTGATTC TTGTTTTTTCAGTTCAAAATTGTGGGAAAAACAAAATTACCCTTGTGAGGGTGATTGTTT CAATTTTAGTTTAAGTAGAAGAGGAATTTAATGGTGGACTGGTATTACAAAGTGTCACA TAGATATGAGAGAGAGAG
7	ACATAGATATGAGAGAGAGAGAGA	CTTACTTTACCATTTTGTTGTTGACAACTACCTTATGCCGGTTTCCGGCGTTGACTTTTTT TTCAGTTTAAAATTGTGGGAAAAACAAAATTACCCTTGTGGAAATTGAGGAGGGTGATT GTTTCAATTTTAGTTGAAGTAGAAGAAGAATTTAATGGTGGATTGGTGGTACAAAGTGT CACATAGATATGAGAGAGAGAG
8	AGGAGAGAGAGAGAATTCAGAA	GAAGAAAGAATTTAAGGAGAGAGAGAGAATTCAGAATACAACAACTGGGCTCTTCTTC TTCTTGTTCACTTGTTCTTC

Ek 34: Saç tokası yapıları bakımından potansiyel miRNA adayı olarak değerlendirilmesine karar verilemeyen küçük RNA'lar ve saç tokası yapıları

							
87 nt	87 nt	73 nt	60 nt	96 nt	200 nt	201 nt	78 nt
1	2	3	4	5	6	7	8

Ek 35: Bilinen miRNA'lar ile eşleşen dizilerin hedef gen analiz sonuçlarına ait örnek ekran görüntüsü



psRNATarget: A Plant Small RNA Target Analysis Server (2017 Update) [Visit The Previous Version, 2011 Release]

Home | Analysis | Download | Help | Citation | Contact

Analysis result

Scoring Schema: *User-customized Schema*

Download: | Filtering by keywords: | expect: | UPE: | Sorting by: Expectation(E) | miRNA Acc. | Submit

22 Rows Page 1/2

miRNA Acc.	Target Acc.	Expect	UPE	Alignment	Target Description	Inhibition	Multiplicity
TTAGATTCACGCACAAACTCG	AT1G31280.1	0.0	23.647	miRNA 21 GCUCAAACACGCACUUAGAUU 1 ::::::::::::::::::: Target 3429 GGAGUUUGUGCGUGAAUCUAA 3449	| Argonaute family protein | Chr1:11181504-11185396 FORWARD LENGTH=3602 | 201606	Cleavage	1
CAGCTTTCTTGAACTG	AT5G58980.1	0.5	22.315	miRNA 16 GUCAAGUUCUUUCGAC 1 ::::::::::.::: Target 1271 CAGUUCAAGAAGGCUG 1286	| Neutral/alkaline non-lysosomal ceramidase | Chr5:23811449-23814683 REVERSE LENGTH=2404 | 201606	Cleavage	1
ACAGCTTTCTTGAACTG	AT5G58980.1	1.5	21.893	miRNA 17 GUCAAGUUCUUUCGACA 1 ::::::::::.::::: Target 1271 CAGUUCAAGAAGGCUGC 1287	| Neutral/alkaline non-lysosomal ceramidase | Chr5:23811449-23814683 REVERSE LENGTH=2404 | 201606	Cleavage	1
ATTGGACTGAAGGGAGCTCC	AT5G06100.1	1.5	21.682	miRNA 20 CCUCGAGGGAAGUCAGGUUA 1 :::::::::::: :::::: Target 1162 GGAGCUCCCUUCAUUCCAAU 1181	| myb domain protein 33 | Chr5:1837914-1840159 FORWARD LENGTH=1741 | 201606	Cleavage	1
CACGTCGGGTTCACCA	AT3G14850.1	1.5	23.925	miRNA 16 ACCACUUGGGCUGCAC 1 :::::.:.:::.:::: Target 404 UGGUGGAUCCGGCGUG 419	| TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 41 | Chr3:4995941-4997693 FORWARD LENGTH=1495 | 201606	Cleavage	1

Ek 36: miRBase anotasyonu sonucunda bilinen miRNA (tüm varyantlar dahil) dizileri ile eşleşen küçük RNA dizilerinin hedef genleri CD'de Ek 36 olarak verilmiştir

Ek 37: Küçük RNA dizileri ile eşleşen olgun miRNA'ların hedef analizi sonuçları

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
AAACCTGGCTCTGATACCA	AT4G10240.1	0	1	19	240	258	Kesim	| B-box zinc finger family protein | Chr4:6368829-6369950 REVERSE LENGTH=1051 | 201606
AACTACTCCCTCCGTCCGATA	AT2G43700.3	5	1	21	120	140	Kesim	| Concanavalin A-like lectin protein kinase family protein | Chr2:18115064-18118878 FORWARD LENGTH=2592 | 201606
AAGCTCAGGAGGGATAGCGCC	AT5G07180.2	1,5	1	21	2.315	2.335	Kesim	| ERECTA-like 2 | Chr5:2227524-2232527 REVERSE LENGTH=2967 | 201606
ACATTATGGGACGGAGGGAGT	AT1G48260.2	2,5	1	21	2.621	2.641	Kesim	| CBL-interacting protein kinase 17 | Chr1:17813886-17817406 REVERSE LENGTH=2705 | 201606
ACCTAGCTCTGATACCATGAA	AT4G10240.1	1,5	1	21	236	256	Kesim	| B-box zinc finger family protein | Chr4:6368829-6369950 REVERSE LENGTH=1051 | 201606
ACTTAATATGGGACGGAAGAA	AT1G10980.1	1,5	1	21	1.891	1.911	Kesim	| Lung seven transmembrane receptor family protein | Chr1:3667224-3669935 REVERSE LENGTH=1972 | 201606
ACTTATTATGGACCGGAGGGA	AT2G15960.1	3,5	1	21	213	233	Kesim	| stress-induced protein | Chr2:6947096-6947866 FORWARD LENGTH=771 | 201606
AGAATCTTGATGATGCTGCAG	AT4G36920.2	0,5	1	21	1.293	1.313	Kesim	| Integrase-type DNA-binding superfamily protein | Chr4:17400610-17403469 FORWARD LENGTH=1743 | 201606
AGAATCTTGATGATGCTGCAG	AT4G36920.2	4	1	21	1.091	1.111	Translasyon	| Integrase-type DNA-binding superfamily protein | Chr4:17400610-17403469 FORWARD LENGTH=1743 | 201606
AGAATCTTGATGATGCTGCAT	AT5G60120.6	0,5	1	21	1.723	1.743	Kesim	| target of early activation tagged (EAT) 2 | Chr5:24207689-24211743 FORWARD LENGTH=2210 | 201606
AGACTACAATTATCTGATCA	AT5G52410.1	2,5	1	20	2.413	2.432	Kesim	| oxidoreductase/transition metal ion-binding protein | Chr5:21275948-21279444 FORWARD LENGTH=2448 | 201606
AGAGCTTCCTTCAGCCCACTC	AT4G18465.1	4,5	1	21	367	387	Kesim	| RNA helicase family protein | Chr4:10196954-10201787 FORWARD LENGTH=2366 | 201606
AGAGCTTTCTTCGGTCCACTC	AT5G45520.2	2,5	1	21	888	908	Kesim	| Leucine-rich repeat (LRR) family protein | Chr5:18449509-18453137 REVERSE LENGTH=3629 | 201606
AGAGGTGCTCATGGGCTGGGTCGG	AT3G01750.2	4	1	24	355	378	Kesim	| Ankyrin repeat family protein | Chr3:270229-272976 FORWARD LENGTH=2540 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
AGATATTGGTACGGTTCAATC	AT4G21990.1	1	1	21	236	256	Kesim	| APS reductase 3 | Chr4:11657008-11659105 REVERSE LENGTH=1785 | 201606
AGCCGTAAACGATGGATACT	AT1G20560.1	0,5	1	20	237	256	Kesim	| acyl activating enzyme 1 | Chr1:7119671-7121871 REVERSE LENGTH=2068 | 201606
AGCTCAGGAGGGATAGCGCC	AT5G53470.1	4	1	20	805	824	Kesim	| acyl-CoA binding protein 1 | Chr5:21710170-21712614 FORWARD LENGTH=1567 | 201606
AGCTCTGGTACCATGTTAGATT	AT4G11547.1	1,5	1	22	650	671	Kesim	| cysteine/histidine-rich C1 domain protein | Chr4:6994045-6995237 REVERSE LENGTH=720 | 201606
AGGGCTTCTCTCCTTTGGCAG	AT2G36570.1	2	1	21	1.564	1.584	Kesim	| Leucine-rich repeat protein kinase family protein | Chr2:15335284-15337995 FORWARD LENGTH=2588 | 201606
AGTTTGTGCGTGAATCTAACC	AT1G26440.3	1,5	1	21	24	44	Kesim	| ureide permease 5 | Chr1:9143937-9146083 REVERSE LENGTH=1536 | 201606
AGTTTGTGCGTGAATCTAACC	AT1G26440.3	4,5	1	21	1.022	1.042	Translasyon	| ureide permease 5 | Chr1:9143937-9146083 REVERSE LENGTH=1536 | 201606
ATCATGCTATCCCTTTGGATT	AT2G30400.1	3,5	1	21	1.036	1.056	Translasyon	| ovate family protein 2 | Chr2:12956445-12957807 FORWARD LENGTH=1363 | 201606
ATGATGATGATGATGATGAAA	AT3G59020.2	0	1	21	3.555	3.575	Kesim	| ARM repeat superfamily protein | Chr3:21810238-21817699 REVERSE LENGTH=4109 | 201606
ATGCACTGCCTCTTCCCTGGC	AT2G02850.1	0	1	21	279	299	Kesim	| plantacyanin | Chr2:826299-827994 REVERSE LENGTH=995 | 201606
ATTCAAGAAAGCTGTGGAAAA	AT2G03250.2	2,5	1	21	1.160	1.180	Translasyon	| EXS (ERD1/XPR1/SYG1) family protein | Chr2:981934-986756 REVERSE LENGTH=2687 | 201606
ATTCAGTTGATGCAAGGCGGGATC	AT5G59100.1	1,5	1	24	1.745	1.768	Kesim	| Subtilisin-like serine endopeptidase family protein | Chr5:23858873-23862129 REVERSE LENGTH=2346 | 201606
ATTGAGTGCAGCGTTGATGAA	AT2G29130.1	0,5	1	21	783	803	Kesim	| laccase 2 | Chr2:12524827-12527803 REVERSE LENGTH=2188 | 201606
ATTGGACTGAAGGGAGCTCC	AT5G06100.1	1,5	1	20	1.162	1.181	Kesim	| myb domain protein 33 | Chr5:1837914-1840159 FORWARD LENGTH=1741 | 201606
ATTGTCACGTGTCATGTTCTGATT	AT5G16390.1	2,5	1	24	104	127	Kesim	| chloroplastic acetylcoenzyme A carboxylase 1 | Chr5:5360789-5363297 REVERSE LENGTH=1429 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
ATTTCGGACCAGGCTTCATTCCCC	AT1G30490.1	2	1	24	927	950	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
CAAGTAATATGGATCGGAGGAAGT	AT3G46690.1	3,5	1	24	1.804	1.827	Kesim	| UDP-Glycosyltransferase superfamily protein | Chr3:17197443-17199363 REVERSE LENGTH=1842 | 201606
CAATCTTTATGGAACGGAGAGAGT	AT5G66610.3	2,5	1	24	174	197	Kesim	| DA1-related protein 7 | Chr5:26584780-26587917 FORWARD LENGTH=2019 | 201606
CACTACATTATGGAATGGAGGGA	AT3G49110.1	2	1	23	1.139	1.161	Kesim	| peroxidase CA | Chr3:18200587-18203265 FORWARD LENGTH=1565 | 201606
CACTTATTTTGGACCGGAGGG	AT4G33430.1	4	1	21	2.375	2.395	Kesim	| BRI1-associated receptor kinase | Chr4:16086350-16090832 REVERSE LENGTH=2696 | 201606
CAGCCAAGGATGACTTGCCTA	AT1G17590.2	0	1	21	1.305	1.325	Kesim	| nuclear factor Y%2C subunit A8 | Chr1:6050222-6052619 REVERSE LENGTH=1525 | 201606
CATATACTCCCTCCGTCCGAAA	AT2G30080.1	2,5	1	22	548	569	Translasyon	| ZIP metal ion transporter family | Chr2:12838620-12840252 REVERSE LENGTH=1276 | 201606
CATCCAAAGGGATCGCATTGA	AT1G12820.1	0	1	21	1.891	1.911	Kesim	| auxin signaling F-box 3 | Chr1:4368760-4371298 REVERSE LENGTH=2234 | 201606
CCCCAAGCTGAGAGCTCTCCC	AT1G05850.1	3	1	21	732	752	Kesim	| Chitinase family protein | Chr1:1766503-1768837 REVERSE LENGTH=1620 | 201606
CCCGCCTTGCATCAACTGAAT	AT5G17780.1	3,5	1	21	1.149	1.169	Kesim	| alpha/beta-Hydrolases superfamily protein | Chr5:5867283-5869050 REVERSE LENGTH=1474 | 201606
CCGACCTTAGCTCAGTTGGTG	AT4G15420.1	2	1	21	1.240	1.260	Kesim	| Ubiquitin fusion degradation UFD1 family protein | Chr4:8823725-8826131 FORWARD LENGTH=1965 | 201606
CCGGACCAGGCTTCATTCCCC	AT1G30490.1	0	1	21	927	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
CCGTGTTTCCTTGTATAAAG	AT5G20480.1	3	1	20	3.528	3.547	Kesim	| EF-TU receptor | Chr5:6921509-6925901 FORWARD LENGTH=4122 | 201606
CCGTGTTTCCTTGTATAAAG	AT5G20480.1	3,5	1	20	2.430	2.449	Kesim	| EF-TU receptor | Chr5:6921509-6925901 FORWARD LENGTH=4122 | 201606
CGCCAAAGGAGAGTTGCCCTC	AT2G33770.1	2,5	1	21	902	922	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
CGCCAAAGGAGAGTTGCCCTC	AT2G33770.1	2,5	1	21	1.016	1.036	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
CGCCAAAGGAGAGTTGCCCTC	AT2G33770.1	2,5	1	21	959	979	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
CGCCAAAGGAGAGTTGCCCTC	AT2G33770.1	3	1	21	680	700	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
CGCCAAAGGAGAGTTGCCCTC	AT2G33770.1	3,5	1	21	813	833	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
CGGACCAGGCTTCATTCCCC	AT1G30490.1	0,5	1	20	927	946	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
CGGCTCTGATACCAGTTGATG	AT1G33360.1	4,5	1	21	1.713	1.733	Translasyon	| ATP-dependent Clp protease | Chr1:12091780-12096486 FORWARD LENGTH=2999 | 201606
CGTTTCACGTCGGGTTCACC	AT4G00752.1	3	1	20	145	164	Kesim	| UBX domain-containing protein | Chr4:317564-320935 REVERSE LENGTH=1759 | 201606
CTCGGACCAGGCTTCATTCCC	AT1G30490.1	1,5	1	21	928	948	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
CTGAAGTGTTTGGGGGAACTC	AT5G43780.1	1,5	1	21	597	617	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
CTGAAGTGTTTGGGGGAACTC	AT5G43780.1	4,5	1	21	566	586	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
CTGAAGTGTTTGGGGGAACTCC	AT5G43780.1	1,5	1	22	596	617	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
CTGAAGTGTTTGGGGGAACTCC	AT5G43780.1	4,5	1	22	565	586	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
CTGACAGAAGATAGAGAGCAC	AT1G69170.1	1,5	1	21	1.297	1.317	Kesim	| Squamosa promoter-binding protein-like (SBP domain) transcription factor family protein | Chr1:26005068-26007368 FORWARD LENGTH=1934 | 201606
CTTATAATTAGGGACGGAGGTAGT	AT3G56960.2	4	1	24	258	281	Kesim	| phosphatidyl inositol monophosphate 5 kinase 4 | Chr3:21080028-21084420 FORWARD LENGTH=3804 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
CTTGGACTGAAGGGAG CTCC	AT2G26950.1	1,5	1	20	828	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
CTTGGACTGAAGGGAG CTCCC	AT2G26950.1	1,5	1	21	827	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
CTTGGACTGAAGGGAG CTCCT	AT2G26950.1	1,5	1	21	827	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
CTTGGATTGAAGGGAG CTCCC	AT2G26950.1	1,5	1	21	827	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
CTTGGATTGAAGGGAG CTCT	AT2G26950.1	1,5	1	20	828	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
CTTGGATTGAAGGGAG CTCTA	AT2G26950.1	1,5	1	21	827	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
GAGCTCCTTGAAGTCC AAAAG	AT5G45050.4	2	1	21	2.119	2.139	Kesim	| Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) | Chr5:18176914-18181252 REVERSE LENGTH=3927 | 201606
GATCCCCGGCAACGGC GCCA	AT3G44580.1	0	1	20	70	89	Kesim	| hypothetical protein | Chr3:16160338-16161837 REVERSE LENGTH=1148 | 201606
GCGTATGAGGAGCCAA GCATA	AT4G33300.2	1,5	1	21	1.797	1.817	Kesim	| ADR1-like 1 | Chr4:16050456-16056526 REVERSE LENGTH=3143 | 201606
GCTCACTCTCTATCTGT CACC	AT4G25620.1	4	1	21	221	241	Kesim	| hydroxyproline-rich glycoprotein family protein | Chr4:13067186-13069762 REVERSE LENGTH=2077 | 201606
GCTCACTGCTCTTTCTG TCAGCT	AT3G44590.2	2,5	1	23	141	163	Kesim	| 60S acidic ribosomal protein family | Chr3:16163850-16164931 FORWARD LENGTH=651 | 201606
GGAATGTTGGCTGGCT CGAGG	AT4G06688.1	2	1	21	1.514	1.534	Kesim	| myosin heavy chain-like protein | Chr4:3920693-3924437 FORWARD LENGTH=1833 | 201606
GGAATGTTGTCTGGCTC GAGG	AT5G57035.1	2	1	21	1.737	1.757	Kesim	| U-box domain-containing protein kinase family protein | Chr5:23080647-23083988 FORWARD LENGTH=2635 | 201606
GGAATGTTGTTTGGCTC GAGG	AT2G01210.1	1	1	21	1.842	1.862	Kesim	| Leucine-rich repeat protein kinase family protein | Chr2:119270-121980 REVERSE LENGTH=2636 | 201606
GGACAGTCTCAGGTAG ACA	AT2G41490.1	3	1	19	1.360	1.378	Kesim	| UDP-glcnac-adolichol phosphate glcnac-1-p-transferase | Chr2:17301572-17304211 FORWARD LENGTH=1667 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
GGAGCGACCTGAGATCACATG	AT3G27473.3	3	1	21	895	915	Kesim	| Cysteine/Histidine-rich C1 domain family protein | Chr3:10169242-10172060 REVERSE LENGTH=2078 | 201606
GGAGGCAGCGGTTCATCGATC	AT4G16310.1	2	1	21	103	123	Kesim	| LSD1-like 3 | Chr4:9217997-9225404 FORWARD LENGTH=5931 | 201606
GGCAAGTTGTCCTTGGCTAC	AT2G40840.1	1	1	20	1.600	1.619	Kesim	| disproportionating enzyme 2 | Chr2:17044932-17051062 FORWARD LENGTH=3409 | 201606
GGCAGGTTGTCCTTGGCTAC	AT5G40680.1	4,5	1	20	928	947	Kesim	| Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein | Chr5:16288754-16290001 FORWARD LENGTH=1248 | 201606
GGCAGTCTCCTTGGCTATC	AT3G19055.1	2,5	1	19	213	231	Kesim	| hypothetical protein | Chr3:6592316-6592942 FORWARD LENGTH=342 | 201606
GGCAGTCTCCTTGGCTATT	AT5G45230.1	2	1	19	1.551	1.569	Kesim	| Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family | Chr5:18302147-18308303 REVERSE LENGTH=3696 | 201606
GGGAATGACGCCGGGTCCGAAA	AT3G09920.1	3	1	22	381	402	Kesim	| phosphatidyl inositol monophosphate 5 kinase | Chr3:3040303-3044989 REVERSE LENGTH=3884 | 201606
GGGCAATTCTCCTTTGGCAGA	AT1G01790.2	3	1	21	1.707	1.727	Kesim	| K+ efflux antiporter 1 | Chr1:284460-291203 FORWARD LENGTH=4237 | 201606
GTCGTTGTAGTATAGTGG	AT4G11540.1	2,5	1	18	1.372	1.389	Kesim	| Cysteine/Histidine-rich C1 domain family protein | Chr4:6990861-6992555 REVERSE LENGTH=1695 | 201606
GTGGCATCATCAAGATTCACACA	AT5G54880.1	4	1	23	48	70	Kesim	| DTW domain-containing protein | Chr5:22291860-22293300 FORWARD LENGTH=1441 | 201606
GTTCAAGAAAGCTGTGGAAGA	AT2G14070.1	3	1	21	619	639	Kesim	| wound-responsive protein-like protein | Chr2:5921881-5923151 FORWARD LENGTH=752 | 201606
GTTCAAGAAAGCTGTGGGAAA	AT2G18710.1	2	1	21	1.321	1.341	Kesim	| SECY homolog 1 | Chr2:8112084-8114485 REVERSE LENGTH=1836 | 201606
GTTCAATAAAGCTGTGGGAAG	AT3G54280.2	2	1	21	1.124	1.144	Kesim	| ROOT GROWTH DEFECTIVE 3 | Chr3:20091976-20104257 FORWARD LENGTH=6632 | 201606
GTTCGCGTCGGGTTCACCA	AT1G11230.1	3	1	19	609	627	Kesim	| transmembrane protein%2C putative (DUF761) | Chr1:3763268-3764483 REVERSE LENGTH=1096 | 201606
GTTCGCGTCGGGTTCACCA	AT1G11230.1	4,5	1	19	355	373	Kesim	| transmembrane protein%2C putative (DUF761) | Chr1:3763268-3764483 REVERSE LENGTH=1096 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TAAAGCTCAGGAGGGATAGCG	AT3G10680.1	3	1	21	210	230	Kesim	| HSP20-like chaperones superfamily protein | Chr3:3337689-3339345 FORWARD LENGTH=1557 | 201606
TAAAGCTGCCAGCATGATCTGG	AT5G37020.2	3,5	1	22	2.369	2.390	Kesim	| auxin response factor 8 | Chr5:14630028-14634387 FORWARD LENGTH=2844 | 201606
TAACCTGGCTCTGATACCA	AT4G10240.1	1	1	19	240	258	Kesim	| B-box zinc finger family protein | Chr4:6368829-6369950 REVERSE LENGTH=1051 | 201606
TACTACTCCCTCCGTCCCAAA	AT4G28250.1	2,5	1	21	1.643	1.663	Kesim	| expansin B3 | Chr4:13999625-14002124 REVERSE LENGTH=1795 | 201606
TACTACTCCCTCCGTCCGAAA	AT4G28250.1	2,5	1	21	1.643	1.663	Kesim	| expansin B3 | Chr4:13999625-14002124 REVERSE LENGTH=1795 | 201606
TACTCCCTCTGTTCCATAAAG	AT2G15080.1	1,5	1	21	21	41	Kesim	| receptor like protein 19 | Chr2:6533261-6537002 FORWARD LENGTH=3639 | 201606
TAGCCAAGGATGACTTGCCTG	AT3G14020.2	0	1	21	1.271	1.291	Kesim	| nuclear factor Y%2C subunit A6 | Chr3:4642657-4644534 FORWARD LENGTH=1471 | 201606
TCAACATGGTATCAGAGCTGGAAG	AT5G38540.1	3,5	1	24	11	34	Kesim	| Mannose-binding lectin superfamily protein | Chr5:15426556-15430559 REVERSE LENGTH=2173 | 201606
TCAATCAGAACATGACACGTGACA	AT5G09540.1	3	1	24	1.298	1.321	Kesim	| Chaperone DnaJ-domain superfamily protein | Chr5:2962057-2963441 REVERSE LENGTH=1385 | 201606
TCATTGAGTGCAGCGTTGATG	AT2G29130.1	0,5	1	21	785	805	Kesim	| laccase 2 | Chr2:12524827-12527803 REVERSE LENGTH=2188 | 201606
TCATTTTTGCGTGCAATGATCC	AT2G45820.1	2,5	1	22	869	890	Kesim	| Remorin family protein | Chr2:18862953-18864741 REVERSE LENGTH=932 | 201606
TCCAAAGGGATCGCATTGATC	AT1G12820.1	0	1	21	1.889	1.909	Kesim	| auxin signaling F-box 3 | Chr1:4368760-4371298 REVERSE LENGTH=2234 | 201606
TCCAAAGGGATCGCATTGATCC	AT1G12820.1	0	1	22	1.888	1.909	Kesim	| auxin signaling F-box 3 | Chr1:4368760-4371298 REVERSE LENGTH=2234 | 201606
TCCAAAGGGATCGCATTGATCT	AT1G12820.1	0	1	22	1.888	1.909	Kesim	| auxin signaling F-box 3 | Chr1:4368760-4371298 REVERSE LENGTH=2234 | 201606
TCCACAGCTTTCTTGAACTG	AT5G58980.1	2	1	20	1.271	1.290	Kesim	| Neutral/alkaline non-lysosomal ceramidase | Chr5:23811449-23814683 REVERSE LENGTH=2404 | 201606
TCCCACAGCTTTATTGAACTG	AT2G31500.1	3	1	21	945	965	Kesim	| calcium-dependent protein kinase 24 | Chr2:13413738-13416602 FORWARD LENGTH=2305 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TCCCCACGGTCGGCGCCA	AT1G31670.1	2	1	18	1.461	1.478	Kesim	| Copper amine oxidase family protein | Chr1:11337536-11341889 FORWARD LENGTH=2248 | 201606
TCGAACCAGGCTTCATTCCCC	AT5G01460.1	2,5	1	21	1.356	1.376	Kesim	| LMBR1-like membrane protein | Chr5:186654-190661 FORWARD LENGTH=2352 | 201606
TCGATAAACCTCTGCATCCA	AT1G01040.1	3	1	20	3.448	3.468	Kesim	| dicer-like 1 | Chr1:23121-31227 FORWARD LENGTH=6276 | 201606
TCGATAAACCTCTGCATCCAG	AT1G01040.1	3	1	21	3.447	3.468	Kesim	| dicer-like 1 | Chr1:23121-31227 FORWARD LENGTH=6276 | 201606
TCGATAAACCTCTGCATCCGG	AT1G01040.1	3	1	21	3.447	3.468	Kesim	| dicer-like 1 | Chr1:23121-31227 FORWARD LENGTH=6276 | 201606
TCGCAGGAGAGATGGCACTA	AT4G29900.1	0,5	1	20	298	317	Kesim	| autoinhibited Ca(2+)-ATPase 10 | Chr4:14610883-14619685 REVERSE LENGTH=3874 | 201606
TCGCAGGAGAGATGGCACTGTC	AT3G58940.2	3,5	1	22	1.211	1.232	Kesim	| F-box/RNI-like superfamily protein | Chr3:21780785-21783663 REVERSE LENGTH=2325 | 201606
TCGCTTGGTGCAGGTCGGG	AT3G19740.1	1,5	1	19	2.073	2.091	Kesim	| P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein | Chr3:6855688-6863547 REVERSE LENGTH=3492 | 201606
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGA	AT1G48410.3	3	1	20	522	541	Kesim	| Stabilizer of iron transporter SufD / Polynucleotidyl transferase | Chr1:17885633-17892596 REVERSE LENGTH=3407 | 201606
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAA	AT1G48410.3	3	1	21	521	541	Kesim	| Stabilizer of iron transporter SufD / Polynucleotidyl transferase | Chr1:17885633-17892596 REVERSE LENGTH=3407 | 201606
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAAC	AT1G48410.3	3	1	22	520	541	Kesim	| Stabilizer of iron transporter SufD / Polynucleotidyl transferase | Chr1:17885633-17892596 REVERSE LENGTH=3407 | 201606
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAC	AT1G48410.3	3	1	21	521	541	Kesim	| Stabilizer of iron transporter SufD / Polynucleotidyl transferase | Chr1:17885633-17892596 REVERSE LENGTH=3407 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATCCCC	AT1G30490.1	0,5	1	20	928	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATCCCCC	AT1G30490.1	0,5	1	21	927	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TCGGACCAGGCTTCATTCCC	AT1G30490.1	0,5	1	20	928	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATTCCCC	AT1G30490.1	0,5	1	21	927	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATTCCCCC	AT1G30490.1	0,5	1	22	926	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATTCCCT	AT1G30490.1	0,5	1	21	927	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATTCCTC	AT1G30490.1	0,5	1	21	927	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATTCCTT	AT1G30490.1	0,5	1	21	927	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCGGACCAGGCTTCATTCTC	AT1G30490.1	0,5	1	20	928	947	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCTCGGACCAGGCTTCATTCC	AT1G30490.1	3	1	21	929	949	Kesim	| Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | Chr1:10796124-10801093 REVERSE LENGTH=3079 | 201606
TCTGGATCAGAGGGAGTATA	AT5G49340.1	2,5	1	20	196	215	Kesim	| TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 4 | Chr5:20007313-20009038 REVERSE LENGTH=1409 | 201606
TCTTATATTATGGGACGGAGG	AT1G48260.2	2	1	21	2.625	2.645	Kesim	| CBL-interacting protein kinase 17 | Chr1:17813886-17817406 REVERSE LENGTH=2705 | 201606
TCTTTCCTACTCCTCCCATACC	AT1G51480.1	2	1	22	605	626	Kesim	| disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family protein | Chr1:19090716-19093478 REVERSE LENGTH=2763 | 201606
TGAAGCTGCCAGCATGATCT	AT5G37020.2	3,5	1	20	2.371	2.390	Kesim	| auxin response factor 8 | Chr5:14630028-14634387 FORWARD LENGTH=2844 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TGAAGCTGCCAGCATGATCTA	AT5G37020.2	3,5	1	21	2.370	2.390	Kesim	| auxin response factor 8 | Chr5:14630028-14634387 FORWARD LENGTH=2844 | 201606
TGAAGCTGCCAGCATGATCTC	AT1G30330.2	3,5	1	21	3.236	3.256	Kesim	| auxin response factor 6 | Chr1:10685822-10690838 REVERSE LENGTH=3827 | 201606
TGAAGCTGCCAGCATGATCTG	AT5G37020.2	3,5	1	21	2.370	2.390	Kesim	| auxin response factor 8 | Chr5:14630028-14634387 FORWARD LENGTH=2844 | 201606
TGAAGCTGCCAGCATGATCTGA	AT5G37020.2	3,5	1	22	2.369	2.390	Kesim	| auxin response factor 8 | Chr5:14630028-14634387 FORWARD LENGTH=2844 | 201606
TGAAGCTGCCAGCATGATCTGC	AT3G61310.1	3,5	1	22	1.521	1.543	Kesim	| AT hook motif DNA-binding family protein | Chr3:22687610-22693150 REVERSE LENGTH=4959 | 201606
TGAAGCTGCCAGCATGATCTT	AT1G30330.2	3,5	1	21	3.236	3.256	Kesim	| auxin response factor 6 | Chr1:10685822-10690838 REVERSE LENGTH=3827 | 201606
TGAAGTGTTTGGGGGAACTC	AT5G43780.1	0,5	1	20	597	616	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
TGAAGTGTTTGGGGGAACTC	AT5G43780.1	4,5	1	20	566	585	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
TGAAGTGTTTGGGGGAACTTT	AT5G43780.1	0,5	1	21	596	616	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
TGAAGTGTTTGGGGGAACTTT	AT5G43780.1	4,5	1	21	565	585	Kesim	| Pseudouridine synthase/archaeosine transglycosylase-like family protein | Chr5:17589394-17591737 REVERSE LENGTH=1904 | 201606
TGACAATGAGAGAGAGCACAC	AT5G65950.1	3	1	21	2.058	2.078	Kesim	| trafficking protein particle complex subunit-like protein | Chr5:26380123-26385335 FORWARD LENGTH=4115 | 201606
TGACAGAAGAGAGTGAGCAC	AT2G33810.1	0,5	1	20	787	806	Kesim	| squamosa promoter binding protein-like 3 | Chr2:14305001-14306072 FORWARD LENGTH=981 | 201606
TGACAGAAGAGAGTGAGCACT	AT1G27370.6	1	1	21	2.738	2.758	Kesim	| squamosa promoter binding protein-like 10 | Chr1:9505115-9508542 REVERSE LENGTH=3184 | 201606
TGACAGAAGATAGAGAGCAC	AT1G27370.6	1,5	1	20	2.739	2.758	Translasyon	| squamosa promoter binding protein-like 10 | Chr1:9505115-9508542 REVERSE LENGTH=3184 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TGACGACGAGAGAGAGCACGC	AT4G19610.1	1	1	21	95	115	Kesim	| nucleotide/nucleic acid binding protein | Chr4:10677202-10681773 FORWARD LENGTH=2881 | 201606
TGATTGAGCCGTGCCAATATC	AT4G00150.1	0,5	1	21	1.065	1.085	Kesim	| GRAS family transcription factor | Chr4:57140-59495 REVERSE LENGTH=2356 | 201606
TGCACTGCCTCTTCCCTGGC	AT2G02850.1	0	1	20	279	298	Kesim	| plantacyanin | Chr2:826299-827994 REVERSE LENGTH=995 | 201606
TGCACTGCCTCTTCCCTGGCT	AT2G02850.1	2	1	21	277	298	Kesim	| plantacyanin | Chr2:826299-827994 REVERSE LENGTH=995 | 201606
TGCCAAAGGAGAGTTGCCCTG	AT2G33770.1	1,5	1	21	902	922	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
TGCCAAAGGAGAGTTGCCCTG	AT2G33770.1	1,5	1	21	1.016	1.036	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
TGCCAAAGGAGAGTTGCCCTG	AT2G33770.1	1,5	1	21	959	979	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
TGCCAAAGGAGAGTTGCCCTG	AT2G33770.1	2	1	21	680	700	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
TGCCAAAGGAGAGTTGCCCTG	AT2G33770.1	2,5	1	21	813	833	Kesim	| phosphate 2 | Chr2:14277558-14283113 REVERSE LENGTH=4176 | 201606
TGCCTGGCTCCCTGTATGCC	AT1G77850.1	0,5	1	20	1.649	1.668	Kesim	| auxin response factor 17 | Chr1:29272074-29275419 FORWARD LENGTH=2315 | 201606
TGCCTGGCTCCCTGTATGCTT	AT1G77850.1	0,5	1	21	1.648	1.668	Kesim	| auxin response factor 17 | Chr1:29272074-29275419 FORWARD LENGTH=2315 | 201606
TGGAACGGAGGAATTTTATAG	AT1G28610.1	2	1	21	1.400	1.420	Kesim	| GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily protein | Chr1:10053443-10055881 REVERSE LENGTH=1906 | 201606
TGGAGAAGCAGGGCACGTGCA	AT5G53950.1	1	1	21	832	852	Kesim	| NAC (No Apical Meristem) domain transcriptional regulator superfamily protein | Chr5:21901704-21903854 REVERSE LENGTH=1449 | 201606
TGGAGAAGGGGAGCACGTGCA	AT5G49870.1	1,5	1	21	1.839	1.859	Kesim	| Mannose-binding lectin superfamily protein | Chr5:20270101-20272895 REVERSE LENGTH=2113 | 201606
TGGAGGCAGCGGTTCATCGATC	AT2G28600.1	3	1	22	1.565	1.586	Kesim	| P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein | Chr2:12251784-12254872 FORWARD LENGTH=1770 | 201606
TGGCGCTAGAAGGAGGGCCT	AT5G59810.1	3	1	20	845	864	Kesim	| Subtilase family protein | Chr5:24096807-24100593 REVERSE LENGTH=2631 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TGGGGACTCGAAGACG ATCATAT	AT4G00910.1	4	1	23	465	487	Kesim	| aluminum activated malate transporter family protein | Chr4:387388-391441 REVERSE LENGTH=3594 | 201606
TTAGATGACCATCAAC AAACA	AT1G02860.1	0	1	21	258	278	Kesim	| SPX (SYG1/Pho81/XPR1) domain-containing protein | Chr1:635144-637262 FORWARD LENGTH=1517 | 201606
TTAGATGACCATCAAC AAACG	AT1G02860.1	0	1	21	258	278	Kesim	| SPX (SYG1/Pho81/XPR1) domain-containing protein | Chr1:635144-637262 FORWARD LENGTH=1517 | 201606
TTAGATGACCATCAAC AAACT	AT1G02860.3	0	1	21	258	278	Kesim	| SPX (SYG1/Pho81/XPR1) domain-containing protein | Chr1:635144-636389 FORWARD LENGTH=1065 | 201606
TTAGATTCACGCACAA ACTCG	AT1G31280.1	0	1	21	3.429	3.449	Kesim	| Argonaute family protein | Chr1:11181504-11185396 FORWARD LENGTH=3602 | 201606
TTCAAGAAAGCTGTGG GAAAA	AT5G50160.2	4,5	1	21	978	998	Kesim	| ferric reduction oxidase 8 | Chr5:20415764-20418847 FORWARD LENGTH=2605 | 201606
TTCAATAAAGCTGTGG GAAG	AT3G54280.2	2	1	20	1.124	1.143	Kesim	| ROOT GROWTH DEFECTIVE 3 | Chr3:20091976-20104257 FORWARD LENGTH=6632 | 201606
TTCCAAAGGGATCGCA TTGAT	AT1G12820.1	1	1	21	1.890	1.910	Kesim	| auxin signaling F-box 3 | Chr1:4368760-4371298 REVERSE LENGTH=2234 | 201606
TTCCAAAGGGATCGCA TTGATC	AT1G12820.1	1	1	22	1.889	1.910	Kesim	| auxin signaling F-box 3 | Chr1:4368760-4371298 REVERSE LENGTH=2234 | 201606
TTCCACAGCTTTCTTGA ACTA	AT5G01370.1	1,5	1	21	709	729	Kesim	| ALC-interacting protein 1 | Chr5:152446-154467 FORWARD LENGTH=1585 | 201606
TTCCACAGCTTTCTTGA ACTG	AT5G01370.1	1,5	1	21	709	729	Kesim	| ALC-interacting protein 1 | Chr5:152446-154467 FORWARD LENGTH=1585 | 201606
TTCCACAGCTTTCTTGA ACTGT	AT5G01370.1	1,5	1	22	708	729	Kesim	| ALC-interacting protein 1 | Chr5:152446-154467 FORWARD LENGTH=1585 | 201606
TTCCACAGCTTTCTTGA ACTT	AT5G01370.1	1,5	1	21	709	729	Kesim	| ALC-interacting protein 1 | Chr5:152446-154467 FORWARD LENGTH=1585 | 201606
TTCCACAGGCTTTCTTG AACTG	AT3G52910.1	0	1	22	800	821	Kesim	| growth-regulating factor 4 | Chr3:19615977-19618507 REVERSE LENGTH=1582 | 201606
TTCCACGGCTTTCTTGA ACTG	AT1G62740.1	3	1	21	357	377	Kesim	| stress-inducible protein | Chr1:23230922-23233543 FORWARD LENGTH=1983 | 201606

