

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

P. vulgaris'te ABİYOTİK STRES TOLERANSI İÇİN GENOM ÇAPINDA
YAKLAŞIMLAR: GATA GENİNE ÖZGÜ BİYOBİYOİNFORMATİK ANALİZLER
VE EVRİMSEL SÜREÇLER

Zehra ŞAFAK

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2023

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

P. vulgaris'te ABİYOTİK STRES TOLERANSI İÇİN GENOM ÇAPINDA YAKLAŞIMLAR: GATA GENİNE ÖZGÜ BİYOİNFORMATİK ANALİZLER VE EVİRİMSEL SÜREÇLER

Zehra ŞAFAK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İlker BÜYÜK

Transkripsiyon faktörleri (TF), hedef gen üzerindeki promotör bölgeler içerisinde yer alan spesifik dizileri tanıyarak DNA'ya bağlanabilen proteinlerdir. TF'ler, bitki gelişiminde, sirkadiyen ritimde, protein etkileşimlerinde ve farklı bitki türlerinin çeşitli hastalıklara karşı direnç kazanmasında etkin bir role sahiptir. GATA transkripsiyon faktörü, bitkide hemen hemen bütün dokularda bulunan, organ oluşumu ve morfogenez, çimlenme, klorofil pigmentinin sentezi ve çevresel stres faktörlerine karşı tepkileri düzenleyen bir protein grubudur. GATA transkripsiyon faktörü, yüksek oranda korunmuş tip IV çinko parmak yapısına sahiptir. Bu tez çalışmasında, fasulye bitkisinde bulunan 32 adet GATA gen ailesi üyesi tespit edilmiştir. Belirlenen PvGATA genlerinin ekzon-intron yapısı, kromozomlar üzerindeki dağılımı, korunmuş motif yapısı, filogenetik ilişkisi, tandem ve segmental gen duplikasyonları, seçilen 2 farklı tür ile fasulye bitkisi arasındaki sentenik ilişki, cis-element analizi, üç boyutlu protein homoloji analizi ve miRNA analizleri gerçekleştirilmiştir. Stresle ilgili cis-elementleri barındıran ve RNA-seq verileri analizlerine göre seçilen genlerin qPCR analizi ile ekspresyon seviyelerine bakılmıştır. Tüm analizler sonucu elde edilen verilere göre PvGATA genlerinin yapısı, görevi, korunmuş bölgeleri, abiyotik stres altında geliştirdiği yanıtlar açıklanmaya çalışılmış olup gen duplikasyonları ve filogenetik analiz sonuçlarıyla birlikte fasulyede bulunan GATA genlerinin evrimsel süreci hakkında bilgi edinilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen verilerin ileride gerçekleştirilecek çalışmalara yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Eylül 2023, 90 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Fasulye (*Phaseolus vulgaris*), transkripsiyon faktörleri, GATA proteinleri, biyoinformatik analizler, abiyotik stres, gen ifadesi

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

GENOME-WIDE APPROACHES FOR ABIOTIC STRESS TOLERANCE IN *P. vulgaris*: GATA GENE-SPECIFIC BIOINFORMATIC ANALYZES AND EVOLUTIONARY PROCESSES

Zehra ŞAFAK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. İlker BÜYÜK

Transcription factors (TF) are proteins that can bind to DNA by recognizing specific sequences within the promoter regions on the target gene. TF's have an active role in plant development, circadian rhythm, protein interactions and resistance of different plant species against various diseases. The GATA transcription factor is a group of proteins found in almost all tissues of the plant, regulating organ formation and morphogenesis, germination, synthesis of chlorophyll pigment, and responses to environmental stress factors. The GATA transcription factor has a highly conserved type IV zinc finger structure. In this thesis study, 32 *GATA* gene family members were identified in the bean plant. Exon-intron structure of determined *PvGATA* genes, distribution on chromosomes, conserved motif structure, phylogenetic relationship, tandem and segmental gene duplications, syntenic relationship between 2 selected different species and bean plant, cis-element analysis, three-dimensional protein homology analysis and miRNA analyzes were performed. Expression levels of genes containing stress-related cis-elements and selected according to RNA-seq data analysis were examined by qPCR analysis. According to the data obtained as a result of all analyzes, the structure, function, conserved regions of *PvGATA* genes, the responses developed under abiotic stress were tried to be explained, and information was obtained about the evolutionary process of *GATA* genes in bean with the results of gene duplications and phylogenetic analysis. It is thought that the data obtained in the thesis study can help future studies.

September 2023, 90 Pages

Keywords: Beans (*Phaseolus vulgaris*), transcription factors, GATA proteins, bioinformatics analyses, abiotic stress, gene expression

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca, bilgi ve birikimleri yoluma ışık tutan, yürümeye çalıştığım bu yolda öneri ile bana çok değerli tavsiyeler veren ve gerek akademik gerekse günlük yaşantımı şekillendirmemde büyük rolü olan danışman hocam Doç. Dr. İlker BÜYÜK'e (Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı), değerli görüşleri ile destek veren sayın hocam Prof. Dr. Emine Sümer ARAS'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca hem çalışmalarım hem diğer tüm konularda kendi yoğunluğuna rağmen benden yardımını esirgemeyen, her zaman destek olan değerli arkadaşım Aybüke OKAY'a ve bana arkadaşlık eden Bitki Moleküler Biyolojisi Laboratuvarı'nın değerli üyelerine,

Tez çalışması boyunca bana sonsuz desteklerini sunan çalışma arkadaşlarım Ezgi KOÇ, İrem ÖZERSAY, Melis TEMEL ve Gizem ÖRS'e,

Eğitim hayatım boyunca bana her konuda koşulsuz destek olan, bu günlere gelmemin en büyük sebebi olan, sevgisini ve desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen canım annem Sıdıka TAHMAZ, babam Mahmut TAHMAZ ve ablam Ayşegül TAHMAZ YÖRÜK'e,

Bu sürecin en başından bu yana her durumda her an yanımda olan beni sonsuz destekleyen ve motivasyonumu sağlayan sevgili eşim Orhun Esat ŞAFAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Zehra TAHMAZ ŞAFAK
Ankara, Eylül 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Kuramsal Temeller	3
2.1.1 Fasulye bitkisi (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	3
2.1.2 Fasulyenin tarihçesi	4
2.1.3 Fasulye bitkisinin dünyadaki ve Türkiye’deki ekonomik açıdan değeri	5
2.1.4 Fasulyede bitkisinde görülen hastalıklar	9
2.1.5 Bitkide stres	12
2.1.6 Tuz stresi	13
2.1.7 Soğuk stresi	14
2.1.8 Kuraklık stresi	15
2.1.9 Kuraklık stresinin olumsuz etkileri	15
2.1.10 Bitki su ve fotosentez ilişkisi	17
2.1.11 Mineral besinlerin alımı	17
2.1.12 Transkripsiyon faktörleri, yapıları ve sınıflandırılması	18
2.1.13 GATA transkripsiyon faktörü	20
2.2 Kaynak Özetleri	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1 GATA Proteinlerinin Fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) Bitkisi Genomunda Tanımlanması	23
3.2 GATA Gen Ailesi Dizilerin Hizalanması Filogenetik Analizler ve Korunmuş Motiflerinin Belirlenmesi	27

3.3 GATA Proteinlerinin Üç Boyutlu Modellemesi	29
3.4 GATA Gen Ailesi Duplikasyonları ve <i>A.thaliana</i> , <i>G.max</i> Türleri ile Fiziksel Haritanın Oluşturulması	30
3.5 PvGATA Genlerinin Kromozomal Dağılımı ve Promotor Bölgelerinin Belirlenmesi.....	31
3.6 Sinteni Analizi	33
3.7 PvGATA Genlerinin MikroRNA (miRNA) Analizi.....	33
3.8 PvGATA Genleri In Siliko Gen İfade Analizi	34
3.9 Bitki Materyalleri, Büyüme koşulları ve Stres Muamelesi	35
3.10 Total RNA İzolasyonu	40
3.11 Komplementer DNA (cDNA) Sentezi	42
3.12 Primer Dizaynı	42
3.13 Real-Time PCR analizi	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	46
4.1 PvGATA Genlerinin Biyoinformatiksel Analizi.....	46
4.2 PvGATA Genlerinin Kromozomal Dağılımı	49
4.3 PvGATA Genlerinin Türler arası Filogenetik Analizi	49
4.4 PvGATA Üyelerinin Korunmuş Motif Bölgeleri	51
4.5 GATA Proteinleri Üç Boyutlu Modellemeleri.....	54
4.6 GATA Genlerinin Gen Duplikasyonları ve Sinteni Analizi.....	57
4.7 PvGATA Genlerinde Promotor Bölge Analizi	59
4.8 PvGATA Transkriptlerini Hedef Alan miRNAların Tanımlanması	60
4.9 PvGATA Proteinlerinin Hücre İçi Yerleşimleri.....	63
4.10 PvGATA Genleri Doku-Spesifik mRNA Seviyeleri	64
4.11 PvGATA Genlerinin Kuraklık Stresi ile İfade Seviyeleri Değişimi	65
4.12 Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi	67
4.13 PvGATA Genlerinin Gerçek Zamanlı PCR Analizi ve mRNA Düzeyleri.....	69
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	72
KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ.....	89

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
~	Yaklaşık Olarak
°	Derece

Kısaltmalar

µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
aa	Aminoasit
ACT	Aktin
BLAST	Temel Yerel Hizalama Arama Aracı
C	Santigrat
cDNA	Komplementer DNA
cm	Santimetre
Da	Dalton
DNA	Deoksiribonükleik asit
FAO	Food and Agriculture Organization
gr	Gram
ha	Hektar
hg	Hektogram
Ka	Homolog Olmayan Değişim Oranı
kcal	Kilokalori
Ks	Homolog Değişim Oranı
L	Litre
M	Molar
m	Metre
mg	Miligram
miRNA	MikroRNA
mM	Milimolar
mmol	Milimol
MYÖ	Milyon Yıl Önce
ng	Nanogram
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pI	İzoelektrik etki değeri
RT-PCR	Gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
sn	Saniye
TF	Transkripsiyon Faktörü
Tm	Erime sıcaklığı
v	Hacim

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Üretimde önemli ülkeler (%) (TEPGE, 2023)	6
Şekil 2.2 Fasulye ekim alanları ülkelere göre dağılımı (%) (TEPGE, 2023).....	7
Şekil 2.3 2015-2020 yılı Türkiye fasulye ekim alanı ve ürün miktarı	8
Şekil 3.1 Bitkideki transkripsiyon faktörleri veri tabanı (PlantTFDB).....	23
Şekil 3.2 Phytozome 13 veri tabanı arayüzü.....	24
Şekil 3.3 NCBI blast veri tabanı arayüzü.....	25
Şekil 3.4 Expasy decrease redundancy çevrimiçi aracı	26
Şekil 3.5 Expasy protparam çevrimiçi aracı	26
Şekil 3.6 MEGA v11.0 yazılımı arayüzü	27
Şekil 3.7 iTOLv6.8 çevrimiçi aracı.....	28
Şekil 3.8 Gene Structure Display Server 2.0.....	28
Şekil 3.9 Multiple Em for Motif Elicitation (MEME) v5.5.3	29
Şekil 3.10 Phyre2 v2.0	30
Şekil 3.11 TBtools basit Ka/Ks hesaplama	31
Şekil 3.12 TBtools gen lokasyonu	32
Şekil 3.13 Plantcare çevrimiçi aracı.....	32
Şekil 3.14 PmiREN Plant MicroRNA Encyclopedia çevrimiçi aracı	33
Şekil 3.15 psRNATarget çevrimiçi aracı	34
Şekil 3.16 Cytoscape v3.10	34
Şekil 3.17 Fasulye tohumlarının viyollere ekildiği ilk gün (09.05.23)	36
Şekil 3.18 Tohum ekiminden 2 gün sonrası (11.05.23)	36
Şekil 3.19 Bitkinin topraktan çıktığı ilk görseller (13.05.23)	36
Şekil 3.20 Bitkinin büyüme evresi (14.05.23)	37
Şekil 3.21 Bitki yaprak ve gövdenin büyüme evresi (15.05.23).....	37
Şekil 3.22 Kontrol ve stres grubu karşılaştırması (17.05.23).....	37
Şekil 3.23 Kuraklık stresi uygulaması sonrasındaki değişimler (23.05.23).....	38
Şekil 3.24 Kuraklık stresi uygulamasından 1 hafta sonrası (24.05.23).....	38
Şekil 3.25 3 bitki seçilerek takibi yapılmıştır (18.05.23).....	39
Şekil 3.26 Seçilen bitkilerin görselleri (19.05.23)	39
Şekil 3.27 Bitkilerin 20.05.23 tarihindeki görselleri.....	39

Şekil 3.28 Bitkilerin 23.05.23 tarihindeki görselleri.....	40
Şekil 3.29 Bitkiler arasından rastgele seçilen kontrol ve stres grubu görselleri (24.05.23)	40
Şekil 3.30 IDT çevrimiçi aracı	43
Şekil 3.31 Graphpad Prism 9.0.0.121 yazılımı	45
Şekil 4.1 <i>PvGATA</i> genlerinin kromozomal dağılımı	49
Şekil 4.2 GATA proteinlerinin filogenetik sınıflandırılması	51
Şekil 4.3 GATA proteinleri motif ve domain bölgeleri	53
Şekil 4.4 Proteinlerin üç boyutlu modellemeleri.....	54
Şekil 4.5 Proteinlerin üç boyutlu modellemeleri.....	55
Şekil 4.6 Proteinlerin üç boyutlu modellemeleri.....	56
Şekil 4.7 Proteinlerin üç boyutlu modellemeleri.....	57
Şekil 4.8 <i>PvGATA</i> genlerinin tandem ve segmental duplikasyonları	58
Şekil 4.9 <i>P.vulgaris</i> - <i>A.thaliana</i> arasındaki sentenik ilişki.....	59
Şekil 4.10 <i>P.vulgaris</i> - <i>G.max</i> arasındaki sentenik ilişki.....	59
Şekil 4.11 <i>PvGATA</i> genlerinin 1500 upstream bölgesinde bulunan cis-elementlerin gösterimi	60
Şekil 4.12 <i>PvGATA</i> 'yı hedefleyen miRNA'lar	62
Şekil 4.13 <i>PvGATA</i> genleri doku-spesifik mRNA ekspresyon seviyeleri ısı haritası.....	65
Şekil 4.14 <i>PvGATA</i> genlerinin tuz stresi altındaki ifadelerini gösteren ısı haritası	66
Şekil 4.15 <i>PvGATA</i> genlerinin kuraklık stresi altındaki ifadelerini gösteren ısı haritası	67
Şekil 4.16 Seçili <i>PvGATA</i> genlerine ait mRNA ifade analiz grafikleri. (* P <0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 ve **** P<0.0001 Çoklu t testi)	71

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Türkiye’de yıllara göre fasulye üretimi (ton).....	7
Çizelge 2.2 Türkiye’de fasulye tüketimi.....	8
Çizelge 3.1 cDNA sentezi reaksiyon koşulları	42
Çizelge 3.2 Primer dizileri, bağlanma sıcaklıkları, baz sayısı ve GC oranı.....	43
Çizelge 3.3 Reaksiyon bileşenleri ve miktarları	44
Çizelge 3.4 Reaksiyon koşulları.....	44
Çizelge 4.1 <i>Phaseolus vulgaris</i> bitkisinde bulunan GATA genlerinin kataloğu	47
Çizelge 4.2 PvGATA proteinlerinin hücre içi konumları	63
Çizelge 4.3 Nanodrop spektrofotometre RNA ölçüm sonuçları	68
Çizelge 4.4 cDNA saflık ve miktar sonuçları	69

1. GİRİŞ

Leguminosae ailesinin *Phaseolus* cinsinin bir üyesi olan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), besin değerinin yüksek ve ulaşılabilirliğinin kolay olmasından dolayı dünyada yaygın olarak tüketilen bakliyatlardan biridir. Tarımsal ve ekonomik açıdan önemli bir değere sahip olan fasulyenin, Orta ve Güney Amerika kökenli olup zamanla Avrupa ve Asya'da üretiminin yaygınlaşmasıyla birlikte günümüzde dünyanın pek çok yerinde tarımı yapılmaktadır. İçeriğinin protein, diyet lifi, vitamince zengin olması ve düşük yağ oranıyla birlikte düzenli olarak tüketildiğinde insan sağlığını destekleyici bir özelliktedir. Turşu olarak, konserve halinde, kurutularak ve yeşil halde olmak üzere farklı şekillerde tüketime hazır hale getirilebilir. Ekonomik bakımdan, beslenme için gerekli olan diğer protein kaynaklarına kıyasla ucuz olması sebebiyle tüketimi yaygındır. Ayrıca son zamanlarda, farklı nedenlere bağlı olarak tercih edilen vejetaryen beslenme alışkanlığı yaygınlaşmaya başlamıştır. Vejetaryen diyetlerin farklı sınıflandırılmaları bulunsa da temel olarak bitkisel protein kaynaklı olarak beslenme esastır. Proteince zengin bir içeriğe sahip olan fasulye vejetaryen beslenme alışkanlığında temel bir yere sahiptir.

Baklagiller arasında, dünyada en geniş tarım alanına sahip olan, fasulye bitkisinin, 126 ülkede ekimi yapılmaktadır. Asya ve Amerika kıtaları başta olmak üzere özellikle kuru fasulye ekim alanları son on yıl içerisinde artış göstermiştir. Yaklaşık olarak yıllık 18.9 milyon ton fasulye üretimi yapılmaktadır (FAOSTAT, 2015).

Transkripsiyon faktörleri, hedef gen üzerindeki promotor bölgeler içerisinde yer alan, spesifik dizileri tanıyarak DNA'ya bağlanabilen proteinlerdir. TF'ler, protein kodlayan genlerin ekspresyonunda etkin bir role sahiptirler. Çeşitli bitki türlerinde TF'ler, bitkinin gelişiminde, sirkadiyen ritminde, bitkinin karbon ve nitrojen seviyelerinin değişiminde, protein etkileşiminde, hastalık direncinde görev alırlar. Bitkilerde bulunan TF ailesinin üyelerinden *GATA* gen ailesi ise, DNA'ya belli bir alanda bağlanabilme karakterinde olup, kloroplast gelişimi, fotosentez, tohum çimlenmesi, çiçek gelişimi, karbon ve nitrojen metabolizmaları gibi birçok biyolojik süreç için önemli düzenleyiciler olarak karakterize edilir (Kim vd., 2021).

Yapılan bu tez çalışmasında fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinde *GATA* gen ailesi üyelerinin biyoinformatik uygulamalarla genom düzeyinde tanımlanması ve tanımlanan *GATA* genlerinin çeşitli abiyotik stresler (kuraklık) ile olan ilişkisi ve bu stres koşullarında mRNA düzeyinde ifade seviyesinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaç kapsamında kuraklık stresi altında *PvGATA* genlerinin ifade seviyesi, qRT-PCR yöntemi ile araştırılmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kuramsal Temeller

2.1.1 Fasulye bitkisi (*Phaseolus vulgaris* L.)

Phaseolus vulgaris, *Leguminosae* veya *Fabaceae* familyasına ait Faboidaeae alt familyasında *Phaseolus* cinsine ait yaklaşık 20.000 türden biridir (Christenhusz & Byng, 2016). *Fabaceae* bitki ailesi, yaklaşık olarak kapsamış olduğu 730 cins ve 19.400 tür ile dünyada ki en büyük çiçekli familyalar arasında 3. sıradadır (Corrado, 2022). *Fabaceae* ailesine ait bitkiler, genellikle meyveleri olan ve insanlar tarafından tüketilebilen baklagiller, yem olarak kullanılan baklagillerdir (Vainio vd., 2016). Ayrıca bu ailedeki bazı bitki grupları, tatlandırıcı üretiminde, boya üretiminde ve tıbbi amaçlı olarak da kullanılabilmektedir (Ahmad vd., 2016). *Fabaceae* ailesinin bir üyesi olan, Güney ve Orta Amerika kökenli olduğu bilinen fasulye (*P. vulgaris* L.), çevresel koşullara hızlı adaptasyon sağladığı için buradan farklı kıtalara ve geniş üretim alanlarına yayılarak küresel ölçekte baklagiller arasında değerli bir tahıl haline gelmiştir. Genellikle ılıman bölgeler, yağışın ortalama 400 mm, sıcaklığın yaklaşık 10°C ile 30°C arasında olduğu yerler fasulye üretimi için uygun alanlardır (Myers & Kmiecik, 2017a). Morfolojik yapı, biyokimyasal özellikleri ve moleküler düzeyde farklılıkları üzerine yapılan çalışmalarda fasulyenin iki ana gen havuzu olduğu belirlenmiştir (KARAMAN vd., 2022). Bunlar Mezoamerikan ve And gen havuzudur. Mezoamerikan gen havuzunda bulunan fasulyeler genotipleri bakımından orta ve küçük tohumlara sahipken Andean gen havuzundaki fasulyeler büyük tohumlara sahiptir. Genel olarak on bir kromozom çiftine sahip diploit yapıda, genom uzunluğu 473 Mb ve kendi kendine tozlaşabilen tek yıllık otsu bitkilerdir (Gupta vd., 2019). Morfolojik açıdan çok sayıda yan köklere sahip kazık kök yapısına sahip olan fasulyenin kökleri toprak içerisinde herhangi bir engelle karşılaşmadığı sürece 65-100 cm kadar ilerleyebilir. Köklerde bulunan *Rhizobium phaseoli* bakterisi nodül oluşumunu tetikler ve oluşan nodüller yoluyla atmosferdeki azotun bir kısmının toprak içerisinde tutulması sağlanır, bu etkileşim fasulyenin gelişiminde olumlu bir etki gösterir (Yadegari vd., 2008). Azot döngüsünde görev alan nodüller fasulye bitkisinin gelişimiyle birlikte aynı zamanda toprakta bulunan diğer canlıların gelişimi için gerekli olan azotu

toprağa kazandırmaktadır (Bender vd., 2022). Otsu bir gövdeye sahip olan fasulye bitkisinin gövde uzunluğu, büyüme formuna (sırık veya bodur) bağlı olarak değişkenlik gösterir. Sırık veya sarılcı olarak büyüyen formlarında yaklaşık 3 m kadar uzayabilirken, bodur şeklinde büyüyenlerde 30-60 cm kadar uzama görülür. Gövdenin üzerinde tüyler mevcut olup gövde rengi çiçek rengine bağlı olarak yeşil, pembe veya kırmızı olabilir (Mızrak, 2020). Yapraklar, ilk çıkan yapraklar (kotiledonlar) ve gerçek yapraklar olarak ikiye ayrılabilirler. Kotiledonlar, ilk oluştuklarında renksiz bir yapıda olup güneş ışığı almalarıyla birlikte yeşil renk alarak fotosentezde görev alırlar (Wortmann vd., 2006b). Genellikle karşılıklı iki yapraktan oluşup, boyut olarak diğer yapraklardan farklıdırlar. Bitkinin büyüme sırasında gereksinim duyduğu besin ve enerjiyi sağlama, temel görevlerindendir. Çiçek oluşumu başladığında, kotiledonlar sarararak dökülürler. Gerçek yapraklar, kotiledon yapraklar arasında bulunan büyüme bölgesinden gelişirler (Lim, 2012). Birleşik halde bulunan üç tane yaprak açısız olarak yukarıya doğru bakan bir sap ile gövdeye bağlanmıştır. Fasulye yapraklarının yüzeyinde tüyler bulunmaktadır. Fasulyenin çiçeklerinin yapısı gereği yabancı dölleme önlenir. Çiçekler beyaz, leylak ve mor renklerde olabilirler. Çiçeklenme için optimum sıcaklık değeri 21°C olarak belirlenmiş olup, bodur çeşitlerinde yaklaşık 15 gün; sarmaşıklarda 30 gün sürebilir (Harmsen vd., 1987; Motto vd., 1978). Fasulye çeşidine bağlı olarak, farklı boyutlarda, şekillerde meyve oluşumu görülür. Fasulyenin meyvesi olan bakla dölleme sonrasında yumurtalık kısmında oluşur. Baklalar, enli veya kılçıklı olup olmaması bakımından birbirinden farklılık gösterir. Tohum yapısına bakılacak olursa üç bölümden meydana gelmiştir. Bunlar tohum kabuğu, kotiledon ve embriyo yapısıdır (Mızrak, 2020).

2.1.2 Fasulyenin tarihçesi

Fasulye bitkisi ilk kez Linnaeus tarafından *Phaseolus vulgaris* olarak adlandırılmıştır ve yine Linnaeus tarafından yürütülen çalışmalar doğrultusunda fasulyenin kökeninin Hindistan olduğu varsayılmıştır. Wittmack tarafından, ilerleyen dönemlerde Peru'da Ancon mezarlarında bulunan tarih öncesi fasulye tohumları ile yapılan çalışmalarda, fasulyenin ilk olarak Güney Amerika'da ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır (Brücher, 1988a; ELLISTON, 1975). Fasulye türünün yabani ve kültürleştirilmiş olmak üzere iki farklı formu vardır. Kültürleştirilmiş formdaki genetik çeşitlilik, hem doğa koşulları hem

de yetiştirme tekniklerinin uygulamaları ile evrimleşmenin bir sonucudur (Gepts, 1998). Coğrafik yönden bakıldığında yabani tür fasulyenin Meksika'dan başlayarak Güney Peru ve Kuzeybatı Arjantin'e kadar And dağları boyunca yayıldığı; Peru ve Şili olmak üzere farklı gen havuzundan oluştuğu görülmüştür. Kültür fasulyesinin de Kolombiya'dan Kuzey Meksika'ya kadar uzandığı ve Mezoamerika gen havuzu oluşturduğu görülmüştür. Bu bilgiler doğrultusunda fasulyenin iki ana gen havuzu içerdiği anlaşılmaktadır (Brücher, 1988b; Gepts, 1998; Muchow & Bellamy, 1991). İspanyol ve Portekizli denizciler tarafından 16.yy'da önce Avrupa'ya ardından tüm Dünya'ya yayılmıştır. Asyalı tüccarlar ile Avrupa'dan Anadolu'ya getirilmiştir (Nadeem vd., 2018) Yaklaşık olarak 250 yıldır Anadolu'da tarımı yapıldığı düşünülmektedir (Büyük, 2014). Günümüzde Amerika, Avrupa, Asya ve Afrika'nın ılıman iklim bölgelerinde tarımı yapılmaktadır (Wortmann vd., 2006a).

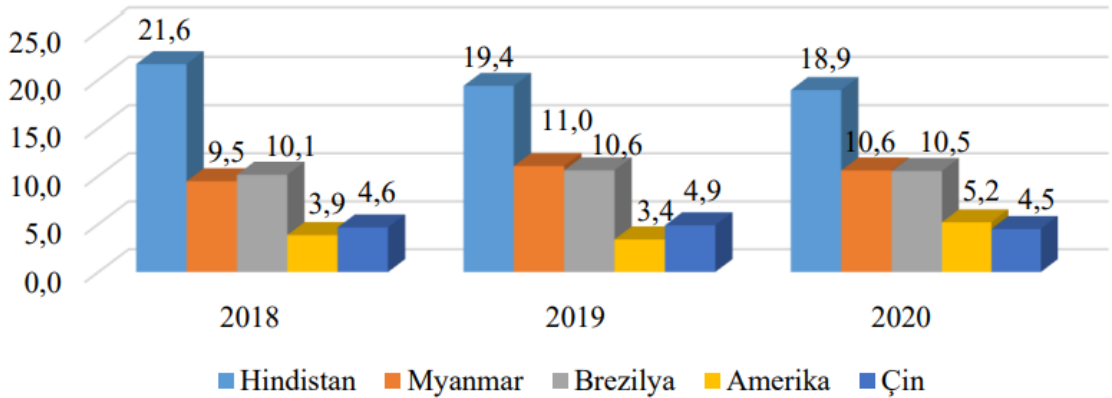
2.1.3 Fasulye bitkisinin dünyadaki ve Türkiye'deki ekonomik açıdan değeri

İnsan popülasyonunun hızla artması, gıda maddelerine olan talebi de günden güne arttırmaktadır. Artan gıda ihtiyacının karşılanabilmesi için gıdaya erişimin ulaşılabilir olması, besin değerinin yüksek olması ve ucuz olması gerekmektedir. Bu parametrelere uygun olan baklagiller arasında bezelye, nohut, mercimek, börülce ve fasulye bulunmaktadır. Yeni Dünya'da ortaya çıkan ve yüksek adaptasyonu nedeniyle üretiminin geniş bir alana dağılmış olan fasulye, küresel ölçekte önemli bir yemeklik tane baklagil haline gelmiştir. Kuru fasulye ucuz ve ulaşılabilir protein kaynağı olmasından dolayı özellikle gelişmekte olan ülkelerde nüfusun beslenme gereksinimlerinin karşılanması, kırsal nüfusun geçiminin sağlanması, özellikle Latin Amerika ülkelerinin geleneksel mutfak kültürlerinde yer alması ve uluslararası ticarete konu olması sebebiyle birçok ülkede üretilmektedir. Türkiye'de de besin açısından önemli bir mahsul olan fasulyenin popülaritesi, üretimin nispeten kolay olması, tüketiminin çok yönlü olması ve zengin içerikli bir besin kaynağı olmasından kaynaklanmaktadır (Myers & Kmiecik, 2017b).

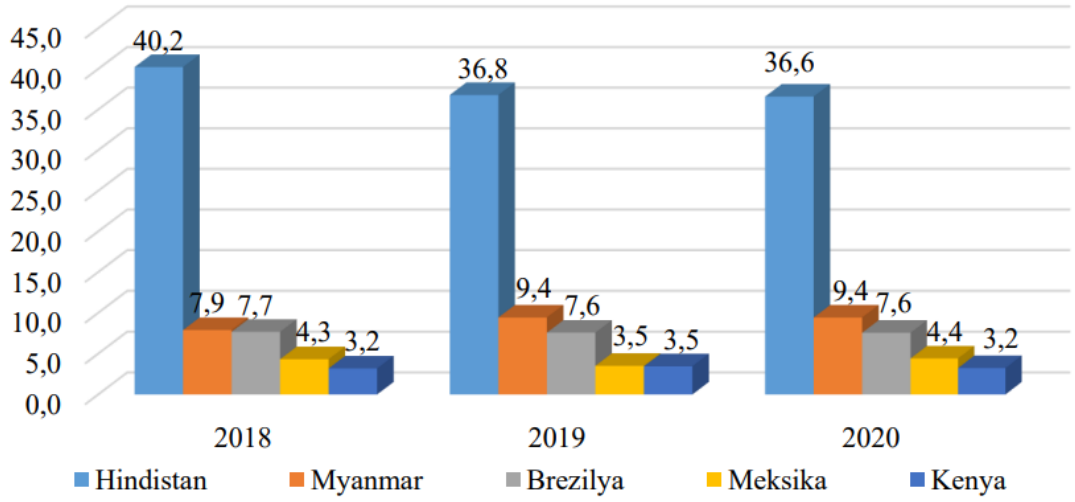
Fasulye dünyada en çok üretimi yapılan baklagil türüdür. Üretimi dünya geneline yayılmış olsa da daha çok Asya ve Amerika kıtasında üretilen fasulyenin ekim alanları FAO verilerine göre, 2019 yılında 34,4 milyon ha iken %3,2 artarak 2020 yılında 35,5

milyon ha'a ulaşmıştır. 2020 yılındaki fasulye ekim alanlarının %36,6'sını Hindistan, %9,4'ünü Myanmar, %7,6'sını ise Brezilya oluşturmuştur. Türkiye ise %0,3 dilimlik pay ile 39. sırada yer almıştır. 2016 yılında 28,3 milyon ton olarak gerçekleşen fasulye üretimi son 5 yılda %1,97 oranında artış göstermiştir. 2020 yılında ise fasulye üretimi 28,8 milyon ton olup ortalama verim 792 kg/ha'dır. Dünya fasulye üretiminde 2020 yılı itibari ile 5,5 milyon tonluk üretim ile Hindistan ilk sırada yer alırken, yaklaşık 3,1 milyon ton ile Myanmar ikinci, 3 milyon ton ile Brezilya üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye ise 280 bin tonluk üretim ile dünya sıralamasında 19.sırada yer almaktadır.

Dünyada baklagiller içerisinde en yüksek üretici fiyatına sahip olan çeşit fasulyedir. Son 5 yılda fiyatlar %15,3 artış göstermiştir. Yıllar itibari ile önemli fasulye üreticisi olan Myanmar ve Hindistan'daki fiyat verilerine ulaşamamış olup fasulye üretiminde dünya sıralamasında 3.sırada yer alan Brezilya'nın 2020 yılı üretici 689 \$/ton 'dur. 2020 yılı dünya ortalamaları dikkate alındığında fasulyede en yüksek üretici fiyatının İran'da (4.437 \$/ton), en düşük fiyatın ise Litvanya (266 \$/ton)'da olduğu görülmektedir. 2020 yılında Türkiye'nin fasulye üretici fiyatı ise 1.164 \$/ton 'dur (TEPGE, 2021).



Şekil 2.1 Üretimde önemli ülkeler (%) (TEPGE, 2023)



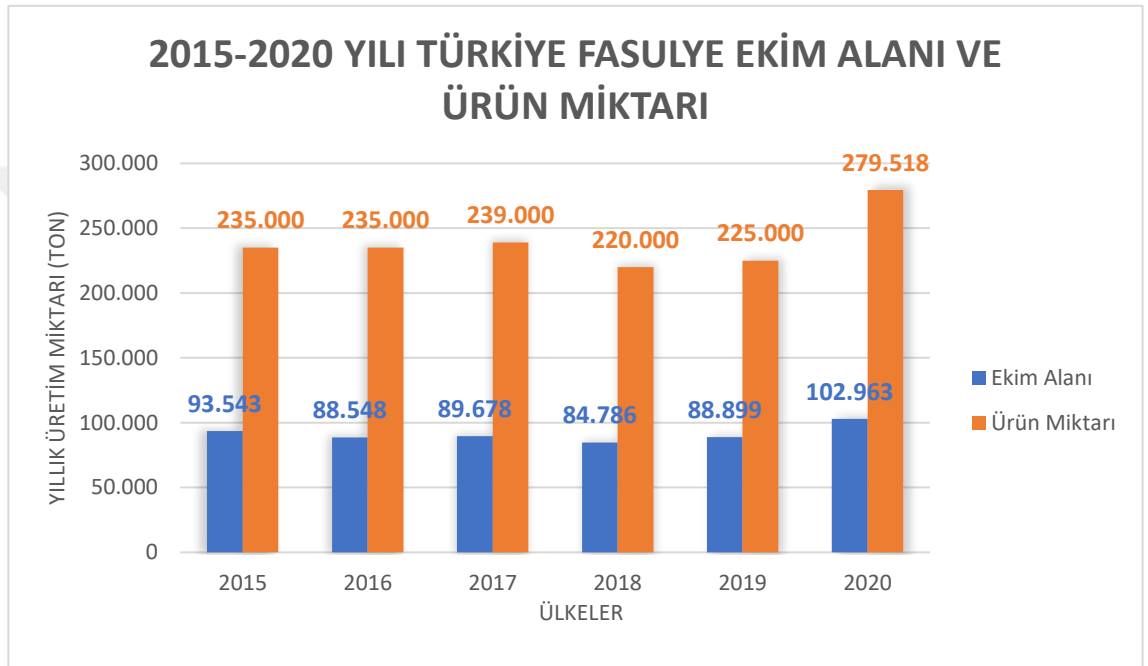
Şekil 2.2 Fasulye ekim alanları ülkelere göre dağılımı (%) (TEPGE, 2023)

Çizelge 2.1 Türkiye’de yıllara göre fasulye üretimi (ton)

İller	2017	2018	2019	2020	2021
Niğde	28.126	36.398	42.503	58.835	70.905
Konya	70.242	53.439	49.664	62.408	57.285
Bitlis	20.765	19.685	24.071	32.143	41.703
Nevşehir	24.001	18.232	21.637	28.303	34.589
Karaman	31.125	30.193	25.826	27.518	27.724
Kayseri	3.157	3.965	4.455	6.551	9.343
Aksaray	2.668	2.709	3.449	5.811	6.337
Kahramanmaraş	4.927	4.695	4.736	4.482	4.206
Gümüşhane	4.245	3.348	3.601	3.635	4.023
Kütahya	3.727	3.477	3.460	2.984	2.751
Diğer	46.017	43.859	41.598	46.848	46.134
Toplam	239.000	220.000	225.000	279.518	305.000

Çizelge 2.2 Türkiye’de fasulye tüketimi

Yıllar	2016	2017	2018	2019	2020
Tüketim (ton)	267.926	269.668	284.981	275.794	281.794
Kişi başına tüketim	3,4	3,4	3,3	3,5	3,3



Şekil 2.3 2015-2020 yılı Türkiye fasulye ekim alanı ve ürün miktarı

Fasulyenin insanların temel besin kaynakları arasında yer almasının başlıca nedenleri, besleyici özelliğinin, yüksek protein içeriği, vitamin, mineral ve daha az oranda karbonhidrata sahip olmasıdır. Fasulye, çeşidine bağlı olarak protein içeriği %14 ile %33 arasında değişmektedir. Lizin ve fenilalanin gibi aminoasitler bakımından zengindir. 90 gramlık bir porsiyon fasulye tüketiminde vücuda alınan protein miktarı ortalama olarak yaklaşık 7-8 gramdır. Bu miktar 70 kg ağırlığında bir yetişkinin günlük protein ihtiyacının yaklaşık olarak %15’ini karşılamaktadır. *Phaseolus vulgaris* tanelerinde yapılan analizlere göre, %25,40 protein, %69,11 karbonhidrat, %4,41 şeker, %1,70 yağ, 6,24 mg demir, 1348 mg potasyum, 167 mg kalsiyum ve 5,69 mg sodyum içermektedir. (Chávez-Mendoza & Sánchez, 2017; Suárez-Martínez vd., 2016).

Fasulyede tohumlara renk veren flavonol glikozitler, antosiyaninler, tanenler ve biyoaktif bileşikler de içermektedirler. Fasulye tüketimi ile birlikte vücuda alınan bu bileşiklerin kardiyovasküler hastalıklar, mide ve prostat kanseri, obezite ve anksiyete ile yaşlılığa bağlı depresyon riskini azalttığı gözlemlenmiştir (Chávez-Mendoza & Sánchez, 2017). Yürütülen bazı klinik araştırmalarda, fasulyede yüksek polifenol içeriğine sahip andioksidanların glisemik indeks üzerinde etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Messina, 2014).

2.1.4 Fasulyede bitkisinde görülen hastalıklar

Fasulyede görülen hastalıklar bakteri, mantar, parazit, virüs kaynaklı, fitoplazma hastalıkları ve bulaşıcı olmayan hastalıklar olmak üzere 6 grupta ele alınmıştır.

Bakteriyel hastalıklar

Bakteri kaynaklı hastalıklar fasulye bitkisine zarar vererek üretimi kısıtlamakta ve ürün verimini olumsuz yönde etkilemektedir. Fasulyede oluşan bakteri kaynaklı hastalıklar, *Pseudomonas syringae* pv. nin sebep olduğu bakteriyel kahverengi leke hastalığı, *Xanthomonas axonopodis* pv. bakterisinden kaynaklanan yaygın bakteriyel yanıklık hastalığı, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* bakterisinin sebep olduğu hale yanıklığı ve *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* gram-pozitif bakterisinin neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığıdır (Fourie, 2002).

Bakteriyel kahverengi leke hastalığı, ilk olarak 1960'ların sonlarına doğru batı Nebraska'da görülmüş olup günümüzde başta Afrika'da yaygın olmak üzere dünya çapında etkili olmuştur (Bradbury, 1986; Fourie, 2002; Harveson & Schwartz, 2007) (Fourie, 2002).

Bakteriyel solgunluk, yapraklarda ilk olarak sarı hale oluşumu şeklinde başlayarak klorotik ve nekrotik bölgelerin oluşmasına neden olur ve bitki solgunlaşır. Soğuk ve yağışlı hava koşulları bitkinin iyileşmesini sağlayabilmektedir (Osdaghi vd., 2020).

Yaygın bakteriyel yanıklık, fasulye üretiminde dünya çapında görülen bir hastalıktır. Uzun süreli nemli havalarda yıkıcı bir etkiye neden olabilmektedir. Enfeksiyon sırasında bitki yapraklarında yanık şeklinde hasarlar oluşur. Yapraklarla birlikte tohum kalitesinde de kayba neden olarak verimin azalmasına yol açar (Persley vd., 2010).

Hale yanıklığı, bitkilerde bulunan doğal açıklıklar ve bitkide oluşan yaralanmalar sonucu ortaya çıkan açıklıklardan bakterinin bitkiyi enfekte etmesiyle oluşan bir hastalık çeşididir. Yapraklarda bakteriden kaynaklanan su lekeleri zamanla sarı bir hale ile çevrili koyu kahverengi bir lekeye dönüşür (Harveson, 2009; Harveson & Schwartz, 2007).

Mantar hastalıkları

Fasulye bitkisinde genel olarak görülen mantar hastalıkları ve patojenleri şu şekildedir; Alternaria yaprak lekesi (*Alternaria alternata*), Angular yaprağı (*Isariopsis griseola*), Antraknoz (*Colletotrichum lindemuthianum*), külleme (*Erysiphe polygoni*), pas (*Uromyces phaseoli*), beyaz küf (*Sclerotinia sclerotiorum*), küllü sap yanıklığı (*Macrophomina phaseoli*), fusarium kök çürüklüğü (*Fusarium solani*), pythium kök çürüklüğü (*Pythium spp.*) ve rhizoctonia kök çürüklüğü (*Thanatephorus cucumeris*) (Singh vd., 2020).

Parazit (Nematod) hastalıkları

Nematodlar çeşitli çevresel koşullarda yaşayabilen organizmalardır. *Meloidogyne* cinsine ait türler bitkilerde toprak altında bulunan kısımlara zarar vererek verimin azalmasına neden olmaktadır. Fasulyede hastalığa neden olan *Meloidogyne spp.* türleri, sahip oldukları beslenme tipinde besin alınımları amacıyla sabit beslenme hücreleri oluştururlar. Bitki bunu önlemek amacıyla besin hücrelerinin etrafında urlar oluşturur. Kök-ur nematodları, verimin azalmasına ve nitrojen fiksasyonunun baskılanmasına neden olmaktadır (Kimenju vd., 1999; Devran & Mıstanoğlu, 2017).

Viral hastalıklar

Fasulye mozaik virüsü (BCVM), fasulye sarı mozaik virüsü (BYMV), yonca sarı damar virüsü (CIYVV) ve kabak sarı mozaik virüsü (ZYMV) Potyviridae ailesine mensup olan ve fasulyede ciddi boyutta hasarlara neden olan virüslerdir. Enfekte olan fasulye bitkisinde gözlemlenen semptomlar genel olarak, yapraklar üzerinde sarı veya yeşil mozaik alanlarının oluşması ve yapraklarda aşağı yönde kıvrılma ve büzülmenin meydana gelmesidir. CIYVV ile enfekte olmuş bir fasulye bitkisinde yapraklarda belirgin sarı mozaik alanlar oluşumu ve bitki boyunda küçülme gözlemlenir (Lipa, 2005; Meziadi vd., 2017).

Fasulye bakla benek virüsü (BPMV), Secoviridae ailesine ait bir virüs olup dünya genelinde fasulye ve diğer baklagillerde hastalığa neden olan önemli bir patojendir. BPMV mekanik yollarla veya böcekler tarafından bulaştırılır. Semptomları suşlarına ve konakçı bitkiye bağlı olarak şiddeti veya hafif yaprak beneklenmesi olarak kendini gösterir. Fasulye buruşuk mozaik virüsü (BRVM) ve börülce mozaik virüsü (CPSVM) de bu aileye ait olan hastalık yapıcı virüslerdir. Bu virüsler de böcekler ve mekanik yolla bulaşmaktadırlar. Enfekte olan bitkinin yaprağında mozaik alanlar oluşmasına neden olurlar (Meziadi vd., 2017).

Fasulye bitkisini enfekte eden bir diğer virüs ailesi Geminiviridae'dir. Fasulye altın mozaik hastalığına neden olan fasulye altın mozaik virüsü (BGVM) bu ailedendir. BGVM, beyaz sinekler ve mekanik yollarla bulaşmaktadır. Enfekte olan bitkilerde, yaprak kıvrılması, yapraklarda sarı mozaik alanların oluşması, bodurluk ve bakla bozulması görülmektedir. Pancar kıvrıcık virüsü de (BCTV) bu aileye mensup olan ve fasulye yapraklarında kıvrılmaya ve deformasyona neden olan bir virüstür (Lipa, 2005; Meziadi vd., 2017).

2.1.5 Bitkide stres

Canlı organizmaları kapsayan genel stres kavramı ilk olarak Hans Selye tarafından geliştirilmiştir. Selye'nin tanımına göre, tüm faktörler hem stres hem de spesifik eylem oluşturan stres etkeni olarak etkide bulunabilir ve stres faktörlerine karşı spesifik tepkiler ve spesifik olmayan tepkiler vardır (Lichtenthaler, 1998). J. Levitt biyolojik stres kavramını fizik biliminden türetmiş olduğu bir tanımla açıklamıştır. Stresi canlılar için metabolik iç dengeyi bozan, potansiyel olarak elverişsiz olan, herhangi bir çevresel faktör olarak tanımlamıştır (Korkmaz & Durmaz, 2017). Larcher bitki stresini, stres faktörlerine maruz kalan bir bitkinin, başlangıçta işlevlerini yerine getirememeye başladığını ardından bu durumu normalleştirerek bitkinin bu faktöre karşı direnç kazandığı bir durum olarak açıklamış ve tolerans limitlerinin aşılması ile uyum sağlama kapasitesinin dışına çıkıldığı durumda bitkide kalıcı hasar ve ölüm gerçekleşeceğini belirtmiştir (Lichtenthaler, 1998). Lichtenthaler yaptığı çalışmalarda stres faktörlerinin ortadan kaldırılmasından sonra bitkilerdeki rejenerasyon aşamalarını da dahil etmiştir ayrıca eu-stresi ve dis-stresi arasında yapmış olduğu ayrımla stres kavramını genişletmiştir. Dis-stres bitki gelişimini olumsuz etkileyerek hasara yol açan bir stres olarak tanımlarken eu-stresin bitki gelişimini harekete geçiren olumlu bir unsur olarak açıklamıştır (Lichtenthaler, 1998).

İlerleyen yıllarda bitki stresi, bitkinin yaşam fonksiyonlarını etkileyerek büyüme ve gelişiminde farklılıklara neden olan herhangi bir olumsuz faktör olarak tanımlanmıştır (Lichtenthaler, 1996).

Bitkilerdeki stres biyotik ve abiyotik stres olmak üzere iki ana kategoride incelenmektedir. Biyotik stres, virüsler, nematodlar, bakteriler, böcekler ve yabancı otlar gibi canlı organizmalar tarafından enfekte edilerek konakçı bitkinin besin alınımlı veya metabolize edilmesini engelleyerek bitkide homeostazı etkileyen bitkinin ölümün neden olan strestir. Abiyotik stres, kuraklık, soğuk, sıcaklık, radyasyon ve mekanik etkiler gibi çevresel faktörler ve tuz, mineral ve ağır metal toksisitesi gibi bitkiyi etkileyen faktörlerin oluşturduğu strestir (Suzuki vd., 2014; Verma vd., 2013; Korkmaz & Durmaz, 2017; Lichtenthaler, 1998). Bitkide stres 4 evrede oluşmaktadır;

Başlangıç alarm evresi

Stresin başlangıcında bitkilerin, fotosentez performansı, metabolitlerin taşınması ve iyonların alınması, yer değiştirmesi gibi fizyolojik fonksiyonlarında düşüş gözlemlenir. Bununla birlikte katabolik faaliyetler anabolizmanın önüne geçer ve canlılığın azalmasına neden olur.

Direnç evresi

Stresin uzun süre devam etmesinden dolayı bitki, oluşan metabolik değişikliklere adaptasyon sürecinden geçer ve bunun ardından onarım mekanizmalarını aktive ederek bitkinin direnç kazanmasını destekler.

Tükenme evresi

Bu evrede stres uzun vadeli ve yüksek seviyede yoğunluğa sahiptir. Bu durum bitkinin adaptasyon ve onarım mekanizmalarının kapasitesini aşarak bitkinin fizyolojik faaliyetlerini etkilemektedir. Bu evrede bitkide geri döndürülemez hasarlar oluşabilir, bitkinin canlılığını yitirerek ölümle sonlanmasına neden olabilir.

Rejenerasyon evresi

Stres faktörleri, bitki canlılığını yitirmeden doğru bir zamanda ortadan kalkar ise bitkide oluşan hasarlar şiddetine bağlı olarak yenilenebilir ve bitki strese karşı cevap geliştirerek yeni fizyolojik özelliklere sahip olabilir (Lichtenthaler, 1988).

2.1.6 Tuz stresi

Toprak tuzluluğu, dünya çapında görülen ve mahsulün verimini azaltan bir abiyotik stres kaynağıdır (Brown, 2018). Toprakta bulunan yüksek tuz konsantrasyonu, fizyolojik kuraklık görülmesine neden olur. Bitki, bulunduğu toprağın yüksek konsantrasyondaki

klor, sodyum, kalsiyum, magnezyum, sülfat ve bikarbonat gibi iyonlarla temas halinde olduğu için ozmotik basınç ile su elde etmekte zorlanır (Korkmaz & Durmaz, 2017). Toprakta tuzluluk, suda çözünebilen iyonların zaman içerisinde toprakta birikmesiyle meydana gelmektedir. Dünya genelinde tarım arazilerinin çoğu yüksek konsantrasyonda tuzluluktan etkilendiği bilinmektedir, dolayısı ile tuz stresi tarımı etkileyen önemli bir stres faktörüdür (Isayenkov, 2012).

Tuz stresi bitkilerin gelişimi ve verimi üzerinde olumsuz etkilere sahipken halofit grubu bitkilerde tam tersi etkiye sahiptirler. Halofit grubunda bulunan bitkiler yüksek konsantrasyondaki tuza karşı direnç göstermektedirler. Bu gruptaki bitkiler deniz kıyısı, tuzlu göller veya çöl gibi tuzluluğun yoğun olduğu yerlerde daha iyi bir gelişim göstermektedirler. Halofit bitkiler yüksek tuzluluğa maruz kaldıklarında bir takım metabolik reaksiyonları başlatarak tuzun bitki üzerinde oluşturacağı olumsuz etkilerin önüne geçebilmektedir. Bir sukkulent çeşiti olan *Mesembryanthemum crystallinum* L. (Aizoaceae) tuzu ve beraberinde suyu da dokulara alarak tuz stresine karşı bir direnç göstermektedir (Flowers vd., 1977). *Juncus acutus* L. bitkisi gibi “tuz toplayıcı” halofitler ortamdaki tuz yoğunluğu arttığında yaprak dokusunda Mg^{+} ve Ca^{+} iyonlarını biriktirerek ozmatik basıncı negatif tutarak tuz stresine karşı bir cevap geliştirmiştir (Boscaiu vd., 2011). Glikofitler de halofitlere benzer olarak yüksek konsantrasyonda tuzlu ortamlarda geliştirdikleri mekanizmalar sayesinde direnç oluşturabilmektedirler. Geliştirilen bu mekanizmalar bitkide toksik etkiye neden olabilecek iyonların alınmasını birikmesini engelleyebilmektedirler (Hasegawa vd., 2000; Srivastava vd., 2015).

2.1.7 Soğuk stresi

Düşük sıcaklık ($<20^{\circ}C$) veya donma sıcaklıklarında ($<0^{\circ}C$) etkili olan soğuk stresi tarımsal ürünlerin büyümesini, gelişmesini, coğrafi yönden tarımsal arazilerde üretkenliği sınırlayan önemli abiyotik faktörlerden biridir. Bazı bitki türleri, soğuk stresinin yaşatabileceği olumsuz etkileri en aza indirmek amacıyla soğuğa karşı uyum sağlamaktadır (Chinnusamy vd., 2007; Heidarvand & Maali Amiri, 2010). Bitkiler, düşük sıcaklıklarda ekstraselüler alanda buz oluşturarak toleransı arttırmak veya ekstrem

soğuklarda kar ya da toprak altında kalarak soğuktan kaçınmak gibi fizyolojik cevaplar geliştirmişlerdir (Korkmaz & Durmaz, 2017).

2.1.8 Kuraklık stresi

Kuraklık, bitkilerin büyümesini, gelişmesini, metabolik faaliyetlerini ve en nihayetinde canlılıklarını ve dolayısıyla mahsul verimini de etkileyen bir stres faktörüdür (Kavar vd., 2008). Kuraklık üzerine yürütülen çalışmalarda, kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin yapısında bulunan mineral dengelerinin ve verimlilik oranlarının değiştiği belirtilmektedir (Farooq vd., 2009). Kuraklığın bitki üzerindeki etkileri, yağış miktarının normal olarak kabul edilen değerlerin altında kalması veya buharlaşmanın normalden fazla olması sonucunda, suyun yaşam ortamında kıt olması veya donma olayı sebebiyle bitkinin suyu yeteri kadar alıp metabolize edememesinden dolayı ortaya çıkmaktadır (Rollins vd., 2013; Ashraf & Ozturk, 2008; Korkmaz & Durmaz, 2017). Kuraklık stresi altında bitkide ilk olarak etkilenen kök dokusu olsa da kuraklığın etkisinin ilk olarak gözlemlendiği yerler yaprak dokudur (Kavar vd., 2008). Bitkiler kuraklık stresi altında hücrel faaliyetlerini devam ettirmek ve canlılıklarını sürdürebilmek adına birtakım mekanizmalar geliştirmektedirler. Kuraklığın bitkiler üzerinde oluşturduğu etki, kuraklığın şiddetine, bitkinin türüne ve içinde bulunduğu gelişim dönemine göre farklılıklar gösterebilir (Rao vd., 2006).

2.1.9 Kuraklık stresinin olumsuz etkileri

Küresel iklim değişiklikleri sonucunda meydana gelen CO₂ seviyesindeki artış, yağış modellerinin değişiklik göstermesi gibi durumlar dünya çapında kuraklık stresini tetikleyen başlıca faktörlerdendir. Yüksek sıcaklık ile birlikte ışık yoğunluğu topraktan suyun buharlaşmasına neden olmakta ve bu durum bitkide su kayıplarına sebep olmaktadır. Bunu yanında toprakta yeterli su miktarı olmasına rağmen tuzluluk, toprak sıcaklığı, sel ve heyelan gibi çeşitli faktörler bitkinin köklerinden su alımını olumsuz yönde etkileyerek bitkide kuraklık stresi etkilerinin görülmesine neden olmaktadır. Bu tip kuraklıklar fizyolojik kuraklık olarak tanımlanmaktadır.

Kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde görülen belirtiler, bitkinin türüne, içinde bulunduğu gelişme dönemine ve çevresel faktörlere bağlı olmak koşuluyla değişkenlik göstermektedir. Semptomların şiddeti, kuraklık şiddeti ile orantılı olmakla birlikte kuraklığa maruz kalınan süre, toprağın ve bitkinin fizikokimyasal yapısıyla da yakından ilgilidir. Genel olarak gözlemlenen belirtiler, yapraklarda solma, sarkma, sararma, büzülme veya erken yaprak dökümü olmaktadır. Sıklıkla gözlemlenen bu belirtiler dışında bitkilerde dal çatlaması, bodurlaşma ve gövdenin incilmesi gibi durumlar da görülmektedir. Şiddetli ve uzun süreli kuraklık stresi etkisi altında kalan bitkilerde ölüm gerçekleşmektedir (Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2016).

Bitkilerin büyüme ve gelişme evreleri, hücrelerin faaliyetlerine bağlıdır. Hücrelerin büyüme, gelişme ve bölünme gibi temel yaşamsal faaliyetlerini yerine getirebilmesi enzim aktivitelerinin düzenli olmasına, elde ettiği enerjinin dengeli ve yeterli olmasına bağlıdır. Kuraklık etkisi altında bitkideki turgor dengesi, dehidrasyon koşullarında değişiklikler oluşur ve bitki hücreleri temel fonksiyonları yerine getiremez (Keyvan, 2010).

Kuraklık bitkilerde morfolojik ve anatomik olarak değişikliklere neden olmaktadır. Belirtildiği üzere kuraklıktan ilk etkilenen doku kök dokusu olmasına rağmen kuraklığa bağlı semptomların gözle görülebildiği doku yaprak dokudur ve yaprak dokunun anatomisi kuraklık stresi ile değişebilir. Etli ve kurakçıl bitkilerin yaprak boyutunda meydana gelen küçülme, stoma sayısının azalması, hücre duvarının kalınlaşması, yaprak yüzeyinde kütinleşme ve bazı hububat türlerinde tüp yaprak oluşumu kuraklığa bağlı olarak oluşan değişikliklerdir (Chernyad'ev, 2005; Jaleel vd., 2009). Su eksikliğinde erken yaprak yaşlanması artmaktadır. Bitkinin yaşamsal faaliyetlerinin devam edebilmesi için gerekli enerjinin sağlandığı fotosentezin optimal koşullarda gerçekleşmesinde yaprak alanı ve stoma açıklığı önemli bir faktördür. Kuraklık stresi ile su eksikliği yaşayan bitkilerde küçük yaprak alanı, stomada meydana gelen gaz değişiminde yaşanan yüksek direnç ve yaprağın yaşlanması gibi nedenlerle fotosentez azalmaktadır. Fotosentezin azalması da bitki boyutu ve biyokütlede azalmaya neden olmaktadır. Bazı bitkiler kuraklığa maruz kaldıklarında kuraklığın şiddetine bağlı olarak suya ulaşabilmek için kök

dokularında, büyüme ve buna bağlı olarak su toplama kapasitelerinde artış görülebilmektedir (Shao vd., 2008).

2.1.10 Bitki su ve fotosentez ilişkisi

Bağıl su içeriği (RWC), bitki ve su ilişkisinde önemli bir faktördür. Düşük RWC yapraktaki su potansiyelini azaltarak stomaların kapanmasına neden olur ve stoma direncini artırır dolayısıyla terleme oranının azalmasıyla birlikte yaprakta sıcaklık artışına yol açar. Bu durum yapraklarda protein ve enzimlerin yapılarında değişiklik oluşturabilmektedir (Lisar vd., 2012).

Kuraklığın bitkiler üzerindeki bir etkisi olan düşük RWC, yapraktaki su potansiyelinin düşmesine neden olmakla birlikte fotosentezin azalmasına yol açmaktadır. Kuraklık nedeniyle stomaların kapanması fotosentez için gerekli CO₂ miktarının yeteri kadar alınamamasına ve fotosentetik elektron taşıma bileşenlerinin birikimine neden olmaktadır. Bu durum moleküler oksijenin azalmasına ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına yol açarak kloroplastlarda oksidatif hasara neden olur (Shao vd., 2008). Kuraklık etkisinde bitkide gözlemlenen bu değişimler fotosentez hızını etkilemektedir. (Bhargava & Sawant, 2013; Ashraf, 2012; Lisar vd., 2012).

2.1.11 Mineral besinlerin alımı

Mineral besinler, topraktan inorganik iyonlar şeklinde alınan ve bitkinin büyümesi, gelişmesi ve üremesi için gerekli temel kimyasal maddelerdir (Barker & Pilbeam, 2015). Bu mineral maddelerin bitkiler tarafından topraktan alınımı köklerin yüzey alanı ve toprak matrisinde bulunan düşük konsantrasyon oranlarındaki inorganik iyonları emme yeteneği ile sağlanır. İnorganik maddeler, bitkiler tarafından topraktan alınabilmek için toprak nemine bağlıdır (da Silva vd., 2011). Kuraklık, bitkilerin büyümesi, gelişmesi ve üretimi üzerinde ciddi etkiye sahiptir (Shao vd., 2008). Kuraklık stresi bitkinin kök aktivitesini olumsuz yönde etkiler ve toprak neminin azalması nedeniyle minerallerin bitki kökünden alınmasını zorlaştırdığı için bitkinin mineral beslenmesini etkiler ve iyon

dengesini bozar (Akhtar & Nazir, 2013; Dubey vd., 2021). Ayrıca köklerden alınan minerallerin, bitkinin üst kısımlarına iletiminde, ksilem damarları boyunca suyun akış hızı kök basıncı ve terleme hızı önemli bir role sahiptir. Kuraklıkla birlikte suyun akış hızında düşme ve stomaların kapalı hale gelmesinden dolayı terlemenin azalması ile birlikte mineral iletimi de yavaşlamaktadır (Mengel vd., 2001) Bununla birlikte mineral alımı sürecinde etkili olan enzimlerin aktivasyonu da kuraklıkla olumsuz yönde etkilenmektedir.

2.1.12 Transkripsiyon faktörleri, yapıları ve sınıflandırılması

Transkripsiyon faktörleri, gen ekspresyonunun kontrolünde, bitki gelişimi, hücre döngüsü, hücre sinyali ve stres koşullarına karşı tepki oluşmasında önemli bir etkiye sahip olan protein grubudur (Javed vd., 2020). TF'ler gen ifadesinin oluşmasındaki ilk aşama olan DNA'nın RNA dizilerine transkripsiyonunu kontrol edebilmektedir (Stegmaier vd., 2004). Cis-elementlerin düzenlenmesinde de transkripsiyon faktörlerinin etkili olduğu bilinmektedir (Hsia & McGinnis, 2003).

TF'ler, hedef gen üzerindeki promoter bölgelere bağlanabilmek için spesifik dizilere sahiptir. TF'lerin hedef gen üzerinde aktif olabilmeleri için bu spesifik dizilerin olduğu bölgelere bağlanmaları gerekmektedir (Kummerfeld & Teichmann, 2006). TF'ler hedef genin ilgili bölgesine doğrudan ya da dolaylı olarak bağlanarak transkripsiyonun gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır ve bazı TF'ler birtakım inhibe edici bileşiklere bağlanarak transkripsiyonun gerçekleşmesini engelleyebilmektedirler (Yusuf vd., 2012). TF'ler, bitkinin strese karşı tolerans geliştirmesi için strese duyarlı genlerin düzenlenmesi gibi birtakım biyolojik olayların gelişmesinde görev almaktadır (Yang vd., 2022).