Ek 37 (devamı)

miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TTCCACGGCTTTCTTGAACTT	AT5G01370.1	2	1	21	709	729	Kesim	| ALC-interacting protein 1 | Chr5:152446-154467 FORWARD LENGTH=1585 | 201606
TTCCCAAGCCCGCCCATTCCAA	AT4G26520.3	1	1	22	1.574	1.595	Kesim	| Aldolase superfamily protein | Chr4:13388348-13390862 FORWARD LENGTH=1639 | 201606
TTCCGAGGCCACCCATTCCAAC	AT1G58602.1	2	1	22	1.052	1.073	Kesim	| LRR and NB-ARC domains-containing disease resistance protein | Chr1:21746373-21765074 FORWARD LENGTH=4404 | 201606
TTGAACTGAAGGGAGCTCCC	AT1G31880.1	3	1	20	17	36	Kesim	| DZC (Disease resistance/zinc finger/chromosome condensation-like region) domain containing protein | Chr1:11445490-11450232 FORWARD LENGTH=1617 | 201606
TTGACAGAAGAGAGAGAGCAC	AT1G27370.6	0	1	21	2.739	2.759	Kesim	| squamosa promoter binding protein-like 10 | Chr1:9505115-9508542 REVERSE LENGTH=3184 | 201606
TTGACAGAAGAGAGTGAGCAC	AT1G27370.6	1	1	21	2.739	2.759	Kesim	| squamosa promoter binding protein-like 10 | Chr1:9505115-9508542 REVERSE LENGTH=3184 | 201606
TTGACAGAAGATAGAGAGCAC	AT1G27370.6	1,5	1	21	2.739	2.759	Kesim	| squamosa promoter binding protein-like 10 | Chr1:9505115-9508542 REVERSE LENGTH=3184 | 201606
TTGACGACGAGAGAGAGCACA	AT4G19610.1	1,5	1	21	96	116	Kesim	| nucleotide/nucleic acid binding protein | Chr4:10677202-10681773 FORWARD LENGTH=2881 | 201606
TTGACGACGAGAGAGAGCACG	AT4G19610.1	1,5	1	21	96	116	Kesim	| nucleotide/nucleic acid binding protein | Chr4:10677202-10681773 FORWARD LENGTH=2881 | 201606
TTGAGCCGCGCCAATATCACT	AT3G60630.1	0	1	21	1.097	1.117	Kesim	| GRAS family transcription factor | Chr3:22410240-22412663 REVERSE LENGTH=2424 | 201606
TTGAGCCGTGCCAATATCACG	AT4G00150.1	0,5	1	21	1.062	1.082	Kesim	| GRAS family transcription factor | Chr4:57140-59495 REVERSE LENGTH=2356 | 201606
TTGAGTGCAGCGTTGATGAAA	AT2G29130.1	0,5	1	21	782	802	Kesim	| laccase 2 | Chr2:12524827-12527803 REVERSE LENGTH=2188 | 201606
TTGGACAGAGAAATCACGGTCA	AT4G01810.2	4	1	22	3.213	3.234	Kesim	| Sec23/Sec24 protein transport family protein | Chr4:776460-780201 REVERSE LENGTH=3316 | 201606
TTGGACCAGGCTTCATTCCCC	AT4G03250.1	1	1	21	1.041	1.061	Kesim	| Homeodomain-like superfamily protein | Chr4:1424902-1428062 FORWARD LENGTH=1990 | 201606

Ek 37 (devamı)

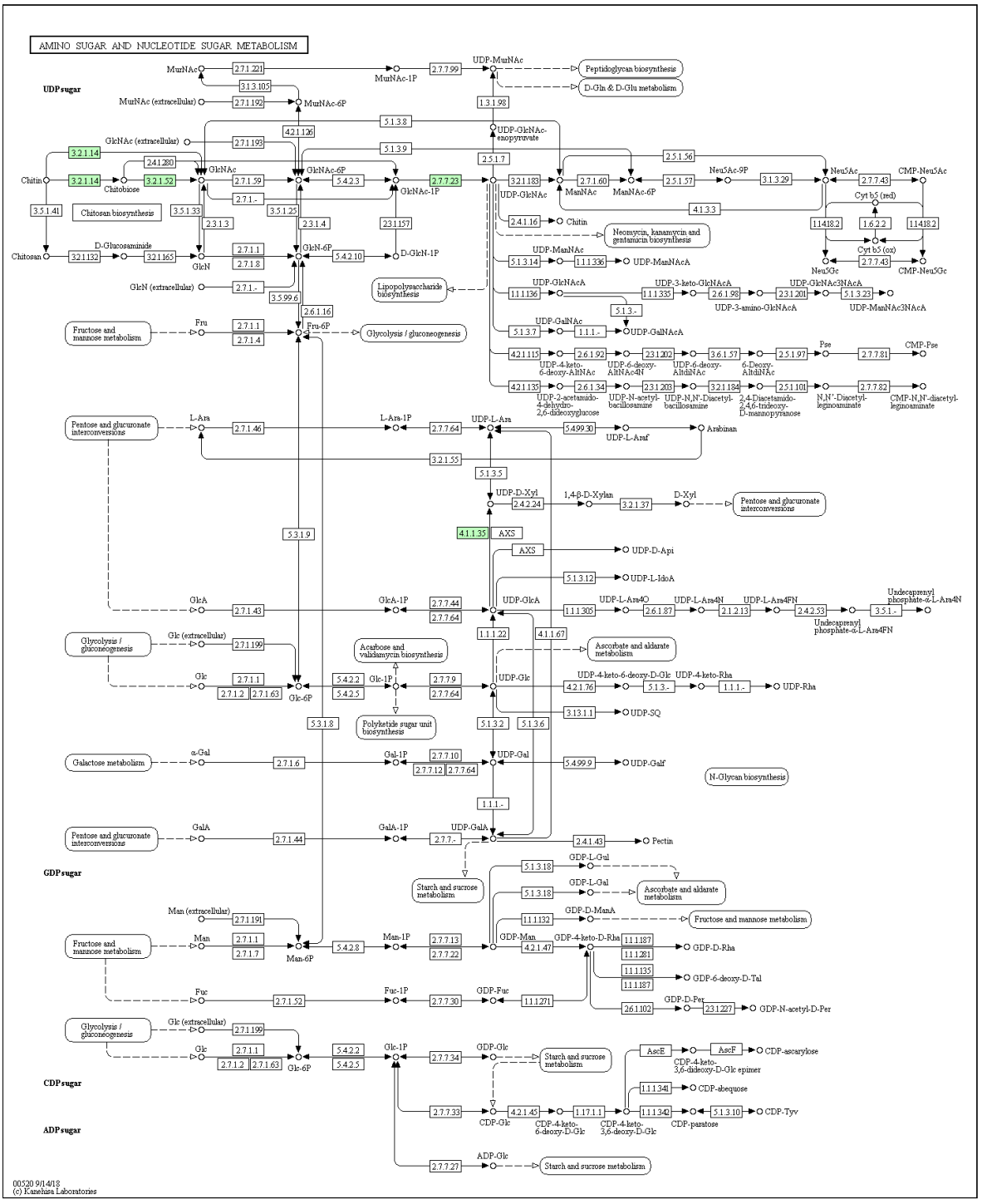
miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TTGGACTGAAGGGAGCTCC	AT2G26950.1	1,5	1	19	828	846	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTGGACTGAAGGGAGCTCCC	AT2G26950.1	1,5	1	20	827	846	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTGGACTGAAGGGAGCTCCCA	AT2G26950.1	1,5	1	21	826	846	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTGGACTGAAGGGAGCTCCCT	AT2G26950.1	1,5	1	21	826	846	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTGGACTGAAGGGAGCTCCT	AT2G26950.1	1,5	1	20	827	846	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTGGACTGAAGGGAGCTCCTT	AT2G31070.1	2	1	21	1.380	1.400	Kesim	| TCP domain protein 10 | Chr2:13220478-13222642 REVERSE LENGTH=2017 | 201606
TTGGACTGAAGGGAGCTCCTTC	AT2G31070.1	2	1	22	1.379	1.400	Kesim	| TCP domain protein 10 | Chr2:13220478-13222642 REVERSE LENGTH=2017 | 201606
TTGGACTGAAGGGTGCTCCC	AT2G31070.1	1	1	20	1.381	1.400	Kesim	| TCP domain protein 10 | Chr2:13220478-13222642 REVERSE LENGTH=2017 | 201606
TTGGCATTCTGTCCACCTCC	AT1G27340.1	1	1	20	1.549	1.568	Kesim	| Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein | Chr1:9495344-9498085 FORWARD LENGTH=2029 | 201606
TTGGGCTGAAGGGAGCTCCC	AT2G26950.1	2	1	20	827	846	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTGGTTTGAAGGGAGCTCTAC	AT2G32460.2	0,5	1	21	971	991	Kesim	| myb domain protein 101 | Chr2:13782208-13784471 REVERSE LENGTH=1760 | 201606
TTGTCAGGCTTGTTATTCTCC	AT1G78230.1	3	1	21	591	611	Kesim	| Outer arm dynein light chain 1 protein | Chr1:29430052-29432764 FORWARD LENGTH=2468 | 201606
TTTGGACTGAAGGGAGCTCCT	AT2G26950.1	2	1	21	827	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTTGGACTGAAGGGAGCTCTA	AT2G26950.1	2	1	21	827	847	Kesim	| myb domain protein 104 | Chr2:11500721-11502136 REVERSE LENGTH=1212 | 201606
TTTGGATTGAAGGGAGCTCCT	AT3G60460.1	2	1	21	182	202	Kesim	| myb-like HTH transcriptional regulator family protein | Chr3:22342321-22343576 REVERSE LENGTH=1087 | 201606