TF'ler yapısal olarak değişken zincir uzunlukları, moleküler ağırlığa sahip alfa sarmalları ve β -yaprakları içermektedir (Jan vd., 2019) TF'lerin fonksiyonel çeşitlilikleri göz önünde bulundurulduğunda kendi aralarında yapısal benzerlikleri bulunmaktadır ancak ayırt edilebilir bazı korunmuş yapısal motiflere sahiptirler. TF'lerde sinyal algılama alanı (SSD), DNA bağlama alanı (DBD) ve Trans-aktivasyon alanı (TAD) önemli korunmuş motif yapılarındandır (Depege-Fargeix vd., 2011). Transkripsiyon faktörlerinin hedef gen

üzerindeki spesifik dizilerin bulunduğu promotor veya güçlendirici sekansa bağlanma kabiliyetine sahip korunmuş yapısal motifin olduğu bölge DNA bağlama alanı olarak adlandırılmaktadır. DBD'ler transkripsiyon faktörlerinin DNA'daki spesifik lokuslara bağlanma tipini, oranını ve özgünlüğünü belirleyen bölgelerdir (Reid vd., 2010). Sinyal algılama alanının yapısı sinyalin yoğunluğuna bağlıdır ve genellikle sinyalin türüne bağlı olarak adlandırılır. Ligandlar, iyonlar ve hormonlar SSD'ye bağlanarak sinyal görevi görür ve SSD'nin aktivasyonunu sağlayan birtakım değişiklikleri sağlar (Brivanlou & Darnell Jr, 2002; Jan vd., 2019). Trans-aktive edici alanlar, protein ve enzimlerin bağlandığı bir bölgedir. DNA bağlanma alanından gene bağlanan bir transkripsiyon faktörünün trans-aktive edici bölgesi, transkripsiyon mekanizması için gerekli polimeraz gibi enzimler ve diğer proteinlerin bağlandığı bir bölümdür (Piskacek vd., 2007).

Transkripsiyon faktörleri, DNA bağlama alanının yapısına bağlı olarak yaklaşık 50-60 farklı aile altında toplanmaktadır ve bitkilerdeki protein kodlayan genlerin %5-%7'sini transkripsiyon faktörleri oluşturmaktadır (Gray vd., 2009). TF'ler genel olarak DNA bağlanma domaini yapısı, homoloji modellemeleri, Gizli Markov modellemesi ve işlevleri gibi parametrelere göre sınıflandırılmaktadır (Jan vd., 2019).

Transkripsiyon faktörleri, fonksiyonları ve görevlerine göre sınıflandırılırken gen ifadesi ve sinyal sonrasında oluşan değişimleri dikkate alınmıştır. Housekeeping genler ile stres koşulları ve gelişim evreleri gibi belirli koşullar altında aktive olan genler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Brivanlou & Darnell Jr, 2002).

Transkripsiyon faktörleri, yapılarına göre sınıflandırılma yapılırken Gizli Markov yöntemi ile elde edilen nükleotit modellerine ait veriler baz alınmıştır. Yapılarına göre TF'ler;

- 6 sınıf ve 21 aileden oluşan temel alan
- 5 sınıf ve 13 aileden oluşan Çinko koordinasyon DNA bağlama alanı
- 6 sınıf ve 15 aileden oluşan Helix-turn-helix (HTH)
- DNA'da bulunan küçük oluklarla etkileşimde bulunan, 11 sınıf ve 19 aileden oluşan Beta-scaffold faktörler olmak üzere 4'e ayrılmaktadır (Jan vd., 2019).

2.1.13 GATA transkripsiyon faktörü

Transkripsiyon faktörleri, bitki büyümesini, gelişmesini, hücre farklılaşmasını, metabolik fizyolojiyi, sinyal iletimini ve diğer biyolojik fonksiyonları düzenleyen DNA bağlayıcı protein grubudur (Yao vd., 2022). Bitkilerde WRKY, MYB, DREB (Dehidrasyona duyarlı element bağlayıcı protein), bZIP (temel bölge lösin fermuar), MADS-box, NAC, bHLH gibi farklı transkripsiyon faktörleri bulunmaktadır (Yao vd., 2022; Zhu vd., 2020). GATA transkripsiyon faktörü de bitkilerin hemen hemen bütün dokularında bulunan, çimlenme, organ oluşumu ve morfogenezi, klorofil pigmentinin sentezi ve çevresel strese karşı tepkileri düzenlemektedir (Yao vd., 2022). GATA transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlama bölgeleri, fazla miktarda korunmuş tip IV çinko parmak yapısı C-X2-C-X17-20-C-X2-C ve korunmuş bir temel alan içermektedir. Bitkilerde temel alanda bulunan tip IV çinko parmak yapısı ise genellikle C-X2-C-X18-C-X2-C veya C-X2-C-X20-C-X2-C olarak bulunur (K. Du vd., 2022; Jiang vd., 2021; Zhu vd., 2020). GATA transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma alanı, hedef genler üzerinde bulunan promotör bölgeleri, WGATAR (W, T veya A'yı; R, G veya A'yı temsil etmektedir) konsensüs motifini tanıyarak hedef gene bağlanabilmektedir (K. Du vd., 2022). *Arabidopsis thaliana* ve *Oryza sativa*'da yapılan çalışmalarda, GATA transkripsiyon faktörleri, evrimsel ilişkileri, DNA bağlama bölgeleri ve gen yapılarına göre dört alt grupta kategorize edilmiştir (Shi vd., 2022). GATA transkripsiyon faktörlerinin bitki metabolizmasının düzenlenmesinde görev aldığı bildirilmiştir. Örneğin, *A. thaliana*'da GATA genleri, karbon ve nitrojen metabolizmasının düzenlenmesinde, bununla birlikte klorofil seviyeleri, kloroplast boyutu ve fotosentez veriminde etkili olmaktadır. *O. sativa*'da biyokütle gelişimi ve fotosentez metabolizmasında etkilidir (Shi vd., 2022). GATA transkripsiyon faktörleri, ışığa karşı duyarlı genlerin düzenleyici alanlarında bulunmuştur ve elektroforetik hareketlilik ve DNase I ayak izi denemeleri GATA transkripsiyon faktörlerinin ışıkla ilgili süreçlerde görev aldığını göstermektedir. *A. thaliana* üzerinde yapılan çalışmada GATA genlerinin ışıklı, ışıksız ortamlarda sirkadiyen ritmindeki değişikliklerde görev aldığı gözlemlenmiştir (Manfield vd., 2007).

2.2 Kaynak Özetleri

GATA transkripsiyon faktörlerinin, bitkilerde organların gelişimi, ışık morfogenez ve nitrat asimilasyonunda önemli bir role sahip olduğuna dair kanıtlar vardır. Bunlara ek olarak yapılan bir çalışmada biber genlerinde bulunan *GATA* gen ailesinin abiyotik strese karşı göstermiş olduğu ifade seviyeleri incelenmiştir. *Capsicum annum*'da bulunan *CaGATA14* geninin göstermiş olduğu yüksek ekspresyon seviyesinin, donma ve kuraklık stresine karşı toleransı artırabileceği öngörülmüştür (C. Yu vd., 2021)

Kuraklık, sıcak ve soğuk stresi gibi bazı abiyotik stres koşulları altında *GATA* gen ailesine ait ekspresyon seviyelerinde değişiklikler gözlemlenmiştir. Örneğin Okaliptus bitkisinde bulunan *TaGATA54*, *TaGATA57* ve *TaGATA60* genleri sıcaklık stresi altında yüksek ekspresyon seviyesine sahiptir (K. Du vd., 2022)

GATA transkripsiyon faktörleri bitkilerin büyüme, gelişme ve strese karşı bir savunma mekanizması geliştirmesinde önemli bir etkiye sahiptir. Buğdayda yapılan analizler göstermektedir ki *GATA* genlerinin ekspresyon seviyeleri, abiyotik stresi koşulları altında değişim göstermektedir. Özellikle tuz ve kuraklık stresi altında, *TaGATA62* ve *TaGATA73* genleri yüksek seviyelerde ifade olmuşlardır (X. Du vd., 2022)

Patateste (*Solanum tuberosum* L.) yapılan çalışmada 49 adet GATA proteini 5 alt ailede olmak üzere tanımlanmış olup *StGATA* olarak isimlendirilmiştir. Korunmuş motif analizleri, patateste bulunan *StGATA* genlerinin birden fazla introna sahip olduğunu göstermiştir. Cis-element analizleri sonucunda *StGATA* genlerinin abiyotik stres ile ilgili olan cis-elementleri içerdiği görülmüştür. Doku ısı grafikleri *StGATA* genlerinin bitki gelişim dönemlerinde farklı dokularda ifade seviyesinin arttığını göstermektedir. RT-qPCR analizi ile patateste görülen bakteriyel hastalıklarda moleküler savunma sistemleri ile *GATA* genlerinin ifade seviyelerinin yukarı yönlü regüle olduğu gözlemlenmiştir (R. Yu vd., 2021).

GATA transkripsiyon faktörleri, genlerin ilgili bölgelerindeki motifleri tanıyıp bu bölgelere bağlanarak transkripsiyonun düzenlenmesinde görev almaktadırlar. Çeşitli bitkilerin biyolojik süreçlerinde, abiyotik stres unsurlarına karşı önemli bir role sahiptir. Domateste (*Solanum lycopersicum*) yapılan çalışma sonucunda 4 alt aileye ayrılmış 30 adet GATA geni tanımlanmış olup *SIGATA* olarak isimlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada tuz stresine karşı ifade seviyesi bilinen ve önceki çalışmalarla teyit edilen *SIGATA17* geninin mutant bitkilerdeki tuz stresine karşı toleransı arttırdığı gözlemlenmiştir (Wang vd., 2023).

Domates üzerinde yapılan bir diğer çalışmada da tanımlanan GATA genlerinin 14 tanesinin kök, gövde, yapraklar ve çiçek kısımlarında ifade seviyelerinin farklı olduğu görülmüştür. Çalışmada GATA genleri 4 alt aileye ayrılarak incelenmiştir. Soğuk, kuraklık ve tuz stresi gibi abiyotik stres uygulamalarında alt ailelerden 1 numaralı alt aile üyelerinin bu stres etkilerine karşı bir cevap oluşturduğu yapılan analizler sonucu görülmüştür (Yuan vd., 2018).

GATA transkripsiyon faktörleri, bitkilerdeki ışığa bağlı genlerin regülasyonunda ve nitrat asimilasyonunda görev almaktadırlar. Pirinç (*Oryza sativa*) üzerinde yapılan analizlerde 35 GATA transkripsiyon faktörünü kodlayan 28 adet genin olduğu ve bu genlerin 7 alt ailede incelendiği sonucuna ulaşılmıştır. Alt aile 5'in üyelerinden biri olan *OsGATA23a*'nın tuz ve kuraklık stresi başta olmak üzere çoklu abiyotik stres koşulları altında yüksek ifade seviyesi ile yanıt oluşturan bir transkripsiyon faktörü olduğu görülmüştür (Gupta vd., 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 GATA Proteinlerinin Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Bitkisi Genomunda Tanımlanması

Fasulye bitkisine ait biyoinformatik analizler yapılmıştır. Fasulye bitkisinde bulunan GATA proteinlerinin belirlenmesi için veri tabanı olarak bitki transkripsiyon faktörleri veri tabanı (Plant TFDB) (<http://planttfdb.gao-lab.org/>) kullanılmıştır (Tian vd., 2020).

PlantRegMap/PlantTFDB v5.0
Plant Transcription Factor Database
Previous version: v3.0 v4.0

Home TText BLAST Prediction Download Help About Links PlantRegMap Search (e.g., LFY)

Note:

- The new version PlantTFDB 5.0 has been incorporated into PlantRegMap.
- This is the mirror of PlantTFDB.

Browse by Species

open all | close all

Taxonomic Group (165 species) (G)-species with genome sequence

- Chlorophytae (16 species)
- Charophyta (1 species)
- Marchantiophyta (1 species)
- Bryophyta (2 species)
- Lycopodiophyta (1 species)
- Coniferophyta (5 species)
- Basal Magnoliophyta (1 species)
- Monocots (38 species)
- Eudicots (100 species)

Quick links: *Arabidopsis thaliana*, *Glycine max*, *Oryza sativa*, *Populus trichocarpa*, *Solanum lycopersicum*, *Zea mays*

Couldn't find the species interested? Please try the extended TF repertoires or identify TFs by the prediction server.

Browse by Family

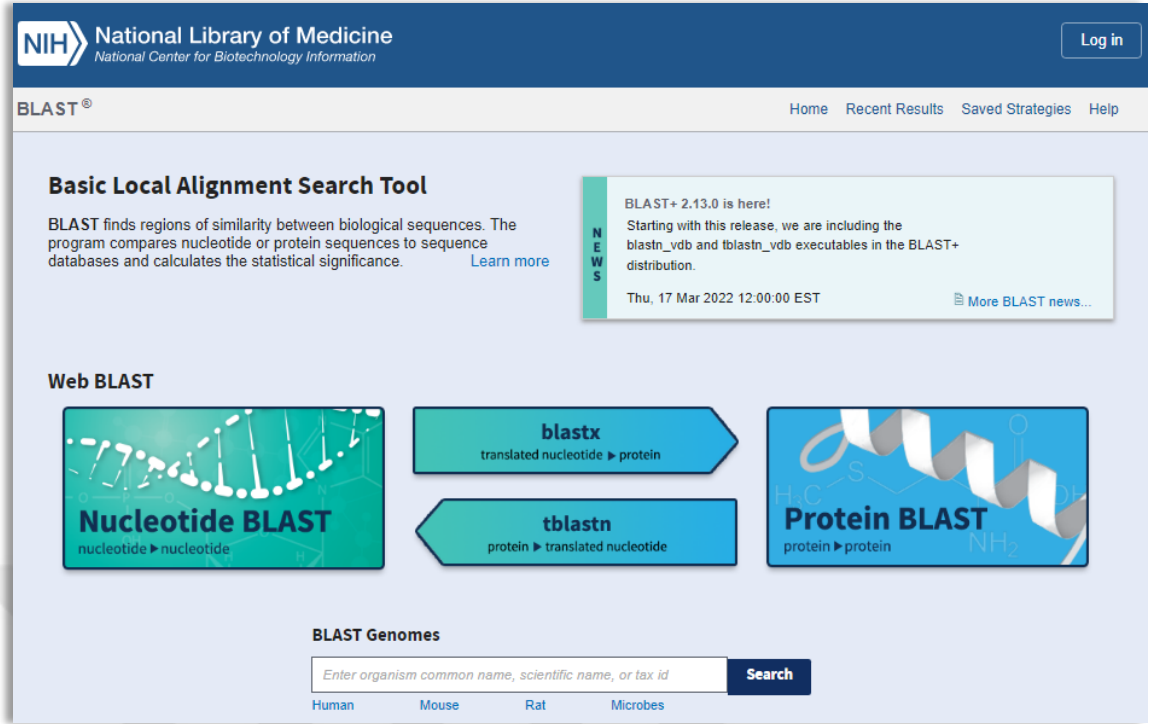
AP2 (4461)	ARF (4578)	ARR-B (2354)	B3 (10609)	BBR-BPC (1256)
BES1 (1549)	C2H2 (17740)	C3H (9693)	CAMTA (1343)	CO-like (2125)
CPP (1612)	DBB (1651)	Dof (5655)	E2F/DP (1781)	EIL (1234)
ERF (21129)	FAR1 (7527)	G2-like (9874)	GATA (5335)	GRAS (9304)
GRF (1876)	GeBP (1564)	HB-PHD (477)	HB-other (2277)	HD-ZIP (8602)
HRT-like (249)	HSF (4574)	LBD (7216)	LFY (253)	LSD (957)
M-type_MADS (7541)	MIKC_MADS (6918)	MYB (22032)	MYB_related (15369)	NAC (19997)
NF-X1 (403)	NF-YA (2461)	NF-YB (3099)	NF-YC (2446)	NZZ/SPL (109)
Nin-like (2766)	RAV (690)	S1Fa-like (359)	SAP (164)	SBP (4168)
SRS (1327)	STAT (214)	TALE (4433)	TCP (4187)	Trihelix (6256)
VOZ (635)	WOX (2358)	WRKY (14549)	Whirly (530)	YABBY (1719)
ZF-HD (2589)	bHLH (28698)	bZIP (15498)		

Şekil 3.1 Bitkideki transkripsiyon faktörleri veri tabanı (PlantTFDB)

GATA transkripsiyon faktörlerine ait olan erişim numaraları PlantTFDB'den elde edilmiştir. PF00320 erişim numarası kullanılarak CDS, protein ve genom dizileri Phytozome 13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) veri tabanı üzerinden FASTA formatında kaydedilmiştir. Kaydedilen muhtemel GATA dizileri, Phytozome ve NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) veri tabanları kullanılarak blast (blastb) işlemi yapılmıştır. Hidden Markov Modeli (HMM) ile bu protein dizilerinde taramalar yapılmıştır.

Genome	Common name	Release Date
Gossypium hirsutum v3.1	upland cotton	Aug 16, 2022
Lens culinaris v1	lentil	Aug 16, 2022
Lens ervoides v1	wild lentil	Aug 16, 2022
Glycine max Wm82 ISU-01 v2.1	soybean	Aug 16, 2022
Chlamydomonas reinhardtii CC-4532 v6.1	green algae	Jun 17, 2022
Kalanchoe laxiflora FTBG2000359A v3.1		Mar 1, 2022

Şekil 3.2 Phytozome 13 veri tabanı arayüzü



Şekil 3.3 NCBI blast veri tabanı arayüzü

Klanlar, evrimsel olarak ortak bir kökenden gelen bir veya daha fazla Pfam ailelerini içeren gruplardır. Ailelerin birbirleri ile benzerlikleri, ilgili işlevleri, yapıları veya profil-Hidden Markov Modeli (HMM) ile ortaya koyulur (Mistry, Chuguransky vd. 2021). Tanımlı GATA üyeleri arasında benzerlik olup olmadığını kontrol etmek amacıyla Expasy decrease redundancy (https://web.expasy.org/decrease_redundancy/) veri tabanı kullanılmıştır (Şekil 3.4). Tanımlanan GATA dizilerinin, üzerinde bulunduğu kromozom ve bu kromozom üzerindeki başlangıç ve bitiş noktaları Phytozome veri tabanı kullanılarak kaydedilmiştir (Şekil 3.2).

Expasy Decrease Redundancy

Decrease redundancy

This program allows you to reduce the redundancy in a set of aligned or unaligned sequences.

The algorithm used by this program was developed by Cédric Notredame and is unpublished.

Input a set of several sequences or an alignment in any format (such as FASTA):

☐ The input is an alignment ☐ Output complete distance table

Use the following rules to decrease redundancy:

% max similarity

max number of sequences

% of sequences to keep

% min similarity

Keep the following sequences: (separate multiple entries with ',')

Şekil 3.4 Expasy decrease redundancy çevrimiçi aracı

GATA protein dizilerine ait pH aralığı, moleküler ağırlık, izoelektrik noktası (pI), stabilite durumu, ortalama hidropati değeri gibi fiziksel ve kimyasal özellikler, Expasy ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) veri tabanı aracılığıyla tanımlanmıştır (Kavas vd., 2021).

Expasy ProtParam

ProtParam tool

ProtParam ([References](#) / [Documentation](#)) is a tool which allows the computation of various physical and chemical parameters for a given protein stored in [Swiss-Prot](#) or [TrEMBL](#) or for a user entered protein sequence. The computed parameters include the molecular weight, theoretical pI, amino acid composition, atomic composition, extinction coefficient, estimated half-life, instability index, aliphatic index and grand average of hydropathicity (GRAVY) ([Disclaimer](#)).

Please note that you may only fill out **one** of the following fields at a time.

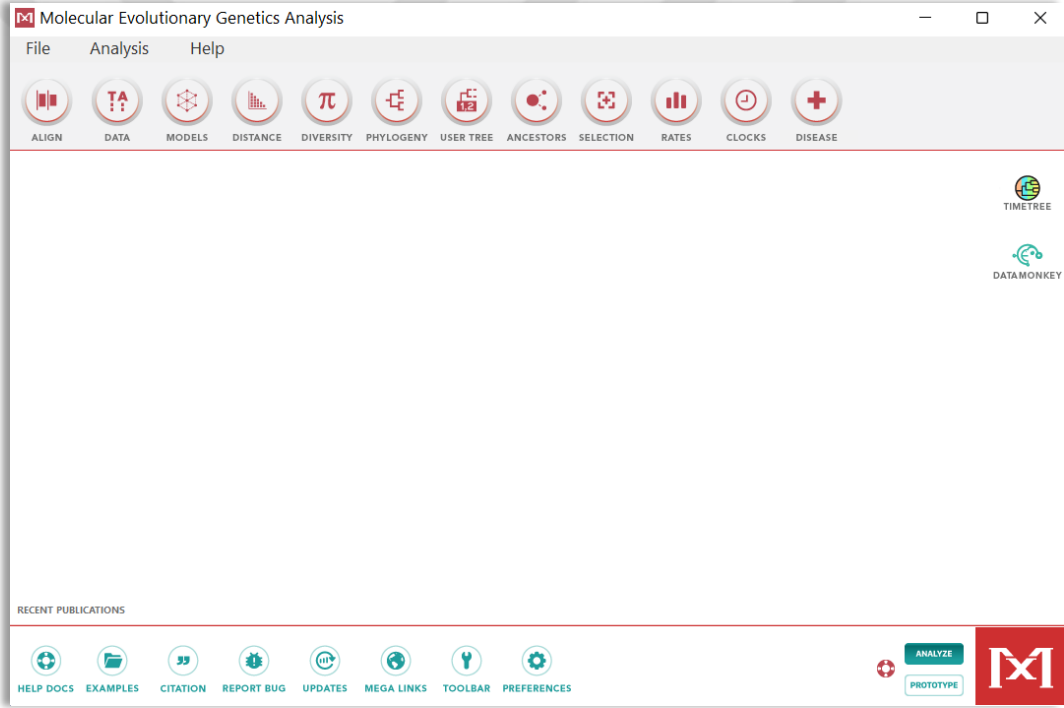
Enter a Swiss-Prot/TrEMBL accession number (AC) (for example **P05130**) or a sequence identifier (ID) (for example **KPC1_DROME**):

Or you can paste your own amino acid sequence (in one-letter code) in the box below:

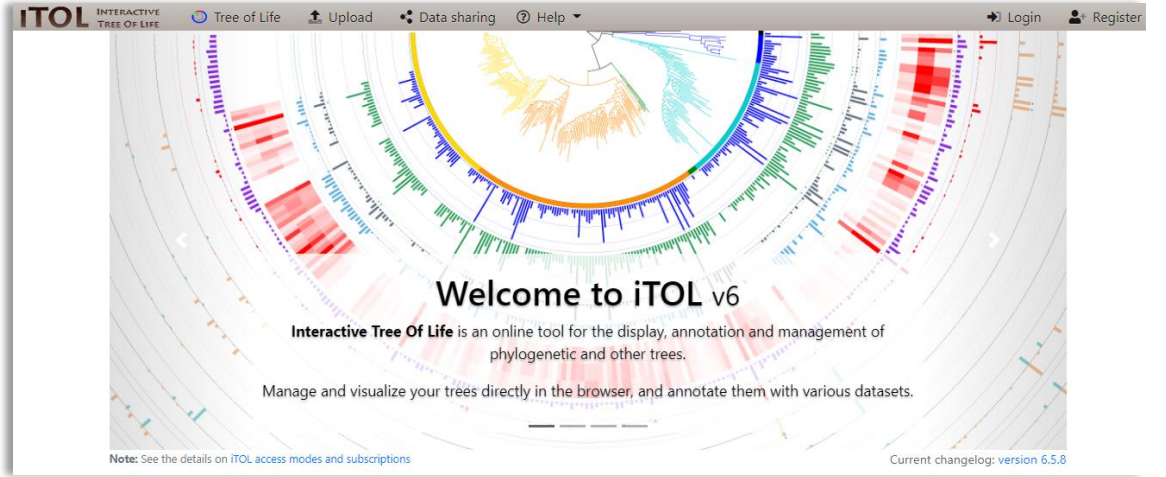
Şekil 3.5 Expasy protparam çevrimiçi aracı

3.2 GATA Gen Ailesi Dizilerin Hizalanması Filogenetik Analizler ve Korunmuş Motiflerinin Belirlenmesi

Fasulye genomunda bulunan GATA gen ailesine ait diziler, MEGA programı (<https://megasoftware.net/>) yoluyla ClustalW kullanılarak hizalanmıştır. Hizalama işlemi sonucunda elde edilen veriler ile filogenetik ağaç çizimi yapılmıştır. Filogenetik ağaç çiziminde MEGAv11 programı (Şekil 3.6) Maximum Likelihood yöntemi kullanılmıştır (He vd., 2023; Tamura vd., 2021). Filogenetik ağaç, Interactive Tree of Life (iTOL) (<https://itol.embl.de/>) arayüzü ile görselleştirilmiş ve renklendirilmiştir (Letunic & Bork, 2021).

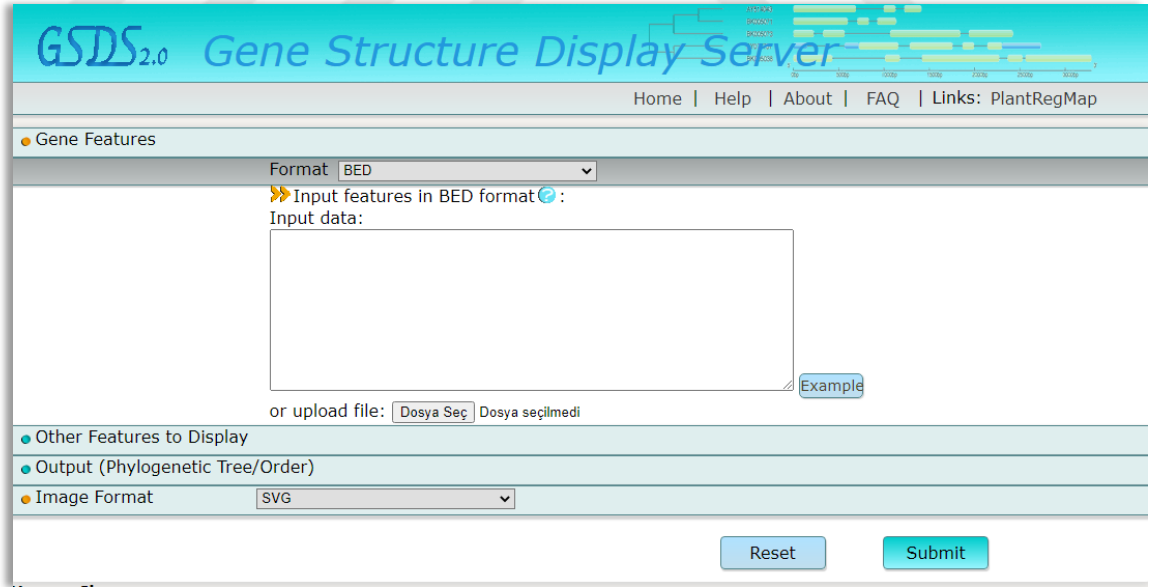


Şekil 3.6 MEGA v11.0 yazılımı arayüzü



Şekil 3.7 iTOLv6.8 çevrimiçi aracı

Filogenetik ağaçtan elde edilen sonucun doğrulanması amacıyla Gene Structure Display Server v2.0 (<http://gsds.gao-lab.org/>) arayüzü kullanılarak intron-ekzon analizi yapılmıştır (Hu vd., 2015). Fasulyede bulunan *GATA* genlerine ait intron-ekzon bölgelerini gösteren görseller oluşturulmuştur.



Şekil 3.8 Gene Structure Display Server 2.0

GATA proteinlerine ait korunmuş motiflerin belirlenmesi için Multiple EgM For Motif Elicitation Tool (MEME) (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) veri tabanı

kullanılmıştır (Bailey vd., 2015). Yapılan analizde motif sayısının en fazla 20 olmasına dikkat edilmiştir.

The screenshot displays the MEME Suite 5.4.1 web interface. On the left is a navigation menu with links: MEME Suite 5.4.1, Motif Discovery, Motif Enrichment, Motif Scanning, Motif Comparison, Gene Regulation, Manual, Guides & Tutorials, Sample Outputs, File Format Reference, Databases, Download & Install, Help, Alternate Servers, Authors & Citing, Recent Jobs, and a link to the previous version 5.3.3. The main content area is titled 'Data Submission Form' and includes instructions: 'Perform motif discovery on DNA, RNA, protein or custom alphabet datasets.' It contains several sections: 'Select the motif discovery mode' with radio buttons for Classic mode (selected), Discriminative mode, and Differential Enrichment mode; 'Select the sequence alphabet' with radio buttons for DNA, RNA or Protein (selected) and Custom, and a 'Dosya Seç' button; 'Input the primary sequences' with a text input field and an 'Upload sequences' button; 'Select the site distribution' with a dropdown menu set to 'Zero or One Occurrence Per Sequence (zoops)'; 'Select the number of motifs' with a text input field set to '3'; and 'Input job details' with optional email and job description fields. At the bottom, there is an 'Advanced options' section, a note about the 80MB limit, and 'Start Search' and 'Clear Input' buttons.

Şekil 3.9 Multiple Em for Motif Elicitation (MEME) v5.5.3

3.3 GATA Proteinlerinin Üç Boyutlu Modellemesi

Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>) veri tabanı kullanılarak, GATA protein dizilerine ait 3 boyutlu homoloji modelleri belirlenmiştir (Kelley vd., 2015). Elde edilen modeller güvenilirlik açısından değerlendirilip paylaşılmıştır.

Phyre²
Protein Homology/analogy Recognition Engine V 2.0

Subscribe to Phyre at Google Groups
Email:
[Visit Phyre at Google Groups](#)
[Follow @Phyre2server](#)

Log in (top left-hand corner of this web page) to use our Expert Mode features, including batch job submission and One-to-One threading. Registering for this is quick and easy on our Login page.

You can use "One-to-One Threading" to model your sequence against your own in-house structures and those from the [Protein Data Bank](#), as well as models downloaded from the [AlphaFold Protein Structure Database](#).

If you have more than 5 or 6 sequences to model, it is easier for you (and better for everyone!) if you use "batch" processing (under Expert Mode).

Please do not use "intensive mode" unless your search using "normal mode" indicates that a single model does *not* cover most of your sequence.
For most users, most of the time, 'normal mode' will give you the answer you require in a fraction of the time.

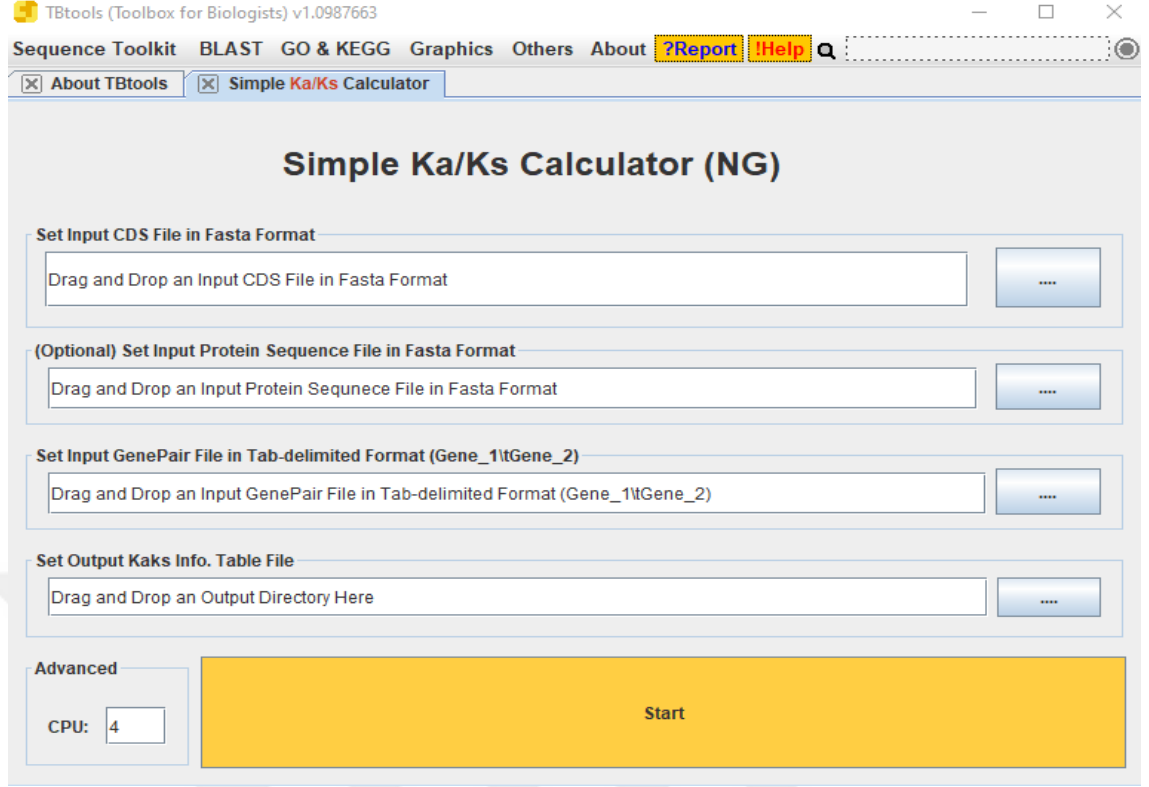
Current Phyre2 server load = 34% (normal running)

E-mail Address
Optional Job description
Amino Acid Sequence
[Or try the sequence finder](#)

Şekil 3.10 Phyre2 v2.0

3.4 GATA Gen Ailesi Duplikasyonları ve *A.thaliana*, *G.max* Türleri ile Fiziksel Haritanın Oluşturulması

Karşılaştırmalı olarak fiziksel haritanın oluşturulabilmesi için öncelikle Phytozome'dan fasulye, *G. max* ve *A. thaliana* türlerine ait peptid dizileri elde edilmiştir, sonrasında NCBI'da blastlama (blastp) yapılmıştır. GATA gen ailesinin fasulye ve diğer belirlenen türlerle arasında oluşturduğu gen duplikasyonları ile fasulyede bulunan GATA genlerinin homoloji bakımından değişim oranlarının hesaplanması için TBtools programı kullanılmıştır (şekil 3.11).

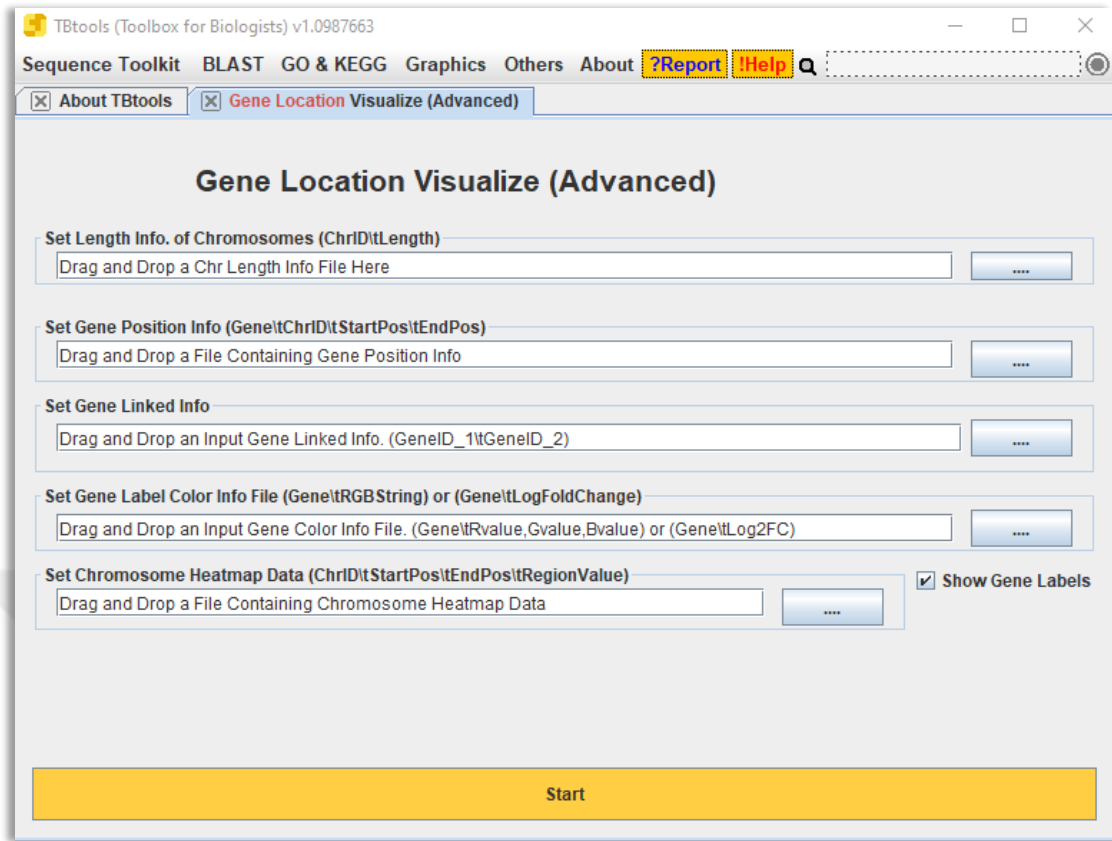


Şekil 3.11 TBtools basit Ka/Ks hesaplama

3.5 *PvGATA* Genlerinin Kromozomal Dağılımı ve Promotor Bölgelerinin Belirlenmesi

Fasulyede bulunan *GATA* genlerinin başlangıç ve bitiş pozisyonları kullanılarak TBTools programında, bu genlerin kromozomlar üzerindeki dağılımları gösterilmiştir.

Fasulyede bulunan *GATA* genlerinin promotor bölgeleri, Phytozome veri tabanı yardımı ile genlerin 5' upstream bölgesinden yaklaşık 1500 baz çifti gerisinde tanımlanmıştır. Tanımlanan bu promotor bölgelerine ait cis elementlerini belirlemek amacıyla PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) veri tabanı kullanılmıştır. Belirlenen cis elementlerinin literatürdeki adları ve fonksiyonları çizelge halinde gösterilmiştir (Kasapoğlu vd., 2022).



Şekil 3.12 TBtools gen lokasyonu



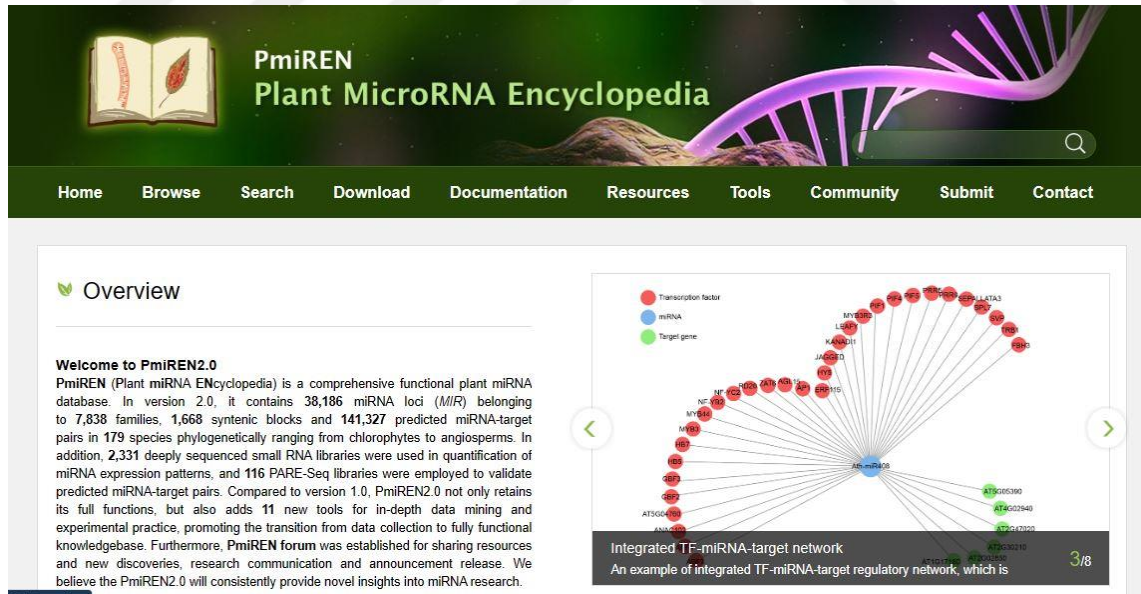
Şekil 3.13 Plantcare çevrimiçi aracı

3.6 Sinteni Analizi

A.thaliana, *G.max* ve *P.vulgaris* türlerinde bulunan benzer gen bloklarının sinteni analizini yapmak amacıyla bu türlere ait ortolog genlerin protein dizileri Phytozome veri tabanından elde edilmiştir. *GATA* genlerinin sinteni haritası TBTool programı kullanılarak oluşturulmuştur (İLHAN, 2018).

3.7 PvGATA Genlerinin MikroRNA (miRNA) Analizi

Fasulyede bulunan miRNA dizileri PmiREN (<https://www.pmiren.com/>) çevrimiçi aracı kullanılarak indirilmiştir (Guo vd., 2022) *PvGATA* gen ailesine ait miRNA'lar psRNATarget Server (<https://www.zhaolab.org/psRNATarget/>) çevrimiçi aracı kullanılarak hizalanmıştır (Zhang, 2005). *PvGATA* genleri ile ilgili miRNA'lar arasındaki ilişkinin görselleştirilmesi için Cytoscapep 3.10 (<https://cytoscape.org/download.html>) programı kullanılmıştır (Kohl vd., 2011)



Şekil 3.14 PmiREN Plant MicroRNA Encyclopedia çevrimiçi aracı

psRNATarget: A Plant Small RNA Target Analysis Server (2017 Update) [Home](#) [Analysis](#) [Download](#) [Help](#) [Citation](#) [Contact](#)

Analysis [\[Switch to Legacy mode\]](#)

[Submit small RNAs](#) [Submit target candidates](#) [Submit small RNAs and targets](#)

Upload sRNA file: Seçilen dosya yok [\[Load Demo Data\]](#)

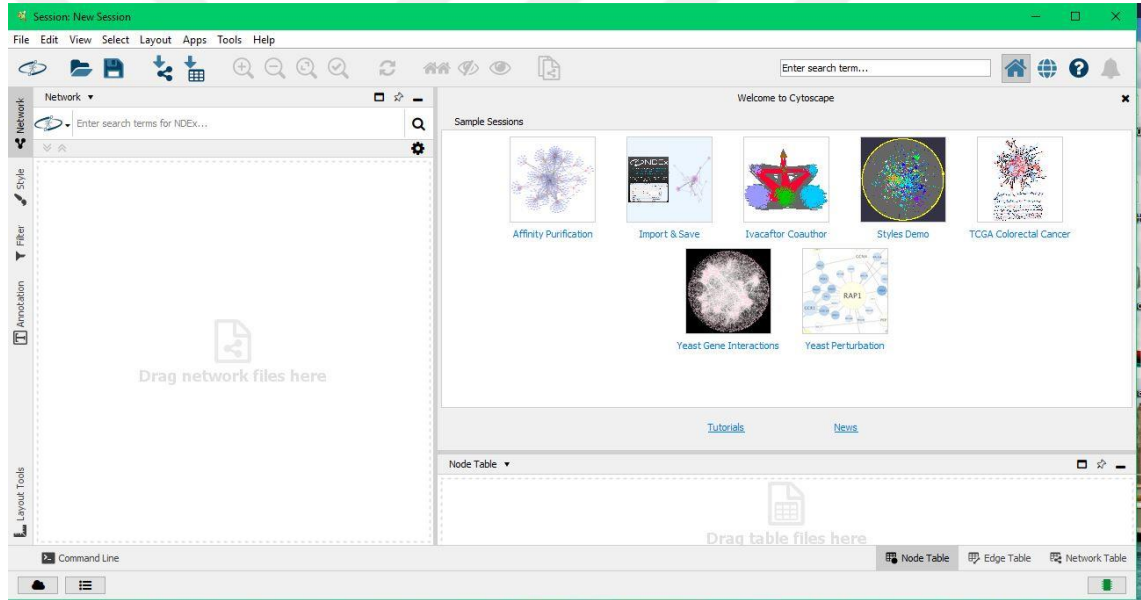
or paste sequences:

- Upload limit: 25MiB, FASTA format or sequence only

Choose cDNA library:

- [Contact us to add more libraries](#)

Şekil 3.15 psRNATarget çevrimiçi aracı



Şekil 3.16 Cytoscape v3.10

3.8 PvGATA Genleri In Siliko Gen İfade Analizi

GATA genlerine ait mRNA ifade seviyelerine Phytozome veri tabanından ulaşılmıştır. Sequence Read Archive'den Illumina RNA-seq verileri temin edilmiştir. CLC-Genomics programı kullanılarak elde edilen veriler normalize edilip birleştirilmiştir (Sequencing, 2011). Hedeflenen gen bölgesine ait doku spesifik mRNA ifade seviyeleri ve RPKM ifade

değerleri log2 formunda hesaplanarak kaydedilmiştir. TBTools programı kullanılarak genlerin ifade seviyelerinin grafikleri oluşturulmuştur.

3.9 Bitki Materyalleri, Büyüme koşulları ve Stres Muamelesi

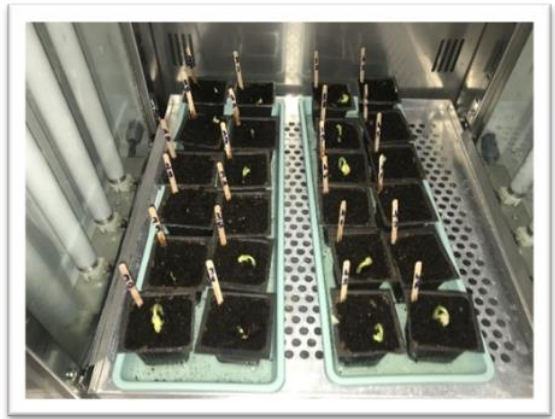
Yapılan çalışmada 'Eskişehir, Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen ve Türk bakla çeşidi olan 'Zülbiye' kullanılmıştır. +4°C'de muhafaza edilen tohumlardan 48 tane seçilip, 3 saat boyunca distile su içinde bekletilmiştir. Ekim yapılacak toprağın nemli olması amacıyla bir kaba alınan toprak ıslatılmıştır. Nemli hale gelen toprak, her bir saksıda 55 gram olacak şekilde saksılara dağıtılıp ardından tohumların ekimi gerçekleştirilmiştir. Ekim işleminde sonra saksılar, bitki yetiştirme kabinine alınmıştır. Bitkinin yetiştirildiği kabin, optimum sıcaklık değeri olan +25 °C'ye ayarlanır. Bağıl nem oranı %70'tir ve $50 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fotosentetik foton akışına sahiptir. Bu kabin, dışarıdan izole ve kontrollü bir ortamdır. Bitkilerin tepsi içindeki konumları birinci günden beri düzenli olarak değiştirilmiştir. Dördüncü günde bitkilerde 3 yaprak oluşumu gözlemlenmiştir. Hoagland suyu (A ve B besini) ile bitkiler beslenmeye devam edilmiştir. Sekizinci günde 48 tane bitkinin 24'üne su verilmemeye başlanarak kuraklık stresi uygulaması başlatılmıştır. Stresin başladığı ilk günden itibaren düzenli olarak iki günde bir bitki ağırlıkları ölçümlenmiştir. Kontrol grubu bitkilerine su verilmeye devam edildiği için bu gruptaki bitkilerin boyları uzamış, yaprakları büyümüş ve ağırlıklarında da artış gözlemlenmiştir. Stres gözlenen bitkilerin ağırlıkları giderek düşmüş, boyları kontrol grubuna kıyasla daha kısa ve yaprakları küçük, soluk ve kıvrık yapıda olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubu ve stres grubundan seçilen örnekler sıvı azot kullanılarak havanda ezilmiştir. Elde edilen numuneler -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Aşağıda fasulye tohumlarının kontrol ve kuraklık stresi uygulaması altında büyüme evreleri verilmiştir.



Şekil 3.17 Fasulye tohumlarının viyollere ekildiği ilk gün (09.05.23)



Şekil 3.18 Tohum ekiminden 2 gün sonrası (11.05.23)



Şekil 3.19 Bitkinin topraktan çıktığı ilk görseller (13.05.23)



Şekil 3.20 Bitkinin büyüme evresi (14.05.23)



Şekil 3.21 Bitki yaprak ve gövdenin büyüme evresi (15.05.23)



Şekil 3.22 Kontrol ve stres grubu karşılaştırması (17.05.23)

Şekil 3.22’de sol taraftaki görsel kontrol grubuna, sağ taraftaki görsel 7 gün boyunca su verilmeyerek kuraklık stresi uygulanan grubuna aittir.



Şekil 3.23 Kuraklık stresi uygulaması sonrasındaki değişimler (23.05.23)

Şekil 3.23’te sol görseldeki kontrol grubunda bitkilerinin gövde ve yapraklarda büyüme devam ederken, sağ görseldeki stres grubunda kuraklık stresinin etkisi ile bitkilerin yapraklarında düşme ve içeri dönük kapanma görülmeye başlanmıştır.



Şekil 3.24 Kuraklık stresi uygulamasından 1 hafta sonrası (24.05.23)

Şekil 3.24’te soldaki kontrol grubunda bulunan bitkilerin yaprak ve gövde büyümesinin stres grubunda bulunan bitkilere kıyasla daha fazla olduğu ve stres grubu bitkilerinin yapraklarının küçülerek solmaya başladığı görülmektedir.



Şekil 3.25 3 bitki seçilerek takibi yapılmıştır (18.05.23)

18.05.23 tarihinde 3 tane bitki örneği (36, 42 ve 24 nolu bitkiler) seçilerek daha yakından gözlem yapılmıştır.



Şekil 3.26 Seçilen bitkilerin görselleri (19.05.23)



Şekil 3.27 Bitkilerin 20.05.23 tarihindeki görselleri



Şekil 3.28 Bitkilerin 23.05.23 tarihindeki görselleri



Şekil 3.29 Bitkiler arasından rastgele seçilen kontrol ve stres grubu görselleri (24.05.23)

3.10 Total RNA İzolasyonu

-80 °C’de muhafaza edilen bitki örneklerinden RNA’nın izole edilebilmesi için FavorPrep™ Plant Total Mini Kit (Biotech Corp., Ping-Tung, Taiwan) kullanılmıştır. İzole edilen RNA örnekleri kalite açısından değerlendirilmek üzere NanoDrop Lite (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür.

FavorPrep™ plant total mini kit protokolü

1. Sıvı nitrojen kullanılarak ince toz haline getirilen 100 mg kadar bitki örnekleri mikrosantrifüj tüplerine aktarılır.

2. Tüplerdeki toz halinde bulunan örneklerin üzerine 500 µl FARB tampon çözeltisi eklenir. Kuvvetlice vortekslelendikten sonra oda sıcaklığında 5 dakika boyunca inkübasyona bırakılır.
3. Toplama tüplerinin içine filtre kolonları yerleştirilir ve örnekler filtre kolonlarına aktarılır. ~ 18.000 x g bir dakika olmak üzere santrifüj edilir.
4. Toplama tüpünde biriken filtre edilmiş süpernatant, yeni mikrosantrifüj tüplerine alınarak hacim ayarlaması yapılır.
5. 1:1 oranında olacak şekilde %70 RNaz içermeyen etanol eklenir ve iyice karışması sağlanır.
6. Kit içerisinde bulunan mini kolonlar toplama amacıyla tüplere yerleştirilir. Etanol eklenen numune karışımı (herhangi bir çökelti dahil) kolonlara aktarılır. Tam hızda 1 dakika boyunca santrifüj edilir. Toplama tüplerinde biriken sıvı atılır ve kolonlar toplama tüplerine geri koyulur.
7. Geri kalan örnek karışımı için 6. adım tekrarlanır.
8. FARB kolonların üzerine 500 µl yıkama tamponu eklenir ve yüksek hızda bir dakika santrifüj edilir. Toplama tüpünde biriken sıvı kısım atılır ve FARB kolonları tüplere geri yerleştirilir.
9. FARB Mini Kolonlara 750 µl Yıkama Tamponu 2 eklenir ve tam hızda 1 dakika santrifüj edilir. Toplama tüplerinde biriken sıvı atılır ve kolonlar toplama tüplerine geri koyulur (Not: İlk kullanımda Yıkama Tamponu 2'ye etanol eklendiğinden emin olunmalıdır). Bu adım 2 kere olacak şekilde tekrarlanır.
10. FARB Mini kolonunun kurutulması amacıyla tam hızda üç dakika santrifüj edilir. (Önemli adım! Sonraki adımlarda oluşabilecek enzimatik reaksiyonlardan kaçınmak için kalan sıvıyı uzaklaştırır).
11. Kolonlar bir elüsyon tüpüne aktarılır.
12. FARB Mini Kolonunun membran merkezine 30 ~ 50 µl RNaz içermeyen ddH₂O eklenir. Bir dakika boyunca beklenir.
13. RNA'yı ayırmak amacıyla tam hızda bir dakika santrifüj edilir. Elde edilen RNA -80 °C'de muhafaza edilir.

3.11 Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Bitki örneklerinden izole edilen RNA'lar tek ipliğe sahiptirler. qPCR analizinde kullanılabilmesi amacıyla RNA'lardan cDNA sentezi yapılmıştır. Sentez, iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon, Thermalcycler PCR cihazı kullanılarak yapılmıştır. Total reaksiyon hacmi 10 µl olarak hesaplanıp içeriğindeki bileşenler bu miktara göre ayarlanmıştır. Her bir reaksiyonda, 5x iScript Reaction mix (2 µl), iScript Reverse Transcriptase (0,5 µl), ddH₂O ve RNA örnekleri kullanılmıştır. Reaksiyonda kullanılacak RNA miktarı, nanodrop ölçümlerinden elde edilen sonuçlara göre belirlenmiştir. ddH₂O miktarı da kullanılan RNA miktarına bağlı olarak, reaksiyon total hacmini 10 µl'ye tamamlayacak şekilde belirlenmiştir.

Reaksiyon koşulları aşağıdaki Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 cDNA sentezi reaksiyon koşulları

Döngü	°C	Süre(dk)
Primer Bağlanması	25 °C	5
Ters Transkripsiyon	46 °C	20
RT inaktivasyonu	95 °C	1
Bekleme	4 °C	-

3.12 Primer Dizaynı

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda (RT-PCR) kullanılmak üzere *PvGATA-01*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-12*, *PvGATA-14*, *PvGATA-15*, *PvGATA-18*, *PvGATA-20*, *PvGATA-29* ve *PvGATA-30* genleri seçilmiştir. Genlerin seçiminde öncelikle RNA-seq verilerinden elde edilen sonuçlar ve ardından *PvGATA* genleri tarafından hedeflenen miRNA'lar ile genlerin cis-acting'leri incelenmiştir. Belirlenen genlere ait diziler NCBI veri tabanından elde edilmiştir. Seçilen genlere uygun primer tasarımları Integrated DNA Technologies IDT, Primer Quest (<https://www.idtdna.com>)

Çevrimiçi programı kullanılarak yapılmıştır. Primerlerin tasarımı ve seçiminde T_m değerleri, hairpin oluşturma ihtimali ve GC% oranları göz önüne alınmıştır.

Integrated DNA Technologies acquires Archer™ next generation sequencing research assays to advance actionable scientific discoveries.

IDT
INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES

Search 

Order by stock part number >

GET HELP  EN SIGN IN

0 ITEMS 0,00 € EUR

PRODUCTS & SERVICES ▾ APPLICATIONS & SOLUTIONS ▾ SUPPORT & EDUCATION ▾ TOOLS ▾ COMPANY ▾

 **PrimerQuest™ Tool**

Design primers or assays for PCR, qPCR, or sequencing (any species).

- Customization of ~45 parameters, allowing qPCR assay designs:
 - With specific primer, probe, or amplicon criteria
 - Across a specified location
- Design algorithm includes multiple checks to reduce primer-dimer formation
- Provides flexible sequence entry and batch entries (up to 50 sequences)

Sign In

UserName

Password

☐ Keep me signed in. Details [Forgot Password](#)

SIGN IN **REGISTER**

Şekil 3.30 IDT çevrimiçi aracı

Çizelge 3.2 Primer dizileri, bağlanma sıcaklıkları, baz sayısı ve GC oranı

Primer Adı	Primer Yönü	Baz Dizisi	Baz Sayısı	T_m (°C)	GC (%)
PvGATA-01	İleri	CTCTCCATTACCATCTCCTTC	22	62	50
	Geri	AGGTAGGGCAGTCCTGATTA	20	62	50
PvGATA-09	İleri	GCAGCAACAATGAGCAGAAG	20	62	50
	Geri	GGCGTTGCACAGAGACTTA	19	62	52,6
PvGATA-10	İleri	CTTCTCTTCAACCCTCCAGAAC	22	62	50
	Geri	AGCCTGTTTATAAGCTGGTAAG	22	62	45,5
PvGATA-12	İleri	CAAACACACCACGCAATCTC	20	62	50
	Geri	TGGAAGTGGTATCACAGTTGG	21	62	47,6
PvGATA-14	İleri	GTGTGAGGTACAAGTCTGGAAG	22	62	50
	Geri	CTCATCTCCATGACTCTCTTGTG	23	62	47,8
PvGATA-15	İleri	GACTCTTTCTCTGGTGGGAAGTC	22	62	50
	Geri	CTGGACTTGCTGTCTGGAAT	20	62	50
PvGATA-18	İleri	GCTCTCAGTTCCGTATGAAGAC	22	62	50
	Geri	ACGATGGCTCATCCACTTTC	20	62	50
PvGATA-20	İleri	CAGCTGATATCGGGCATGAA	20	62	50
	Geri	CAGAGTGAAACCCGCTTCTT	20	62	50
PvGATA-29	İleri	AGCAGACATCTCCAGCTCTA	20	62	50
	Geri	AGGGACACTGTTCTGGTTTG	20	62	50
PvGATA-30	İleri	CTTCGGCGATCCTCAATTCT	20	62	50
	Geri	GTTTCGAGAGCCATTCCAGTT	20	62	50
PvACT	İleri	TGCATACGTTGGTGATGAGG	20	57	50
	Geri	AGCCTTGGGGTTAAGAGGAG	20	59	55

3.13 Real-Time PCR analizi

Sentezlenen cDNA'ların RT-qPCR analizleri, iTaq Universal SYBR Green Supermix (Biorad, ABD) ve Magnetic Induction Cycler (MIC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon koşulları, Büyük vd. (2019) önerileri dikkate alınarak belirlenmiştir. Fasulye bitkisinden alınan 12 örnek, her biri 2 tekrarlı olacak şekilde deney planı yapılmıştır. Gen ifade analizlerini karşılaştırabilmek adına referans olarak Actin (ACT) geni kullanılmıştır. Reaksiyonunda istenilen DNA bölgesinin çoğaltıldığından emin olmak amacıyla erime eğrisi analizleri incelenmiştir. Reaksiyon bileşenleri (Çizelge 3.3) ve koşulları (Çizelge 3. 4) aşağıda gösterilmiştir.

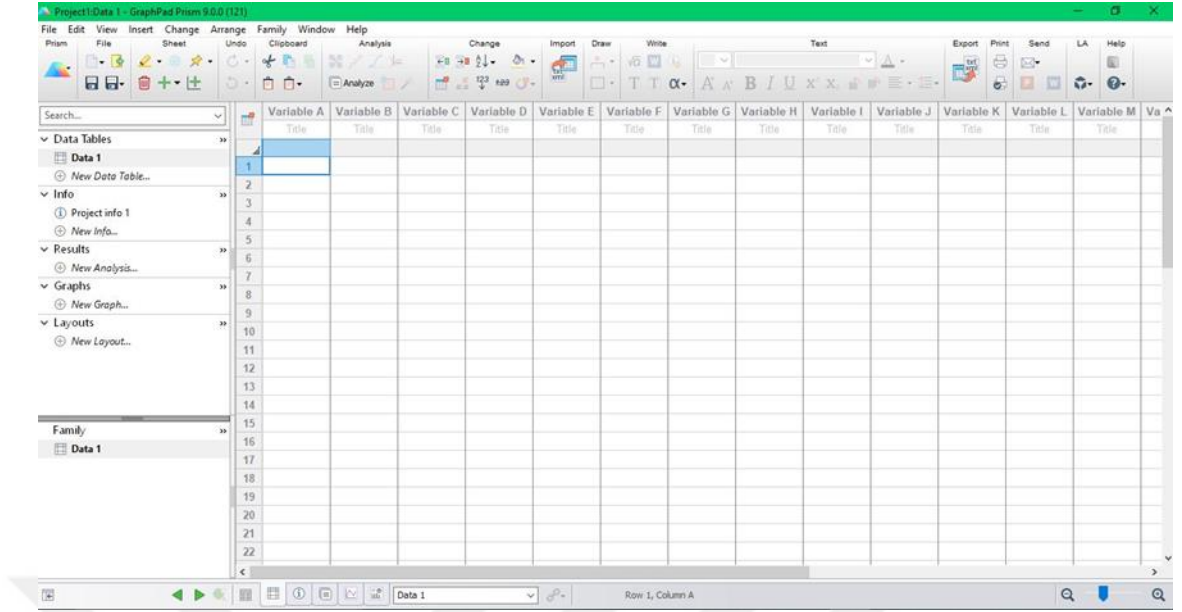
Çizelge 3.3 Reaksiyon bileşenleri ve miktarları

Reaksiyon Bileşenleri	Miktar
iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (2x)	5 µl
İleri Primer (10 µM)	0.5 µl
Geri Primer (10 µM)	0.5 µl
cDNA	1 µl
ddH ₂ O	3 µl

Çizelge 3.4 Reaksiyon koşulları

Döngü	°C	Süre (Smoliak vd.)
Ön denatürasyon	95 °C	30
Denatürasyon	95 °C	15
Bağlama/Uzama	60 °C	30
Erime Eğrisi Analizi	60 °C → 95 °C	

PCR analizi sonrasında elde edilen data'lara ait Multiple t testi, Graphpad Prism 9.0.0.121 (<https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>) yazılımı kullanılarak istatistiksel analizleri yapılmıştır. Elde edilen verilerin grafikleri oluşturulmuştur. Grafiklerin oluşturulurken Alpha değeri 0,05 olarak seçilip analizler bu kriter göz önünde tutularak yapılmıştır.