Ek 37 (devamı)

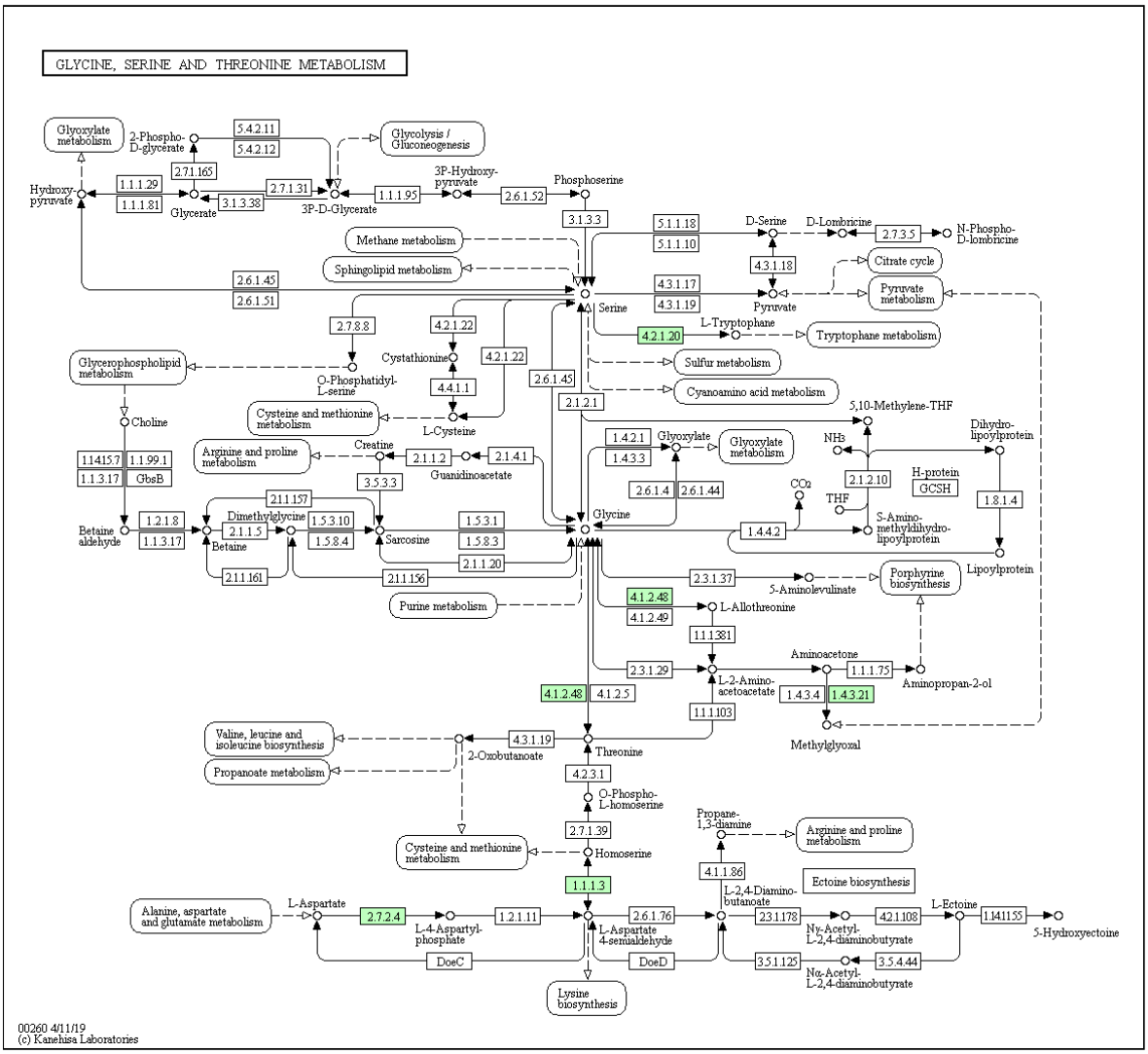
miRNA dizisi (miRBase)	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	AT2G32460.2	2	1	21	972	992	Kesim	| myb domain protein 101 | Chr2:13782208-13784471 REVERSE LENGTH=1760 | 201606
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTC	AT2G32460.2	2	1	21	972	992	Kesim	| myb domain protein 101 | Chr2:13782208-13784471 REVERSE LENGTH=1760 | 201606
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTG	AT2G32460.2	2	1	21	972	992	Kesim	| myb domain protein 101 | Chr2:13782208-13784471 REVERSE LENGTH=1760 | 201606
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTT	AT2G32460.2	2	1	21	972	992	Kesim	| myb domain protein 101 | Chr2:13782208-13784471 REVERSE LENGTH=1760 | 201606
TTTGGGAATCTCTCTGATGCAC	AT3G22050.1	2	1	22	835	856	Kesim	| cysteine-rich repeat secretory protein%2C putative (DUF26) | Chr3:7763968-7765326 FORWARD LENGTH=1123 | 201606
TTTGGTTTGAAGGGAGCTCTA	AT2G32460.2	0,5	1	21	972	992	Kesim	| myb domain protein 101 | Chr2:13782208-13784471 REVERSE LENGTH=1760 | 201606
TTTTCCCAAGACCTCCCATACC	AT1G63350.4	2	1	22	714	735	Translasyon	| Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family | Chr1:23494686-23497810 REVERSE LENGTH=2913 | 201606
TTTTGGAACGGAGTGAGTATT	AT5G65440.9	1,5	1	21	2.853	2.873	Kesim	| transmembrane protein | Chr5:26151422-26156896 FORWARD LENGTH=3497 | 201606

Ek 38: Bilinen miRNA'lar ile eşleşen dizilerin *Arabidopsis thaliana*'da hedefledikleri genlerin KEGG ortoloji analizi sonucunda etkilendiği belirlenen yolaklar ve gen sayıları CD'de Ek 38 olarak verilmiştir

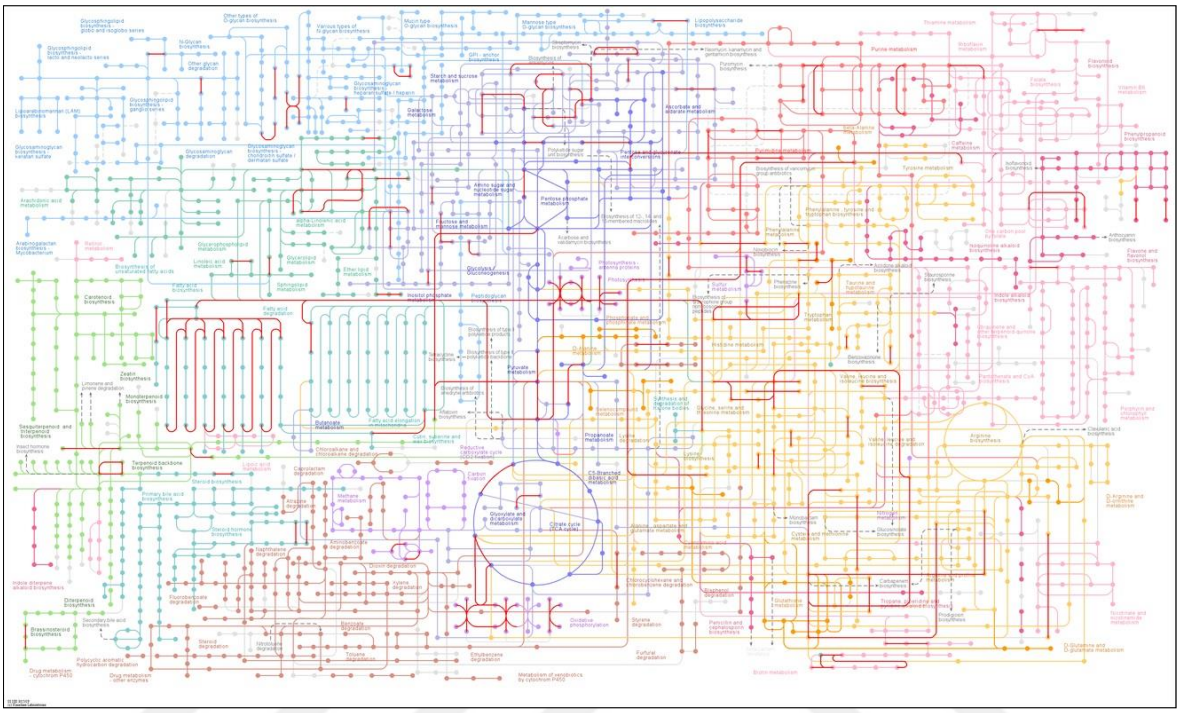
Ek 39: Kuraklık stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "amino şeker ve nükleotid şeker metabolizması" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



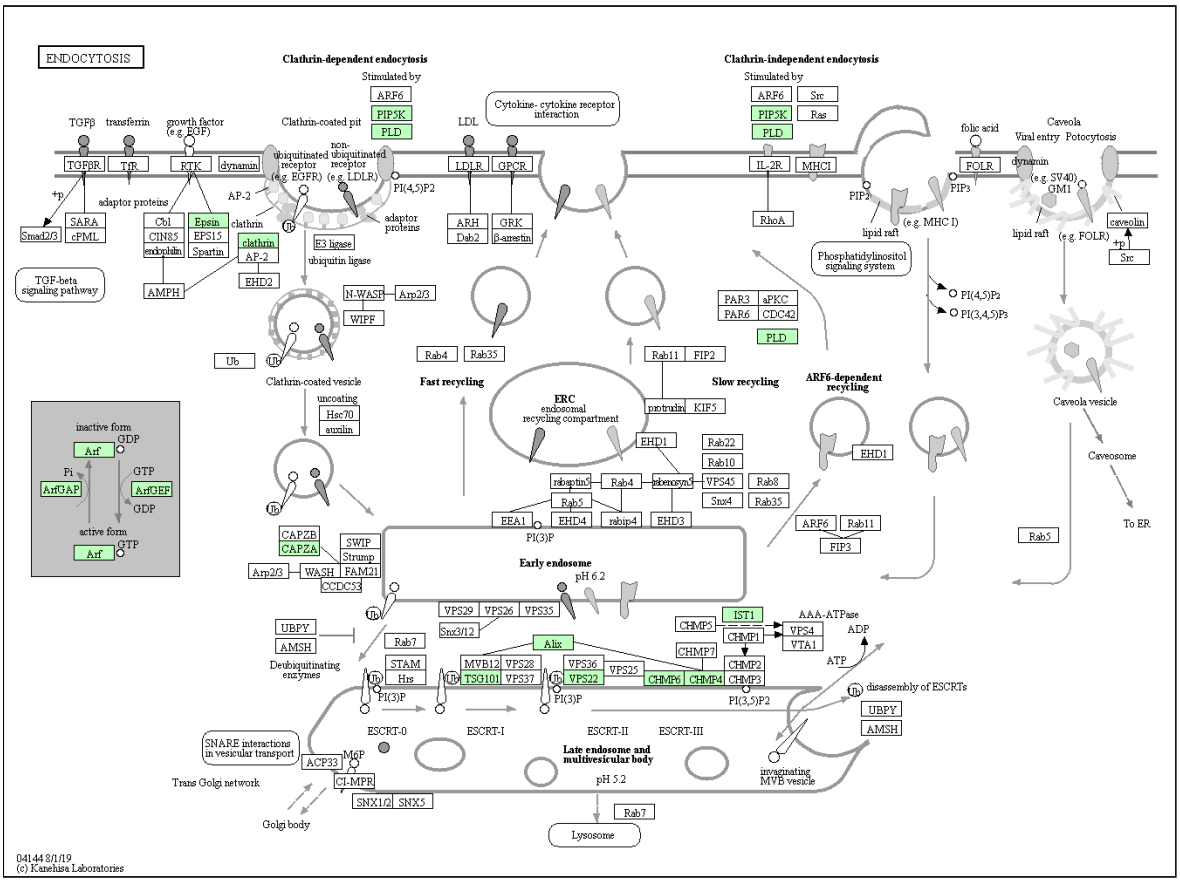
Ek 40: Kuraklık stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "glisin, serin ve threonin metabolizması" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



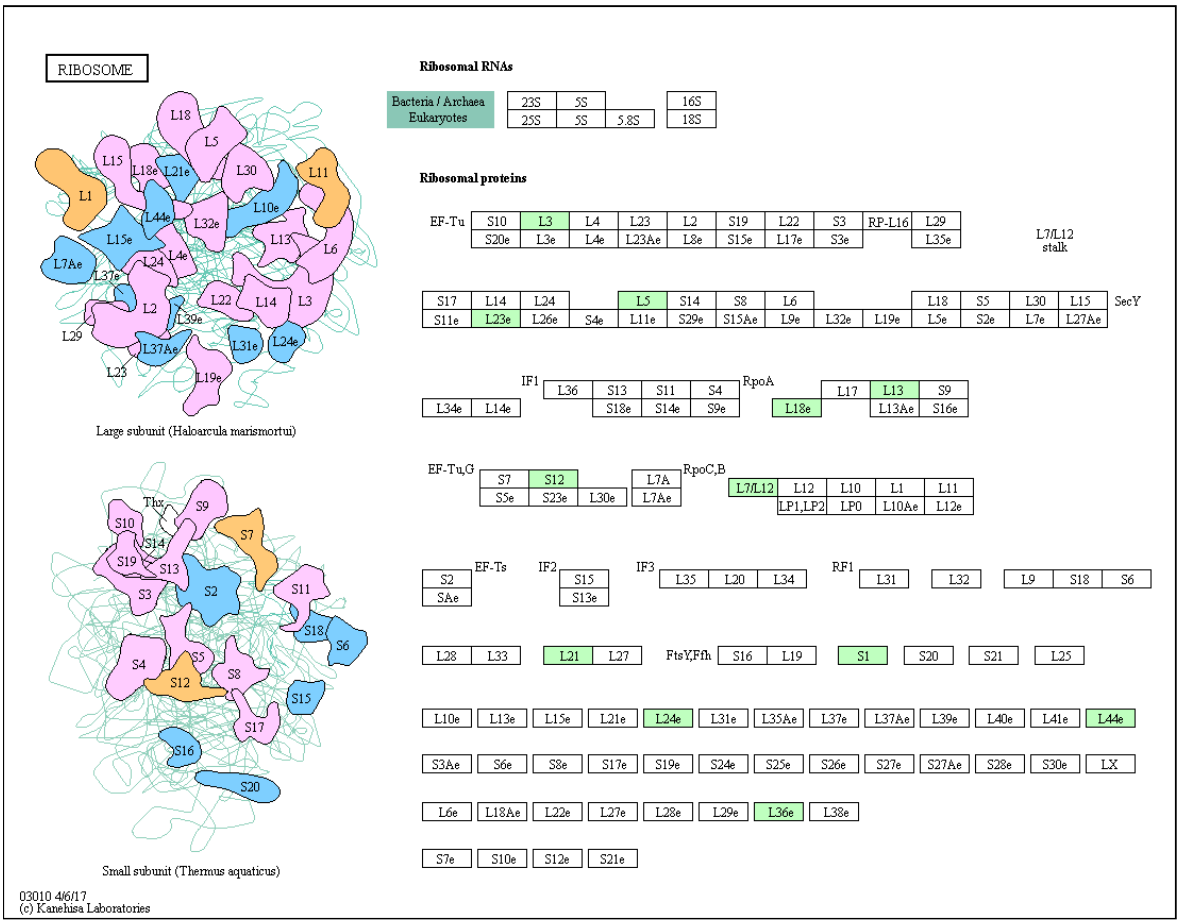
Ek 41: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "tüm metabolik yolaklar" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (kırmızı çizgiler etkilenen yolakları ifade etmektedir)



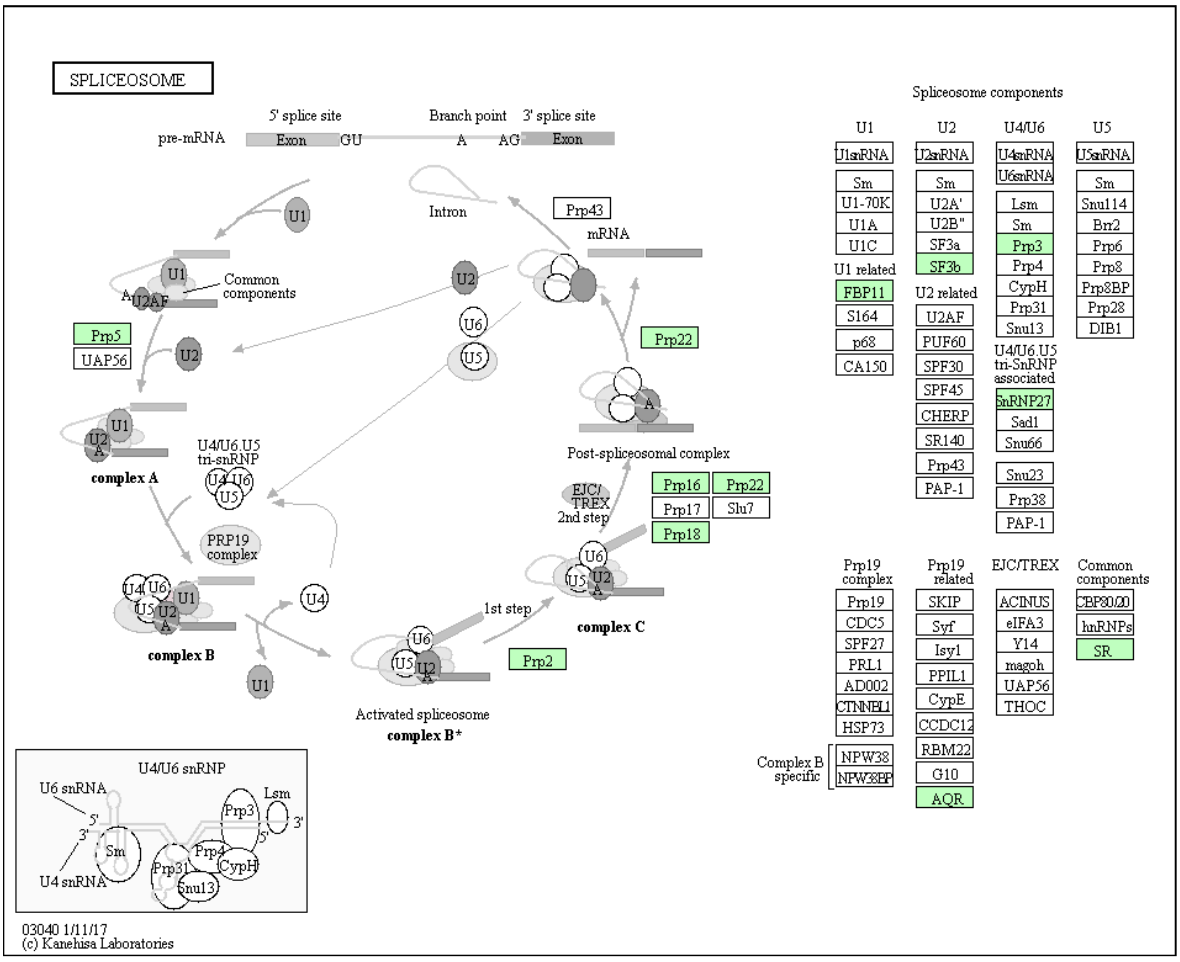
Ek 42: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "endositoz yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



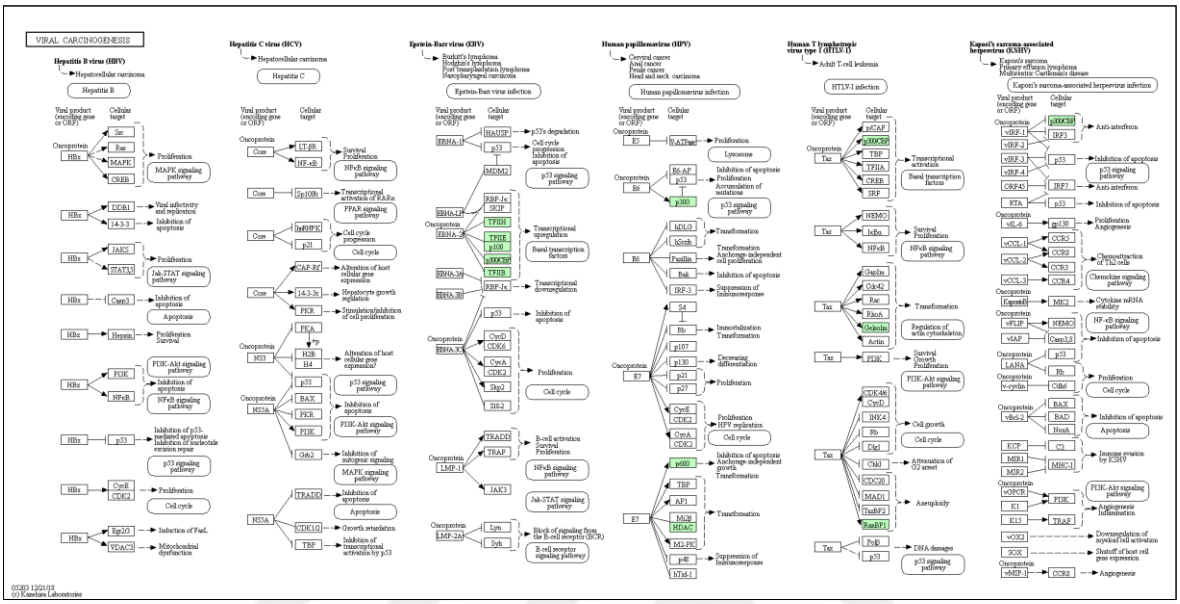
Ek 43: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "ribozom yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