Şekil 3.31 Graphpad Prism 9.0.0.121 yazılımı

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 *PvGATA* Genlerinin Biyoinformatiksel Analizi

Fasulye genomunda yapılan analizler sonucunda 32 adet *GATA* geni tanımlanmıştır. Tanımlanan genler, *PvGATA* biçiminde isimlendirilmiştir. *PvGATA* genlerine ait kromozom lokasyonları, başlangıç ve bitiş noktaları, protein uzunlukları, izoelektrik noktaları, moleküler ağırlıkları, kararsızlık indeksleri, alifatik indeksleri ve NCBI veri tabanına erişim kodları gösterilmiştir. Çizelge 4.1’de belirtildiği üzere *PvGATA* genlerinin moleküler ağırlıkları, 13075.96-59726.83 Da arasında değişmekte olup protein uzunlukları ise 106-552 (aa) arasında değişmektedir. Tespit edilen genler 11 tane kromozom üzerinde lokalize olmaktadır. Kararsızlık indeksleri incelendiğinde, en düşük değerin 40.81 olduğu görülmekte olup genlerin kararsız yapıda olduğu tahmin edilmektedir. İzoelektrik noktalar (pI) değerlendirildiğinde genlerden 12 tanesinin pI değeri 7’den büyük, bazik karakterli olduğu görülmekte iken 20 tanesinin pI değeri 7’den düşük, asidik karakterli olduğu görülmektedir. GRAVY değerlerinin, -0.376 ile -0.888 arasında olması genlerin hidrofilik özellikte olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Alifatik endeks değerleri 37.57 ile 81.49 arasındadır.

Çizelge 4.1 *Phaseolus vulgaris* bitkisinde bulunan GATA genlerinin kataloğu

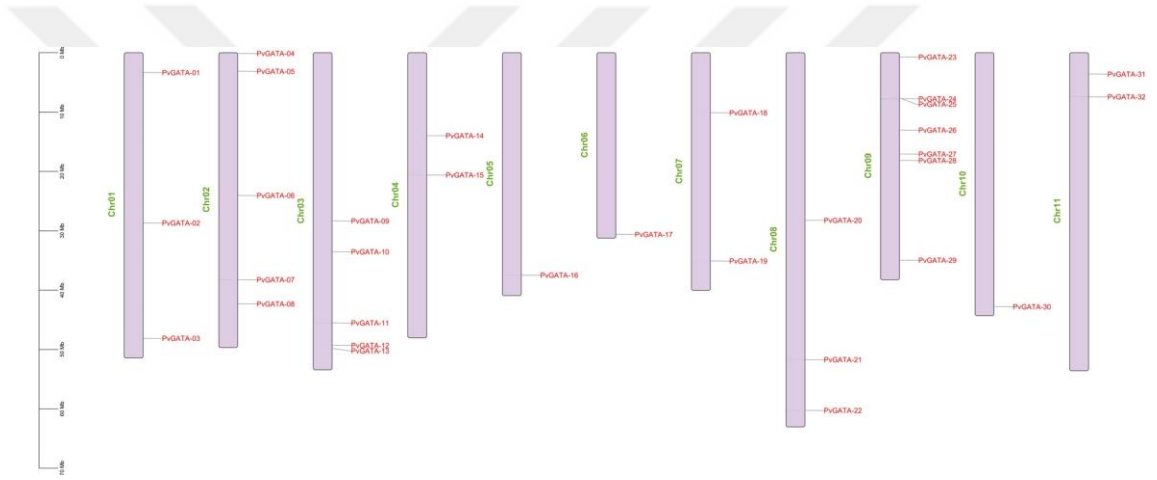
ID	Genomik veri tabanı kimliği	<i>P. vulgaris</i> genomu üzerindeki fiziksel lokasyon			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlık (Da)	Karasızlık indeksi	NCBI Acc. No	GRAVY	Alifatik indeks
		Kromozom	Başlangıç pozisyonu (bp)	Bitiş pozisyonu (bp)							
PvGATA-01	Phvul.001G035600.1	1	3.333.686	3335909	290	9.16	32465.58	56.03	XP_007161012.1	-0.798	52.48
PvGATA-02	Phvul.001G109500.1	1	28671292	28672700	271	7.04	30131.03	59.28	XP_007161927.1	-0.596	65.79
PvGATA-03	Phvul.001G226500.1	1	48107136	48108068	106	9.50	11956.03	63.94	XP_007163338.1	-0.489	66.23
PvGATA-04	Phvul.002G001500.1	2	110857	117126	538	5.97	59726.83	52.60	XP_007156588.1	-0.575	72.10
PvGATA-05	Phvul.002G030800.1	2	3128222	3129995	241	8.50	26973.82	61.01	XP_007156947.1	-0.819	40.12
PvGATA-06	Phvul.002G112000.1	2	24037054	24038816	319	5.90	35434.66	65.33	XP_007157952.1	-0.664	54.04
PvGATA-07	Phvul.002G213800.1	2	38231712	38238853	360	5.52	40369.88	44.55	XP_007159158.1	-0.799	62.89
PvGATA-08	Phvul.002G250800.1	2	42308788	42309747	141	9.35	16211.88	43.34	XP_007159598.1	-0.544	81.49
PvGATA-09	Phvul.003G110400.1	3	28339589	28340677	162	9.45	17082.35	63.32	XP_007154340.1	-0.659	65.74
PvGATA-10	Phvul.003G137100.1	3	33532983	33534830	309	9.48	34651.14	53.53	XP_007154661.1	-0.845	60.03
PvGATA-11	Phvul.003G224500.2	3	45509568	45515404	552	6.31	61512.46	43.69	XP_007155707.1	-0.484	73.93
PvGATA-12	Phvul.003G253900.1	3	49301440	49303670	239	6.49	26723.24	54.25	XP_007156047.1	-0.885	37.57
PvGATA-13	Phvul.003G258900.2	3	49860349	49861783	293	6.89	32460.25	62.35	XP_007156103.1	-0.735	55.63
PvGATA-14	Phvul.004G079200.1	4	13974973	13976647	253	8.94	28620.65	53.11	XP_007151835.1	-0.614	65.77
PvGATA-15	Phvul.004G083100.1	4	20589483	20594588	336	5.66	36453.67	48.25	XP_007151876.1	-0.480	58.72
PvGATA-16	Phvul.005G134400.1	5	37465248	37469908	323	6.71	36136.43	57.23	XP_007150193.1	-0.617	58.79
PvGATA-17	Phvul.006G212400.1	6	30600098	30601331	149	6.22	17448.53	56.62	XP_007148481.1	-0.897	74.50
PvGATA-18	Phvul.007G095300.1	7	10106294	10110271	354	6.11	37742.55	55.15	XP_007143712.1	-0.376	60.62
PvGATA-19	Phvul.007G227300.1	7	35081789	35085236	250	6.95	27865.09	51.75	XP_007145298.1	-0.888	53.84
PvGATA-20	Phvul.008G157600.1	8	28223423	28225219	348	6.42	38599.81	55.78	XP_007140987.1	-0.724	61.32
PvGATA-21	Phvul.008G182900.1	8	51698029	51702633	311	5.94	33895.53	49.12	XP_007141281.1	-0.695	59.61
PvGATA-22	Phvul.008G254600.1	8	60252803	60258928	300	6.46	32970.65	40.81	XP_007142122.1	-0.796	63.67
PvGATA-23	Phvul.009G003800.1	9	717876	719532	300	6.54	33031.10	48.78	XP_007135927.1	-0.589	63.37
PvGATA-24	Phvul.009G035300.1	9	7753223	7760416	338	4.96	36872.59	54.08	XP_007136307.1	-0.750	66.07

Çizelge 4.1 *Phaseolus vulgaris* bitkisinde bulunan GATA genlerinin kataloğu (devam)

ID	Genomik veri tabanı kimliği	<i>P. vulgaris</i> genomu üzerindeki fiziksel lokasyon			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlık (Da)	Karasızlık indeksi	NCBI Acc. No	GRAVY	Alifatik indeks
		Kromozom	Başlangıç pozisyonu (bp)	Bitiş pozisyonu (bp)							
PvGATA-25	Phvul.009G035400.1	9	7764190	7768361	276	5.85	30488.75	52.56	XP_007136308.1	-0.676	68.12
PvGATA-26	Phvul.009G077500.1	9	13033665	13034469	225	9.39	24914.18	42.80	XP_007136825.1	-0.648	61.24
PvGATA-27	Phvul.009G110400.1	9	17066607	17068206	319	5.84	35739.51	49.53	XP_007137230.1	-0.750	58.97
PvGATA-28	Phvul.009G118600.1	9	18151705	18153038	115	9.95	13075.96	60.61	XP_007137337.1	-0.750	55.22
PvGATA-29	Phvul.009G232700.1	9	34952223	34954130	306	9.44	34340.03	49.60	XP_007138732.1	-0.846	65.36
PvGATA-30	Phvul.010G146300.1	10	42780073	42781624	347	6.21	37922.14	54.68	XP_007135644.1	-0.627	58.01
PvGATA-31	Phvul.011G039600.1	11	3598410	3600093	303	5.37	33455.49	57.77	XP_007131760.1	-0.580	65.64
PvGATA-32	Phvul.011G080200.1	11	7411248	7418979	295	9.23	33142.79	59.31	XP_007132266.1	-0.556	68.71

4.2 PvGATA Genlerinin Kromozomal Dağılımı

Phytozome veri tabanından alınan data'lara göre fasulyede bulunan GATA genlerinin, 11 tane kromozom üzerine lokalize olduğu belirlenmiştir. GATA genlerinin kromozomlar üzerindeki dağılımları TBTools programı kullanılarak görselleştirilmiştir. En uzun diziye sahip PvGATA-11 geni 3.kromozomda bulunmakta iken en kısa diziye sahip PvGATA-03 geni 1.kromozom üzerinde bulunmaktadır. GATA genlerin 7 tanesi kromozom 9 üzerinde bulunmaktadır. Chr5, Chr6 ve Chr10'da birer adet, Chr4, Chr7 ve Chr11'de ikişer adet, Chr1 ve Chr8'de üçer adet, Chr2 ve Chr3'te beşer adet gen bulunmaktadır.



Şekil 4.1 PvGATA genlerinin kromozomal dağılımı

4.3 PvGATA Genlerinin Türler arası Filogenetik Analizi

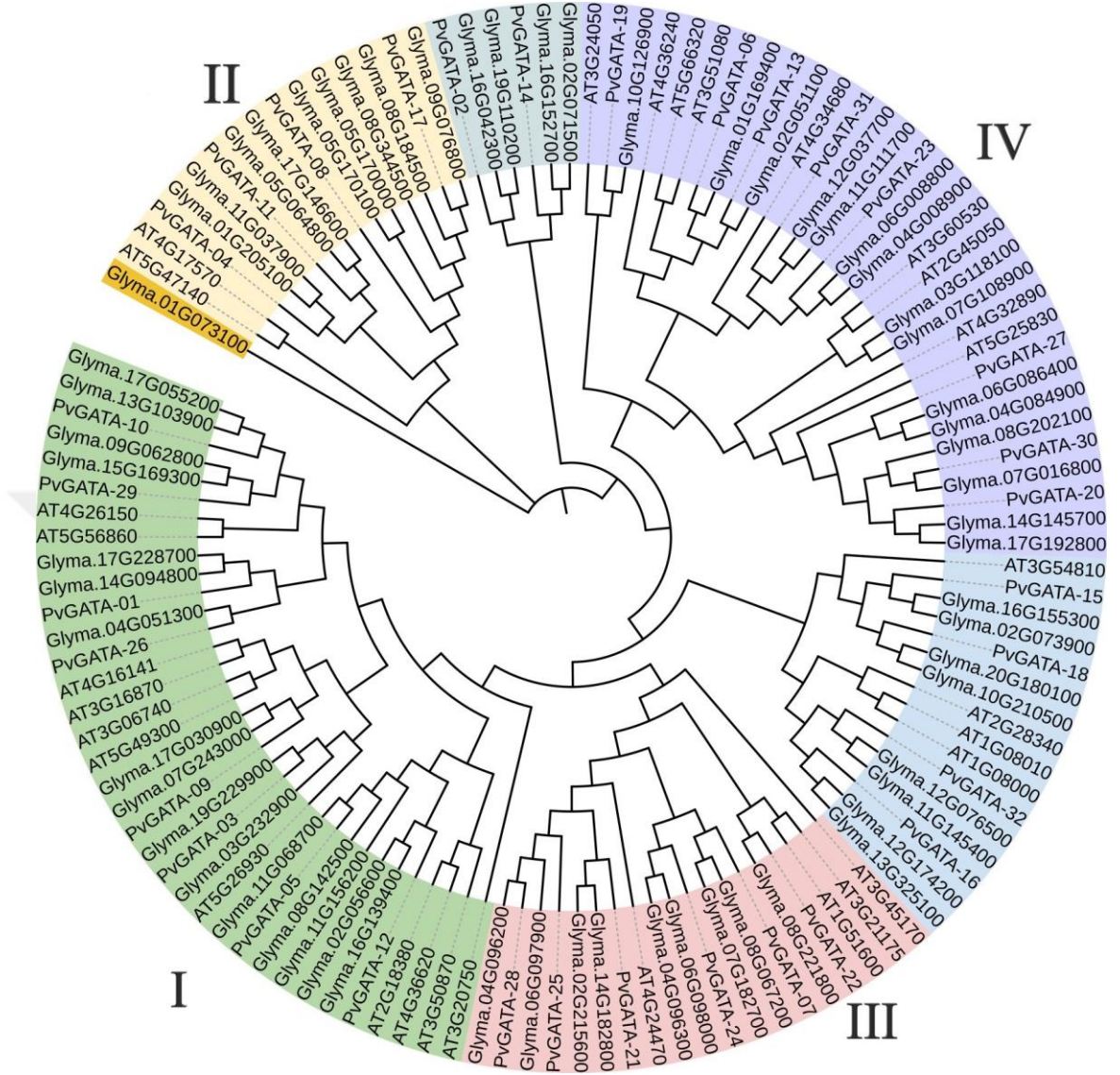
Fasulye, *Arabidopsis thaliana* ve *Glycine max*'te bulunan GATA genlerine ait peptit dizileri kullanılarak MEGA (sürüm 11.0) programı ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik ağaç oluşturulurken Maximum Likelihood yöntemi kullanılmıştır ve İTOL çevrim içi programı ile görselleştirilmiştir.

Filogenetik analizlere göre PvGATA genlerinin 4 alt gruba (I, II, III ve IV) ayrıldığı görülmüştür. Tandem duplikasyon gösteren PvGATA-26 ve PvGATA-29 genleri alt grup I' de yer almaktadır. PvGATA-01-PvGATA10 genleri alt grup I, PvGATA-04-PvGATA-

11 genleri alt grup II, *PvGATA-21-PvGATA-24* genleri alt grup III ve *PvGATA-27-PvGATA-30* genleri alt grup IV'te yer almak üzere aralarında segmental duplikasyon bulunan gen çiftleri de aynı dallarda yer alarak farklı alt gruplara dağılmıştır.

Korunmuş motiflerin ve bazı domainlerin aynı alt grupta olan *PvGATA* üyelerinde bulunduğu sonucuna varılmıştır. Örneğin TIFY ve CCT domainlerinin alt grup III'te bulunan *PvGATA-07*, *PvGATA-21*, *PvGATA-22*, *PvGATA-24* ve *PvGATA25* proteinlerinde yer aldığı; Motif 9'un alt grup I'de bulunan *PvGATA-01*, *PvGATA-03*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-26* ve *PvGATA-29* proteinlerinde yer aldığı görülmektedir.

Filogenetik ağaç analizinin verilerinin, duplikasyon analizleri ile korunmuş motif ve domain analizleri verileri ile paralellik göstermesi, filogenetik ağacın evrimsel süreç ile ilgili verdiği verilerinin güvenilir olabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.2 GATA proteinlerinin filogenetik sınıflandırılması

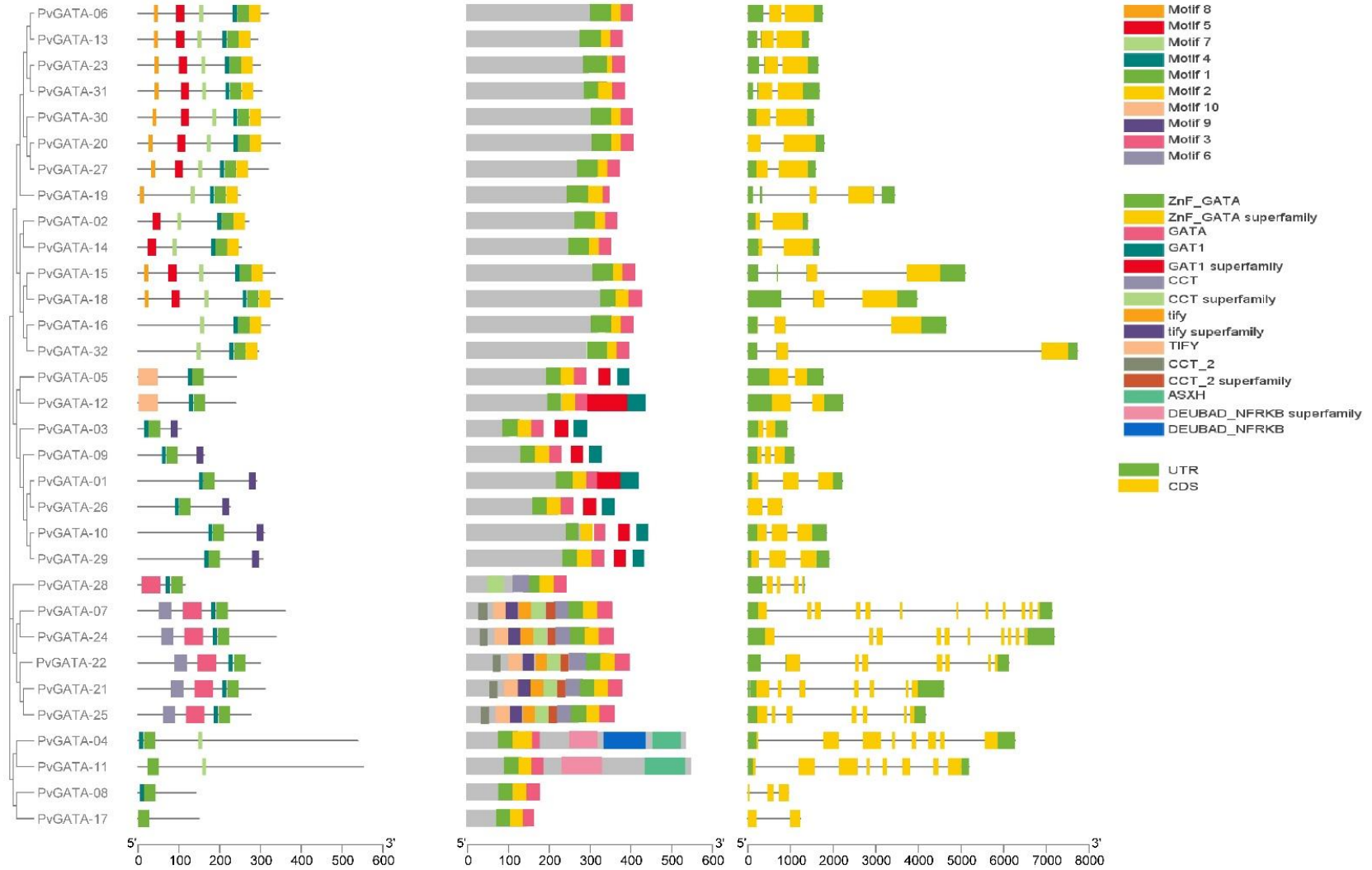
4.4 PvGATA Üyelerinin Korunmuş Motif Bölgeleri

‘Gene Structure Display Server (GSDS)’ veri tabanı aracılığı ile *PvGATA* gen ailesine ait üyelerin gen yapıları, fonksiyonları ve evrimsel yönden ilişkileri ile ilgili veriler elde edilmiştir. Bu verilere göre 2-12 arasında ekzon, 2-11 arasında intron içermektedir. Aynı alt aileye mensup üyelerin benzer gen yapılarına sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

PvGATA protein sekansları Phytozome 13 veri tabanı kullanılarak elde edilmiştir. Bu proteinlere ait korunmuş motiflerin belirlenmesi için ‘Multiple Em for Motif Elicitation (MEME)’ (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) çevrimiçi aracı kullanılmıştır. Elde edilen verilere göre aynı alt aileye mensup PvGATA üyelerinin kendi içinde motif benzerliği bulundurduğu tespit edilmiştir.

NCBI Conserved domain search ve JGI Phytozome 13, Gene Structure Display Server 2.0 ve MEME V5.4.1 veri tabanlarından elde edilen veriler TBtools programı aracılığı ile görselleştirilmiştir.

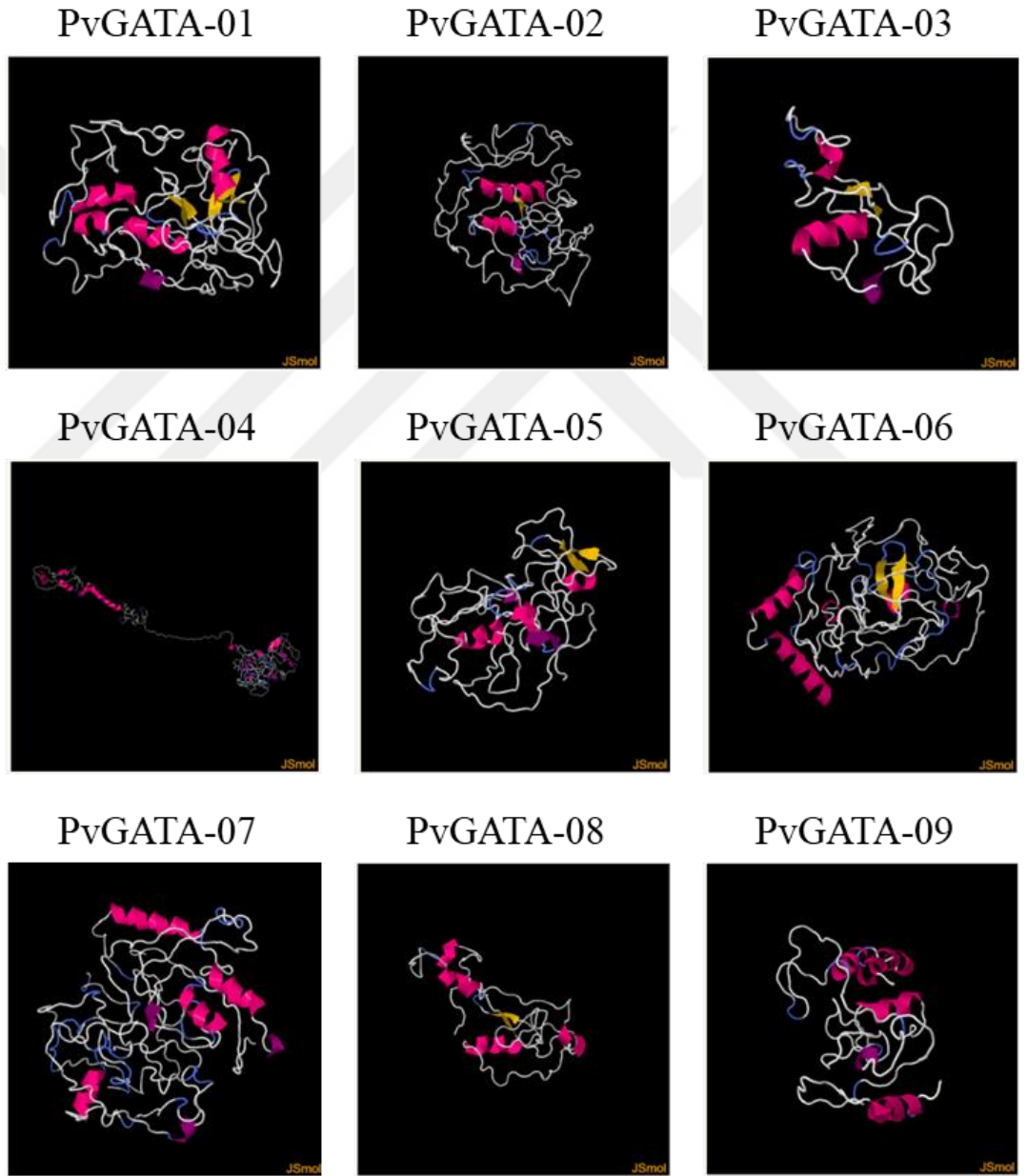




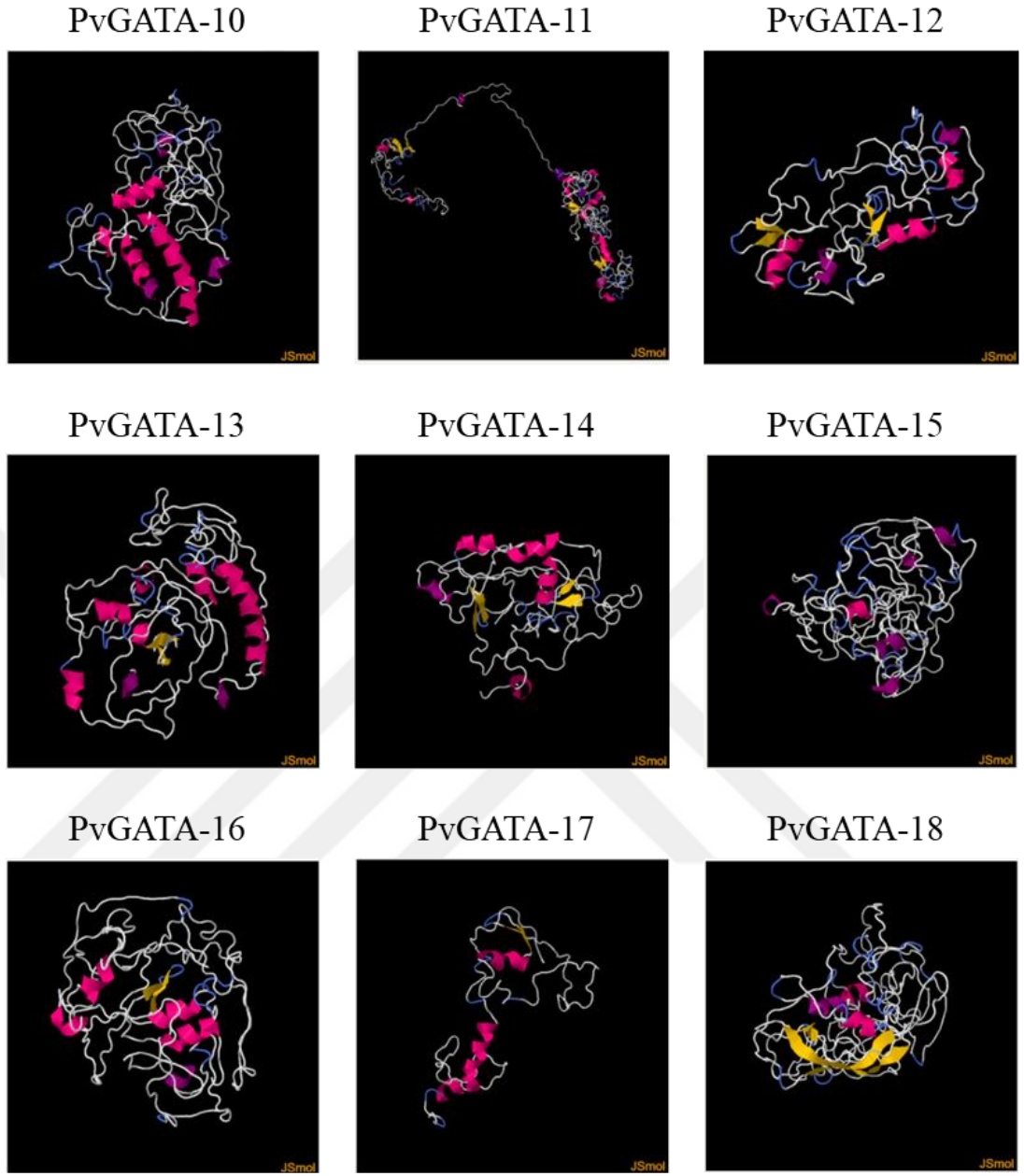
Şekil 4.3 GATA proteinleri motif ve domain bölgeleri

4.5 GATA Proteinleri Üç Boyutlu Modellemeleri

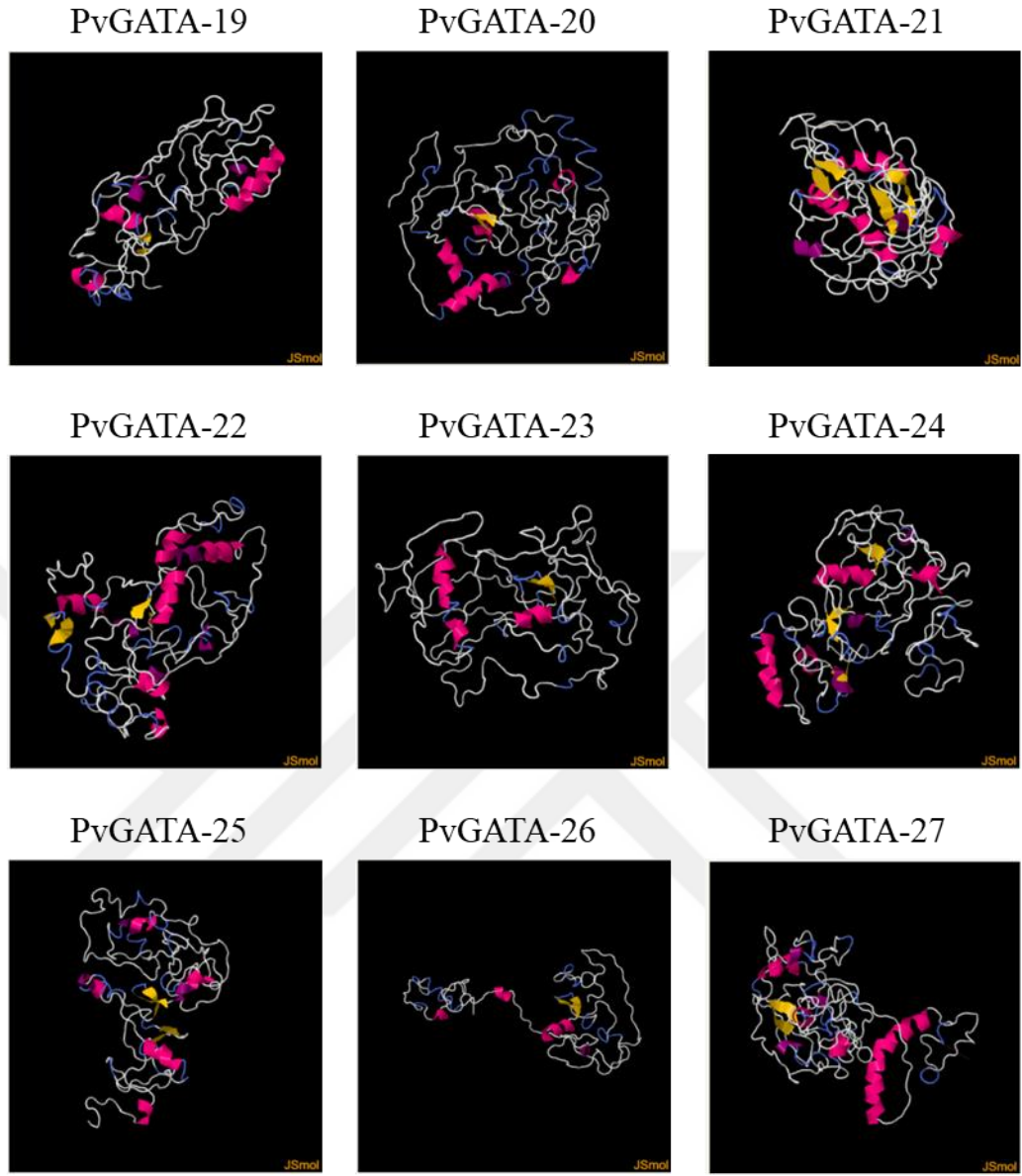
GATA gen ailesi üyelerine ait protein sekansları Phytozome 13 veri tabanı aracılığıyla elde edilmiştir. Elde edilen sekanslar, Phyre2 çevrimiçi aracı ile analiz edilerek 3 boyutlu modellemeleri yapılmıştır. 3 boyutlu homoloji modellemesi oluşturulurken intensive modu tercih edilmiş olup %90 ve üzeri güvenilirlikteki sonuçlar baz alınmıştır (Şekil 4.4; 4.5; 4.6; 4.7).



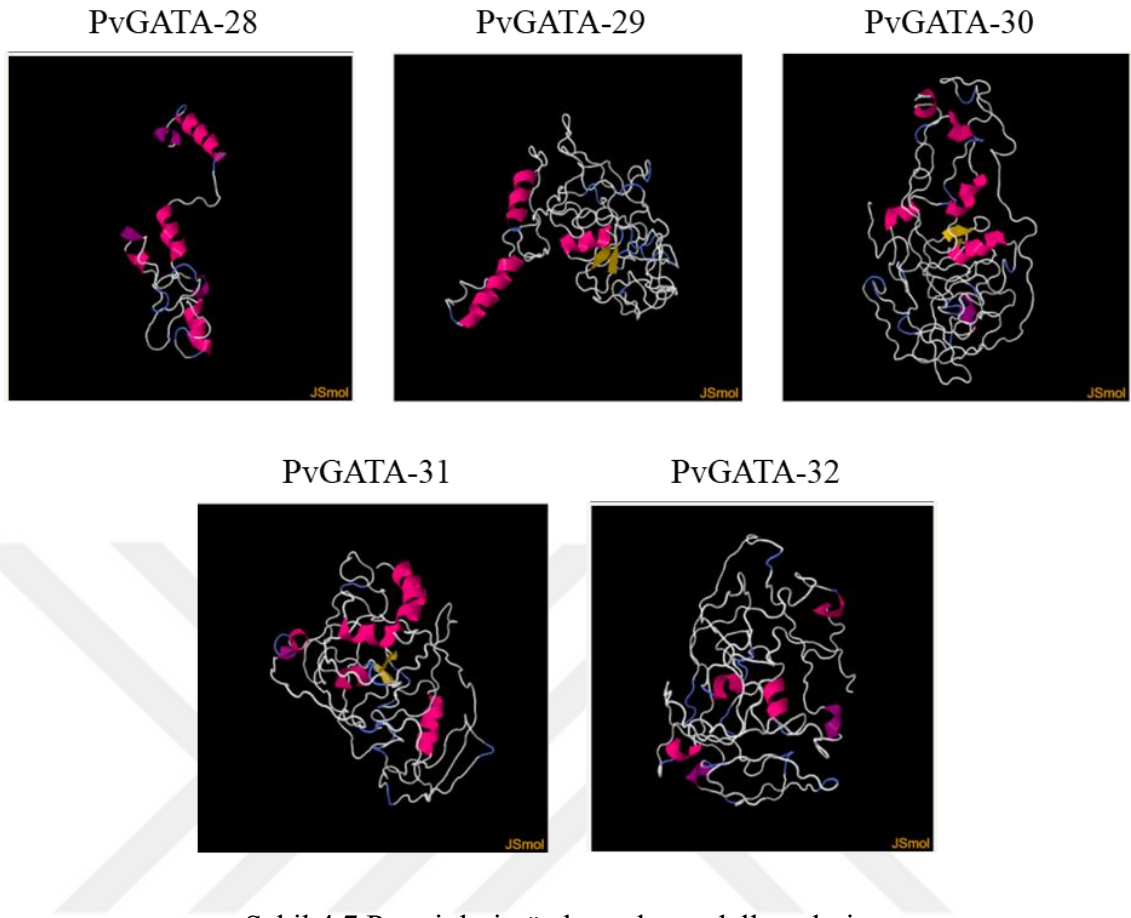
Şekil 4.4 Proteinlerin üç boyutlu modellemeleri



Şekil 4.5 Proteinlerin üç boyutlu modelleri



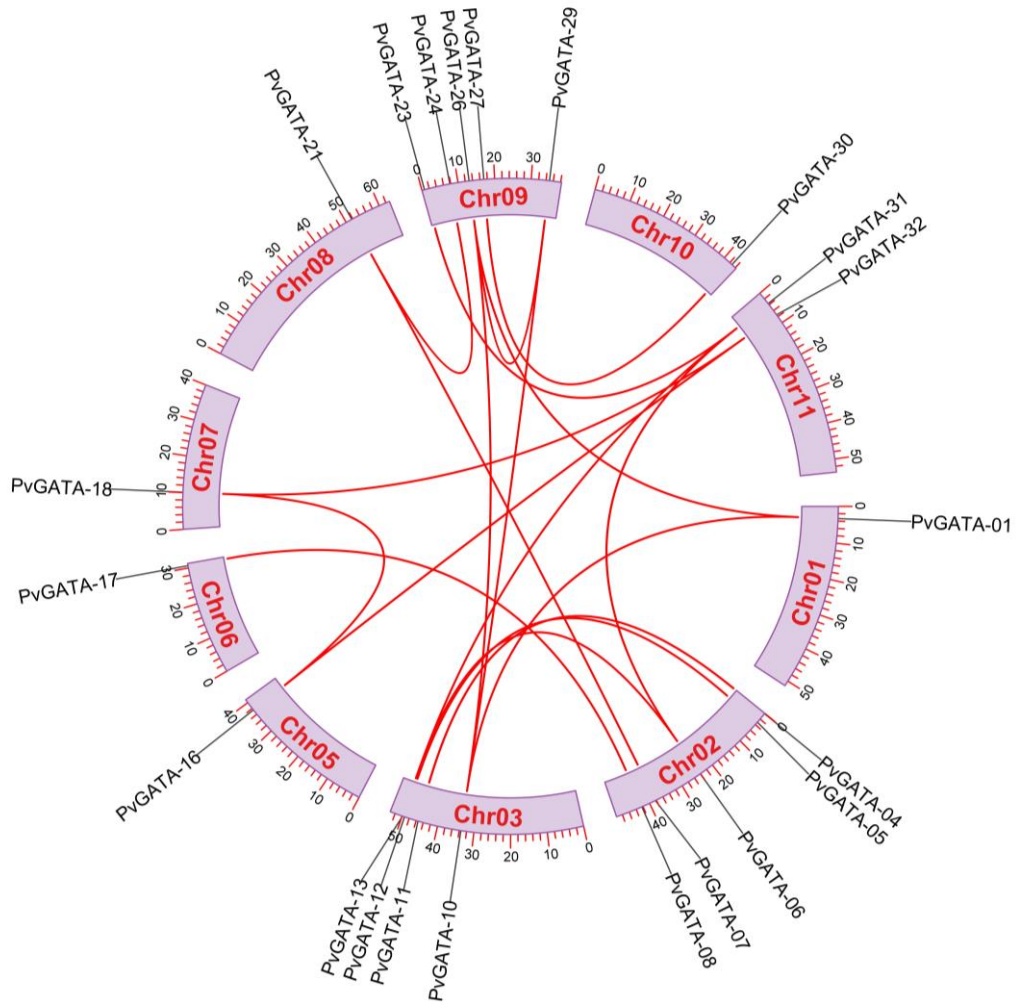
Şekil 4.6 Proteinlerin üç boyutlu modellemeleri



Şekil 4.7 Proteinlerin üç boyutlu modellemeleri

4.6 GATA Genlerinin Gen Duplikasyonları ve Sinteni Analizi

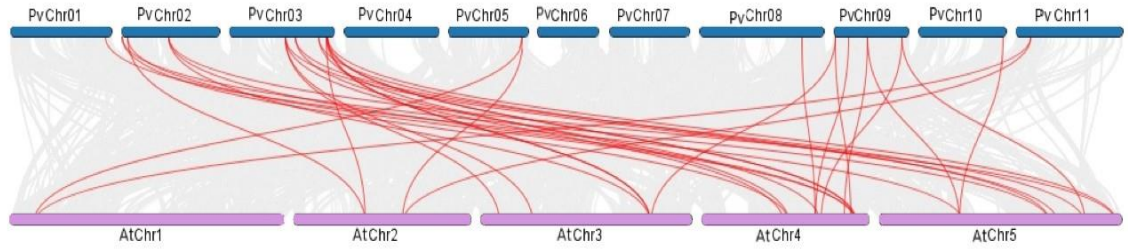
Gen duplikasyonları gen sayılarının artması, gen ailelerinin oluşmasında ve çeşitlenmesinde önemli bir mekanizmadır (Magadum vd., 2013). Gerçekleştirilen analizler doğrultusunda Chr09 üzerinde konumlanmış *PvGATA-26* ve *PvGATA-29* genleri arasında bir adet tandem duplikasyon bulunmuştur. Bu tez çalışmasında farklı kromozomlar arasında oluşmuş on yedi adet segmental duplikasyon görülmüştür. Fasulyede bulunan *PvGATA* gen ailesine ait duplikasyonlar circos grafiği ile görselleştirilmiştir.



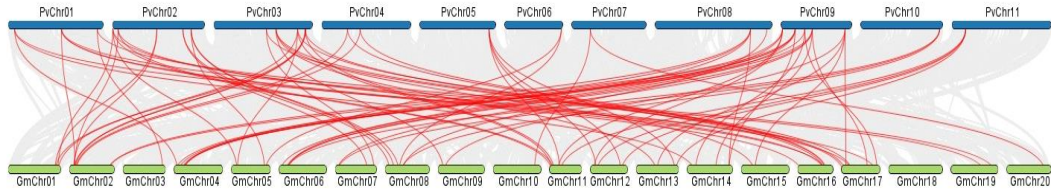
Şekil 4.8 PvGATA genlerinin tandem ve segmental duplikasyonları

Farklı türler arasındaki *GATA* ortolog gen çiftlerinin K_a/K_s (eşanlamlı olmayan ikame (K_a)/eşanlamlı ikame (Bhargava & Sawant)) oranları *GATA* gen ailesini etkileyen evrimsel sürecin yönü ve işleyişini anlayabilmek için yardımcı olmaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında *P. vulgaris*, *A.thaliana* ve *G.max* türleri arasındaki ortolog genlerin K_a/K_s değerleri TBtools kullanılarak elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *P.vulgaris*- *A.thaliana* arasındaki ortolog genlere ait K_a/K_s oranları 1'den küçük olmakla birlikte 15 gen çiftinin sonuçları çıkmamıştır, çıkmayan sonuçlar NaN olarak gösterilmiştir. *P.vulgaris*- *G.max* türlerinde bulunan *GATA* ortolog gen çiftlerine ait K_a/K_s oranları da 1'den küçük çıkmıştır, sadece 1 gen çiftinin sonucu çıkmamıştır (NaN). K_a/K_s oranlarının 1'den küçük olması *GATA* genlerinin evrimsel süreçte negatif seçim

etkisi altında kaldığını göstermektedir (Li vd., 2009). Farklı türlerde bulunan, yapı ve işlevsellik yönünden benzerlik gösteren gen çiftleri için ortolog gen ifadesi kullanılmaktadır. Ortolog genler, ortak bir atadan türleşme yoluyla farklılaşmış genlerdir. Sinteni analizi, farklı türlerde bulunan ortolog genler arasındaki ilişkinin dizi benzerliğine dayandırılarak tanımlanmasını sağlayan bir analizdir (Zahn-Zabal vd., 2020). *P.vulgaris*-*A.thaliana* ve *P.vulgaris*-*G.max* arasında yapılan sinteni analizi görselleri Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da görüldüğü gibidir. Arka plandaki gri alan türler arasındaki ortolog genleri temsil ederken kırmızı çizgiler bu türler arasındaki *GATA* genlerine ait sintenik ortolog gen çiftlerini ifade etmektedir. *P.vulgaris*-*G.max* arasındaki ortolog ilişkinin *P.vulgaris*-*A.thaliana* arasındaki ortolog ilişkiye kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir.



Şekil 4.9 *P.vulgaris*- *A.thaliana* arasındaki sintenik ilişki

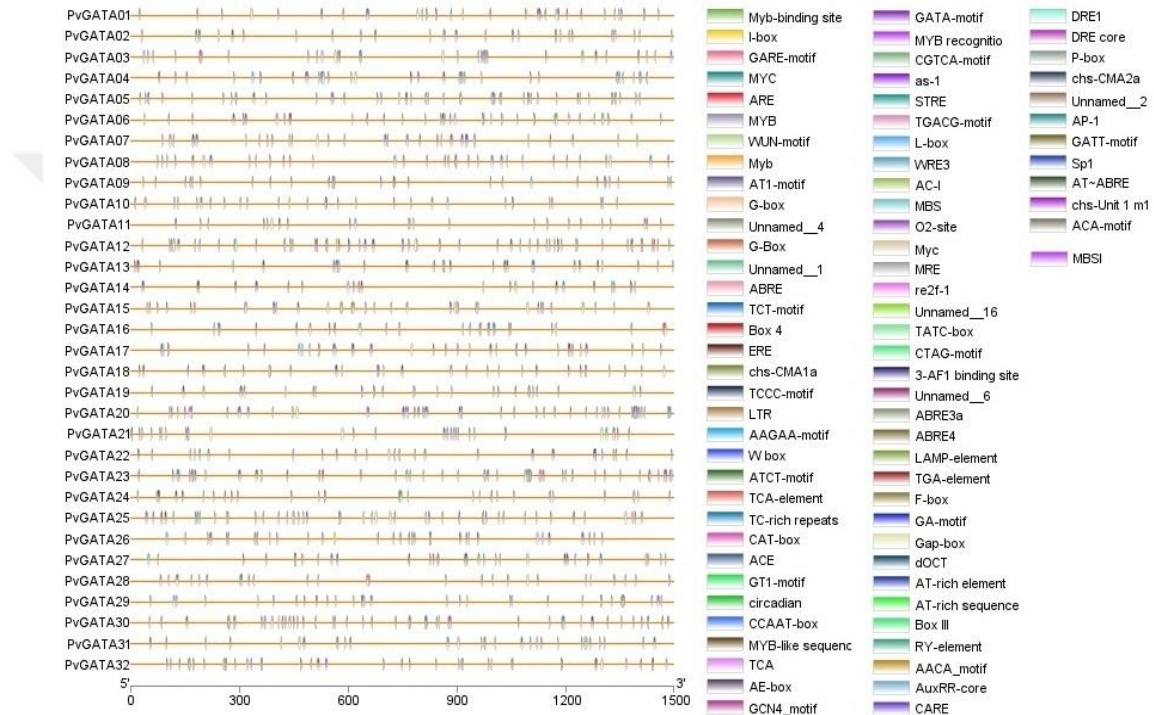


Şekil 4.10 *P.vulgaris*- *G.max* arasındaki sintenik ilişki

4.7 PvGATA Genlerinde Promotor Bölge Analizi

Promotör bölgeleri, gen ekspresyonunda düzenleyici bir etkiye sahip olan, transkripsiyonun başlanması için gerekli faktörlerin bağlanabileceği spesifik yerleri içeren, transkripsiyonun görüldüğü bölgenin yakınında bulunan bölgelerdir (Solovyev vd., 2010) (Juven-Gershon vd., 2008). Bu tez çalışmasında *PvGATA* gen ailesinin promotör bölgesinde bulunan cis elementlerinin tespiti için Phytozome veri tabanından

genlerin 1500 baz yukarısı elde edilmiş olup Plant Care veri tabanı kullanılarak analiz edilmiştir. TBtools programı ile bu analiz sonuçları görselleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *PvGATA* gen ailesinin promotör bölgesinde tespit edilen cis elementler, absisik asit, oksin ve giberellin duyarlılığı, hücre döngülerinin düzenlenmesi ve gelişim süreçleri, ışığa duyarlılık, sirkadiyen ritmin düzenlenmesi, hormonlar ve abiyotik strese karşı oluşan tepkilerle ilişkilidirler.



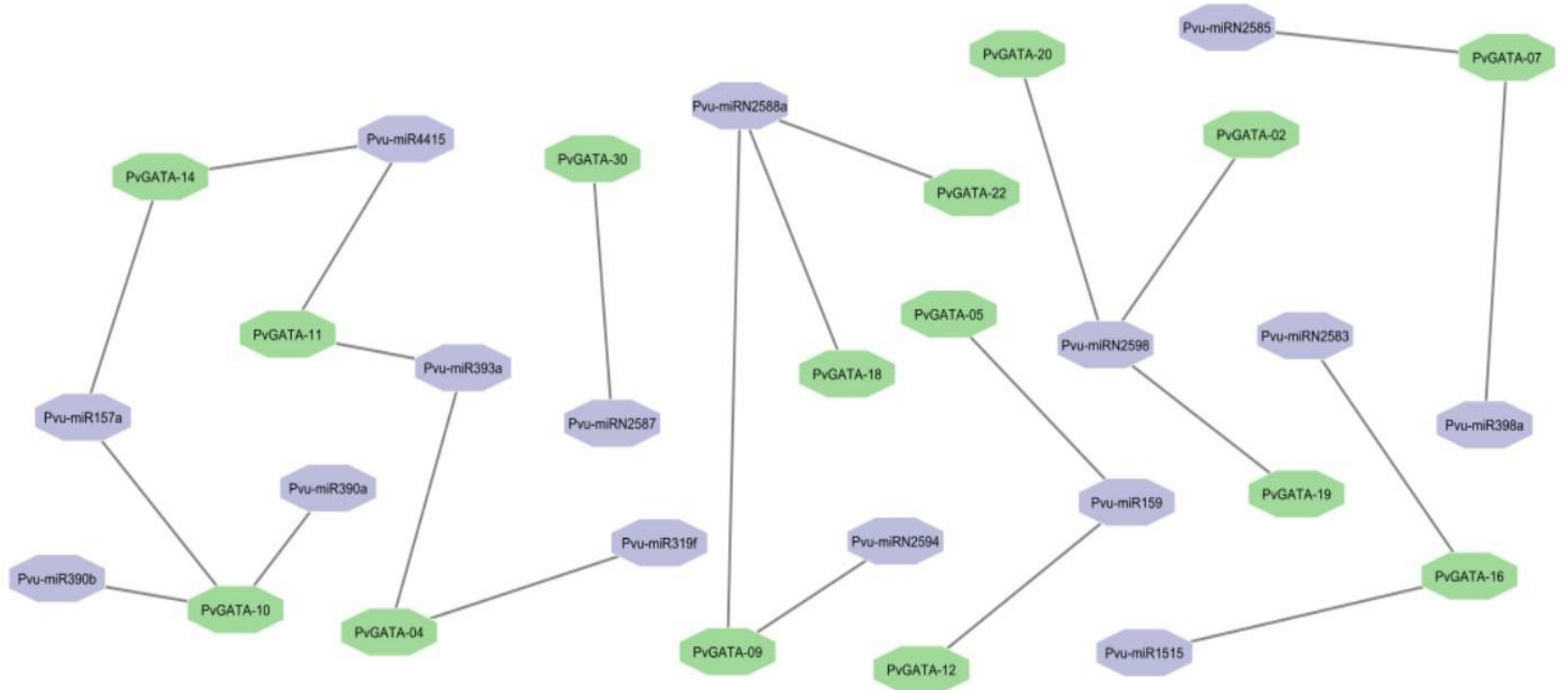
Şekil 4.11 *PvGATA* genlerinin 1500 upstream bölgesinde bulunan cis-elementlerin gösterimi

4.8 *PvGATA* Transkriptlerini Hedef Alan miRNA'ların Tanımlanması

MicroRNA (miRNA)'lar, yaklaşık 19-24 nükleotit uzunluğunda olan ve gen ekspresyonunda görev alan ancak kodlamada yer almayan RNA'lardır (Shin vd., 2020). Fasulyede bulunan miRNA'lar PmiREN çevrimiçi aracı ile indirilip psRNATarget çevrimiçi aracı ile analiz edilmiştir. *PvGATA* genleri ile bu genleri hedefleyen miRNA'lar arasındaki ilişki Cytoscape v3.10.0 programı yoluyla görselleştirilmiştir (Şekil 4.12). Elde edilen verilere göre 15 tane farklı miRNA *PvGATA* genlerini hedeflemektedir.

miRNA'lar ve hedefledikleri genler şu şekildedir; Pvu-miRN2598 (*PvGATA-02*, *PvGATA-19*, *PvGATA-20*), Pvu-miR1515 (*PvGATA-16*), Pvu-miR4415 (*PvGATA-11*, *PvGATA-14*), Pvu-miRN2583 (*PvGATA-16*), Pvu-miR157a (*PvGATA-10*, *PvGATA-14*), Pvu-miR390a (*PvGATA-10*), Pvu-miR393a (*PvGATA-04*, *PvGATA-11*), Pvu-miRN2588a (*PvGATA-09*, *PvGATA18*, *PvGATA22*), Pvu-miR159 (*PvGATA-05*, *PvGATA-12*), Pvu-miR319f (*PvGATA-04*), Pvu-miR390b (*PvGATA-10*), Pvu-miR398a (*PvGATA-07*), Pvu-miRN2585 (*PvGATA-07*), Pvu-miRN2587 (*PvGATA-30*) ve Pvu-miRN2594 (*PvGATA-09*).





Şekil 4.12 *PvGATA*'yı hedefleyen miRNA'lar

4.9 PvGATA Proteinlerinin Hücre İçi Yerleşimleri

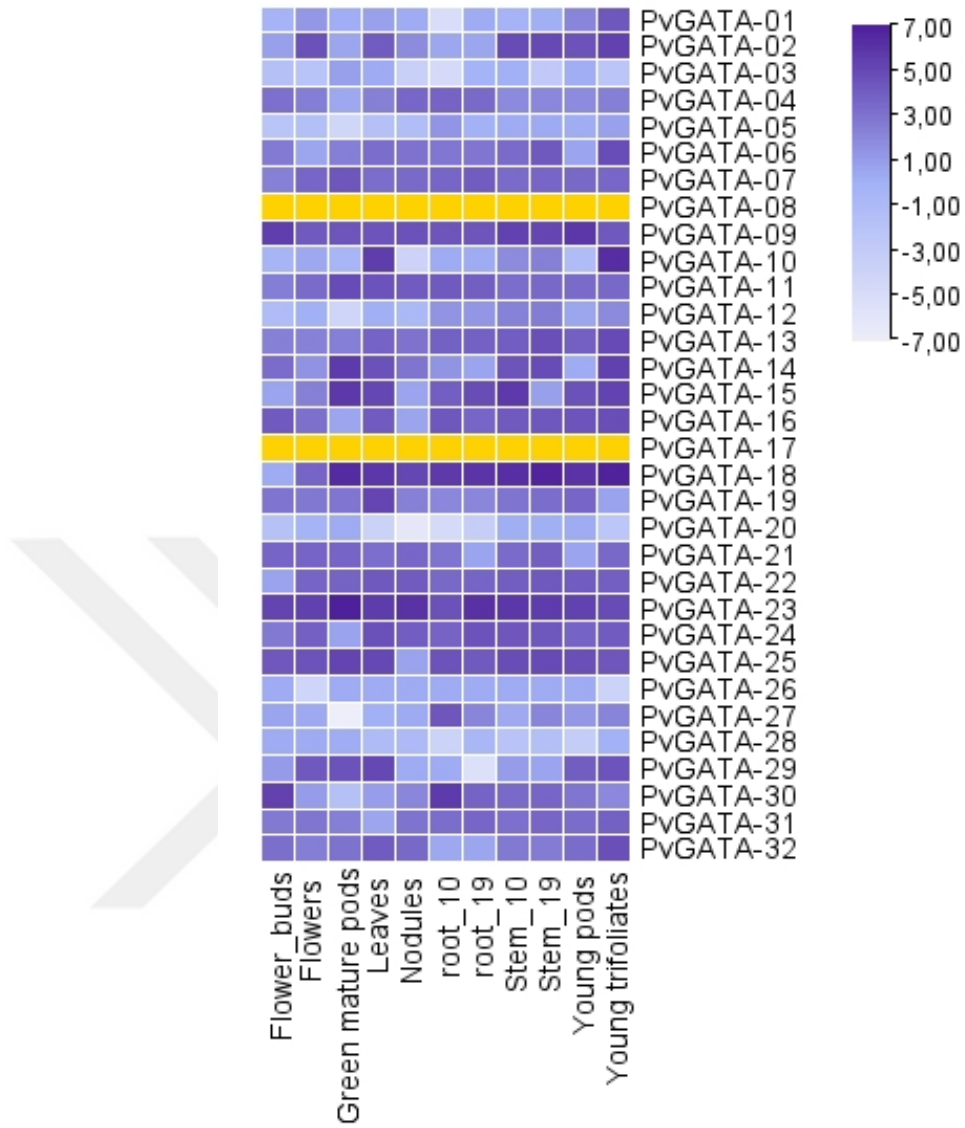
GATA proteinlerinin hücre içerisindeki yerleşimi WoLFPSORT veri tabanı kullanılarak ile belirlenmiştir. *PvGATA-08*'in hücre içerisinde 7 farklı yerde lokalize olduğu tespit edilmiştir. Proteinlerin hücre içindeki yerleşim yerleri Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 PvGATA proteinlerinin hücre içi konumları

Proteinler	Hücre içi yerleşim yerleri
PvGATA-01	nucl: 13, chlo: 1
PvGATA-02	nucl: 14
PvGATA-03	cyto: 4, golg: 4, nucl: 2, E.R.: 2, chlo: 1, mito: 1
PvGATA-04	chlo: 7, nucl: 7
PvGATA-05	nucl: 8, chlo: 5, extr: 1
PvGATA-06	nucl: 14
PvGATA-07	nucl: 14
PvGATA-08	cyto: 7, extr: 2, nucl: 1, mito: 1, plas: 1, cysk: 1, golg: 1
PvGATA-09	nucl: 9, chlo: 2, extr: 2, mito: 1
PvGATA-10	nucl: 10, chlo: 2, plas: 1, pero: 1
PvGATA-11	chlo: 8, nucl: 5, plas: 1
PvGATA-12	nucl: 6, chlo: 3, mito: 2, extr: 2, cyto: 1
PvGATA-13	nucl: 13, cyto: 1
PvGATA-14	nucl: 13, extr: 1
PvGATA-15	nucl: 14
PvGATA-16	nucl: 13, chlo: 1
PvGATA-17	nucl: 8, chlo: 3, cyto: 1, mito: 1, extr: 1
PvGATA-18	nucl: 13, cyto: 1
PvGATA-19	nucl: 13, cyto: 1
PvGATA-20	nucl: 13, cyto: 1
PvGATA-21	nucl: 11, chlo: 2, cyto: 1
PvGATA-22	nucl: 8, cyto: 4, chlo: 1, vacu: 1
PvGATA-23	nucl: 11, chlo: 1, cyto: 1, plas: 1
PvGATA-24	nucl: 14
PvGATA-25	nucl: 9, chlo: 2, cyto: 2, vacu: 1
PvGATA-26	nucl: 6, chlo: 4, mito: 4
PvGATA-27	nucl: 13, chlo: 1
PvGATA-28	nucl: 11, cyto: 2, chlo: 1
PvGATA-29	nucl: 9, chlo: 2, cyto: 1, mito: 1, pero: 1
PvGATA-30	nucl: 13, cyto: 1
PvGATA-31	nucl: 7, chlo: 3, plas: 3, mito: 1
PvGATA-32	nucl: 12.5, cyto_nucl: 7.5, cyto: 1.5

4.10 PvGATA Genleri Doku-Spesifik mRNA Seviyeleri

PvGATA genlerinin, genç trifolit, genç tohum, gövde 19, gövde 10, kök 19, kök 10, nodül, yaprak, yeşil yetiştirkin tohum, çiçek ve çiçek tomurcuğundaki mRNA seviyeleri Phytozome 13 veri tabanından alınmıştır. mRNA seviyelerine ait değerlerinin log2 tabanındaki karşılıkları hesaplatılmıştır. Elde edilen değerler TBtools programı yardımıyla ısı haritası şeklinde görselleştirilmiştir (Şekil 4.13). Oluşturulan çizelgeye göre *PvGATA-09*, *PvGATA18* ve *PvGATA-23*'ün dokulardaki ifade seviyelerinin yüksek, *PvGATA-19* ve *PvGATA-31*'in ifade seviyelerinin orta ve *PvGATA-20* ile *PvGATA-28*'in mRNA seviyelerinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. *PvGATA-27*'nin yeşil olgun tohum dokusundaki ifade seviyesi ve *PvGATA-20*'nin nodül dokularındaki ifade seviyesi düşüktür. *PvGATA-10* ve *PvGATA-02*'nin yaprak dokusundaki, *PvGATA-18* ve *PvGATA23*'ün yeşil olgun tohum dokusundaki ifade seviyeleri yüksektir. *PvGATA-08* ve *PvGATA-17*'nin bu dokulardaki mRNA seviyeleri belirlenememiştir.