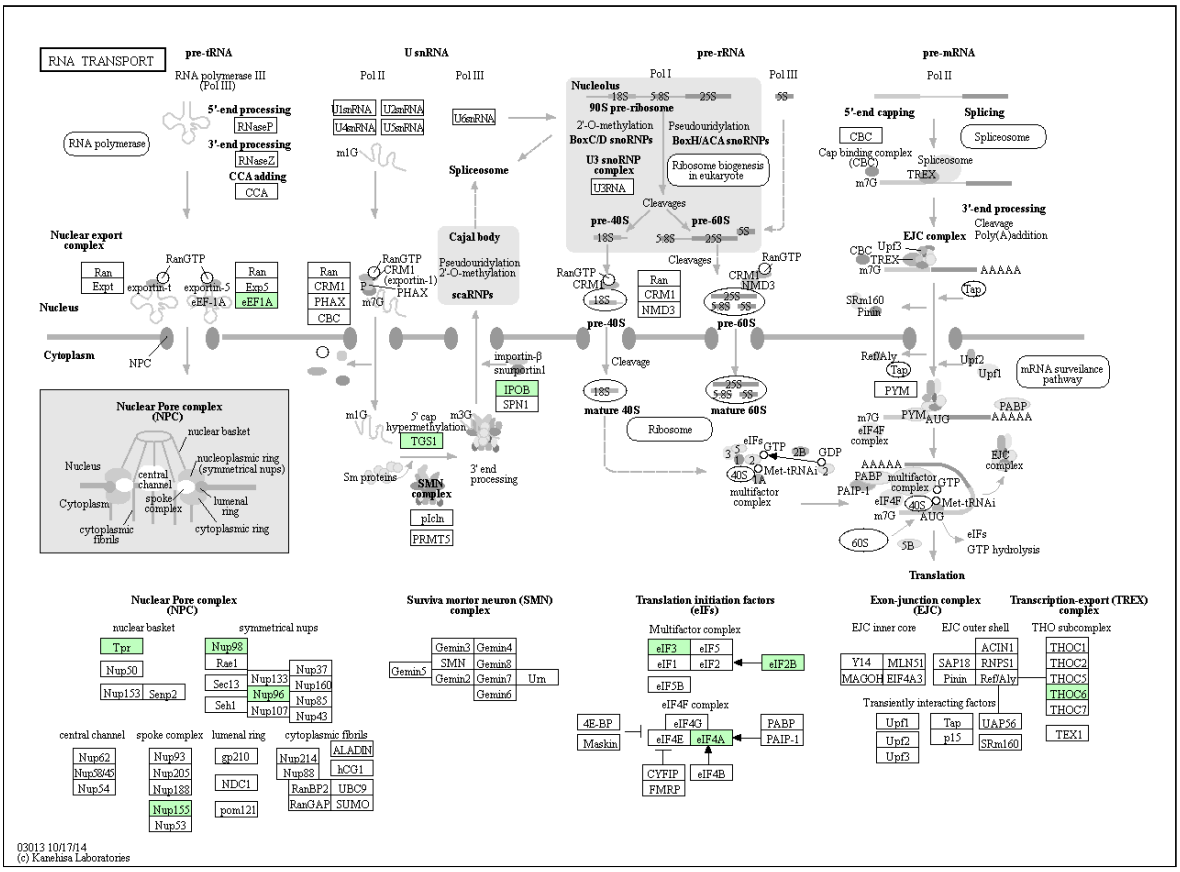
Ek 44: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "splayzozom yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



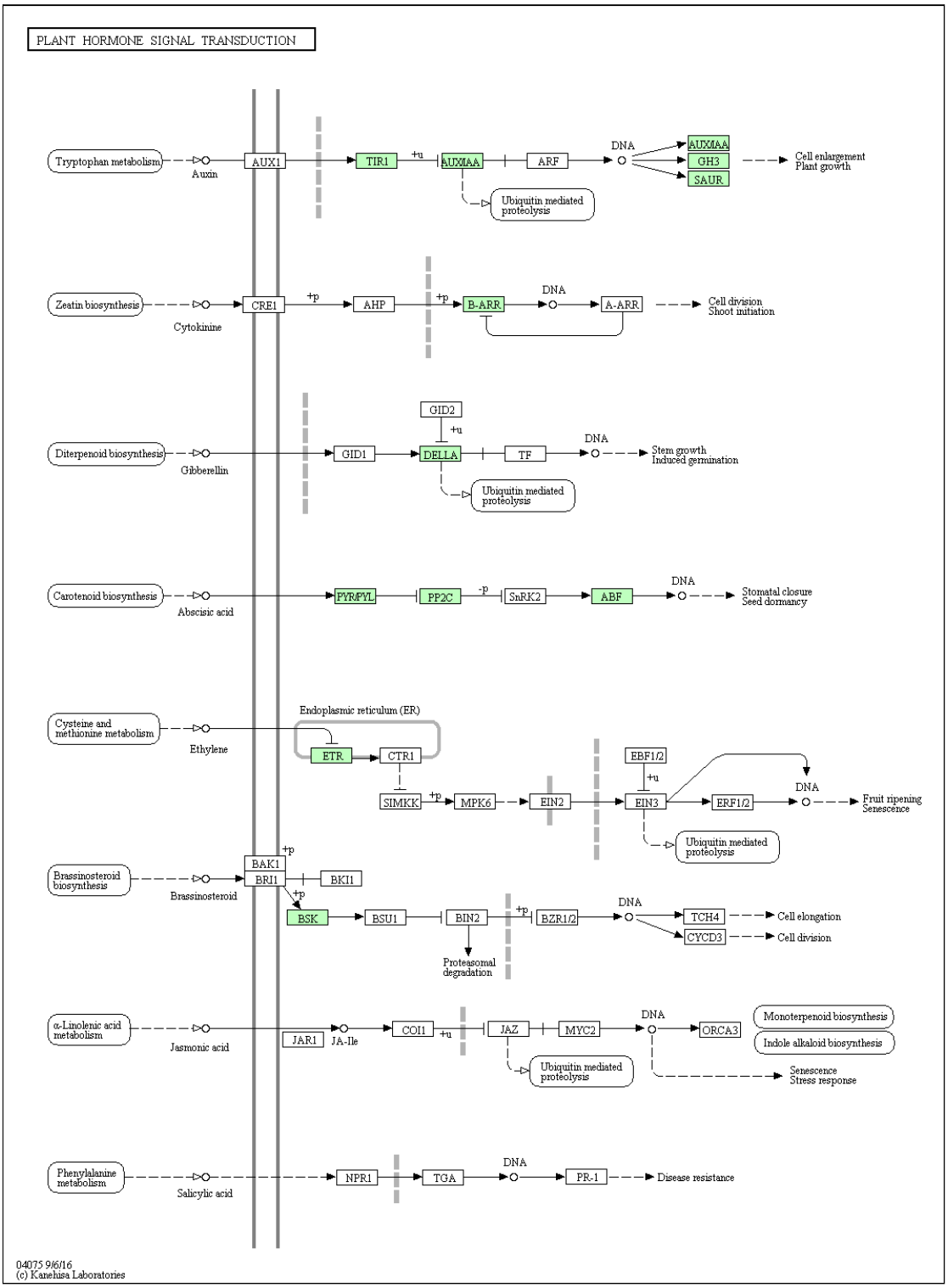
Ek 45: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "viral karsinogenesis" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



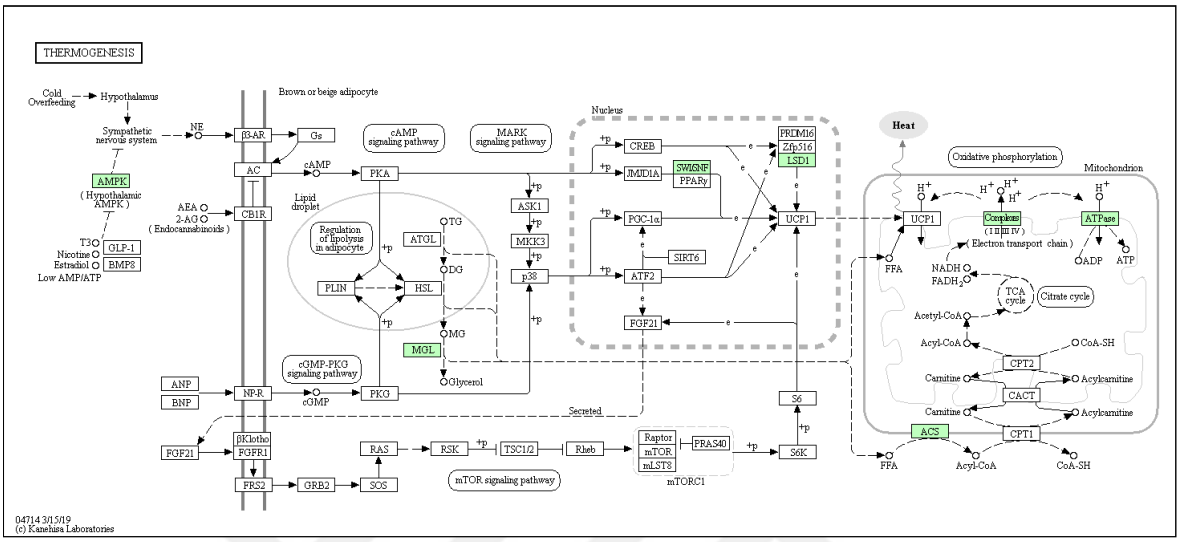
Ek 46: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "RNA taşıma yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



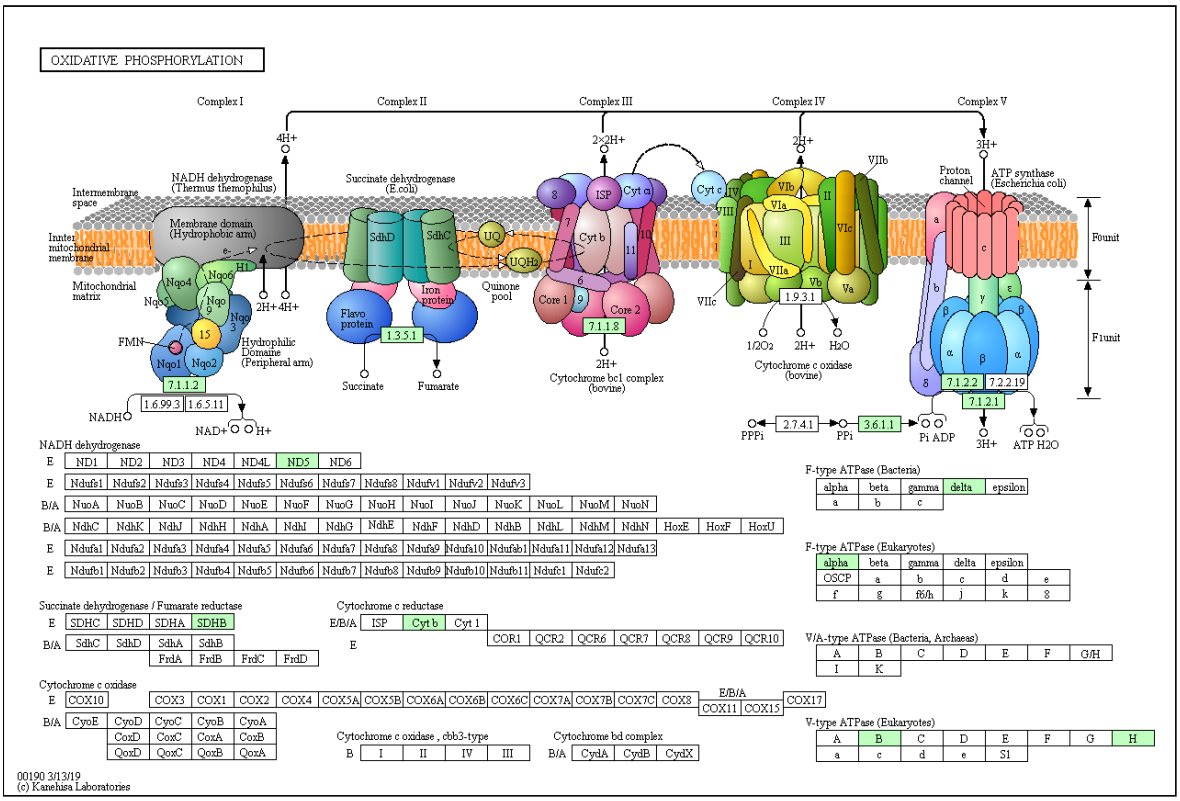
Ek 47: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "bitki hormon sinyal yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



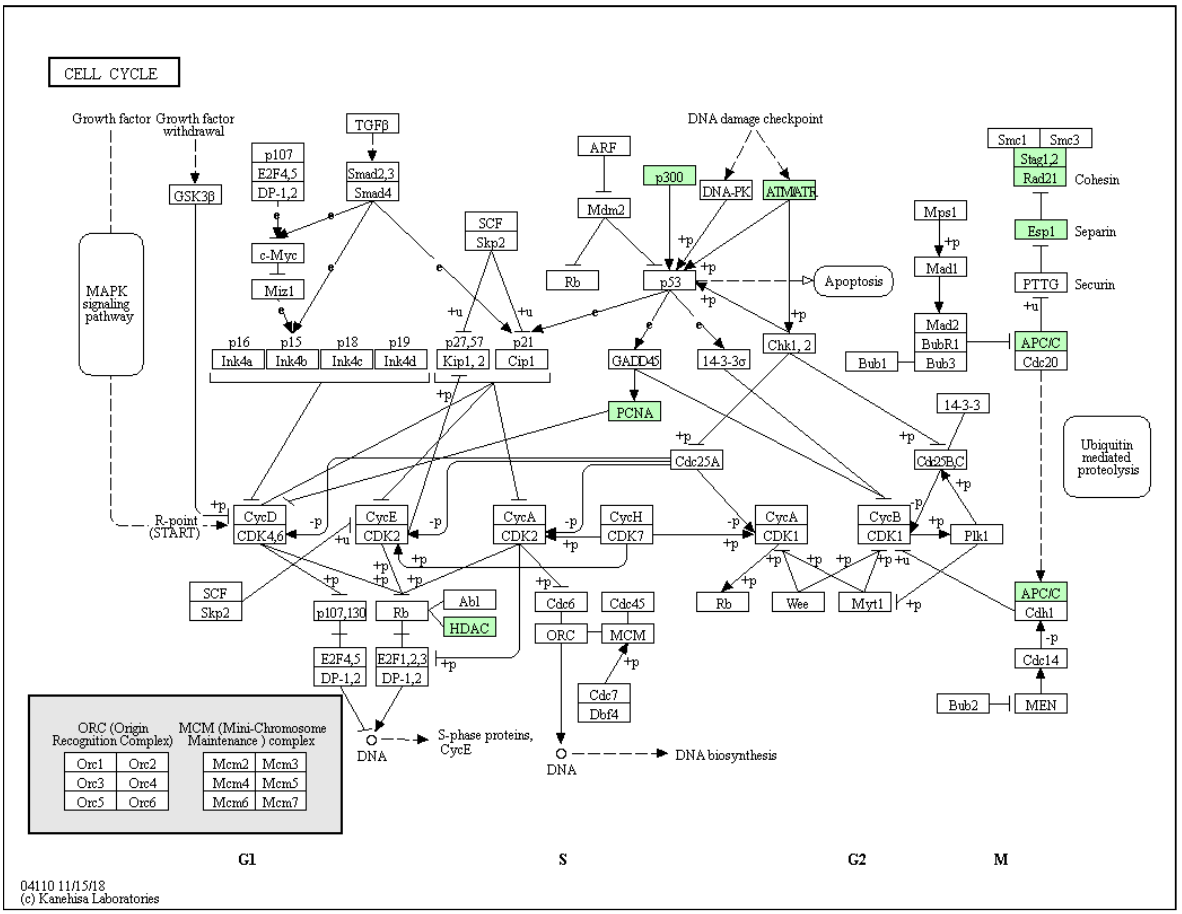
Ek 48: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "termogenesis yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



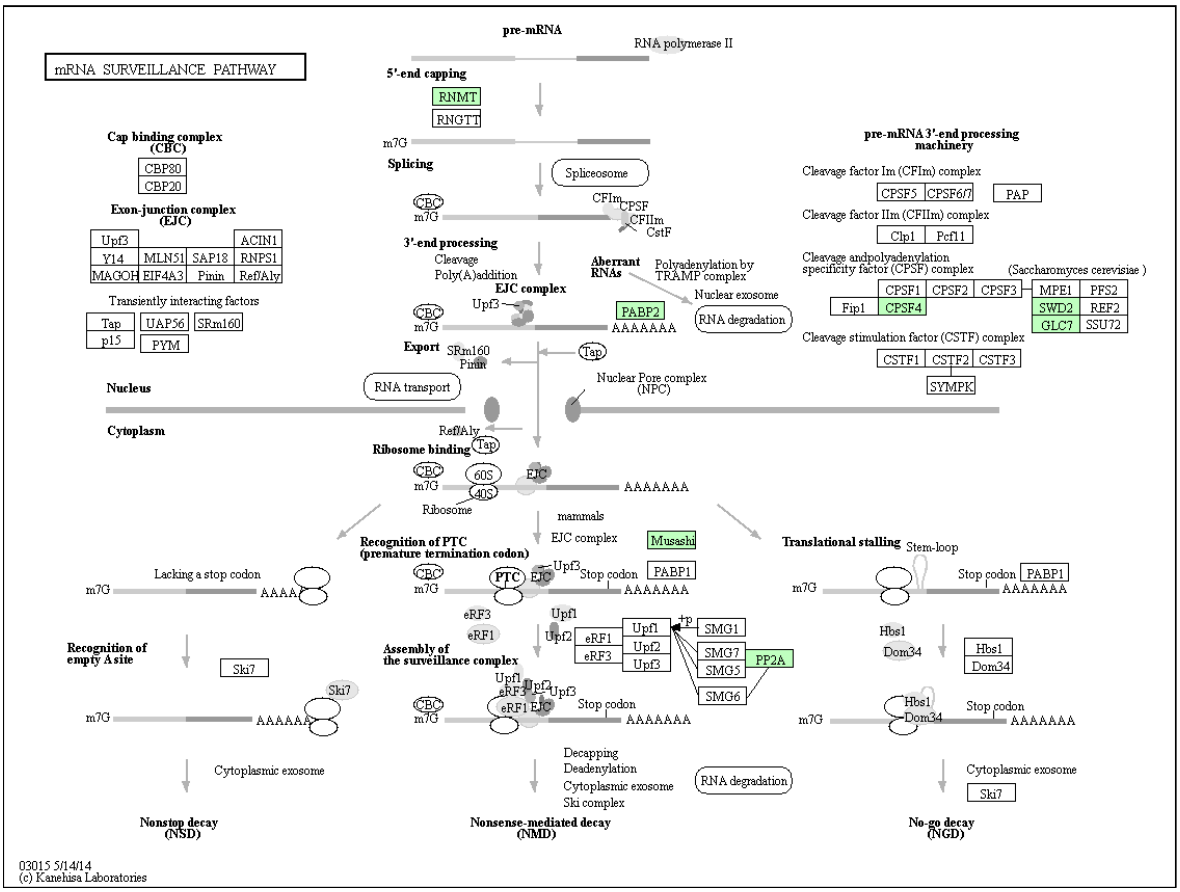
Ek 49: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "oksidatif fosforilasyon" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



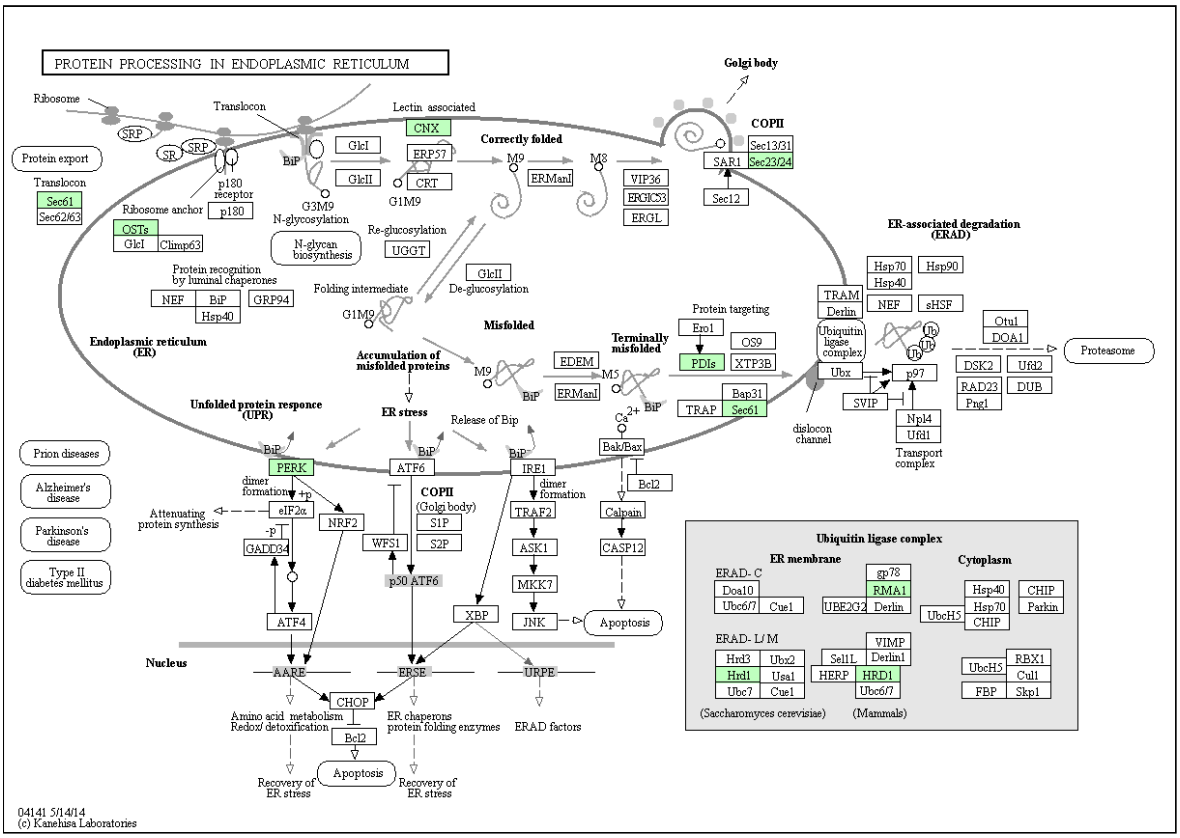
Ek 50: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "hücre döngüsü" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



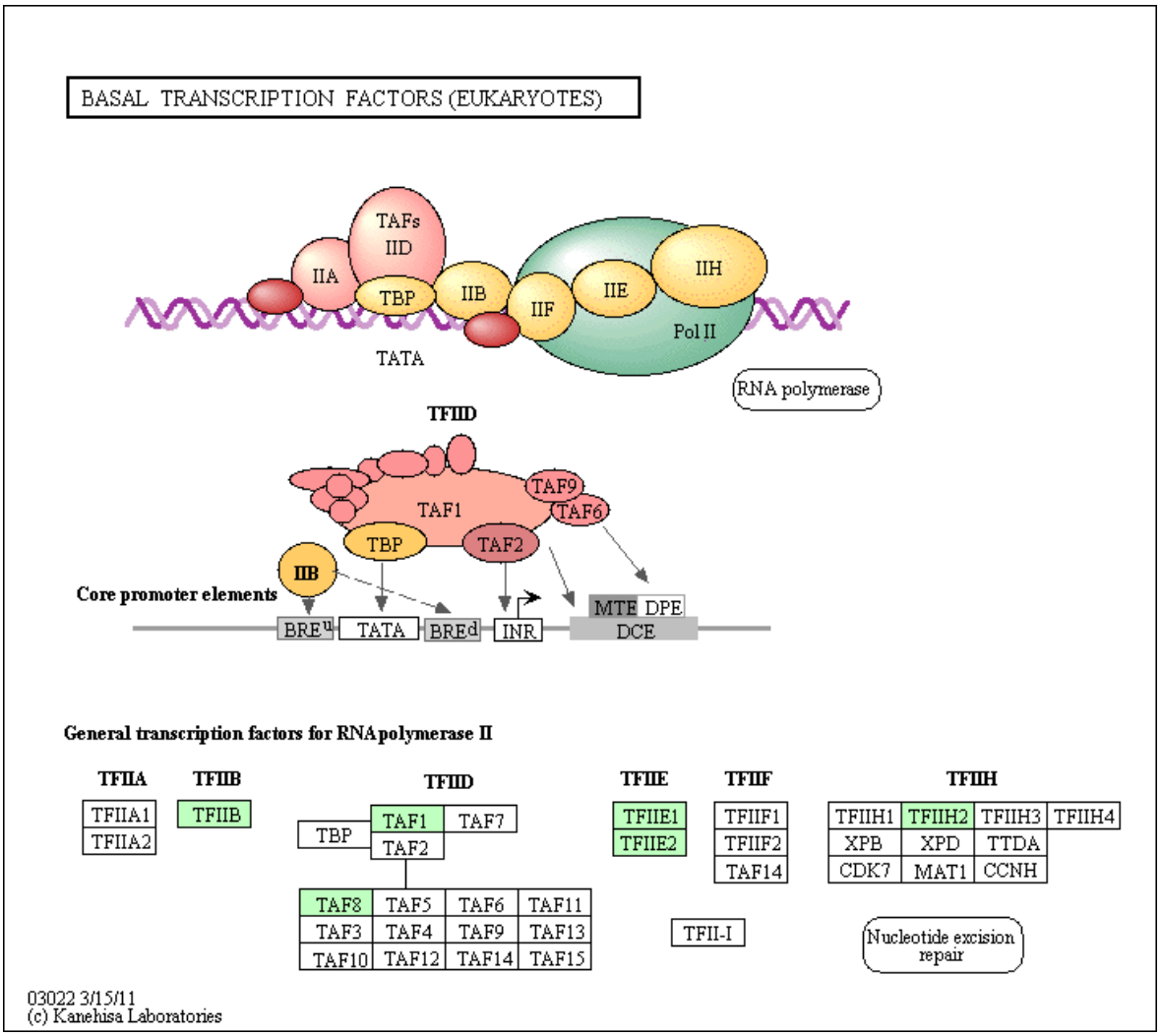
Ek 51: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "mRNA izleme yolağı" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



Ek 52: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "protein işlenmesi" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



Ek 53: Virüs stresi uygulanmış örnekte bilinen miRNA'lar ile eşleşen küçük RNA dizilerinin bazı varyantları tarafından *Arabidopsis thaliana*'da hedeflenen genlerin "transkripsiyon faktörleri" bakımından ortoloji analizi (KEGG), (yeşil işaretliler hedeflenen genleri ifade etmektedir)



Ek 54: Gen ontoloji analizi sonuçları (Analizler CD'de Ek 54 olarak verilmiştir)

Ontoloji		KN-sRNA (%)	VR-sRNA (%)	KR-sRNA (%)
Moleküler Fonksiyon	Translasyon regülatör aktivitesi	0	0,70	0,60
	Translasyon regülatör aktivitesi	7,60	5,20	4,70
	Moleküler dönüştürücü aktivite	0,80	2,10	1,20
	Bağlama	30,30	29,70	30,20
	Yapısal moleküler aktivite	3,40	3,90	4,10
	Moleküler fonksiyon düzenliyici	4,20	3,50	2,90
	Katalitik aktivite	46,20	44,90	47,10
	Taşıyıcı aktivite	7,60	10	9,30
Biyolojik Proses	Üreme	1,50	0,50	1,20
	Uyaranlara yanıt	8,50	6,90	6,40
	Gelişimsel proses	4,60	3,40	5,30
	Hücresel proses	11,50	8,40	7,60
	Metabolik proses	40	39,40	43,30
	Biyolojik düzenleme	16,20	16,30	15,80
	Hücresel içerik organizasyonu ve biogenesis	9,20	12,70	10,50
	Lokalizasyon	8,50	11,90	8,20
	Çoklu organizma prosesi	0	0,30	0,60
	Ritmik proses	0	0,10	0,60
	Çoklu hücresel proses	0	0,10	0,60
Hücresel Kompanent	Supramoleküler kompleks	0,90	1,40	0,70
	Hücre birleşme	1,80	1,90	3,30
	Membran	5,30	6,80	5,30
	Protein içeren kompleks	11,40	13,30	13,20
	Organel	40,40	30	33,60
	Ekstraselüler bölge	0	0,60	0,70
	Hücre	40,40	45,90	43,40

Ek 55: miRNA validasyonunda RT-PCR sonucunda elde edilen ifade seviyelerinin karşılaştırılmasında kullanılan küçük RNA dizilerinin ham ifade değerleri

Küçük RNA dizisi	**miRNA**	**KN-sRNA (count)**	**VR-sRNA (count)**	**KR-sRNA (count)**
AAACAGAATACACGTCGCGACCCG	Potansiyel miRNA adayı 1	68	1*	63
ATATACTTCCTCCGTTCCAAAATA	miR5161	19	391	35
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAA	miR168	121	5034	356
TTTGGATTGAAGGGAGCTCTA	miR159	3174	251289	6256
TTCACGTCGGGTTCACCA	miR894	1164	14864	7630

* VR-sRNA da ifadesi "0" olduğundan hesaplama yapılabilmesi için "1" olarak değerlendirilmiştir.

Ek 56: miRNA validasyonu için gerçekleştirilen RT-PCR verileri (Örneklere ait Ct değerleri ortalamaları)

miRNA	Ct değerleri ortalamaları			2^-ddCT	
	KN-RNA (cDNA)	VR-RNA (cDNA)	KR-RNA (cDNA)	VR-RNA/KN-RNA	KR-RNA/KN-RNA
U6 (housekeeping)	25,86	25,13	25,32	1	1
Potansiyel miRNA	31,33	34,40	29,91	-13,93	1,84
miR5161	29,72	26,61	28,11	5,23	2,10
miR168	28,83	25,42	26,69	6,42	3,02
miR159	28,96	22,21	25,85	65,04	5,91
miR894	22,18	18,96	19,85	5,60	3,45

Ek 57: miRNA ve hedef gen validasyonu için gerçekleştirilen korelasyon analizleri CD'de Ek 57 olarak verilmiştir

Ek 58: Hedef gen validasyonunda RT-PCR sonucunda elde edilen ifade seviyelerinin karşılaştırılmasında kullanılan küçük RNA dizilerinin ham ifade değerleri

Küçük RNA dizisi	miRNA	KN-sRNA (count)	VR-sRNA (count)	KR-sRNA (count)
AAGGAGATGAGAGAGATAGAGAGA	Potansiyel miRNA adayı 2	1	43	1
TCGCTTGGTGCAGGTCGGGAA	MIR168	121	5034	356

* KN-sRNA ve KR-sRNA'da ifadesi "0" olduğundan hesaplama yapılabilmesi için "1" olarak değerlendirilmiştir.

Ek 59: Hedef gen validasyonu için gerçekleştirilen RT-PCR verileri (Örneklere ait Ct değerleri ortalamaları)

miRNA	Ct değerleri ortalamaları			2^-ddCT	
	KN-RNA (cDNA)	VR-RNA (cDNA)	KR-RNA (cDNA)	VR-RNA/ KN-RNA	KR-RNA/ KN-RNA
Histon H3.3 (housekeeping)	30,98	31,65	32,57	1	1
Potansiyel miRNA	29,24	31,81	30,86	-3,76	-1,03
miR168	26,53	28,68	30,05	-2,80	-3,82

Ek 60: Kontrol örneği ile virüs stresi uygulanmış örnekte olgun miRNA ifade farklılık değerlerinin miRNA varyantları ve hedef genlerine göre değerlendirilmesi

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR1118	25	297	1,99	4,46	2,24	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR1118 (2,24)
miR1127		96	0	1,44	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1128		33	0	0,50	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	miR1128
miR1128		102	0	1,53	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	
miR1130b		11	0	0,17	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1133		35	0	0,53	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1320		32	0	0,48	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1436	16	365	1,28	5,48	4,29	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR1436 (4,29)
miR1439		16	0	0,24	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1511		6	0	0,09	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1515a//miR1515b	126	788	10,05	11,83	1,18	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok)	
miR1520f		8	0	0,12	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1520n		98	0	1,47	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR156b	18	129	1,44	1,94	1,35	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok, hedef gen farklı)	miR156/157 (4,54)
miR156c		48	0	0,72	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR156d		83	0	1,25	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR156e	29	265	2,31	3,98	1,72	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR156f	6	5	0,48	0,08	-6,37	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR156k//miR156n//miR156o	29	863	2,31	12,96	5,60	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR156q//miR156s		58	0	0,87	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR156/157 (4,54)
miR157c//miR156a//miR156c		50	0	0,75	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR157d		31	0	0,47	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159		57	0	0,86	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR159 (14,12)
miR159		77	0	1,16	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159a		10	0	0,15	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159a		36	0	0,54	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159a	100	3.509	7,98	52,69	6,61	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR159a//miR159b//miR159	3.433	263.770	273,83	3960,67	14,46	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159b	49	1.993	3,91	29,93	7,66	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159b	106	13.612	8,46	204,39	24,17	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159b	640	40.175	51,05	603,25	11,82	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159c		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159c	119	1.817	9,49	27,28	2,87	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159c	47	7.524	3,75	112,98	30,14	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR159c//miR159d		6	0	0,09	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	
miR159f		143	0	2,15	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR160a		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR160 (6,35)
miR160a		143	0	2,15	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR160c	5	26	0,40	0,39	-1,02	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR162		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR162 (2,85)
miR162a	33	399	2,63	5,99	2,28	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR162a//miR162	358	5.521	28,56	82,90	2,90	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR162a//miR162b		8	0	0,12	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR162a//miR162b	5	58	0,40	0,87	2,18	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR164		9	0	0,14	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR164 (22,74)
miR164b//miR164c	32	3.866	2,55	58,05	22,74	Varyantı/varyantları değerlendirme dışındadır	
miR165a//miR165b		186	0	2,79	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR165/166 (7,97)
miR165a//miR165b	20	1.803	1,60	27,07	16,97	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166	31	1.990	2,47	29,88	12,08	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166	410	5.552	32,70	83,37	2,55	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166a//miR166c//miR166d	25	197	1,99	2,96	1,48	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok hedef gen farklı)	
miR166a//miR166h//miR166i//miR166d//miR166e//miR166b	401	11.340	31,99	170,28	5,32	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166b		20	0	0,30	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	
miR166b		94	0	1,41	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR166b	5	278	0,40	4,17	10,47	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR166b	37	493	2,95	7,40	2,51	Değerlendirme dışı (hedef gen yok)	
miR166b//miR166c	5.424	245.683	432,65	3689,08	8,53	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166c	79	729	6,30	10,95	1,74	Değerlendirme dışı (hedef gen yok)	
miR166c//miR166a//miR166d//miR166e//miR166b	404	21.256	32,23	319,17	9,90	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166d	17	1740	1,36	26,13	19,27	Değerlendirme dışı (hedef gen yok)	
miR166e	26	716	2,07	10,75	5,18	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166e	130	846	10,37	12,70	1,23	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok, hedef gen farklı)	
miR166e	17	2.115	1,36	31,76	23,42	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR166f	35	2.163	2,79	32,48	11,63	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166g		9	0	0,14	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR165/166 (7,97)
miR166g		41	0	0,62	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef yok)	
miR166i		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR166i	12	1.385	0,96	20,80	21,73	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166i	30	2.083	2,39	31,28	13,07	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166j	32	1.618	2,55	24,30	9,52	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166j//miR166k//miR166l		171	0	2,57	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR166m	26	1.448	2,07	21,74	10,48	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166q//miR166f//miR166j//miR166c	233	3.065	18,59	46,02	2,48	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR167		29	0	0,44	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR167 (11,6)
miR167	204	10.037	16,27	150,71	9,26	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR167a	19	3.252	1,52	48,83	32,22	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR167a//miR167b//miR167c//miR167e		226	0	3,39	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR167b		12	0	0,18	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR167b//miR167d		74	0	1,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR167d		124	0	1,86	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR167f		22	0	0,33	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR168		20	0	0,30	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR168 (5,04)
miR168	10	138	0,80	2,07	2,60	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR168	82	517	6,54	7,76	1,19	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR168a	6	127	0,48	1,91	3,98	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR168b		36	0	0,54	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR168b	12	79	0,96	1,19	1,24	Değerlendirme dışı (İfade düşük, ifade farkı yok, hedef gen farklı)	
miR168b//miR168	130	5.249	10,37	78,82	7,60	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR169		11	0	0,17	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR169a		105	0	1,58	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR169h		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR169i		28	0	0,42	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR169j//miR169k//miR169l		224	0	3,36	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR171c	26	614	2,07	9,22	4,45	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR171 (6,62)
miR171g//miR171k		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR171k//miR171j		291	0	4,37	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR171o		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR172a//miR172f		82	0	1,23	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR172c		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR172c//miR172d//miR172f		17	0	0,26	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1863		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1873		12	0	0,18	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR2916	1.577	6.528	125,79	98,02	-1,28	Değerlendirme dışı (İfade farkı yok)	
miR319		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR319 (72,2)
miR319		8.151	0	122,39	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319a//miR319b		20	0	0,30	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319a//miR319c//miR319b//miR319g//miR319k	154	62.585	12,28	939,75	76,50	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319b		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR319b		19	0	0,29	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR319b//miR319d//miR319e	8	346	0,64	5,20	8,14	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR319c		14	0	0,21	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR319 (72,2)
miR319c		22	0	0,33	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319c//miR319d		92	0	1,38	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319c//miR319d	6	105	0,48	1,58	3,29	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR319c//miR319f//miR319a//miR319//miR319b	34	3.747	2,71	56,26	20,75	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319e		12	0	0,18	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR319g//miR319l		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR319h		45	0	0,68	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319i		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR3627	63	632	5,03	9,49	1,89	Varyantı/varyantları değerlendirme dışındadır	miR3627 (1,89)
miR3627a//miR3627b//miR3627c		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR3630	5	100	0,40	1,50	3,76	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR3711	86	2.793	6,86	41,94	6,11	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR3711 (6,11)
miR390		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR390 (8,65)
miR390a//miR390b//miR390	24	1.103	1,91	16,56	8,65	Varyantı/varyantları değerlendirme dışındadır	
miR390b		8	0	0,12	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR393		59	0	0,89	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR393 (4,9)
miR393a		14	0	0,21	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR393a//miR393b	12	841	0,96	12,63	13,19	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR393 (4,9)
miR393a//miR393b//miR393	77	1.200	6,14	18,02	2,93	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR393b		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR393b//miR393a//miR393//miR393c//miR393d	79	2.249	6,30	33,77	5,36	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR393c		11	0	0,17	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR394a//miR394b//miR394	10	1.584	0,80	23,78	29,82	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR 394 (29,8)
miR3954b		13	0	0,20	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR395a		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR395b		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR395d		11	0	0,17	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR395d//miR395e//miR395f//miR395g		14	0	0,21	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR396	636	61.225	50,73	919,33	18,12	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR396 (19,13)
miR396a		97	0	1,46	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR396a		111	0	1,67	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR396a		119	0	1,79	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR396a		218	0	3,27	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR396a	12	317	0,96	4,76	4,97	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR396b	8	199	0,64	2,99	4,68	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	miR396 (19,13)
miR396b//miR396a//miR396//miR396c//miR396e	372	40.652	29,67	610,41	20,57	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR396b//miR396c//miR396i//miR396j//miR396k//miR396l//miR396m//miR396n//miR396o//miR396p//miR396q//miR396r//miR396s//miR396t		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR396c		71	0	1,07	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR396e		12	0	0,18	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR396e		38	0	0,57	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR396e		318	0	4,77	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR396g		31	0	0,47	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR396h		3.098	0	46,52	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	
miR397a//miR397b		63	0	0,95	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	miR397
miR397a//miR397b		137	0	2,06	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	
miR397b		6	0	0,09	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	
miR398		11	0	0,17	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR398 (19,54)
miR398	6	49	0,48	0,74	1,54	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	
miR398a		10	0	0,15	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR398b	91	9.444	7,26	141,81	19,54	Varyantı/varyantları değerlendirme dışındadır	miR398 (19,54)
miR398f//miR398g		97	0	1,46	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	
miR399a		49	0	0,74	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	miR399
miR399b		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR399e		466	0	7,00	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	
miR399f		25	0	0,38	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR403a//miR403b	323	13.764	25,76	206,67	8,02	Varyantı/varyantları değerlendirme dışındadır	miR403 (8,02)
miR403b		16	0	0,24	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR408		11	0	0,17	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	miR408 (5,42)
miR408	25	966	1,99	14,51	7,27	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR408b//miR408	62	1.475	4,95	22,15	4,48	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR408d		62	0	0,93	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR482c		6	0	0,09	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR482c	33	200	2,63	3,00	1,14	Değerlendirme dışı (İfade farkı yok)	
miR482e		10	0	0,15	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR4995		17	0	0,26	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5049		115	0	1,73	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	miR5049
miR5054	14	269	1,12	4,04	3,62	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR5054 (3,62)
miR5077		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5083		238	0	3,57	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	İfade farkı ölçülememiştir	miR5083

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR5139	93	1.320	7,42	19,82	2,67	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR5139 (2,67)
miR5161		22	0	0,33	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5171a		6	0	0,09	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5174d		8	0	0,12	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5174e		12	0	0,18	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5181	9	395	0,72	5,93	8,26	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR5181 (8,26)
miR5181d		28	0	0,42	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR5205b		63	0	0,95	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5205c//miR5205d		20	0	0,30	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR535b//miR535c//miR535d//miR535e//miR535f		50	0	0,75	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	miR535 (13,12)
miR535c		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR535d		20	0	0,30	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR535d	385	26.804	30,71	402,48	13,11	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR5368	6	18	0,48	0,27	-1,77	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR6118		19	0	0,29	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR6173		18	0	0,27	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR6300	9	1.512	0,72	22,70	31,63	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	mir6300 (31,63)
miR6478	210	2.757	16,75	41,40	2,47	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR6478 (2,47)
miR7122b		7	0	0,11	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR7767		13	0	0,20	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	

Ek 60 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	VR-sRNA	KN-sRNA	VR-sRNA			
miR7972	423	27.699	33,74	415,92	12,33	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR7972 (12,33)
miR8155		17	0	0,26	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR8175	465	5.595	37,09	84,01	2,27	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR8175 (2,27)
miR827		17	0	0,26	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR827 (2,64)
miR827	5	85	0,40	1,28	3,20	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR827	40	529	3,19	7,94	2,49	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR845a		12	0	0,18	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR8689		5	0	0,08	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR894	198	4.259	15,79	63,95	4,05	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR894 (4,05)

Ek 61: Kontrol örneği ile virüs stresi uygulanmış örnekte olgun miRNA ifade farklılık değerlerinin miRNA varyantları ve hedef genlerine göre değerlendirilmesi

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA			
miR1118	25	8	1,99	0,39	-5,09	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1127		7	0	0,34	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1128		15	0	0,73	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1133		5	0	0,24	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1436	16	45	1,28	2,20	1,73	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR1515a//miR1515b	126	13	10,05	0,64	-15,78	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR1515 (-15,78)
miR1520n		7	0	0,34	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR156d		7	0	0,34	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR156e	29	25	2,31	1,22	-1,89	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR156k//miR156n//miR156o	29	36	2,31	1,76	-1,31	Değerlendirme dışı (İfade düşük, ifade farkı yok)	
miR156q//miR156s		6	0	0,29	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR159a	100	48	7,98	2,35	-3,39	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR159a//miR159b//miR159	3.433	6.462	273,83	316,61	1,16	Değerlendirme dışı (aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirildiğinde ifade farkı yok)	
miR159b	49	17	3,91	0,83	-4,69	Değerlendirme dışı (İfade düşük, aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirildiğinde ifade farkı yok)	
miR159b	106	201	8,46	9,85	1,16	Değerlendirme dışı (aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirildiğinde ifade farkı yok)	
miR159b	640	3.143	51,05	153,99	3,02	Değerlendirme dışı (aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirildiğinde ifade farkı yok)	

Ek 61 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA			
miR159c	119	19	9,49	0,93	-10,20	Değerlendirme dışı (İfade düşük, aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirildiğinde ifade farkı yok)	
miR159c	47	49	3,75	2,40	-1,56	Değerlendirme dışı (İfade düşük, aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirildiğinde ifade farkı yok)	
miR162	358	75	28,56	3,67	-7,77	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR162 (-7,96)
miR162a	33	5	2,63	0,24	-10,75	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR162a//miR162b	5	19	0,40	0,93	2,33	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR164b//miR164c	32	36	2,55	1,76	-1,45	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok)	
miR165a//miR165b	20	21	1,60	1,03	-1,55	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR165/166 (-3,07)
miR166	31	14	2,47	0,69	-3,60	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166	410	194	32,70	9,51	-3,44	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166a//miR166c//miR166d	25	5	1,99	0,24	-8,14	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR166a//miR166d	404	71	32,23	3,48	-9,26	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166a//miR166e//miR166b//miR166d	401	176	31,99	8,62	-3,71	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166b	5	24	0,40	1,18	2,95	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166c	5.424	3.146	432,65	154,14	-2,81	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166d	17	13	1,36	0,64	-2,13	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	
miR166e	26	10	2,07	0,49	-4,23	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166e	130	351	10,37	17,20	1,66	Değerlendirme dışı (hedef gen farklı)	

Ek 61 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA			
miR166e	17	23	1,36	1,13	-1,20	Değerlendirme dışı (İfade düşük, ifade farkı yok, hedef gen farklı)	miR165/166 (-3,07)
miR166f	35	13	2,79	0,64	-4,38	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166i	12	9	0,96	0,44	-2,17	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166i	30	12	2,39	0,59	-4,07	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166j	32	25	2,55	1,22	-2,08	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166j	233	23	18,59	1,13	-16,49	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR166m	26	23	2,07	1,13	-1,84	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR167	204	233	16,27	11,42	-1,43	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok)	
miR168	10	8	0,80	0,39	-2,04	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR168 (1,94)
miR168	82	230	6,54	11,27	1,72	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR168a	6	10	0,48	0,49	1,02	Değerlendirme dışı (İfade düşük, ifade farkı yok, hedef gen farklı)	
miR168b		33	0	1,62	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR168b	12	20	0,96	0,98	1,02	Değerlendirme dışı (İfade düşük, ifade farkı yok, hedef gen farklı)	
miR168b//miR168	130	432	10,37	21,17	2,04	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR171c	26	24	2,07	1,18	-1,76	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR171k		11	0	0,54	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR2916	1.577	11.871	125,79	581,62	4,62	Değerlendirme dışı (*)	Değerlendirme dışı (*)