Şekil 4.13 *PvGATA* genleri doku-spesifik mRNA ekspresyon seviyeleri ısı haritası

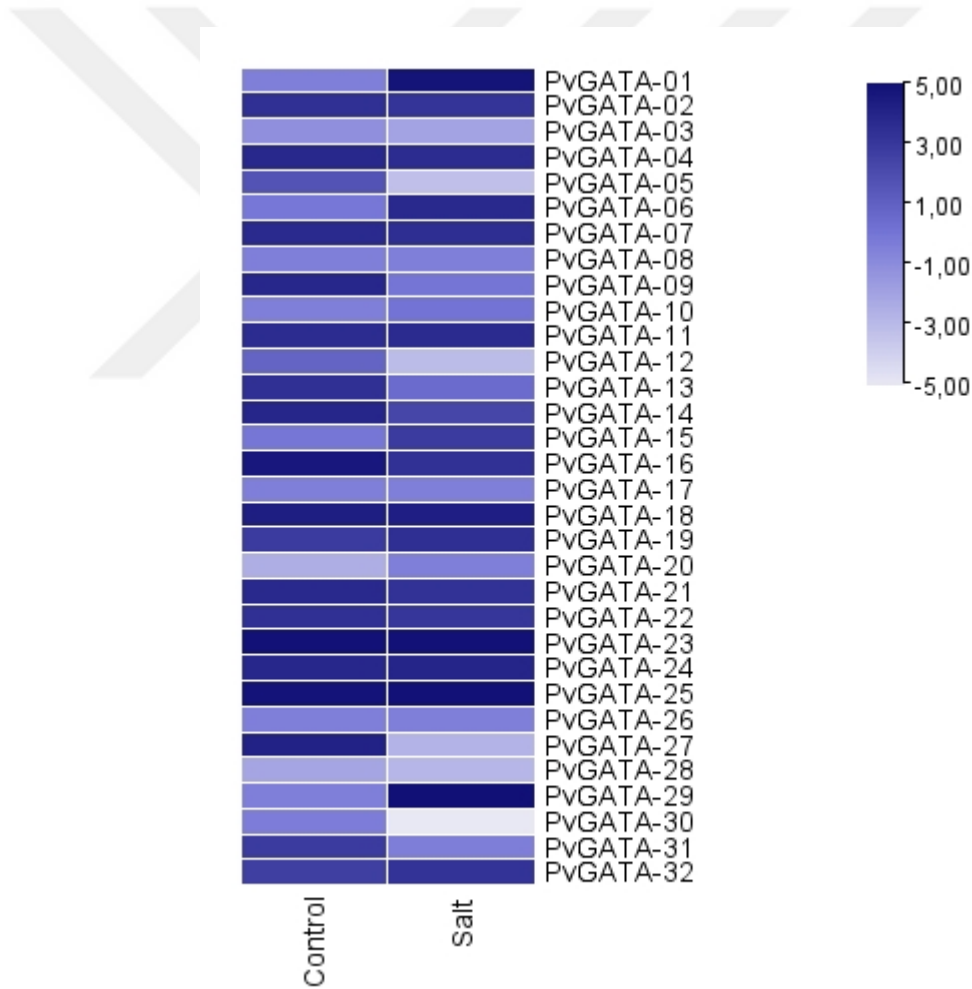
Şekil 4.13'te yer alan stem10-19 ve root 10-19 ifadeleri tohumların ekiminden 10 ve 19 gün sonrasını belirtmektedir.

4.11 *PvGATA* Genlerinin Kuraklık Stresi ile İfade Seviyeleri Değişimi

PvGATA genlerinin tuz ve kuraklık stresine ait verileri, materyal-metot bölümünde belirtilen şekilde RNA-seq datalarından elde edilmiştir. *PvGATA* genlerine ilişkin bu veri

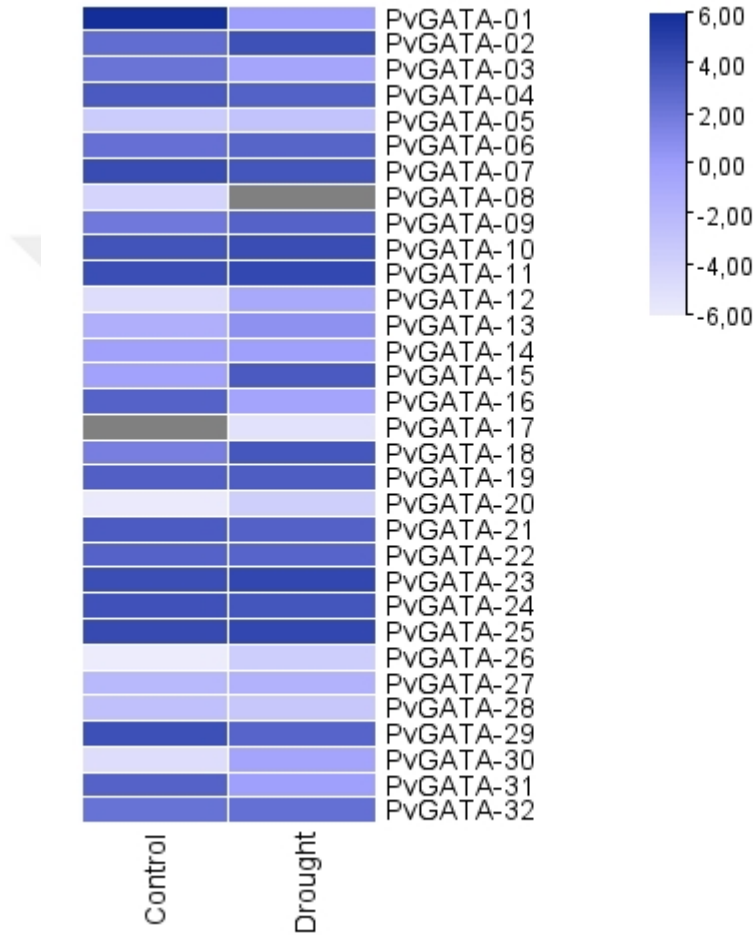
analizinin görselleştirilmesi için RPKM (reads per kilobase per million mapped reads) değerleri ve TBtols programı kullanılarak ısı grafikleri oluşturulmuştur. *PvGATA* genlerinin bazılarında tuz ve kuraklık stresi altında ifade seviyelerinde değişimler gözlemlenmiştir.

Tuz stresi altında *PvGATA-01*, *PvGATA-06*, *PvGATA-10*, *PvGATA-15*, *PvGATA-20* ve *PvGATA-29* genlerinin ifade seviyelerinde artış gözlenirken, *PvGATA-05*, *PvGATA-09*, *PvGATA-13*, *PvGATA-14*, *PvGATA-16*, *PvGATA-27*, *PvGATA-30* ve *PvGATA-31* genlerinin ifade seviyelerinde azalış gözlemlenmiştir. Diğer *PvGATA* genlerinin ifade seviyelerinde artış veya azalış gözlenmemiştir (Şekil 4.14)



Şekil 4.14 *PvGATA* genlerinin tuz stresi altındaki ifadelerini gösteren ısı haritası

Kuraklık stresi altında ise *PvGATA-02*, *PvGATA-09*, *PvGATA-12*, *PvGATA-13*, *PvGATA-15*, *PvGATA-18*, *PvGATA-20*, *PvGATA-26* ve *PvGATA-30* genlerinin ifade seviyelerinde artış gözlenirken, *PvGATA-01*, *PvGATA-03*, *PvGATA-16*, *PvGATA-29* ve *PvGATA31* genlerinin ifade seviyelerinde azalış gözlemlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15 *PvGATA* genlerinin kuraklık stresi altındaki ifadelerini gösteren ısı haritası

4.12 Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Total RNA izolasyonu için bitkinin yaprak ve kök örneklerinden FavorPrep™ Plant Total RNA Mini Kit (Biotech Corp., Ping-Tung, Taiwan) ile RNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen RNA örneklerinin miktar ve saflıkları Thermo Nano Spectrometer Lite (NanoDrop

Technologies, Wilmington, DE, ABD) cihazı ile ölçümlenmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3 Nanodrop spektrofotometre RNA ölçüm sonuçları

Örnekler	Saflık Miktarı (A260/A280)	Örnek Miktarı (ng/μl)
RNA-1 (Yaprak Stres)	2.20	1219.9
RNA-2 (Yaprak Stres)	2.19	964.3
RNA-3 (Yaprak Stres)	2.19	1030.1
RNA-4 (Yaprak kontrol)	2.21	1092.9
RNA-5 (Yaprak kontrol)	2.20	1127.1
RNA-6 (Yaprak kontrol)	2.14	213.1
RNA-7 (Kök Stres)	2.15	131.5
RNA-8 (Kök Stres)	2.14	349
RNA-9 (Kök Stres)	2.14	307
RNA-10 (Kök Kontrol)	2.11	310.8
RNA-11 (Kök Kontrol)	2.10	305.4
RNA-12 (Kök Kontrol)	2.11	383

İzole edilen RNA örneklerinden iScript™ cDNA Synthesis Kit'i (BioRad-Almanya) ile cDNA sentezi yapılmıştır. cDNA sentezi sonrasında elde edilen örneklerin miktar ve saflıkları Thermo Nano Spectrometer Lite (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, ABD) cihazı ile ölçümlenmiştir. Ölçüm sonuçları Çizelge 4.4.'te sunulmuştur. cDNA'lar 1:5 oranında seyreltilerek -20 derecede saklanmıştır.

Çizelge 4.4 cDNA saflık ve miktar sonuçları

Örnekler	Saflık Miktarı (A260/ A280)	Örnek Miktarı (ng/μl)
cDNA-1 (Yaprak Stres)	1.90	1324.1
cDNA-2 (Yaprak Stres)	1.89	1278.8
cDNA-3 (Yaprak Stres)	1.90	1343.7
cDNA-4 (Yaprak kontrol)	1.90	1306.8
cDNA-5 (Yaprak kontrol)	1.90	1332.6
cDNA-6 (Yaprak kontrol)	1.91	1325.7
cDNA-7 (Kök Stres)	1.90	1278.2
cDNA-8 (Kök Stres)	1.90	1273.3
cDNA-9 (Kök Stres)	1.90	1208.5
cDNA-10 (Kök Kontrol)	1.91	1335.6
cDNA-11 (Kök Kontrol)	1.90	1176.0
cDNA-12 (Kök Kontrol)	1.89	1240.4

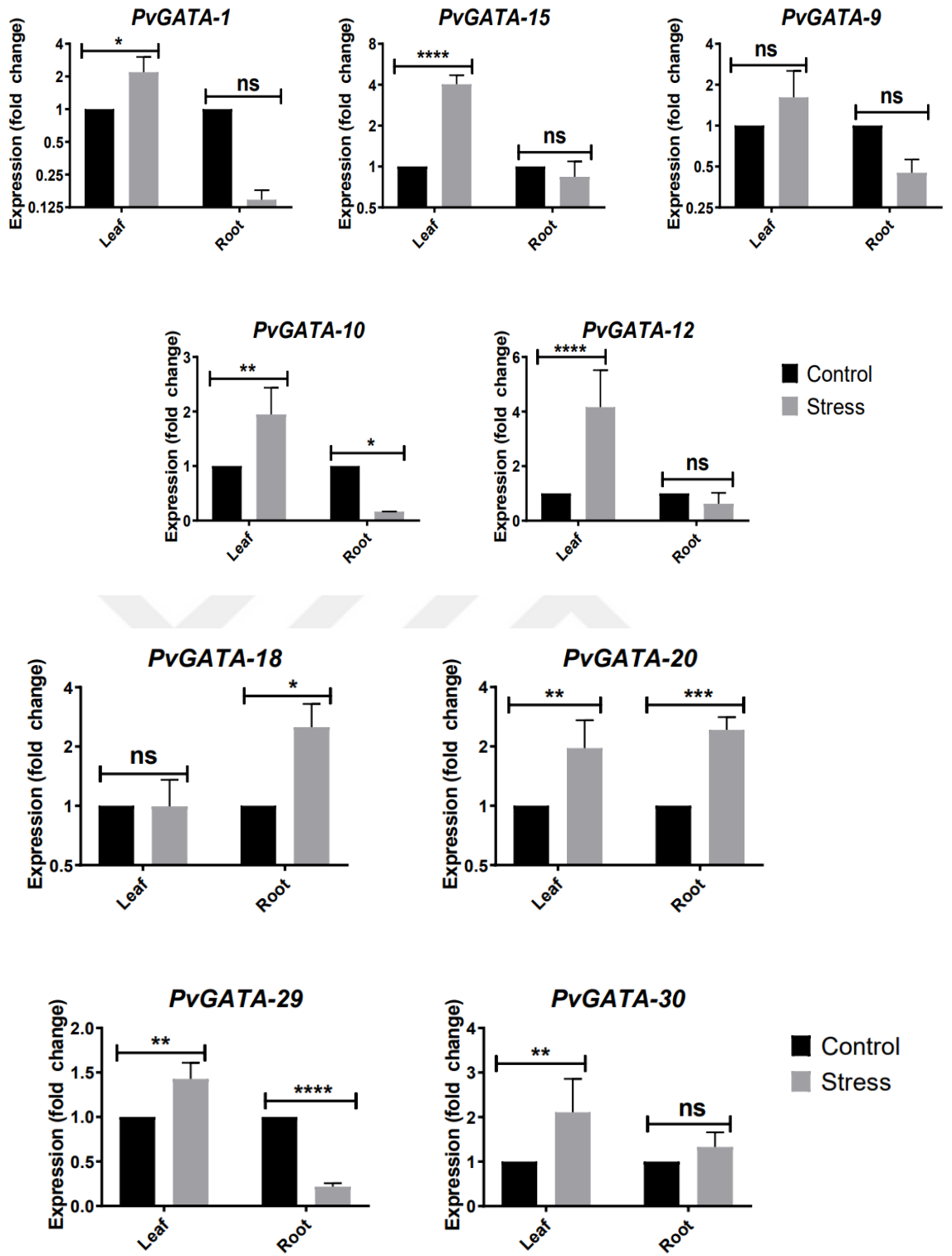
4.13 PvGATA Genlerinin Gerçek Zamanlı PCR Analizi ve mRNA Düzeyleri

Stres ile ilgili cis-elementleri barındıran ve RNAseq verilerinin analizlerine göre stres etkisi altında ifade seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek olan *PvGATA* genlerinden 9 tane seçilmiştir (*PvGATA-01*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-12*, *PvGATA-15*, *PvGATA-18*, *PvGATA-20*, *PvGATA-29* ve *PvGATA-30*). Seçilen genlerin kuraklık stresi altındaki mRNA ekspresyon seviyeleri gerçek zamanlı PCR analizi ile incelenmiştir. RT-qPCR analizinin yapılması amacıyla seçilen genler için primer dizaynı yapılmıştır. Kalıp DNA olarak, kuraklık stresi uygulanan bitkiler ile kontrol grubu olarak yetiştirilen bitkilerin kök ve yapraklarından izole edilen RNA'lerden sentezlenen cDNA'lar kullanılmıştır. Yapılan analizler ile elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Yapılan analiz sonuçlarına göre kuraklık stresi altında *PvGATA-01*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-12*, *PvGATA-15*, *PvGATA-20*, *PvGATA-29* ve *PvGATA-30* genlerinin yaprak dokusunda, mRNA ifade seviyelerinde artış gözlemlenmiştir.

PvGATA-18 geninin yaprak dokusunda kuraklık stresine karşı belirgin bir değişim gözlemlenmemiştir. Kuraklık stresi etkisi altında *PvGATA-01*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-12*, *PvGATA-15* ve *PvGATA-29* genlerinin, kök dokuda aşağı regüle olduğu gözlemlenirken; *PvGATA-18*, *PvGATA-20*, *PvGATA-29* ve *PvGATA-30* genlerinin ise yukarı regüle olduğu gözlemlenmiştir.





Şekil 4.16 Seçili *PvGATA* genlerine ait mRNA ifade analiz grafikleri (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ ve **** $P < 0.0001$ Çoklu t testi)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan sağığı ve çevresel faktörler göz önünde bulundurulduğunda gıda tüketim kalıplarının bu unsurlar üzerinde önemli etkilere sahip olduğu kabul edilmektedir. İnsanların beslenmesinde önemli bir yere sahip olan protein içeriğı yüksek gıdaların üretimi ve tüketiminin sürdürülebilir olması çevre ve iklim yönünden önemli bir yere sahiptir (Vainio vd., 2016). Ham haliyle birlikte besin kaynağı olarak tüketilebilen bitkiler besin zincirinde geniş bir yere sahiptir (Shao vd., 2009). Bu açıdan bakıldığında fasulye bitkisi, önemli bir bitkisel besin kaynağıdır. Ulaşılabilirliğinin kolay olması, besin değerinin yüksek olması ve pek çok yerde üretiminin yapılabilmesi sebebiyle üretimi ve tüketimi yaygın olan, tarımsal ve ekonomik açıdan önemli bir baklagil türüdür. Dünyada 126 ülkede ekimi yapılan ve büyük kitlelerin besin ihtiyacını karşılayan fasulye bitkisinin çeşitli çevresel etmenlerden kaynaklı oluşan stres faktörlerine maruz kalmasından ötürü verimin azalmasını önlemek amacıyla bitki savunma mekanizmaları üzerine araştırmaların ve çalışmaların yürütülmesi bir gereklilik haline gelmiştir.

GATA genleri, bitkinin büyüme ve gelişme dönemlerinde, etkisi altında kaldıkları abiyotik stres koşullarına karşı savunma mekanizması geliştirebilen transkripsiyon faktörleridir. *GATA* genleri stres koşulları altında bir tepki geliştirmenin dışında bitkilerde metabolik fizyolojiyi, sinyal iletimini, organ oluşumunu, klorofil pigmentinin sentezi ve ışııkla ilgili süreçlerle ilgili olarak sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde etkin bir role sahiptir (Manfield vd., 2007; Yao vd., 2022). Günümüze kadar olan çalışmalarda da görüldüğü üzere farklı bitki türlerinin genomlarında *GATA* gen ailesi üyeleri bulunmaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında fasulye bitkisinde 32 tane *GATA* geni tanımlanmış olup *PvGATA* şeklinde 1'den 32'ye kadar isimlendirilmiştir. Fasulyede bulunan *GATA* gen sayısı *Arabidopsis thaliana* (29 adet gen) (Reyes vd., 2004), pirinçten (28 adet gen) (Gupta vd., 2017), biberden (28 adet gen) (C. Yu vd., 2021) ve mantardan (7 adet gen) (Jiang vd., 2021) daha fazla iken, patatesten (49 adet gen) (R. Yu vd., 2021) ve soya fasulyesinden (64 adet gen) (Zhang vd., 2015) daha azdır.

Yapılan biyoinformatik analizlere göre *PvGATA* genlerinin moleküler ağırlıkları 13075.96 (*PvGATA*-28)-59726.83 (*PvGATA*-04) Da arasında değişmektedir. Protein

uzunlukları 106 (PvGATA-03)-552 (PvGATA11) aa arasında değişerek PvGATA genlerinin farklı uzunluklara sahip olduğu görülmektedir. Benzer bir şekilde pirinçte yapılan çalışmada GATA genlerine ait protein uzunlukları 131 (OsGATA8)-786 (OsGATA23) aa arasında değişmek üzere büyük farklılıklara sahiptir (Reyes vd., 2004). Benzer şekilde mısırdaki yapılan analizlere göre GATA proteinlerinin uzunlukları 139-854 aa ve moleküler ağırlıkları 1478-9410 Da arasında değişmektedir (Hu vd., 2023). Buğdayda yapılan bir çalışmada 79 adet GATA geni tanımlanmış olup TaGATA proteinlerinin uzunlukları 146-499 aa arasında değişmektedir. Moleküler ağırlıkları 1615410 Da arasındadır (Feng vd., 2022).

PvGATA genlerinin kromozomlar üzerindeki yerleşimi incelendiğinde 11 kromozomda eşit olmayan bir şekilde lokalize olduğu görülmektedir. *Fagopyrum tataricum* üzerinde yapılan analizlerde de benzer olarak FtGATA genleri 8 kromozom üzerinde eşit olmayan bir şekilde dağılım göstermiştir (Yao vd., 2022). *Cicer arietinum* üzerinde yapılan çalışmalarda CaGATA genlerinin 8 kromozom üzerinde düzensiz biçimde lokalize olduğu görülmektedir (Niu vd., 2020).

PvGATA genlerinin evrimsel yönden ilişkileri ve yakınlıkları üzerine yapılan ayrıntılı filogenetik analizlere göre, GATA genlerinin filogenetik ağaçta I, II, III ve IV olmak üzere 4 alt gruba ayrıldığı görülmektedir. Fasulyede bulunan GATA genlerine ait 14 üye, alt grup IV’de; 6 üye, alt grup III’de; 4 üye, alt grup II’de; 8 üye alt grup I’de yer almaktadır. *Cicer arietinum* üzerinde yürütülen çalışmada CaGATA genleri A, B ve C olmak üzere 3 alt grupta incelenmiştir ve 17 tane CaGATA geni A grubunda yer almıştır (Niu vd., 2020). *Arabidopsis thaliana*, *Glycine max* ve *Oryza sativa*’da bulunan GATA genlerinin I, II, III, IV olmak üzere 4 alt grupta incelendiği görülmektedir (Shi vd., 2022; Zhang vd., 2015). Benzer şekilde *Fagopyrum tataricum*’da bulunan GATA genleri de 4 alt gruba ayrılarak incelenmektedir ve en fazla FtGATA geni alt grup I’de yer alırken alt grup III ve IV’de 4’er tane FtGATA geni bulunmaktadır (Yao vd., 2022).

Yapılan analizlere göre ZnF_GATA, ZnF_GATA superfamily ve GATA domainleri PvGATA proteinlerinin tümünde bulunmaktadır. En fazla domaine sahip olan alt grup, III’tür. Alt grup III’de bulunan GATA proteinlerinden PvGATA-28 haricinde diğer

proteinlerin tümünde TIFY ve CCT domaini bulunmaktadır. Alt grup I'de yer alan *PvGATA-01*, *PvGATA-03*, *PvGATA-05*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-12*, *PvGATA-26* ve *PvGATA-29*'da GAT1 domain yapısı bulunmaktadır. ASXH domaini alt grup II'de yer alan *PvGATA-04* ve *PvGATA-11* proteinlerinde bulunmaktadır. Analiz sonuçlarından elde edilen verilere göre filogenetik ağaç üzerinde aynı dalda yer alan ve birbirine yakınlık gösteren genlerin korunmuş motif ve domain yapılarının da birbirine benzer olduğu görülmektedir. *Arabidopsis thaliana*'da yapılan analizlere göre alt grup III'de bulunan *At1g51600*, *At4g24470* ve *At3g21175* proteinlerinde CCT domain yapısının korunduğu görülmektedir (Reyes vd., 2004). *Solanum tuberosum* üzerinde yapılan çalışmalarda tüm *StGATA* proteinlerinde GATA domainin korunmuş olduğu ve bazı üyelerinde ASXH, TIFY ve CCT domain yapılarının bulunduğu bildirilmiştir (R. Yu vd., 2021).

Gen yapısı üzerine yapılan analizler doğrultusunda *PvGATA* genlerinin ekzon ve intron yapıları belirlenmiştir. *PvGATA* genlerinin tümü ekzon ve intron yapısına sahiptir. *PvGATA-08*, *PvGATA-17* ve *PvGATA-26* genleri haricinde diğer *PvGATA* genlerinin tümünde UTR bölgesi bulunmaktadır. *Solanum tuberosum* üzerinde yapılan analizlerde ekzon sayısı 1-11 arasında; intron sayısı 0-10 arasında değişmekte olduğu, *StGATA5* ve *StGATA23* genlerinde intron yapısının bulunmadığı görülmektedir (R. Yu vd., 2021). *Capsicum annuum*'da yapılan çalışmalarda aynı alt gruplarda bulunan *CaGATA* genlerinin benzer ekzon sayısına sahip olduğu ve sayılarının 2-10 arasında değiştiği belirtilmiştir (C. Yu vd., 2021). *Zea mays*'ta yürütülen gen yapısı analizlerine göre *ZmGATA3*, *ZmGATA17*, *ZmGATA18*, *ZmGATA39*, *ZmGATA40* ve *ZmGATA41* genlerinde intron yapısı bulunmadığı ve bu genlerin filogenetik ağaçta aynı alt grup içerisinde yer aldığı görülmektedir (Hu vd., 2023).

Gen sayılarının artması ve gen ailelerin oluşumunda önemli bir mekanizma olan gen duplikasyonları incelendiğinde *PvGATA* genleri arasında aynı kromozom üzerinde bulunan *PvGATA-26* ve *PvGATA-29* genleri arasında bir adet tandem duplikasyon bulunmaktadır. Farklı kromozomlar üzerinde oluşmuş 17 çift segmental duplikasyon olduğu görülmektedir. *GATA* genlerinin evrimsel sürecinin yönü ve işlevi hakkında bilgi veren Ka/Ks oranlarına bakıldığında 1'den küçük olduğu görülmektedir. Bu durum

PvGATA genlerinin evrimsel süreçte negatif seleksiyona uğradığı sonucunu ortaya çıkarmaktadır. *Triticum aestivum* üzerinde yapılan bir çalışmada çoğu homolog gen çiftinin Ka/Ks oranı 1'den düşük çıkmıştır ancak *TaGATA2-13*, *TaGATA43-49*, *TaGATA46-49*, *TaGATA47-51* ve *TaGATA63-71* gen çiftleri arasındaki oran 1'den büyüktür. Ka/Ks oranının 1'den büyük olması evrimsel süreçte pozitif seleksiyona uğradığını ifade etmektedir (Cheng vd., 2021). *Glycine max*'te yapılan çalışmalara göre *GmGATA* genleri arasında tandem duplikasyon bulunmamakla birlikte genlerin yaklaşık %72'sinde segmental duplikasyon görülmektedir (Zhang vd., 2015).

Ortolog genler arasındaki ilişkiyi dizi benzerliklerinden yola çıkarak tanımlanmasını sağlayan sinteni analizi için *A. thaliana* ve *G. max* türleri dizileri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sırasıyla *A. thaliana* ve *G. max* ile *PvGATA* genleri arasında 32 ve 79 adet ortolog ilişki bulunmuştur. *PvGATA* genlerinin *G. max* ile arasındaki ortolog ilişki *A.thaliana* 'ya oranla daha fazla olduğu görülmektedir.

PvGATA genlerinin promotor bölgelerinde bulunan cis-elementler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *PvGATA* genlerinin tümünde ışığa ve çevresel etmenlere duyarlı en az 1 adet cis-element bulunduğu sonucuna varılmıştır. Tüm cis-elementler ele alındığında çevresel stresle ilişkili cis-elementler %17,11, bitkinin gelişimsel süreçleri ile ilişki cis-elementler %7,04, ışığa duyarlılıkla ilişkili cis-elementler %26,29 oranlarında yer almaktadır. Çevresel stresle bağlantılı olan cis-elementler arasında yer alan ve anaerobik indüksiyonu düzenleyici element olan ARE %24,88, stres etmenlerine karşı savunma mekanizmasının oluşumunu düzenlenmesini destekleyen TC-rich repeats %10,04 ve kuraklık ile ilişkili MBS %7,18 oranlarındadır. Hormonlarla ilişkili etilen duyarlılığı olan ERE %32,43, salisilik asit duyarlılığı olan TCA element %5,94, absisik asite duyarlı ABRE %28,10 olarak belirlenmiştir. Işığa duyarlı Box 4 %28,34, GATA-motif %4,98 ve G-box %8,72 olarak belirlenmiştir. *Fagopyrum tataricum*'da yapılan analizlerde, ışığa ve absisik asite duyarlı ABA cis-elementinin yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir. *FtGATA02* ve *FtGATA25* genlerinin promotor bölgeleri daha çok hormona duyarlı cis-elementleri içermektedir. *FtGATA03* ve *FtGATA10* genlerinde ise flavonoidleri düzenleyici cis-elementlerin bulunduğu belirtilmiştir (Yao vd., 2022).

miRNA'lar yaklaşık olarak 19-24 nükleotit uzunluğunda olup stres koşulları altında bitkilerde gen ifadesinin düzenlenmesinde görev almaktadırlar (Shin vd., 2020). Yapılan analizler sonucunda *PvGATA* genlerini hedefleyen 15 tane farklı miRNA belirlenmiştir. *PvGATA-16* genini hedefleyen miR1515 kuraklık stresi altında gen ifadesinin düzenlenmesinde rol almaktadır (Barrera-Figueroa vd., 2011). *PvGATA-11* ve *PvGATA-14* genlerini hedefleyen miRNA4415, *PvGATA-05* ve *PvGATA-12* genlerini hedefleyen miR159 ve *PvGATA-10* genini hedefleyen miR390a'nın *Ammopiptanthus nanus* üzerinde yapılan bir çalışmada soğuk stresi altında yukarı regüle olduğu belirtilmektedir (M. Zhu vd., 2022). *PvGATA-04* genini hedefleyen miR319 ile ilgili olarak pirinçte yapılan bir çalışmada soğuk stresi altında yukarı yönlü regüle olduğu bildirilmiştir (Fang vd., 2021). *PvGATA-07* genini hedefleyen miR398 ile ilgili olarak pirinç üzerinde yapılan çalışmada tuz ve soğuk stresine karşı tepki verdikleri tespit edilmiştir (Lu vd., 2022). *PvGATA-04* ve *PvGATA-11* genlerini hedefleyen miR393'ün *A. thaliana*'da bitkinin özellikle hava ile temas halinde olan gövde, yaprak ve çiçek gibi organlarında köklere oranla daha fazla bulunduğu belirtilmiştir (Jiang vd., 2022).

PvGATA proteinlerinin hücre içinde lokalize oldukları konumları incelenmiştir. Tüm *PvGATA* proteinlerinin çekirdekte yer aldığı görülmüştür. 7 tane *PvGATA* proteini mitokondride bulunmaktadır. 12 tane *PvGATA* proteini de kloroplastta konumlanmıştır. 17 tane *PvGATA* proteinin de sitoplazmada yer aldığı görülmüştür. *Ophiorrhiza pumila*'da yapılan analizlere göre *OpGATA* proteinlerinin hepsi çekirdekte lokalize olduğu bildirilmiştir (Shi vd., 2022).

PvGATA genlerinin, genç trifolit, genç tohum, gövde 19, gövde 10, kök 10, kök 19, nodül, yaprak, yeşil yetişkin tohum, çiçek ve çiçek tomurcuğundaki dokuya özgü mRNA seviyeleri incelenmiş ve sonuçları ısı haritası şeklinde görsele dönüştürülmüştür. Elde edilen verilere göre *PvGATA-20* ve *PvGATA-28* genlerinin tüm dokularda diğer genlere kıyasla ifade seviyesinin düşük olduğu; *PvGATA-09*, *PvGATA-18* ve *PvGATA-23*'ün tüm dokulardaki ifade seviyesinin nispeten daha yüksek olduğu görülmüştür. *PvGATA-18* ve *PvGATA-09*'un nodül dokudaki ifade seviyesi yüksekken *PvGATA-20*'nin düşüktür. Yeşil olgun tohumda *PvGATA-23*'ün ifade seviyesi yüksekken *PvGATA-27*'nin düşüktür. *PvGATA-08* ve *PvGATA-17*'nin dokulardaki ifade seviyeleri belirlenememiş olup bu

genler aynı alt grupta (II) yer almaktadır ayrıca *PvGATA-08* ve *PvGATA-17* arasında segmental duplikasyon bulunmaktadır. Bu 2 gen haricindeki tüm *PvGATA* genlerinin tüm dokularda çoğunlukla yüksek seviyede ifade seviyesine sahip olduğu görülmektedir. *Solanum lycopersicum*'da bulunan *SIGATA3*, *SIGATA4*, *SIGATA5*, *SIGATA19* ve *SIGATA26*'nın çiçek dokuda; *SIGATA11*'in gövdede ekspresyon seviyesinin yukarı yönde regüle olduğu fakat *SIGATA* genlerinin çoğunun kök dokuda ekspresyon seviyesinin düşük olduğu bildirilmiştir. *Solanum tuberosum*'da bulunan *StGATA4*, *StGATA12*, *StGATA15*, *StGATA19* ve *StGATA21* genlerinin, kök, gövde ve çiçek dokusunda ekspresyon seviyesinin düşük olduğu belirlenmiştir. *Glycine max*'de bulunan *GmGATA* genlerinin genç yaprak, kök ve gövde de ifade edildiği rapor edilmiştir (Saidi vd., 2021).