,Ek 61 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA			
miR319		8	0	0,39	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR319 (-1,88)
miR319a//miR319c	154	115	12,28	5,63	-2,18	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR319b//miR319d//miR319e	8	17	0,64	0,83	1,31	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR3627	63	52	5,03	2,55	-1,97	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR3627 (-1,97)
miR3711	86	3.238	6,86	158,65	23,13	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR3711 (23,13)
miR390	24	14	1,91	0,69	-2,79	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR393	77	15	6,14	0,73	-8,36	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR393 (-8,18)
miR393	79	16	6,30	0,78	-8,04	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR396	636	192	50,73	9,41	-5,39	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR396 (-5,72)
miR396a		6	0	0,29	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR396a	12	5	0,96	0,24	-3,91	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen farklı)	
miR396b	8	15	0,64	0,73	1,15	Değerlendirme dışı (İfade düşük, ifade farkı yok, hedef gen farklı)	
miR396c	372	95	29,67	4,65	-6,38	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR398	6	84	0,48	4,12	8,60	Hedef genleri belirlenemediği için varyantları ayrı değerlendirilmiştir	miR398 (8,6)
miR398b	91	352	7,26	17,25	2,38	Hedef genleri belirlenemediği için varyantları ayrı değerlendirilmiştir	miR398b (2,38)
miR398f//miR398g		8	0	0,39	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük, hedef gen yok)	
miR403a//miR403b	323	47	25,76	2,30	-11,19	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR403 (-11,19)

Ek 61 (devamı)

miRNA	Orjinal (ham) ifade değeri		Normalize edilmiş ifade değeri		Kat değişimi	Varyantların ifade değişimlerinin ortak hedeflere göre değerlendirmesi	Varyantların ifade değişimleri ve ortak hedeflere göre değerlendirmesi sonucu ifade değişimleri
	KN-sRNA	KR-sRNA	KN-sRNA	KR-sRNA			
miR408	25	106	1,99	5,19	2,60	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	miR408 (2,37)
miR408	62	230	4,95	11,27	2,28	Aynı hedefe sahip varyantları ile birlikte değerlendirilmiştir	
miR482c	33	51	2,63	2,50	-1,05	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok)	
miR4995		47	0	2,30	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5054	14	134	1,12	6,57	5,88	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR5054 (5,88)
miR5077		16	0	0,78	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR5139	93	354	7,42	17,34	2,34	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR5139 (2,34)
miR535d	385	190	30,71	9,31	-3,30	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR535 (-3,3)
miR5368	6	10	0,48	0,49	1,02	Değerlendirme dışı (ifade düşük, ifade farkı yok)	
miR5658		5	0	0,24	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR6173		12	0	0,59	Kontrol örneğinde ifadesi yoktur	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR6300	9	8	0,72	0,39	-1,83	Değerlendirme dışı (İfade düşük)	
miR6478	210	342	16,75	16,76	1,00	Değerlendirme dışı (ifade farkı yok)	
miR7972	423	49	33,74	2,40	-14,05	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR7372 (-14,05)
miR8175	465	1.862	37,09	91,23	2,46	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR8175 (2,46)
miR894	198	6.256	15,79	306,51	19,41	Varyantı yoktur, doğrudan değerlendirilmiştir	miR894 (19,41)

Ek 62: miR390 ve hedef geni TAS3'e ait hedef analizi

miRNA dizisi	Hedef gen ID	Beklenti değeri	miRNA başlangıç	miRNA bitiş	Hedef gen başlangıç	Hedef gen bitiş	İnhibisyon şekli	Hedef gen tanımı
AAGCTCAGGAGGGATAGCGCC	NR_143941.1	1	1	21	853	873	Kesim	Arabidopsis thaliana TAS3/TASIR-ARF (TRANS-ACTING SIRNA3); other RNA (TAS3), ncRNA
AAGCTCAGGAGGGATAGCGCC	NR_143941.1	2,5	1	21	609	629	Translasyon	Arabidopsis thaliana TAS3/TASIR-ARF (TRANS-ACTING SIRNA3); other RNA (TAS3), ncRNA
AAGCTCAGGAGGGATAGCGCC	NR_143941.1	4,5	1	21	685	705	Kesin	Arabidopsis thaliana TAS3/TASIR-ARF (TRANS-ACTING SIRNA3); other RNA (TAS3), ncRNA

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Umut KİBAR

Doğum Yeri: Çorum

Doğum Tarihi: 02.02.1979

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Sincan Lisesi (1993-1996)

Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji (1996-2002)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü/Biyoinformatik (2008-2012)

İş Tecrübesi:

Kurumu: Ankara Üniversitesi

Görevi: Memur Yılları: 2007-2009

Kurumu: Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu

Görevi: Uzman Yılları: 2009-Devam ediyor

TEZDEN ÇIKAN YAYINLAR

Diğer Yayınlar

Mohammed İ, **Kibar U**, Kazan K, Özmen CY, Mutaf F, Aşçı SD, Aydemir BÇ, Ergül A. Genome-wide identification of the LEA protein gene family in grapevine (*Vitis vinifera* L .). Tree Genet Genomes. 2019;15(55):1–14

Yüksel Özmen C, Khabbazi SD, Khabbazi AD, Gürel S, Kaya R, Oğuz MÇ, Turan F, Rezaei F, **Kibar U**, Gürel E, Ergül A. Genome composition analysis of multipartite BNYVV reveals the occurrence of genetic re-assortment in the isolates of Asia Minor and Thrace. Sci Rep. 2020;10(1):1–11.

Aydemir BÇ, Özmen CY, **Kibar U**, Mutaf F, Büyük PB, Bakır M, et al. Salt stress induces endoplasmic reticulum stress-responsive genes in a grapevine rootstock. PLoS One. 2020;15(7):1–25.

Bilir Ö, Özmen CY, Özcan S, **Kibar U**. Genetic Analysis of Turkey Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes by Simple Sequence Repeats Markers. Russ J Genet. 2019;55(1):61–70.

Ulusal/Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler:

Ergül A, Aydemir BÇ, Mutaf F, **Kibar U**. Microarray analysis of endoplasmic reticulum (ER) and salt stress transcriptomes in grapevine rootstocks (Oral-Abstract). 11th International Conference on Grapevine Breeding and Genetics. Beijing, China Jul. 28 – Aug. 2, 2014. Program and Abstract Book. p.83.

Canan Y, Kazan K, Söylemezoğlu G, **Kibar U**, Schlauch K, Cushman JC, Ergül A. Comparative Analysis of Root Transcriptomes of Cabernet Sauvignon and the 5BB Rootstock Under Drought Stress (Poster-Abstract). 11th International Conference on Grapevine Breeding and Genetics. Beijing, China Jul. 28 – Aug. 2, 2014. Program and Abstract Book. p.243.

Turan T, Özaydınlı B, Emmez ÖH, Gönül İI, **Kibar U**, Gönenç A. Gliomada VEGF -2578C/A Polimorfizminin Değerlendirilmesi (Poster-Abstract). International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences. Ankara, Turkey 1-3 March, 2019. Abstract Book. p.18.

Tree Genetics & Genomes (2019) 15:55
https://doi.org/10.1007/s11295-019-1364-3

ORIGINAL ARTICLE

Genome-wide identification of the LEA protein gene family in grapevine (*Vitis vinifera* L.)

Mohammed İbrahime[1,2] · Umut Kibar[3] · Kemal Kazan[4] · Canan Yüksel Özmen[1] · Filiz Mutaf[1] · Sinem Demirel Aşçı[1] · Birsen Çakır Aydemir[5] · Ali Ergül[1]

Received: 15 January 2019 / Revised: 15 May 2019 / Accepted: 4 June 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract
The Late Embryogenesis Abundant (LEA) protein gene family is associated with salt and drought stress tolerance in many plant species. However, the number of LEA-encoding genes in the grape (*Vitis vinifera*) genome has not been previously determined. Here, we conducted a phylogenetic analysis to identify individual members of the LEA gene family in *V. vinifera*. This analysis identified 60 members of this gene family classified into nine subfamilies (DHN, LEA1, LEA2, LEA3, LEA4, LEA5, LEA6, WHY and SMP) in the grape genome. With 35 members, the LEA2 subfamily constituted the largest subgroup. LEA-encoding genes are non-randomly distributed across most grape chromosomes, suggesting that, similarly to other species, a significant portion of *VvLEA*s was originated by segmental or tandem duplications. Bioinformatic analyses suggested that the majority of the grape LEA2 proteins is associated with plasma membrane whilst many members of other families are likely to be found in different subcellular locations such as cytoplasm, nucleus and mitochondria. The promoters of these genes contain *cis*-acting sequence elements associated with stress responses. Expression profiles of a subset of LEA-encoding genes from publically available *Affymetrix Vitis vinifera* (grape) Genome Array expression data showed that these genes are responsive to salt and dehydration. We also experimentally studied stress-responsive expression patterns of *VvDHN1* encoding a dehydrin (DHN) and *VvLEA D29L* (*VvLEA D29Like*) encoding a LEA4 protein in the grape cultivar *V. vinifera* L. cvs. Cabernet Sauvignon (CS) and the rootstock *Solonis* X *riparia* 1616 C (1616 C) under salt- and PEG-induced drought stress by qRT-PCR. Both *VvDHN1* and *VvLEA D29L* responded very strongly to these stresses in 1616 C whilst *VvLEA D29L* was induced only in CS. In response to PEG, *VvLEA D29L* was induced in both genotypes whilst *VvDHN1* showed induction only in CS. Overall, our results suggest the LEA gene family is associated with stress tolerance and manipulation of these genes might provide increased stress tolerance in grapes.

Keywords *Vitis vinifera* · 1616 C · Cabernet Sauvignon · Late Embryogenesis Abundant protein (*VvLEA D29L*) · Dehydrin (*VvDHN1*) · Gene expression

MH and UK contributed equally to this work.

Communicated by M. Troggio

Electronic supplementary material The online version of this article (https://doi.org/10.1007/s11295-019-1364-3) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Ali Ergül
ergul@ankara.edu.tr

[1] Biotechnology Institute, Ankara University, 06110 Ankara, Turkey

[2] Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Samara University, Samera, Ethiopia

[3] Agriculture and Rural Development Support Institution, Ankara, Turkey

[4] Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) Agriculture and Food, Queensland Bioscience Precinct, St. Lucia, Queensland 4067, Australia

[5] Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Ege University, İzmir, Turkey

Published online: 17 June 2019

Introduction

Abiotic stress factors affect many arable lands worldwide and cause significant crop losses (Wang et al. 2003). Drought and salinity are among the primary abiotic stress factors, and available evidence indicates that early plant responses to these two stresses show many similarities (Bartels and Sunkar 2005). For instance, both stress factors reduce plant growth by interrupting essential plant processes. During stress adaptation, the stomata is closed and photosynthesis inhibited. In addition, genes encoding protective proteins involved in osmolyte synthesis, ion balance and antioxidant defences are activated during stress adaptation (Bartels and Sunkar 2005). The Late Embryogenesis Abundant (LEA) protein family is implicated in tolerance to abiotic stress such as salinity, dehydration and low temperature in many plant (Ingram and Bartels 1996; Wang et al. 2003; Gao et al. 2014) and animal species (Hand et al. 2011). The LEA gene family is represented by many members grouped in different subfamilies in plants (Battaglia and Covarrubias 2013; Magwanga et al. 2018a, 2018b; Nagaraju et al. 2019; Celik Altunoglu et al. 2017). LEA proteins expressed during embryo development (Close 1996; Zhu et al. 1997) are thought to maintain cellular homoeostasis in response to temperature changes (Zhu et al. 1997). Similarly, dehydrins (DHNs), a subgroup of LEAs, act as osmotic regulators during stress and a number of studies have demonstrated a positive correlation between plant stress tolerance and *DHN* gene expression (Godoy et al. 1994; Pelah et al. 1997; Suprunova et al. 2004; Hanin et al. 2011; Yang et al. 2012). A dehydrin from wild peanut (*Arachis duranensis*) confers increased drought tolerance when transgenically expressed in Arabidopsis (Mota et al. 2019). Similarly, transgenic expression of the *Hevea brasiliensis* dehydrin genes *HbDHN1* and *HbDHN2* improves stress tolerance in Arabidopsis through scavenging of ROS (Cao et al. 2017).

Although LEA proteins are widespread in plants and accumulate highly during response to abiotic stress, the exact functions of many members of this gene family have yet to be elucidated. More recently, ectopic expression of a *LEA5* family gene of *Arachis diogoi* (wild peanut) in tobacco resulted in enhanced tolerance to dehydration and salinity, suggesting that the members of this gene family contribute to stress tolerance in plants (Sharma et al. 2016). Another recent study showed that overexpression of a wheat *LEA3* gene in Amur cork tree (*Phellodendron amurense*) leads to increased drought tolerance accompanied with rapid stomatal closure under drought stress (Yang et al. 2018). Similarly, a *LEA2* gene from cotton confers drought tolerance by promoting root growth (Magwanga et al. 2018b) and the *CaDHN5* dehydrin gene from pepper confers increased tolerance to salt and osmotic stresses (Luo et al. 2019) when these genes are transgenically expressed in Arabidopsis.

The grape (*Vitis vinifera* L.) is an important fruit species grown throughout the world. Abiotic stresses such as drought and salinity as well as extreme temperatures have the potential to negatively affect both yield and berry quality in grapes (Parra et al. 2010; Mirás-Avalos and Intrigliolo 2017). Grape cultivars often exhibit high tolerance to drought and reasonable tolerance to salinity (Prior et al. 1992; Mullins et al. 1992). However, stress tolerance of genotypes used as rootstocks vary considerably (Serra et al. 2014). Although expression patterns of a few members of the *DHN* gene family in response to abiotic stress have been studied (Daldoul et al. 2010; Yang et al. 2012; Paul and Kumar 2013), most members of the *LEA* gene family have not been studied in grapes. In addition, to the best of our knowledge, the number of different *LEA* genes found in the grape genome is currently unknown.

In this study, we first conducted a phylogenetic analysis to identify individual members of the LEA gene family in *V. vinifera*. This analysis identified 60 *LEA* genes in grapes. Additional analyses showed chromosomal locations of LEA-encoding genes which contained various abiotic stress-related *cis*-acting sequences in their promoters. We also comparatively examined the expression profiles of two (*VvDHN1* and *VvLEA D29L*) members of the LEA gene family in *V. vinifera* cv. CS and the rootstock 1616 C under salt- and PEG-induced stress conditions. The results show that both genes responded very strongly to salt stress in 1616 C but *VvLEA D29L* was induced only in CS. Under PEG-induced stress, *VvLEA D29L* was induced in both genotypes, whilst *VvDHN1* was induced only in CS. Overall, our results suggest that, similarly to other plants, different members of LEA gene family show distinct stress-responsive expression patterns and potentially perform overlapping roles in mediating stress tolerance in grapes.

Materials and methods

Plant material

The shoots of CS and 1616 C were shortened to 2–4 cm to promote the growth of axillary buds. The shoots were then sterilized by treating them with EtOH (70%) for 1 min and then with 10% sodium hypochlorite for 18 min. Shoots containing an active bud and internodes were propagated in the Roubelakis rooting media culture (Roubelakis-Angelakis and Zivanovitc 1991). The culture media were then sterilized in an autoclave (at 120 °C for 20 min) and the explants were sown into Magenta boxes containing 100 ml of medium. Magentas were then incubated in a tissue culture room for approximately 3–4 weeks (at 24 °C for 16 h light-8 h dark) until they produce roots and shoots.

Stress applications and experimental design

The experimental design was set up as randomized block design. Three biological replications and at least three technical replications for each stress were performed. Each biological replication contained six plants. For salt stress application, tissue culture grown plants of CS and 1616 C were transferred into liquid MS media (4.4 g/l MS salts and 20 g/l sucrose, pH 6.4) and treated with 120 mM NaCl (containing 1:10 ratio of $CaCl_2$). For PEG treatment, PEG was added to the nutrient solution until the osmolality of the solution, as measured using a vapour pressure osmometer, becomes identical to that of the salt solution. PEG treatment was conducted at approximately 235 mmols kg^{-1} (20% PEG) osmolality and six plants were collected for each genotype at 2, 6, 12 and 24 h after stress treatment. Control plants grown in the same liquid media without PEG and salt were harvested at 2, 6, 12 and 24 h.

Physiological measurements

Leaf water potentials (MPa) were measured using a pressure chamber according to the manufacturer's instructions (Model 600, PMS Instrument Company, Albany, USA) at 2, 6, 12 and 24 time-points of salt and PEG treatments. All measurements were replicated three times, and the results were analysed statistically by *t* test. Following measurements, the leaves were frozen in liquid nitrogen and then stored −80 °C for RNA isolations.

RNA isolations and cDNA synthesis

RNA isolations from plant tissues were carried out according to Gambino et al. (2008). Briefly, tissue samples ground in liquid nitrogen were added to 900 μl of warm extraction buffer (65 °C) containing 2% CTAB, 2.5% PVP-40, 2 M NaCl, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 25 mM EDTA pH 8.0 and 2% of β-mercaptoethanol added prior to use in a microcentrifuge tube and incubated at 65 °C for 10 min. Then, the content was extracted with an equal volume of chloroform: isoamyl alcohol (24:1 *v/v*) by shaking vigorously. The tube was then centrifuged at 11,000*g* for 10 min at 4 °C, the supernatant was removed and subjected to another chloroform to isoamyl alcohol treatment. The supernatant taken to a new centrifuge tube was treated with LiCl (3 M final concentration) by incubating in ice for 30 min and then centrifuged at 21,000*g* for 20 min at 4 °C to pellet RNA. Following this, the supernatant was discarded, and 500 μl of pre-heated SSTE buffer at 65 °C (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA pH 8.0, 1% SDS, 1 M NaCl) was added to resuspend the pellet and the RNA was extracted with an equal volume of chloroform to isoamyl alcohol and centrifuged at 11,000*g* for 10 min at 4 °C. Finally, the supernatant was transferred to a clean tube and precipitated by adding 0.7 vols of cold isopropanol and centrifuged at 21,000*g* for 15 min at 4 °C. The supernatant was transferred to a new microcentrifuge tube, and the RNA was precipitated with 0.7 vols of cold isopropanol and immediately centrifuged at 21,000*g* for 15 min at 4 °C. The supernatant was discarded, and the RNA pellet was washed once with 70% ethanol, dried and resuspended in DEPC-H20. RNA quality was tested with an agarose gel electrophoresis using standard protocols. Two micrograms of total RNA was used to synthesize cDNA using a First Strand cDNA Synthesis kit (Roche, Cat No. 04897030001) following the manufacturer's protocol. After cDNA synthesis, DNA concentrations were quantified by a Nanodrop ND-1000 spectrophotometer. cDNA samples were then used as templates to quantify target gene expression levels.

Primer design and real-time quantitative PCR amplifications

The "*Vitis vinifera* Abundant Late Embryogenesis D-29-like protein (*VvLEA D29L*)" (GenBank accession number: XM_002268661) and the "*Vitis vinifera* dehydrin mRNA-(*VvDHN1*)" (GenBank accession number: NM_001281292.1) as well as the *Vitis vinifera actin-1-like* gene *VvACT1* (GenBank accession number XM_002283554.2) ((forward) 5′-ggaatggttaaggctggatttg-3′ and (reverse) 5′-ctgctcatagtcaagggcaata-3′) were used for real-time quantitative PCR (qRT-PCR) analysis. Primer pairs for *VvDHN1* and *VvLEA D29L* were designed using the Primer3 software (http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/). Gene-specific primers were chosen to produce a PCR product of approximately 200–300 bp. The following primer sequences were used for these analyses. For *VvDHN1*: (forward) 5′-tctagttgccgctttcatactc-3′/(reverse) 5′-ggcagcttctcctgatctt-3′ and for *VvLEA D29L*: (forward)5′-ttctggtggtgatggttgtag-3′/(reverse) 5′-ggtctcttcggtcttctcttttc-3′. Real-time quantitative PCR amplifications were performed using a LightCycler 480, Roche. The qRT-PCR was performed in a 10 μl of reaction mix that contained 2 μl of cDNA (500 ng/μl), 0.4–0.8 μl of forward and reverse primers (10 pmol), 5 μl of LightCycler® 480 SYBR Green I Master (Roche) and ddH_2O. The standard curve was prepared from serial dilutions (i.e. 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 and 1/100000) of control cDNAs. The following program was used in amplifications: initial polymerase activation: 95 °C for 10 min, then 45 cycles at 95 °C for 10 s; Tm for 10 s; 72 °C for 5 s. The specificity of the qRT-PCR amplification was checked with a melt curve analysis (from 95 °C to Tm) following the final cycle. The qRT-PCR conditions were optimized for high amplification efficiency > 95% for all primer pairs used. The *Ct* (*cycle threshold*) values on the amplification curves were obtained between the 20th and 35th cycles. In melting curve analyses, overlapping single peak images were obtained and the presence of dimers was checked. *Ct* values were established by

using of the peak profiles. The relative expression levels were calculated by using the REST 2009 software according (http://www.gene-quantification.de/rest-2009.html) to the $2^{-\Delta\Delta C}{}_T$ (the *delta-delta-Ct* or *ddCt*) algorithm. The reaction efficiency (RE) value has been considered as 1 (one). The confidence interval (C.I.) value is considered 95%. Gene expression levels with the $2^{-\Delta\Delta C}{}_T$ method (Livak and Schmittgen 2001) were normalized using the expression value of the *VvACT1* house-keeping gene. The MPa values were compared with the control values using the *t* test at the $p < 0.05$ significance level.

Sequence alignments and phylogenetic analysis

Vitis vinifera LEA protein sequences were obtained from the NCBI Refseq Protein database and searched for the presence of conserved LEA domains using NCBI Conserved Domains Search Service (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi). The distribution of reference sequences in the *V. vinifera* genome was analysed using Genome Data Viewer (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/?org=vitis-vinifera) and phylogenetic analyses were conducted using MEGA X (statistical method: maximum likelihood, test of phylogeny: bootstrap method, number of bootstrap replication: 50, https://www.megasoftware.net/) (Kumar et al. 2018). The sequences identified, and their chromosomal locations and protein IDs, are given in Supplementary Table 1.

Promoter and subcellular location analyses

Publicly available genome-wide *Affymetrix Vitis vinifera* (grape) Genome Array expression data from grapes (Tattersall et al. 2007) were used to determine expression profiles of 29 LEA genes under salt and PEG time-course analyses. Promoter analyses were conducted by scanning 1 kb 5′ upstream regions from the translation start site of these genes using the PlantPAN 3.0 web server (http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/promoter_multiple.php). The presence of the following *cis*-acting sequence elements was checked in each promoter following the nomenclature given by Wong et al. (2017): ABRE (ACGTG), G-box (CACGTG), GCC-box (GCCGCC), AuxRE (TGTCTC and TGTCGG), DRE (RCCGAC and GCCGAC), C-BOX (GACGTC), CAMTA (VCGCGB), MYB (CCWACC), CBF (RYCGAC), NAC (TTGCGT) and WRKY (TTTGACY).

Subcellular localizations of the LEA protein genes were predicted using the CELLO v.2.5 subCELlular LO program available at http://cello.life.nctu.edu.tw (Yu et al. 2006).

Prediction of miRNA-targeted *LEA* genes

LEA genes targeted by miRNAs were predicted by searching *Vitis vinifera* miRNAs using the psRNATarget server (http://plantgm.noble.org/psRNATarget/?function=3) (Dai et al. 2018).

Results

Phylogenetic analysis of the grape LEA gene family

The LEA gene family has been identified in different plant species for which a genome sequence is available (Bies-Ethève et al. 2008; Du et al. 2013; Lan et al. 2013; Charfeddine et al. 2015; Gao and Lan 2016; Li and Cao 2016; Wu et al. 2018). However, to the best of our knowledge, so far, the number of different LEA-encoding genes in *Vitis* is unknown. Therefore, we have conducted a phylogenetic analysis to identify the LEA protein family in *Vitis*. As shown in Fig. 1, our analyses identified 60 distinct LEA proteins belonging to the following subfamilies: *DHN* (4 members), LEA1 (5 members), LEA2 (35 members), WHY (Water Stress and Hypersensitive Response) (2 members), LEA3 (4 members), LEA4 (1 member), LEA5 (3 members), LEA6 (2 members), SMP (Seed Maturation Proteins) (3 members) and LEAD29 (1 member). These analyses also showed that one of the LEA2 proteins contains an additional LEA2 domain (Fig. 1, Supplementary Table 1). Similarly, each of the three SMP proteins identified contains three distinct SMP domains (Fig. 1, Supplementary Table 1). Interestingly, of these 60 LEA proteins identified, three proteins (e.g. XP_002282590.1, XP_010651983.1 and XP_003633664.1) contained three SMP domains whilst one protein (XP_019081529.1) contained two LEA2 domains.

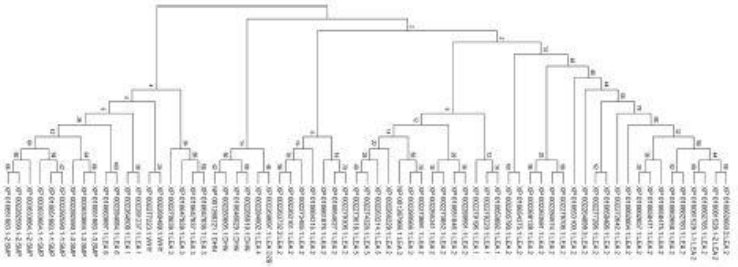


Fig. 1 Phylogenetic analysis of grape (*Vitis vinifera*) LEA proteins

Genomic distribution of *LEA* genes in the grape genome

Our analyses showed that LEA-encoding reference genes can be found on almost every grape chromosome (except chromosomes 1, 17 and 19). However, the number of LEA-encoding loci was different across the chromosomes. The highest number of *LEA* genes was found on followed by chromosome 8 (9 genes), and chromosome 16 (9 genes each) followed by chromosomes 2 and 15 (6 genes each) (Fig. 2). In addition, as shown in Fig. 2, a number of segmental and regional duplications are identified, suggesting that duplications are one of the processes affecting the expansion of this family in *Vitis vinifera*.

Analysis of *LEA* promoters

To determine if *LEA* family genes in grapes contain known stress-responsive *cis*-acting regulatory elements, such as G-box, GCC-box, CAMTA, NAC, WRKY AuxRE, CBF, C-Box, MYB, DRE AC, ABRE and MYB (Wong et al. 2017), we searched 1-kb upstream regions from the translation start site of these genes using the PlantPAN 3.0 web server. As expected, these analyses identified a number of stress-associated *cis*-acting elements in these promoters (Fig. 3, Supplementary Table 3), further suggesting that the LEA gene family might be largely associated with stress responses in grapes. Interestingly, however, out of 35 LEA2-encoding genes, only 22 contained the ABRE/DRE *cis*-acting element in their promoters (Fig. 3, Supplementary Table 3), suggesting that not all 35 genes might be responsive to abiotic stress. Interestingly, it can be deduced from the data presented in Fig. 3 that the presence of the ABRE/DRE *cis*-acting element is more frequent in the promoters of small subfamilies of WHY (15 per promoter), DHN (7.5 per promoter) and LEA4 (10 per promoter) than those containing relatively large number of members such as the LEA2 subfamily (0.8 per promoter).

Grape LEA proteins are associated with different subcellular locations

Our subcellular prediction analyses indicated that grape LEA proteins could be associated with most subcellular compartments such as nucleus, mitochondria, cell wall and cytoplasm (Fig. 4 and Table 3), as also reported for LEA proteins from other species (Hundertmark and Hincha 2008; Cao and Li 2015; Ling et al. 2016). Some LEA proteins from grapes were also predicted to be extracellular. Interestingly, DHN, LEA5,

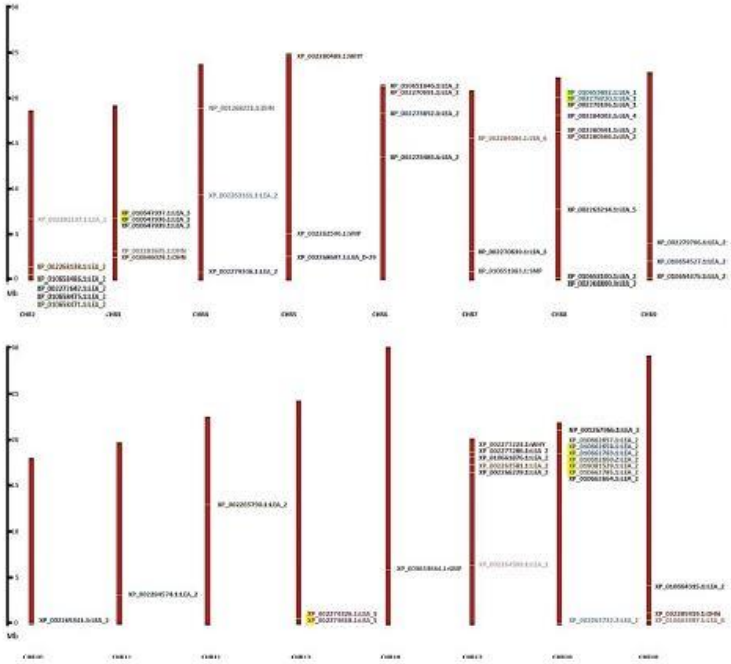


Fig. 2 Chromosomal distribution of sixty *LEA* genes in *Vitis vinifera*: chromosome 2 (6 genes), chromosome 3 (5 genes), chromosome 4 (3 genes), 5 (3 genes), 6 (4 genes), 7 (3 genes), 8 (9 genes), 9 (3 genes), 10 (1 gene), 11 (1 gene), 12 (1 gene), 13 (2 genes), 14 (1 gene), 15 (6 genes), 16 (9 genes), 18 (3 genes). Segmental duplications are shown with the same colours whilst regional duplications are shown with a highlighted "XP" initial

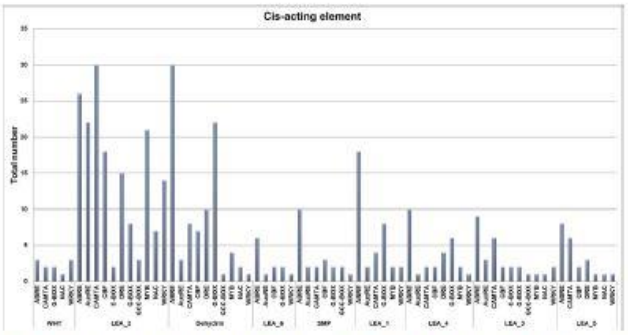


Fig. 3 Identification of total number of *cis*-acting sequence elements in the promoters (1000 bp 5′ upstream from the translation start site) of different subgroups of LEA protein gene family in grapes: ABRE (ACGTG), G-box (CACGTG), GCC-box (GCCGCC), AuxRE (TGTCTC and TGTCGG); DRE (RCCGAC and GCCGAC); C-BOX (GACGTC), CAMTA (VCGCGB); ABRE (ACGTG); MYB (CCWACC), CBF(RYCGAC), NAC (TTGCGT), WRKY (TTTGACY)

LEA6 and all SMP proteins were predicted to locate only to the nucleus. In contrast, LEA2 proteins were predicted to locate to plasma membrane, mitochondria and the nucleus. In addition, half of all LEA2 proteins (18 proteins) were predicted to be associated with plasma membrane Table 3, suggesting that these proteins may have roles in protecting cellular membranes form stress. Interestingly, none of the LEA proteins in *V. vinifera* were associated with chloroplasts. This in contrast to other studies which identified LEA proteins associated with chloroplasts (Ling et al. 2016). Based on findings from multiple studies showing the diversity in subcellular localization of LEA proteins, it was also suggested that LEA proteins might specifically associate with subcellular (mitochondrial and nuclear membranes) that may need to be protected during stress adaptation (Hand et al. 2011).

Prediction of *LEA* genes targeted by miRNAs in grapes

Large groups of small RNAs, known as microRNAs (miRNAs), are known to be the regulators in plant abiotic stress-induced gene expression in plants. To determine possible miRNAs that may be targeting grape *LEA* genes, we predicted miRNA targets on *LEA* transcripts using psRNATarget analysis (Dai et al. 2018). These analyses showed that of 60 grape genes, 13 *LEA* genes (19.4% of all grape genes) could be potential targets of 46 grape miRNAs, representing 37% of all the *LEA* genes (Supplementary Table 4, Table 1). Of 13 *LEA* miRNA target genes, 10 belonged to the *LEA2* subfamily. The remaining three genes were from *LEA1*, *LEA3* and *dehydrin* subfamilies. One of the LEA2 subfamily (XP_002263732.2)-encoding genes was potentially targeted by as many as 18 miRNAs (Table 1).

LEA genes responsive to stress

To be able to determine *LEA* gene expression patterns under abiotic stress conditions (salt and drought), we have used publically available expression data from a previously published *Affymetrix Vitis vinifera* (grape) Genome Array time-course study (Tattersall et al. 2007). As shown in Table 2, the Affymetrix array used in this study contained specific probes that were complementary to approximately 50% (29 genes) of

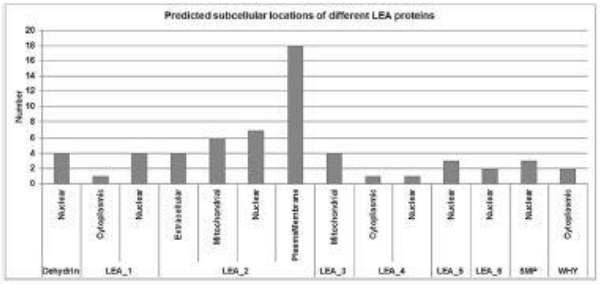


Fig. 4 Predicted subcellular locations of *Vitis vinifera* LEA proteins

Table 1 A summary of *Vitis vinifera LEA* genes targeted by miRNAs

Protein ID	The number of *LEA* genes targeted by miRNAs	Domain
XP_002263581.1	2	LEA_2
XP_002263732.2	18	LEA_2
XP_002268138.1	1	LEA_2
XP_002270639.1	2	LEA_3
XP_002270691.1	1	LEA_2
XP_002279306.1	4	LEA_2
XP_002280591.1	6	LEA_2
XP_002285919.1	1	Dehydrin
XP_010653892.1	1	LEA_1
XP_010658486.1	4	LEA_2
XP_010661876.1	2	LEA_2
XP_010662657.1	1	LEA_2
XP_010664315.1	3	LEA_2

the *LEA* genes identified in this study. The results from these analyses showed stress-responsive expression patterns of LEA-encoding genes. The majority of the grape *LEA* genes were induced by stress. However, at least two *LEA2*-encoding genes were strongly suppressed at all time-points by both salt and drought (PEG) stress (Table 2).

Salt- and drought-responsive expression patterns of two LEA-encoding genes in a grape cultivar and a rootstock

Optimization of stress treatments We next examined stress (salt and drought)-responsive expression patterns of two *LEA*-encoding genes in two different grape genotypes in a time-course study. One of these genes (*VvDHN1*) has previously shown to be induced by abiotic stress in grapes (Daldoul et al. 2010) and included here as a positive control. The abiotic stress-responsive expression of the second gene (*VvLEA D29L*) has not been analysed in detail previously (Table 3).

Prior to expression analyses, we wanted to establish that stress applications (dose and timing in particular) used were indeed effective in generating physiological changes in our experimental plants. We, therefore, measured leaf water potentials (MPas) of stress-exposed plants. As expected, the leaf water potential of plants exposed to salinity and PEG stress showed significant differences relative to unexposed control plants, in particular at 6, 12 and 24 h after stress application. For instance, the leaf water potential of CS and 1616 C exposed to PEG stress varied from − 0.3 to − 0.8 MPa and from − 0.25 to − 0.95 MPa, respectively (Fig. 5). As expected, MPA values in control plants not exposed to stress were low and varied between − 0.2 and − 0.35 MPa, and between − 0.2 and − 0.3 MPa, for CS and 1616 C, respectively. The highest average leaf water potential values measured for 1616 C and CS under salt and PEG stress were − 0.8 and − 0.7, respectively. In general, these values are consistent with the leaf water potential values (− 0.7 MPa and lower) previously reported for stress-exposed grapes (Cramer et al. 2007).

Having established that our stress treatments were effective in inducing physiological changes in our experimental plants, we then analysed the expression of *VvDHN1* and *VvLEA D29L* by qRT-PCR in stress-exposed and corresponding control CS and 1616 C sampled at various time-points.

VvDHN1 *VvDHN1* is known to produce two alternatively spliced isoforms, *VvDHN1a* and *VvDHN1b* (Xiao and Nassuth 2006). Our qRT-PCR primers were designed to detect both transcripts. In these experiments, no apparent change was observed in response to salt stress at any time-points in the expression of *VvDHN1* in CS. In contrast, in response to salt stress, a strong induction of *VvDHN1* was observed in 1616 C at 6-h (22-fold), 12-h (143-fold) and 24-h (90-fold) time-points (Fig. 6).

Similarly, in response to PEG application, a relatively strong induction of *VvDHN1* was observed at 6-h (76-fold) and 24-h (78-fold) time-points in CS. In contrast, *VvDHN1* showed relatively low induction values in 1616 C at most time-points examined (Fig. 6).

VvLEA D29L Our expression analyses showed that *VvLEA D29L* is induced in response to salt stress in 1616 C and CS at both 12 and 24-h time-points with a major difference observed at 24-h time-point between 1616 C (13-fold) and CS (97-fold). Similarly, *VvLEA D29L* is induced in both CS and 1616 C in response to PEG treatment. The highest fold induction value was observed at 12- and 6-h time-points for 1616 C (approximately 249-fold) and CS (approximately 90-fold) (Fig. 6).

Discussion

The grape is an important fruit species widely cultivated throughout the world. Increased biotic and abiotic stress tolerances are an important breeding objective in this plant species as these stresses can potentially significantly affect the yield and the quality of grapes. It is well established that plants can protect themselves from the damaging effects of abiotic stress by inducing the expression of genes encoding protective proteins. The LEA protein gene family is one of such proteins and has previously been associated with abiotic stress tolerance in many plant species (Pedrosa et al. 2015; Huang et al. 2016; Muvunyi et al. 2018). However, to the best of our knowledge, the number of *LEA* genes encoded by the grape genome has not been determined before. Here, we identified 60 *LEA*-encoding genes in grapes. The number of LEA sequences we identified in *V. vinifera* was more than those identified in Arabidopsis and tomato but less than those found in

Table 2 Differential expression of a subset *Vitis vinifera LEA* genes shown by Log2 values in untreated (control) and treated samples 1, 4 and 8 h after drought- (PEG) and salt-treated samples. Affymetrix data previously published by Tattersall et al. (2007) were used to determine the expression patterns of *LEA* genes represented on the array

LEA protein ID	AffyChip probe ID	Log2 (1 h salt/Ctrl)	Log2 (4 h salt/Ctrl)	Log2 (8 h salt/Ctrl)	Log2 (24 h salt/Ctrl)	Log2 (1 h PEG/Ctrl)	Log2 (4 h PEG/Ctrl)	Log2 (8 h PEG/Ctrl)	Log2 (24 h PEG/Ctrl)	PlexDb domain
XP_002283605.1	1609355_at	0.00	0.14	−0.01	0.55	0.12	0.14	0.05	0.89	DHN
XP_002279306.1 XP_002273485.1 XP_002270691.1	1612504_s_at	0.15	0.24	0.28	0.42	0.10	0.15	0.28	0.35	LEA_2
XP_002280566.1										
XP_002280591.1										
XP_002266229.1										
NP_001267966.1										
XP_002282590.1 XP_010651983.1 XP_003633664.1	1611316_at	0.19	−0.08	0.03	0.45	–	–	–	–	SMP
XP_002284084.1	1611384_at	0.71	1.06	1.19	3.99	0.18	0.63	1.73	4.63	LEA_6
XP_010663997.1										
XP_002285919.1 XP_010646029.1	1622639_at	0.19	0.82	0.18	1.02	−0.11	0.15	0.08	0.96	DHN
XP_002268697.1	1617579_at	0.58	2.54	2.04	3.58	0.10	2.22	2.87	4.23	LEA_D-29
NP_001268221.1	1621592_s_at	0.45	3.63	3.46	6.84	0.73	2.46	4.15	6.92	DHN
XP_002264899.3 XP_002279706.1 XP_002263581.1 XP_002284574.1	1611433_at	0.12	0.53	0.49	0.40	0.02	0.31	0.54	0.49	LEA_2
XP_002272642.1										
XP_010662658.1 XP_010658471.1										
XP_010662783.1	1614658_a_at	−0.07	−0.38	−0.64	−1.37	−0.05	−0.50	−0.63	−1.18	LEA_2
XP_002284002.1	1607519_at	0.23	0.19	0.53	4.28	0.24	0.12	0.98	5.51	LEA_4
XP_010658475.1	1613399_at	−0.45	−0.52	−0.24	−0.65	−0.31	−0.54	−0.24	−1.12	LEA_2
XP_002277286.1	1617392_at	–	–	–	–	0.03	0.26	0.12	0.64	LEA_2
XP_010653100.1										

Table 3 Predicted subcellular localization of grape LEA proteins

Protein ID	Location	LEA domain	Protein ID	Location	LEA domain
XP_010658471.1	Mitochondrial	LEA_2	XP_002279196.1	Nuclear	LEA_1
XP_010658475.1	Mitochondrial	LEA_2	XP_002279220.1	Cytoplasmic	LEA_1
XP_002272642.1	Nuclear	LEA_2	XP_010653892.1	Nuclear	LEA_1
XP_010658486.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_010654375.1	Plasma membrane	LEA_2
XP_002268138.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_010654527.1	Nuclear	LEA_2
XP_002281237.1	Nuclear	LEA_1	XP_002279706.1	Extracellular	LEA_2
XP_010646029.1	Nuclear	Dehydrin	XP_002265341.1	Plasma membrane	LEA_2
XP_002283605.1	Nuclear	Dehydrin	XP_002284574.1	Plasma membrane	LEA_2
XP_010647939.1	Mitochondrial	LEA_3	XP_002265790.1	Plasma membrane	LEA_2
XP_010647936.1	Mitochondrial	LEA_3	XP_002273618.1	Nuclear	LEA_5
XP_010647937.1	Mitochondrial	LEA_3	XP_002274326.1	Nuclear	LEA_5
XP_002279306.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_003633664.1	Nuclear	SMP
XP_002263161.1	Extracellular	LEA_2	XP_002264509.1	Nuclear	LEA_1
NP_001268221.1	Nuclear	Dehydrin	XP_002266229.1	Plasma membrane	LEA_2
XP_002268697.1	Nuclear	LEA_4	XP_002263581.1	Plasma membrane	LEA_2
XP_002282590.1	Nuclear	SMP	XP_010661876.1	Plasma membrane	LEA_2
XP_002280489.1	Cytoplasmic	WHY	XP_002277286.1	Mitochondrial	LEA_2
XP_002273485.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_002277223.1	Cytoplasmic	WHY
XP_002273852.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_002263732.2	Extracellular	LEA_2
XP_002270691.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_010662664.1	Mitochondrial	LEA_2
XP_010651846.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_010662785.1	Nuclear	LEA_2
XP_010651983.1	Nuclear	SMP	XP_019081529.1	Mitochondrial	LEA_2
XP_002270639.1	Mitochondrial	LEA_3	XP_010662660.2	Nuclear	LEA_2
XP_002284084.1	Nuclear	LEA_6	XP_010662783.1	Nuclear	LEA_2
XP_002264899.3	Plasma membrane	LEA_2	XP_010662658.1	Mitochondrial	LEA_2
XP_010653100.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_010662657.1	Nuclear	LEA_2
XP_002263214.1	Nuclear	LEA_5	NP_001267966.1	Extracellular	LEA_2
XP_002280566.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_010663997.1	Nuclear	LEA_6
XP_002280591.1	Plasma membrane	LEA_2	XP_002285919.1	Nuclear	Dehydrin
XP_002284002.1	Cytoplasmic	LEA_4	XP_010664315.1	Nuclear	LEA_2

cotton, a polyploid plant species (Supplementary Table 2) as Hundertmark and Hincha (2008) and Cao and Li (2015) identified 51 and 27 LEA-encoding genes in Arabidopsis and tomato (*Solanum lycopersicum*) whilst Magwanga et al. (2018a) identified a total of 242, 136 and 142 LEA genes in *G. hirsutum*, *G. arboreum* and *G. raimondii*, respectively. In fact, the number of LEA-encoding genes seems to be well correlated with polyploidy as high number of LEA-encoding genes have been identified in other polyploid plants such as *Brassica napus* (Liang et al. 2016, Supplementary Table 2). Interestingly, the genomes of diploid legume species such as bean (*Phaseolus vulgaris*), pigeon pea (*Cajanus cajan*) and chickpea (*Cicer arietinum*) and even polyploid soybean (*Glycine max*) seem to contain relatively low numbers of LEA-encoding genes (Battaglia and Covarrubias 2013, Supplementary Table 2). Another interesting observation is that the LEA2 subfamily has more members than the remaining subfamilies in the majority of species so far studied (Supplementary Table 2). Although the possible reasons for this are unknown, recent evidence based on the analysis of 60 completed plant genomes suggest that tandem duplications significantly contributed to the expansion of the LEA2 subfamily in most plant species (Artur et al. 2018). Also, relatively large number of *LEA2*-encoding genes resulted from gene duplications raises the question of whether all these LEA2 subfamily genes are associated with abiotic stress tolerance. Our finding that only 63% of the 35 *LEA2* genes contain the ABRE/DRE *cis*-acting element in their promoters (Fig. 3) suggests that a subset of these genes might not be associated with abiotic stress tolerance. Indeed, our analyses of the previously published Affymetrix expression array (Tattersall et al. 2007) showed that a subset of *LEA* genes for which probes were present on the array were responsive to salt and drought (PEG) stress. We also experimentally determined the

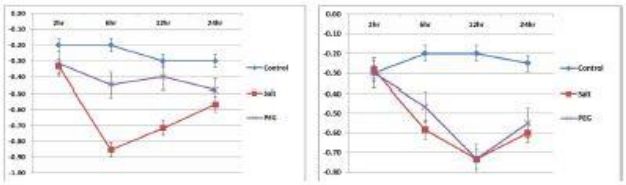


Fig. 5 Average leaf water potential (MPa) values (± SE) of the rootstock *Solonis* X *riparia* 1616 C (left) and the cultivar Cabernet Sauvignon (CS) (right) after salt or PEG application

expression of two selected genes by qRT-PCR (see below). In addition, the presence of *cis*-acting elements associated with biotic stress responses in *LEA* gene promoters suggests that the role of the LEA gene family is not restricted to abiotic stresses alone. Indeed, a recent study identified a DHN-encoding gene (*AdDHN1*) from wild peanut (*Arachis duranensis*) showed opposite expression patterns under biotic and abiotic stresses. *AdDHN*1 is positively and negatively regulated by water deficit and root-knot nematode (RKN) *Meloidogyne incognita* infection, respectively. Furthermore, transgenic expression of *AdDHN1* in Arabidopsis improved tolerance to drought but increased susceptibility to nematode infection (Mota et al. 2019). These findings provide further evidence that specific members of the LEA gene family might perform specific functions during biotic and abiotic stress adaptations in plants.

It is expected that genes resulted from duplications, as shown here for most *LEA2* genes, may be redundant and thus gradually acquire new functions. The lowest number of genes was identified for the LEA6 subfamily in our study (Fig. 1). This is consistent with other reports that LEA6 family represents the smallest subfamily in most other plant species (Artur et al. 2018). No genes belonging to LEA7, LEA8, LEA9 and LEA18 subfamilies were identifiable in grapes in this study. The genes belonging to these families have only been identified in few plant species (see Supplementary Table 2) such as in soybean, Arabidopsis, Populus, cassava and Chinese plum). One possibility is that the genes belonging to these families may have been lost during evolution due to genetic redundancy.