P.vulgaris'in kök ve yaprak dokularına uygulanan kuraklık stresi ile birlikte *PvGATA* genlerinin ifade seviyelerini gözlemleyebilmek amacıyla RT-qPCR analizleri yapılmıştır. Elde edilen verilere göre *PvGATA-18* geninin kuraklık stresi altında yaprak dokuda ifade seviyesinde belirgin bir değişim görülmediği gözlemlenmiştir. *PvGATA-01*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-12*, *PvGATA-15*, *PvGATA-20*, *PvGATA-29* ve *PvGATA-30* genlerinin, kuraklık stresi uygulaması ile birlikte ifade seviyelerinde artış görülmüştür. Kuraklık stresine maruz bırakılan kök dokuda *PvGATA-01*, *PvGATA-09*, *PvGATA-10*, *PvGATA-12*, *PvGATA-15* ve *PvGATA-29* genlerinin ifade seviyelerinde düşüş gözlemlenirken; *PvGATA-18*, *PvGATA-20*, *PvGATA-29* ve *PvGATA-30* genlerinde ifade seviyelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Tatlı patatesteki yapılan bir çalışmada *IbGATA24* geni kuraklık stresi uygulaması altında ekspresyon seviyesinde artış sergilemiştir (H. Zhu vd., 2022). Buğday üzerinde yürütülen bir çalışmada, MBS elementi içeren *TaGATA62*, *TaGATA73* ve *TaGATA74* genleri; TC-rich repeats elementi içeren *TaGATA64* ve *TaGATA74* genlerinin abiyotik stres uygulamaları altında ifade seviyelerinde belirgin bir değişim olduğu belirtilmiştir (X. Du vd., 2022). Soya fasulyesi üzerinde yapılan bir çalışmada *Glyma04g08990.1* (GATA 9) geni düşük sıcaklık stresi altında ifade seviyesinde düşüş gözlemlendiğini raporlanmıştır (Bonthala vd., 2016). Nohutta yapılan bir çalışmada kuraklık stresi uygulaması sonucunda 6 tane *CaGATA* geninin kök dokuda ifade seviyesinde artış olduğu; 7 tane *CaGATA* geninin yaprak dokuda ifade seviyesinde artış olduğu rapor edilmiştir. *CaGATA05* ve *CaGATA21* genleri

kuraklık stresi uygulamasında kök dokuda yanıt olarak artmıştır. Ayrıca *CaGATA21* geni yaprak dokuda da kuraklığa karşı ekspresyon seviyesinde artış göstererek bir yanıt oluşturmuştur. *CaGATA07*, *CaGATA18* ve *CaGATA20* genlerine kuraklık stresi uygulaması başlatıldıktan 2 saat sonrasında uyarılmaya başladığı ancak 5 saat sonra uyarılmanın baskılandığı belirtilmiştir (Niu vd., 2020).

Yapılan bu tez çalışmasında *Phaseolus vulgaris* L. türünde bulunan *GATA* genlerinin 32 adet üyesi olduğu ve bu üyelerin fasulyenin 11 adet kromozomuna eşit olmayan bir biçimde dağıldığı gösterilmiştir. Yapılan filogenetik analizler sonucunda *PvGATA* genlerinin I, II, III ve IV olmak üzere 4 alt grupta incelendiği sonucuna varılmıştır. Aynı alt aileye mensup üyelerin korunmuş motif ve domain yapılarının benzerlik gösterdiği ve işlevlerinin paralel olduğu görülmüştür. Segmental gen duplikasyonlarının *GATA* gen ailesinin gelişmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Farklı türler ve fasulye arasındaki evrimsel ilişki sinteni analizleri ile belirtilmiştir. Promotor bölgesinde yapılan cis-element analizleri ve RT-qPCR analizleri *PvGATA* genlerinin abiyotik stres uygulamalarında aktif olduğunu göstermektedir. Yapılan tüm analizlerin sonuçları birleştirildiğinde *PvGATA* genlerinin evrimsel sürecinin anlaşılması ve kuraklık stresine karşı bitki toleransının iyileştirilmesinde ileride yapılacak olan çalışmalara yardımcı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, F., Anwar, F., & Hira, S. (2016). Review on medicinal importance of Fabaceae family. *Pharmacologyonline*, 3, 151-157.
- Akhtar, I., & Nazir, N. (2013). Effect of waterlogging and drought stress in plants. *International Journal of water resources and environmental sciences*, 2(2), 34-40.
- Ashraf, M., & Ozturk, M. (2008). *Salinity and water stress: improving crop efficiency* (Vol. 44). Springer Science & Business Media.
- Ashraf, M. A. (2012). Waterlogging stress in plants: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 7(13), 1976-1981.
- Bailey, T. L., Johnson, J., Grant, C. E., & Noble, W. S. (2015). The MEME suite. *Nucleic acids research*, 43(W1), W39-W49.
- Barker, A. V., & Pilbeam, D. J. (2015). *Handbook of plant nutrition*. CRC press.
- Barrera-Figueroa, B. E., Gao, L., Diop, N. N., Wu, Z., Ehlers, J. D., Roberts, P. A., Close, T. J., Zhu, J.-K., & Liu, R. (2011). Identification and comparative analysis of drought-associated microRNAs in two cowpea genotypes. *BMC Plant Biology*, 11, 1-11.
- Bender, F. R., Alves, L. C., da Silva, J. F. M., Ribeiro, R. A., Pauli, G., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2022). Microbiome of nodules and roots of soybean and common bean: searching for differences associated with contrasting performances in symbiotic nitrogen fixation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 12035.
- Bhargava, S., & Sawant, K. (2013). Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. *Plant breeding*, 132(1), 21-32.
- Bonthala, V. S., Mayes, K., Moreton, J., Blythe, M., Wright, V., May, S. T., Massawe, F., Mayes, S., & Twycross, J. (2016). Identification of gene modules associated with low temperatures response in bambara groundnut by network-based analysis. *PloS one*, 11(2), e0148771.
- Boscaiu, M., Ballesteros, G., Naranjo, M., Vicente, O., & Boira, H. (2011). Responses to salt stress in *Juncus acutus* and *J. maritimus* during seed germination and vegetative plant growth. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 145(4), 770-777.
- Bradbury, J. F. (1986). *Guide to plant pathogenic bacteria*. CAB international.
- Brivanlou, A. H., & Darnell Jr, J. E. (2002). Signal transduction and the control of gene expression. *Science*, 295(5556), 813-818.
- Brown, M. T. (2018). *Understanding the Common Bean (Phaseolus vulgaris L.) Transcriptome in Response to Salinity Stress*. Delaware State University.
- Brücher, H. (1988a). The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris* in South America. In *Genetic resources of Phaseolus beans* (pp. 185-214). Springer.

- Brücher, H. (1988b). The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris* in South America. In *Genetic Resources of Phaseolus Beans: Their maintenance, domestication, evolution and utilization* (pp. 185-214). Springer.
- Büyük, İ. (2014). *Tuz ve kuraklık stresi altında geliştirilmiş farklı fasulye (Phaseolus vulgaris L.) çeşitlerinde lea-3 geni mrna ifade seviyelerinin kantitatif real-time pcr yöntemiyle incelenmesi* Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara].
- Chávez-Mendoza, C., & Sánchez, E. (2017). Bioactive compounds from Mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for health. *Molecules*, 22(8), 1360.
- Cheng, X., Tian, B., Gao, C., Gao, W., Yan, S., Yao, H., Wang, X., Jiang, Y., Hu, L., & Pan, X. (2021). Identification and expression analysis of candidate genes related to seed dormancy and germination in the wheat GATA family. *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 343-359.
- Chernyad'ev, I. (2005). Effect of water stress on the photosynthetic apparatus of plants and the protective role of cytokinins: A review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41, 115-128.
- Chinnusamy, V., Zhu, J., & Zhu, J.-K. (2007). Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in plant science*, 12(10), 444-451.
- Christenhusz, M. J., & Byng, J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, 261(3), 201–217-201–217.
- Corrado, G. (2022). Food history and gastronomic traditions of beans in Italy. *Journal of Ethnic Foods*, 9(1), 6.
- da Silva, E. C., Nogueira, R., da Silva, M. A., & de Albuquerque, M. B. (2011). Drought stress and plant nutrition. *Plant stress*, 5(1), 32-41.
- Depege-Fargeix, N., Javelle, M., Chambrier, P., Frangne, N., Gerentes, D., Perez, P., Rogowsky, P. M., & Vernoud, V. (2011). Functional characterization of the HD-ZIP IV transcription factor OCL1 from maize. *Journal of experimental botany*, 62(1), 293-305.
- Devran, Z., & Mıstanoğlu, İ. (2017). Bitki paraziti nematodların beslenme stratejileri. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 7(3), 249-258.
- Du, K., Xia, Y., Zhan, D., Xu, T., Lu, T., Yang, J., & Kang, X. (2022). Genome-wide identification of the *Eucalyptus urophylla* GATA gene family and its diverse roles in chlorophyll biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5251.
- Du, X., Lu, Y., Sun, H., Duan, W., Hu, Y., & Yan, Y. (2022). Genome-wide analysis of wheat GATA transcription factor genes reveals their molecular evolutionary characteristics and involvement in salt and drought tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 27.
- Dubey, R. S., Srivastava, R. K., & Pessarakli, M. (2021). Physiological mechanisms of nitrogen absorption and assimilation in plants under stressful conditions. In *Handbook of plant and crop physiology* (pp. 579-616). CRC Press.

- Elliston, J. E. (1975). *A Histological And Biochemical Study Of Local And Systemic Protection Of Phaseolus Vulgaris Against Colletotrichum Lindemuthianum As Elicited By Fungi* Purdue University].
- Fang, Y., Zheng, Y., Lu, W., Li, J., Duan, Y., Zhang, S., & Wang, Y. (2021). Roles of miR319-regulated TCPs in plant development and response to abiotic stress. *The Crop Journal*, 9(1), 17-28.
- FAOSTAT, F. (2015). FAOSTAT <http://faostat3.fao.org/home>. In: E.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable agriculture*, 153-188.
- Feng, X., Yu, Q., Zeng, J., He, X., & Liu, W. (2022). Genome-wide identification and characterization of GATA family genes in wheat. *BMC Plant Biology*, 22(1), 1-15.
- Flowers, T., Troke, P., & Yeo, A. (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual review of plant physiology*, 28(1), 89-121.
- Fourie, D. (2002). Distribution and severity of bacterial diseases on dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in South Africa. *Journal of Phytopathology*, 150(4-5), 220-226.
- Gepts, P. (1998). Origin and evolution of common bean: past events and recent trends. *HortScience*, 33(7), 1124-1130.
- Gray, J., Bevan, M., Brutnell, T., Buell, C. R., Cone, K., Hake, S., Jackson, D., Kellogg, E., Lawrence, C., & McCouch, S. (2009). A recommendation for naming transcription factor proteins in the grasses. *Plant physiology*, 149(1), 4-6.
- Guo, Z., Kuang, Z., Zhao, Y., Deng, Y., He, H., Wan, M., Tao, Y., Wang, D., Wei, J., & Li, L. (2022). PmiREN2. 0: from data annotation to functional exploration of plant microRNAs. *Nucleic acids research*, 50(D1), D1475-D1482.
- Gupta, N., Zargar, S. M., Salgotra, R., Sharma, M. K., Gupta, S., & Rai, G. (2019). Variability estimates for yield determining characters in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 8(08), 47-57.
- Gupta, P., Nutan, K. K., Singla-Pareek, S. L., & Pareek, A. (2017). Abiotic stresses cause differential regulation of alternative splice forms of GATA transcription factor in rice. *Frontiers in plant science*, 8, 1944.
- Harmsen, R., Bliss, F., & Osborn, T. (1987). Breeding beans resistant to bruchids.
- Harveson, R. (2009). Common bacterial blight of dry beans in Nebraska. *University of Nebraska-Lincoln Extension. Institute of Agriculture and Natural Resources Extension Publication G*, 1956-1959.
- Harveson, R. M., & Schwartz, H. F. (2007). Bacterial diseases of dry edible beans in the central high plains. *Plant health progress*, 8(1), 35.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J.-K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.

- He, L., Peng, X., Cao, H., Yang, K., Xiang, L., Li, R., Zhang, F., & Liu, W. (2023). The NtSPL Gene Family in *Nicotiana tabacum*: Genome-Wide Investigation and Expression Analysis in Response to Cadmium Stress. *Genes*, 14(1), 183.
- Heidarvand, L., & Maali Amiri, R. (2010). What happens in plant molecular responses to cold stress? *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 419-431.
- Hsia, C. C., & McGinnis, W. (2003). Evolution of transcription factor function. *Current opinion in genetics & development*, 13(2), 199-206.
- Hu, B., Jin, J., Guo, A.-Y., Zhang, H., Luo, J., & Gao, G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8), 1296-1297.
- Hu, Y., Huang, J., Yu, L., Wang, C., Zhang, X., Cheng, X., Yu, H., & Zhang, K. (2023). Identification, Characterization, and Expression Profiling of Maize GATA Gene Family in Response to Abiotic and Biotic Stresses. *Agronomy*, 13(7), 1921.
- Ilhan, E. (2018). Eucalyptus grandis YABBY Transkripsiyon Faktörlerinin Genom Bazında Analizi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 5(2), 158-166.
- Isayenkov, S. (2012). Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytology and Genetics*, 46(5), 302-318.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol*, 11(1), 100-105.
- Jan, S. U., Jamil, M., Bhatti, M. F., & Gul, A. (2019). Hallmark Attributes of Plant Transcription Factors and Potentials of WRKY, MYB and NAC in Abiotic Stresses. In *Approaches for Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Plants* (pp. 441-458). CRC Press.
- Javed, T., Shabbir, R., Ali, A., Afzal, I., Zaheer, U., & Gao, S.-J. (2020). Transcription factors in plant stress responses: Challenges and potential for sugarcane improvement. *Plants*, 9(4), 491.
- Jiang, C., Lv, G., Ge, J., He, B., Zhang, Z., Hu, Z., & Zeng, B. (2021). Genome-wide identification of the GATA transcription factor family and their expression patterns under temperature and salt stress in *Aspergillus oryzae*. *AMB Express*, 11(1), 1-13.
- Jiang, J., Zhu, H., Li, N., Batley, J., & Wang, Y. (2022). The miR393-target module regulates plant development and responses to biotic and abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9477.
- Juven-Gershon, T., Hsu, J.-Y., Theisen, J. W., & Kadonaga, J. T. (2008). The RNA polymerase II core promoter—the gateway to transcription. *Current opinion in cell biology*, 20(3), 253-259.
- Karaman, M., Baran, Ö. G. D. N., Andirman, Ö. G. D. M., Akinci, C., Biçer, B. T., Başdemir, Ö. Ü. F., Albayrak, Ö. Ü. Ö., Okudur, Ö. G. E., Öner, Ö. G. M., & Shimira, F. (2022). Tarla Bitkilerinde Ekonomik Öneme Sahip Stratejik Ürünlerin Araştırılması.

- Kasapoğlu, A. G., Aygören, A. S., Muslu, S., Öner, B. M., İSİYEL, M., Yaprak, E., Sümeyra, U., AYDINYURT, R., Büşra, U., & İLHAN, E. (2022). PvTLP genlerinin genom çaplı tespit ve karakterizasyonu. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*(34), 676-684.
- Kavar, T., Maras, M., Kidrič, M., Šuštar-Vozlič, J., & Meglič, V. (2008). Identification of genes involved in the response of leaves of *Phaseolus vulgaris* to drought stress. *Molecular Breeding*, 21, 159-172.
- Kavas, M., Yıldırım, K., Seçgin, Z., Abdulla, M. F., & Gökdemir, G. (2021). Genome-wide identification of the BURP domain-containing genes in *Phaseolus vulgaris*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(9), 1885-1902.
- Kelley, L. A., Mezulis, S., Yates, C. M., Wass, M. N., & Sternberg, M. J. (2015). The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nature protocols*, 10(6), 845-858.
- Keyvan, S. (2010). The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J. Anim. Plant Sci*, 8(3), 1051-1060.
- Kim, M., Xi, H., Park, S., Yun, Y., & Park, J. (2021). Genome-wide comparative analyses of GATA transcription factors among seven *Populus* genomes. *Scientific reports*, 11(1), 1-15.
- Kimenju, J., Karanja, N., & Macharia, I. (1999). Plant parasitic nematodes associated with common bean in Kenya and the effect of *Meloidogyne* infection on bean nodulation.
- Kohl, M., Wiese, S., & Warscheid, B. (2011). Cytoscape: software for visualization and analysis of biological networks. *Data mining in proteomics: from standards to applications*, 291-303.
- Korkmaz, H., & Durmaz, A. (2017). Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine Verdiği Cevaplar Responses of Plants to Abiotic Stress Factors. In: Gustij.
- Kummerfeld, S. K., & Teichmann, S. A. (2006). DBD: a transcription factor prediction database. *Nucleic acids research*, 34(suppl_1), D74-D81.
- Letunic, I., & Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic acids research*, 49(W1), W293-W296.
- Li, J., Zhang, Z., Vang, S., Yu, J., Wong, G. K.-S., & Wang, J. (2009). Correlation between Ka/Ks and Ks is related to substitution model and evolutionary lineage. *Journal of molecular evolution*, 68, 414-423.
- Lichtenthaler, H. K. (1988). In vivo chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants. In *Applications of chlorophyll fluorescence in photosynthesis research, stress physiology, hydrobiology and remote sensing* (pp. 129-142). Springer.
- Lichtenthaler, H. K. (1996). Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of plant physiology*, 148(1-2), 4-14.

- Lichtenthaler, H. K. (1998). The stress concept in plants: an introduction. *Annals of the new York Academy of sciences*, 851, 187-198.
- Lim, T. K. (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Vol. 1). Springer.
- Lipa, J. J. (2005). Compendium of Bean Diseases. 2nd Edition. APS Press – The American Phytopathological Society, St. Paul, USA. 109 pp. ISBN 0-89054-327-5. Schwartz, H.F., Steadman, J.R., Hall, R., Forster, R.L. 2005 [journal article]. *Journal of Plant Protection Research*, 45(3), 180. <http://www.plantprotection.pl/Compendium-of-Bean-Diseases-2nd-Edition-APS-Press-The-American-Phytopathological,94340,0,2.html>
- Lisar, S., Motafakkerazad, R., Hossain, M. M., & Rahman, I. (2012). Causes, effects and responses. *Water stress*, 25(1), 33.
- Lu, Y., Yao, K., Gong, Z., Zhang, Y., Meng, Y., & Liu, Q. (2022). Molecular manipulations of miR398 increase rice grain yield under different conditions. *Frontiers in plant science*, 13, 1037604.
- Magadum, S., Banerjee, U., Murugan, P., Gangapur, D., & Ravikesavan, R. (2013). Gene duplication as a major force in evolution. *Journal of genetics*, 92(1), 155-161.
- Manfield, I. W., Devlin, P. F., Jen, C.-H., Westhead, D. R., & Gilmartin, P. M. (2007). Conservation, convergence, and divergence of light-responsive, circadian-regulated, and tissue-specific expression patterns during evolution of the Arabidopsis GATA gene family. *Plant physiology*, 143(2), 941-958.
- Mengel, K., Kirkby, E. A., Kosegarten, H., & Appel, T. (2001). Plant nutrients. *Principles of plant nutrition*, 1-13.
- Messina, V. (2014). Nutritional and health benefits of dried beans. *The American journal of clinical nutrition*, 100(suppl_1), 437S-442S.
- Meziadi, C., Blanchet, S., Geffroy, V., & Pflieger, S. (2017). Genetic resistance against viruses in *Phaseolus vulgaris* L.: State of the art and future prospects. *Plant Science*, 265, 39-50.
- Mızrak, G. (2020). *FASULYE YETİŞTİRİCİLİĞİ*. Gürbüz Mızrak.
- Motto, M., Soressi, G., & Salamini, F. (1978). Seed size inheritance in a cross between wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Genetica*, 49(1), 31-36.
- Muchow, R. C., & Bellamy, J. A. (1991). *Climatic Risk in Crop Production: Models and Management for the Semiarid Tropics and Subtropics: Proceedings of the International Symposium on Climatic Risk in Crop Production: Models and Management for the Semiarid Tropics and Subtropics Held in Brisbane, Australia, 2-6 July, 1990*. CAB international.
- Myers, J. R., & Kmiecik, K. (2017a). Common bean: Economic importance and relevance to biological science research. In *The common bean genome* (pp. 1-20). Springer.
- Myers, J. R., & Kmiecik, K. (2017b). Common bean: Economic importance and relevance to biological science research. *The common bean genome*, 1-20.

- Nadeem, M. A., Habyarimana, E., Çiftçi, V., Nawaz, M. A., Karaköy, T., Comertpay, G., Shahid, M. Q., Hatipoğlu, R., Yeken, M. Z., & Ali, F. (2018). Characterization of genetic diversity in Turkish common bean gene pool using phenotypic and whole-genome DArTseq-generated silicoDArT marker information. *PLoS one*, 13(10), e0205363.
- Niu, L., Chu, H. D., Tran, C. D., Nguyen, K. H., Pham, H. X., Le, D. T., Li, W., Wang, W., Le, T. D., & Tran, L.-S. P. (2020). The GATA gene family in chickpea: structure analysis and transcriptional responses to abscisic acid and dehydration treatments revealed potential genes involved in drought adaptation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 1647-1660.
- Osdaghi, E., Young, A. J., & Harveson, R. M. (2020). Bacterial wilt of dry beans caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: A new threat from an old enemy. *Molecular plant pathology*, 21(5), 605-621. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7170776/pdf/MPP-21-605.pdf>
- Persley, D., Cooke, T., & House, S. (2010). *Diseases of vegetable crops in Australia*. CSIRO Publishing.
- Piskacek, S., Gregor, M., Nemethova, M., Grabner, M., Kovarik, P., & Piskacek, M. (2007). Nine-amino-acid transactivation domain: establishment and prediction utilities. *Genomics*, 89(6), 756-768.
- Rao, K., Raghavendra, A., & Reddy, K. (2006). *Physiology and molecular biology of stress tolerance*. Springer.
- Reid, J. E., Evans, K. J., Dyer, N., Wernisch, L., & Ott, S. (2010). Variable structure motifs for transcription factor binding sites. *BMC genomics*, 11(1), 1-18.
- Reyes, J. C., Muro-Pastor, M. I., & Florencio, F. J. (2004). The GATA family of transcription factors in Arabidopsis and rice. *Plant physiology*, 134(4), 1718-1732.
- Rollins, J., Habte, E., Templer, S., Colby, T., Schmidt, J., & Von Korff, M. (2013). Leaf proteome alterations in the context of physiological and morphological responses to drought and heat stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of experimental botany*, 64(11), 3201-3212. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733145/pdf/ert158.pdf>
- Saidi, A., Hajibarat, Z., & Hajibarat, Z. (2021). Phylogeny, gene structure and GATA genes expression in different tissues of Solanaceae species. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102015.
- Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. *Drought stress tolerance in plants, Vol 1: physiology and biochemistry*, 1-16.
- Sequencing, H. (2011). CLC Genomics Workbench. In: Workbench.
- Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Jaleel, C. A., Manivannan, P., Panneerselvam, R., & Shao, M.-A. (2009). Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants—biotechnologically and sustainably improving

- agriculture and the ecoenvironment in arid regions of the globe. *Critical reviews in biotechnology*, 29(2), 131-151.
- Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C.-X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus biologies*, 331(3), 215-225.
- Shi, M., Huang, Q., Wang, Y., Wang, C., Zhu, R., Zhang, S., & Kai, G. (2022). Genome-wide survey of the GATA gene family in camptothecin-producing plant *Ophiorrhiza pumila*. *BMC genomics*, 23(1), 1-12.
- Shin, S., Jung, Y., Uhm, H., Song, M., Son, S., Goo, J., Jeong, C., Song, J.-J., Kim, V. N., & Hohng, S. (2020). Quantification of purified endogenous miRNAs with high sensitivity and specificity. *Nature communications*, 11(1), 6033.
- Singh, G., Dukariya, G., & Kumar, A. (2020). Distribution, importance and diseases of soybean and common bean: A review. *Biotechnology Journal International*, 24(6), 86-98.
- Smoliak, S., Ditterline, R., Scheetz, J., Holzworth, L., Sims, J., Wiesner, J., Baldridge, D., & Tibke, G. (1990). Common bean. *Montana State University, Animal and Range Sciences Extension Service, Forage extension program, Bozeman, USA*.
- Solovyev, V. V., Shahmuradov, I. A., & Salamov, A. A. (2010). Identification of promoter regions and regulatory sites. *Computational biology of transcription factor binding*, 57-83.
- Srivastava, A. K., Srivastava, S., Lokhande, V. H., D'Souza, S. F., & Suprasanna, P. (2015). Salt stress reveals differential antioxidant and energetics responses in glycophyte (*Brassica juncea* L.) and halophyte (*Sesuvium portulacastrum* L.). *Frontiers in Environmental Science*, 3, 19.
- Stegmaier, P., Kel, A. E., & Wingender, E. (2004). Systematic DNA-binding domain classification of transcription factors. *Genome Informatics*, 15(2), 276-286.
- Suárez-Martínez, S. E., Ferriz-Martínez, R. A., Campos-Vega, R., Elton-Puente, J. E., de la Torre Carbot, K., & García-Gasca, T. (2016). Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. *CyTA-Journal of Food*, 14(1), 131-137.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., & Mittler, R. (2014). Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*, 203(1), 32-43.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Tian, F., Yang, D.-C., Meng, Y.-Q., Jin, J., & Gao, G. (2020). PlantRegMap: charting functional regulatory maps in plants. *Nucleic acids research*, 48(D1), D1104-D1113.
- Vainio, A., Niva, M., Jallinoja, P., & Latvala, T. (2016). From beef to beans: Eating motives and the replacement of animal proteins with plant proteins among Finnish consumers. *Appetite*, 106, 92-100.
- Verma, S., Nizam, S., & Verma, P. K. (2013). Biotic and abiotic stress signaling in plants. In *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective, Volume 1* (pp. 25-49). Springer.

- Wang, Y., Cao, X., Zhang, D., Li, Y., Wang, Q., Ma, F., Xu, X., Zhan, X., & Hu, T. (2023). SIGATA17, A tomato GATA protein, interacts with SlHY5 to modulate salinity tolerance and germination. *Environmental and Experimental Botany*, 206, 105191.
- Wortmann, C., Brink, M., & Belay, G. (2006a). Phaseolus vulgaris L.(common bean). Record from PROTA4U. Brink, M. & Belay, G.(Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands.
- Wortmann, C., Brink, M., & Belay, G. (2006b). Phaseolus vulgaris L.(common bean). Record from PROTA4U. PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l'Afrique tropicale).
- Yadegari, M., Rahmani, H., Noormohammadi, G., & Ayneband, A. (2008). Evaluation of bean (Phaseolus vulgaris) seeds inoculation with Rhizobium phaseoli and plant growth promoting rhizobacteria on yield and yield components. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 11(15), 1935-1939.
- Yang, Y., Wang, B., Wang, J., He, C., Zhang, D., Li, P., Zhang, J., & Li, Z. (2022). Transcription factors ZmNF-YA1 and ZmNF-YB16 regulate plant growth and drought tolerance in maize. *Plant physiology*, 190(2), 1506-1525.
- Yao, X., Zhou, M., Ruan, J., He, A., Ma, C., Wu, W., Lai, D., Fan, Y., Gao, A., & Weng, W. (2022). Genome-wide identification, evolution, and expression pattern analysis of the GATA gene family in tartary buckwheat (Fagopyrum tataricum). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12434.
- Yu, C., Li, N., Yin, Y., Wang, F., Gao, S., Jiao, C., & Yao, M. (2021). Genome-wide identification and function characterization of GATA transcription factors during development and in response to abiotic stresses and hormone treatments in pepper. *Journal of Applied Genetics*, 62, 265-280.
- Yu, R., Chang, Y., Chen, H., Feng, J., Wang, H., Tian, T., Song, Y., & Gao, G. (2021). Genome-wide identification of the GATA gene family in potato (Solanum tuberosum L.) and expression analysis. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 1-12.
- Yuan, Q., Zhang, C., Zhao, T., Yao, M., & Xu, X. (2018). A genome-wide analysis of GATA transcription factor family in tomato and analysis of expression patterns. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20(6), 1274-1282.
- Yusuf, D., Butland, S. L., Swanson, M. I., Bolotin, E., Ticoll, A., Cheung, W. A., Cindy Zhang, X. Y., Dickman, C. T., Fulton, D. L., & Lim, J. S. (2012). The transcription factor encyclopedia. *Genome biology*, 13(3), 1-25.
- Zahn-Zabal, M., Dessimoz, C., & Glover, N. M. (2020). Identifying orthologs with OMA: A primer. *F1000Research*, 9.
- Zhang, C., Hou, Y., Hao, Q., Chen, H., Chen, L., Yuan, S., Shan, Z., Zhang, X., Yang, Z., & Qiu, D. (2015). Genome-wide survey of the soybean GATA transcription factor gene family and expression analysis under low nitrogen stress. *PloS one*, 10(4), e0125174.

- Zhang, Y. (2005). miRU: an automated plant miRNA target prediction server. *Nucleic acids research*, 33(suppl_2), W701-W704.
- Zhu, H., Zhai, H., He, S., Zhang, H., Gao, S., & Liu, Q. (2022). A novel sweetpotato GATA transcription factor, IbGATA24, interacting with IbCOP9-5a positively regulates drought and salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 194, 104735.
- Zhu, M., Wang, X., Zhou, Y., Tan, J., Zhou, Y., & Gao, F. (2022). Small RNA sequencing revealed that miR4415, a legume-specific miRNA, was involved in the cold acclimation of *Ammopiptanthus nanus* by targeting an L-ascorbate oxidase gene and regulating the redox state of apoplast. *Frontiers in Genetics*, 13, 870446.
- Zhu, W., Guo, Y., Chen, Y., Wu, D., & Jiang, L. (2020). Genome-wide identification, phylogenetic and expression pattern analysis of GATA family genes in *Brassica napus*. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1-12.