In cotton and other plant species such as tomato, cotton, sorghum, oilseed rape and Arabidopsis, LEA-encoding genes are thought to have expanded through segmental or tandem duplications (Hundertmark and Hincha 2008; Cao and Li 2015; Magwanga et al. 2018a; Liang et al. 2016; Nagaraju et al. 2019). For instance, in Arabidopsis, 17 of the 51 *LEA* genes were found in tandem repeats in one of the chromosomes, suggesting that they resulted from local duplications (Hundertmark and Hincha 2008). Similarly, as shown here, *LEA*-encoding genes in *V. vinifera* were often linked on

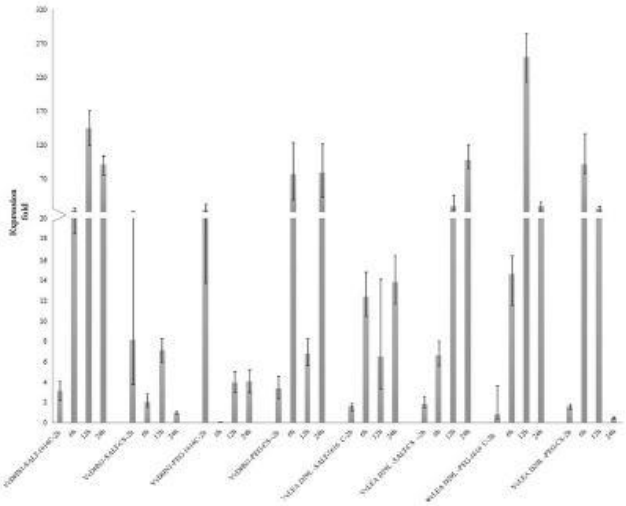


Fig. 6 Time-course expression analysis of *VvDHN1* and *VvLEA D29L* in response to salt and PEG stress in the grape cultivar Cabernet Sauvignon (CS) and the rootstock *Solonis* X *riparia* (1616 C)

various grape chromosomes, suggesting that tandem and segmental duplications might have also played a role in the evolution of this gene family in grapes.

In previous studies (Pagliarani et al. 2017; Pantaleo et al. 2016), a number of miRNAs were found to be induced during water stress in grapevine but none of these miRNAs were found to be targeting *LEA* members. In this study, we identified 46 grape miRNAs potentially targeting 13 *LEA* genes. Similarly, a number of *LEA* genes have been predicted to be targeted by miRNAs (Magwanga et al. 2018a). Further analyses are required to determine the function of these miRNAs in grapes.

In this study, we also experimentally studied salt and drought stress-responsive expression patterns of two *LEA*-encoding genes, *VvDHN1* and *VvLEA D29L*, in two different grape genotypes. In these analyses, we used a well-known grape cultivar (CS) and a rootstock (1616 C) to determine if different genotypes respond to stress differently. It should be noted that grape cultivars often exhibit high tolerance to drought and reasonable tolerance to salinity (Prior et al. 1992; Mullins et al. 1992). However, stress tolerance of genotypes used as rootstocks seems to show a wide variation. CS is drought-tolerant (Hopper et al. 2014) whilst 1616 C, as a hybrid of American rootstocks (*Vitis riparia* X *Vitis solonis*), is most likely drought-susceptible (Padgett-Johnson et al. 2003). The use of two contrasting genotypes would be a good test to determine whether *LEA* gene expression correlates with their stress phenotypes; 1616 C used in this study is known to be tolerant to salinity (Howell 1987).

Of the two *LEA* genes selected for expression analyses, the expression of *VvDHN1* has also previously been studied by various workers (Hanana et al. 2008; Daldoul et al. 2010) whilst to the best of our knowledge, stress-responsive expression patterns of *VvLEA D29L* has not been studied before. In addition, this gene was selected because, as it is shown in Fig. 1, it was somewhat different from the rest of the LEA proteins identified. We included *VvDHN1* into this study to be able confirm that our stress treatments were indeed effective in inducing *VvDHN1* expression because *VvDHN1* is considered a marker in the analysis of abiotic stress in grapes. *The effectiveness of our stress treatments was further confirmed by* leaf water pressure measurements which have also been used by other workers in grapes (e.g. Cramer et al. 2007; Vincent et al. 2007). Indeed, a previous study by Yang et al. (2012) has examined *VvDHN1* expression in a single-grape genotype. Similarly, Daldoul et al. (2010) studied the salt-induced expression of *VvDHN1* genes under 100 mM NaCl stress conditions using gel blot analysis in the *Vitis vinifera* L. cultivars Razegui and Syrah, differing in their stress tolerance. Similarly, to our findings, a significant induction of this gene was observed at 6 and 24 h of salt treatment. In addition, the expression of *VvDHN1* was found to be high at the stress-tolerant grape cultivar Razegui whereas there was no detectable *VvDHN1* expression in the sensitive cultivar Syrah. Similarly, Xiao and Nassuth (2006) examined the stress-responsive expression patterns of two alternatively spliced transcripts, *VvDHN1a* and *VvDHN1b*, generated from *VvDHN1* in *Vitis riparia* and *V. vinifera* cv. Chardonnay and found differential expression of these genes. In addition, Yang et al. (2012) examined the expression of *VvDHN1 in V. vinifera* cv. Pinot noir and *V. yeshanensis*, a wild grape species. In this study, *VvDHN1* was strongly responsive to stress treatment in both genotypes whilst a related gene *VvDHN2* was not induced under stress. These findings might suggest that different members of this gene family may be responsive to different stresses possibly with different induction kinetics.

Interestingly, however, our results showed that the expression of *VvDHN1* is induced by salt stress in 1616 C but not in CS, suggesting that the expression of this gene might be genotype-dependent. Our results also showed that the induction profile of *VvLEA D29L* by salt stress was somewhat different between CS and 1616 C. In CS, the induction of this gene was initially delayed but eventually reached to levels higher than those observed in 1616 C. In response to salt stress, *VvLEA D29L* was induced in both CS and 1616 C at 12-h and 24-h time-points (Fig. 6) and such induction profile is consistent with the results reported in other plants. For instance, the strongest induction of the *ZmLEA3* gene in maize in response to 150 mM NaCl was reported to occur within the first 24 h of stress application (Liu et al. 2013).

In response to PEG treatment, *VvLEA D29L* expression increased in both 1616 C and CS although the induction started earlier in 1616 C than in CS at the 6-h time-points whilst much higher *VvLEA D29L* expression was found at the 12-h time-point in 1616 C (Fig. 6). The *LEA D29L* expression profiles reported in the microarray study conducted by Wang et al. (2007) in rice under salinity, drought and osmotic stress conditions support the stress-responsive expressions of *VvLEA D29L* found in the present study in both 1616 C and CS under salinity and PEG-mediated stress conditions.

Conclusions

We have, for the first time, identified individual members of the LEA gene family in grapes. The large number of *LEA*-encoding genes present in plant genomes is somewhat intriguing and deserves the question whether these genes would have similar functions in abiotic stress tolerance. Our gene expression results presented in this paper showed different but somewhat overlapping expression profiles of two *LEA* genes in different grape genotypes under different stress conditions. In addition, different LEA proteins were predicted to act in

different subcellular compartments and a number of them are potentially targeted by grape miRNAs. Together, these findings might suggest that different members of this gene family might have somewhat different stress-related functions although further studies are required to test this possibility. In future studies, it would be useful to examine stress-responsive expression patterns of these genes in a larger set of grape genotypes that differ by tolerance to different stresses to be able to draw stronger inferences between gene expression/induction and stress tolerance. Manipulating the expression of these genes in grapes might also lead to increased stress tolerance.

Acknowledgements This study is dedicated in memory of Ibrahime Mohammed, who died in 2015.

Author contributions AE designed and outlined the research. Mİ, FM, CYÖ and SDA conducted the experiments. UK analysed the data. KK, FM and CYÖ drafted manuscript. AE, KK and BÇA edited the manuscript. All authors read and approved the manuscript.

Funding information IM was supported by a scholarship from the Turks Abroad and Related Communities (YTB) program.

Data archiving statement The NCBI accession numbers of the *Vitis vinifera* protein sequences used in phylogenetic analysis are given in the text and also in Supplementary Table 1.

References

Artur MAS, Zhao T, Ligterink W, Schranz ME, Hilhorst HW (2018) Dissecting the genomic diversification of LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT (LEA) protein gene families in plants. Genome Biol Evol 11(2):459–471. https://doi.org/10.1093/gbe/evy248

Bartels D, Sunkar R (2005) Drought and salt tolerance in plants. Crit Rev Plant Sci 24:23–58. https://doi.org/10.1080/07352680590910410

Battaglia M, Covarrubias AA (2013) Late embryogenesis abundant (LEA) proteins in legumes. Front Plant Sci 4:190. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00190

Bies-Ethève N, Gaubier-Comella P, Debures A, Lasserre E, Jobet E, Raynal M, Cooke R, Delseny M (2008) Inventory, evolution and expression profiling diversity of the LEA (late embryogenesis abundant) protein gene family in *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol Biol 67:107–124. https://doi.org/10.1007/s11103-008-9304-x

Cao J, Li X (2015) Identification and phylogenetic analysis of late embryogenesis abundant proteins family in tomato (*Solanum lycopersicum*). Planta 241:757–772. https://doi.org/10.1007/s00425-014-2215-y

Cao Y, Xiang X, Geng M, You Q, Huang X (2017) Effect of HbDHN1 and HbDHN2 genes on abiotic stress responses in Arabidopsis. Front Plant Sci 8:470. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00470

Celik Altunoglu Y, Baloglu MC, Baloglu P, Yer EN, Kara S (2017) Genome-wide identification and comparative expression analysis of LEA genes in watermelon and melon genomes. Physiol Mol Biol Plants 23:5–21. https://doi.org/10.1007/s12298-016-0405-8

Charfeddine S, Saïdi MN, Charfeddine M, Gargouri-Bouzid R (2015) Genome-wide identification and expression profiling of the late embryogenesis abundant genes in potato with emphasis on dehydrins. Mol Biol Rep 42:1163–1174. https://doi.org/10.1007/s11033-015-3853-2

Close TJ (1996) Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. Physiol Plant 97:795–803. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00546.x

Cramer GR, Ergül A, Grimplet J, Tillett RL, Tattersall EA, Bohlman MC, Vincent D, Sonderegger J, Evans J, Osborne C, Quilici D, Schlauch KA, Schooley DA, Cushman JC (2007) Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. Funct Integr Genomics 7:111–134. https://doi.org/10.1007/s10142-006-0039-y

Dai X, Zhuang Z, Zhao PX (2018) psRNATarget: a plant small RNA target analysis server (2017 release). Nucleic Acids Res 46(W1):W49–W54. https://doi.org/10.1093/nar/gky316

Daldoul S, Guillaumie S, Reustle GM, Krczal G, Ghorbel A, Delrot S, Mliki A, Höfer MU (2010) Isolation and expression analysis of salt induced genes from contrasting grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. Plant Sci 179:489–498. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.07.017

Du D, Zhang Q, Cheng T, Pan H, Yang W, Sun L (2013) Genome-wide identification and analysis of late embryogenesis abundant (LEA) genes in *Prunus mume*. Mol Biol Rep 40:1937–1946. https://doi.org/10.1007/s11033-012-2250-3

Gambino G, Perrone I, Gribaudo I (2008) A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. Phytochem Anal 19:520–525. https://doi.org/10.1002/pca.1078

Gao J, Lan T (2016) Functional characterization of the late embryogenesis abundant (LEA) protein gene family from *Pinus tabuliformis* (Pinaceae) in *Escherichia coli*. Sci Rep 6:19467. https://doi.org/10.1038/srep19467

Gao C, Liu Y, Wang C, Zhang K, Wang Y (2014) Expression profiles of 12 late embryogenesis abundant protein genes from *Tamarix hispida* in response to abiotic stress. Sci World J 2014:1–9. https://doi.org/10.1155/2014/868391

Godoy JA, Lunar R, Torres-Schumann S, Moreno J, Rodrigo RM, Pintor-Toro JA (1994) Expression, tissue distribution and subcellular localization of dehydrin TAS14 in salt-stressed tomato plants. Plant Mol Biol 26:1921–1934

Hanana M, Deluc L, Fouquet R, Daldoul S, Léon C, Barrieu F, Ghorbel A, Mliki A, Hamdi S (2008) Identification et caractérisation d'un gène de réponse à la déshydratation rd22 chez la vigne (Vitis vinifera L.). C R Biologies 331:569–578. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.05.002

Hand SC, Menze MA, Toner M, Boswell L, Moore D (2011) LEA proteins during water stress: not just for plants anymore. Annu Rev Physiol 73:115–134. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142203

Hanin M, Brini F, Ebel C, Toda Y, Takeda S, Masmoudi K (2011) Plant dehydrins and stress tolerance: versatile proteins for complex mechanisms. Plant Signal Behav 6:1503–1509. https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17088

Hopper DW, Ghan R, Cramer GR (2014) A rapid dehydration leaf assay reveals stomatal response differences in grapevine genotypes. Hortic Res 1:2. https://doi.org/10.1038/hortres.2014.2

Howell GS (1987) *Vitis* rootstocks. In: Rom RC, Carlson RF (Eds.), Rootstocks for fruit crops. A Wiley Pinter Science Publication, John Wiley and Sons, NewYork, Inc p. 451–72.

Huang Z, Zhong XJ, He J, Jin SH, Guo HD, Yu XF, Zhou Y-J, Li X, Ma MD, Chen QB, Long H (2016) Genome-wide identification, characterization, and stress-responsive expression profiling of genes encoding LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins in Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*). PLoS One 11:e0165953. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165953

Hundertmark M, Hincha DK (2008) LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in Arabidopsis thaliana. BMC Genomics 9:118. https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-118

Ingram J, Bartels D (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annu Rev Plant Biol 47:377–403. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.377

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Mol Biol Evol 35:1547–1549. https://doi.org/10.1093/molbev/msy096

Lan T, Gao J, Zeng QY (2013) Genome-wide analysis of the LEA (late embryogenesis abundant) protein gene family in *Populus trichocarpa*. Tree Genet Genomes 9:253–264. https://doi.org/10.1007/s11295-012-0551-2

Li X, Cao J (2016) Late Embryogenesis Abundant (LEA) gene family in maize: identification, evolution, and expression profiles. Plant Mol Biol Report 34:15–28. https://doi.org/10.1007/s11105-015-0901-y

Liang Y, Xiong Z, Zheng J, Xu D, Zhu Z, Xiang J, Gan J, Raboanatahiry N, Yin Y, Li M (2016) Genome-wide identification, structural analysis and new insights into late embryogenesis abundant (LEA) gene family formation pattern in *Brassica napus*. Sci Rep 6:24265. https://doi.org/10.1038/srep24265

Ling H, Zeng X, Guo S (2016) Functional insights into the late embryogenesis abundant (LEA) protein family from *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) using an *Escherichia coli* system. Sci Rep 6:39693. https://doi.org/10.1038/srep39693

Liu Y, Wang L, Xing X, Sun L, Pan J, Kong X, Zhang M, Li D (2013) ZmLEA3, a multifunctional group 3 LEA protein from maize (*Zea mays* L.), is involved in biotic and abiotic stresses. Plant Cell Physiol 54:944–959. https://doi.org/10.1093/pcp/pct047

Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods 25:402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Luo D, Hou X, Zhang Y, Meng Y, Zhang H, Liu S, Wang X, Chen R (2019) CaDHN5, a dehydrin gene from pepper, plays an important role in salt and osmotic stress responses. Int J Mol Sci 20:E1989. https://doi.org/10.3390/ijms20081989

Magwanga RO, Lu P, Kirungu JN, Lu H, Wang X, Cai X, Zhou Z, Zhang Z, Salih H, Wang K, Liu F (2018a) Characterization of the late embryogenesis abundant (LEA) proteins family and their role in drought stress tolerance in upland cotton. BMC Genet 19:6. https://doi.org/10.1186/s12863-017-0596-1

Magwanga RO, Lu P, Kirungu JN, Dong Q, Hu Y, Zhou Z, Cai X, Wang X, Hou Y, Wang K, Liu F (2018b) Cotton Late Embryogenesis Abundant (LEA2) genes promote root growth and confer drought stress tolerance in transgenic Arabidopsis thaliana. G3 (Bethesda) 8:2781–2803. https://doi.org/10.1534/g3.118.200423

Mirás-Avalos JM, Intrigliolo DS (2017) Grape composition under abiotic constrains: water stress and salinity. Front Plant Sci 8:851. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00851

Mota APZ, Oliveira TN, Vinson CC, Williams TCR, Costa MMC, Araujo ACG, Danchin EGJ, Grossi-de-Sá MF, Guimaraes PM, Brasileiro ACM (2019) Contrasting effects of wild Arachis dehydrin under abiotic and biotic stresses. Front Plant Sci 10:497. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.004

Mullins MG, Bouquet A, Williams LE (1992) Biology of the grapevine. Cambridge University Press. p. 239

Muvunyi B, Yan Q, Wu F, Min X, Yan Z, Kanzana G, Wang Y, Zhang J (2018) Mining Late Embryogenesis Abundant (LEA) family genes in *Cleistogenes songorica*, a xerophyte perennial desert plant. Int J Mol Sci 19:3430. https://doi.org/10.3390/ijms19113430

Nagaraju M, Kumar SA, Reddy PS, Kumar A, Rao DM, Kavi Kishor PB (2019) Genome-scale identification, classification, and tissue specific expression analysis of late embryogenesis abundant (LEA) genes under abiotic stress conditions in Sorghum bicolor L. PLoS One 14:e0209980. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209980

Padgett-Johnson M, Williams LE, Walker MA (2003) Vine water relations, gas exchange, and vegetative growth of seventeen Vitis species grown under irrigated and nonirrigated conditions in California. J Amer Soc Hort Sci 128(2):269–276. https://doi.org/10.21273/JASHS.128.2.0269

Pagliarani C, Vitali M, Ferrero M, Vitulo N, Incarbone M, Lovisolo C, Valle G, Schubert A (2017) The accumulation of miRNAs differentially modulated by drought stress is affected by grafting in grapevine. Plant Physiol 173:2180–2195. https://doi.org/10.1104/pp.16.01119

Pantaleo V, Vitali M, Boccacci P, Miozzi L, Cuozzo D, Chitarra W, Mannini F, Lovisolo C, Gambino G (2016) Novel functional microRNAs from virus-free and infected *Vitis vinifera* plants under water stress. Sci Rep 6:20167. https://doi.org/10.1038/srep20167

Parra CS, Aguirreolea J, Sánchez-Díaz M, Irigoyen JJ, Morales F (2010) Effects of climate change scenarios on Tempranillo grapevine (*Vitis vinifera* L.) ripening: response to a combination of elevated CO_2 and temperature, and moderate drought. Plant Soil 337:179–191. https://doi.org/10.1007/s11104-010-0514-z

Paul A, Kumar S (2013) Dehydrin2 is a stress-inducible, whereas Dehydrin1 is constitutively expressed but up-regulated gene under varied cues in tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. Mol Biol Rep 40:3859–3863. https://doi.org/10.1007/s11033-012-2466-2

Pedrosa AM, Martins CDPS, Gonçalves LP, Costa MGC (2015) Late Embryogenesis Abundant (LEA) constitutes a large and diverse family of proteins involved in development and abiotic stress responses in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osb.). PLoS One 10:e0145785. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145785

Pelah D, Wang W, Altman A, Shoseyov O, Bartels D (1997) Differential accumulation of water stress-related proteins, sucrose synthase and soluble sugars in Populus species that differ in their water stress response. Physiol Plant 99:153–159. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03443.x

Prior LD, Grieve AM, Slavich PG, Cullis BR (1992) Sodium chloride and soil texture interactions in irrigated field grown Sultana grapevines. III. Soil and root system effects. Aust J Agric Res 43:1085–1100. https://doi.org/10.1071/AR9921085

Roubelakis-Angelakis KA, Zivanovitc SB (1991) A new culture medium for in vitro rhizogenesis of grapevine (Vitis spp.) genotypes. HortSci 26:1551–1553

Serra I, Strever A, Myburgh PA, Deloire A (2014) The interaction between rootstocks and cultivars (Vitis vinifera L.) to enhance drought tolerance in grapevine. Aust J Grape Wine Res 20:1–14. https://doi.org/10.1111/ajgw.12054

Sharma A, Kumar D, Kumar S, Rampuria S, Reddy AR, Kirti PB (2016) Ectopic expression of an atypical hydrophobic group 5 LEA protein from wild peanut, *Arachis diogoi* confers abiotic stress tolerance in tobacco. PLoS One 11:e0150609. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150609

Suprunova T, Krugman T, Fahima T, Chen G, Shams I, Korol A, Nevo E (2004) Differential expression of dehydrin genes in wild barley, *Hordeum spontaneum*, associated with resistance to water deficit. Plant Cell Environ 27:1297–1308. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01237.x

Tattersall EA, Grimplet J, DeLuc L, Wheatley MD, Vincent D, Osborne C, Ergül A, Lomen E, Blank RR, Schlauch KA, Cushman JC, Cramer GR (2007) Transcript abundance profiles reveal larger and more complex responses of grapevine to chilling compared to osmotic and salinity stress. Funct Integr Genomics 7:317–333

Vincent D, Ergül A, Bohlman MC, Tattersall EA, Tillett RL, Wheatley MD, Woolsey R, Quilici DR, Joets J, Schlauch K, Schooley DA, Cushman JC, Cramer GR (2007) Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity. J Exp Bot 58:1873–1892. https://doi.org/10.1093/jxb/erm012

Wang W, Vinocur B, Altman A (2003) Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta 218:1–14. https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5

Wang XS, Zhu HB, Jin GL, Liu HL, Wu WR, Zhu J (2007) Genome-scale identification and analysis of LEA genes in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Sci 172:414–420. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.10.004

Wong DCJ, Lopez Gutierrez R, Gambetta GA, Castellarin SD (2017) Genome-wide analysis of cis-regulatory element structure and discovery of motif-driven gene co-expression networks in grapevine. DNA Res 24:311–326

Wu C, Hu W, Yan Y, Tie W, Ding Z, Guo J, He G (2018) The Late Embryogenesis Abundant protein family in cassava (*Manihot esculenta* Crantz): genome-wide characterization and expression during abiotic stress. Molecules 23:1196. https://doi.org/10.3390/molecules23051196

Xiao H, Nassuth A (2006) Stress-and development-induced expression of spliced and unspliced transcripts from two highly similar dehydrin 1 genes in *V. riparia* and *V. vinifera*. Plant Cell Rep 25:968–977. https://doi.org/10.1007/s00299-006-0151-4

Yang Y, He M, Zhu Z, Li S, Xu Y, Zhang C, Singer SD, Wang Y (2012) Identification of the dehydrin gene family from grapevine species and analysis of their responsiveness to various forms of abiotic and biotic stress. BMC Plant Biol 12:140. https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-140

Yang J, Zhao S, Zhao B, Li C (2018) Overexpression of TaLEA3 induces rapid stomatal closure under drought stress in *Phellodendron amurense* Rupr. Plant Sci 277:100–109. https://doi.org/10.1007/s00299-006-0151-4

Yu CS, Chen YC, Lu CH, Hwang JK (2006) Prediction of protein subcellular localization. Proteins: structure, Funct Bioinformatics 64:643–651

Zhu JK, Hasegawa PM, Bressan RA, Bohnert HJ (1997) Molecular aspects of osmotic stress in plants. Crit Rev Plant Sci 16:253–277. https://doi.org/10.1080/07352689709701950

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.