

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Phaseolus vulgaris L. BİTKİSİNDE *TALE* GEN AİLESİ ÜYELERİNİN GENOM
DÜZEYİNDE TANIMLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE ABİYOTİK
STRES ALTINDAKİ ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Nur AVCI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2023

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Phaseolus vulgaris L. BİTKİSİNDE *TALE* GEN AİLESİ ÜYELERİNİN GENOM DÜZEYİNDE TANIMLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE ABİYOTİK STRES ALTINDAKİ ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Nur AVCI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İlker BÜYÜK

Fasulye bitkisi gerek Dünya’da ve Türkiye’deki ekonomik değeri ve gerekse içerdiği besin miktarı açısından önemli bir bitkidir. Bitkilerin büyüme ve gelişmesinde *TALE* transkripsiyon faktörü gen ailesi önemli bir rol oynamaktadır. Literatüre bakıldığında *TALE* gen ailesi ile ilgili fasulyede yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Buradaki eksiklikten yola çıkılarak, bu tez çalışmasında, fasulyede *TALE* gen ailesinin 35 adet üyesi tespit edilmiştir. Yapılan biyoinformatik analizler sonucunda *PvTALE* gen ailesi üyelerinin BEL1-like (BLH/BELL homeodomain) ve KNOX (KNOTTED-like homeodomain) alt ailelerine ayrıldığı gözlenmiştir. Belirlenen ve tanımlanan *PvTALE* genlerinin filogenetik ilişkisi, intron-ekzon yapısı, proteinlerin korunmuş motifleri, kromozomdaki dağılımı, tandem ve segmental duplikasyonları ve seçilen 5 farklı tür ile fasulye arasındaki duplikasyona uğrayan gen çiftlerinin tespiti, promotör bölgesinde bulunan cis-element analizi, miRNA analizi ve üç boyutlu protein homoloji analizi gerçekleştirilmiştir. Fasulye bitkisi gelişimi, kuraklık stresi sırasında *PvTALE* genlerinin farklı düzenleyici rollerini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca fasulyede kuraklık stresi sonucunda artan prolin miktarı tespiti için prolin analizi yapılmıştır. RNA-seq kuraklık verileri kullanılarak seçilen genlerin kuraklık stresi altındaki ekspresyon seviyeleri qPCR analizi ile incelenmiştir. Sonuç olarak *PvTALE* genlerinin fonksiyonu, görevi, yapısı, korunmuş motif bölgeleri, abiyotik strese karşı oluşturdıkları yanıtlar ve duplikasyon analizleri sonucunda fasulyedeki evrimi açıklanmıştır ve elde edilen bulguların ileride diğer araştırmacılar için faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Haziran 2023, 98 sayfa

Anahtar Kelimeler: Fasulye (*P. vulgaris* L.), gen ekspresyonu, genom çapında analiz, *TALE* gen ailesi, transkriptomik analiz

ABSTRACT

Master Thesis

GENOME-WIDE IDENTIFICATION, CHARACTERIZATION OF *TALE* GENE FAMILY MEMBERS IN *Phaseolus vulgaris* L. AND INVESTIGATION OF THEIR ROLE UNDER ABIOTIC STRESS

Fatma Nur AVCI

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

Advisor: Assoc. Dr. İlker BÜYÜK

Common bean is an important plant in terms of its economic value and amount of nutrients it contains. TALE transcription factor gene family plays an important role in growth and development of plants. According to the literature search, there is no study on *TALE* gene family in common bean. Thus, 35 members of the *TALE* gene family were identified in common bean for the first time in this study. As a result of bioinformatic analyses, *PvTALE* gene family members were found to be divided into BEL1-like (BLH/BELL homeodomain) and KNOX (KNOTTED-like homeodomain) subfamilies. Additionally, many in-silico analyses of identified members of *PvTALE* family such as intron-exon structure identification, conserved motifs exploration, determination of chromosomal distribution and gene duplications, cis-element analysis, miRNA analysis and three-dimensional protein homology analysis, were performed. Common bean development revealed different regulatory roles of *PvTALE* genes during drought stress. In addition, proline analysis was performed to determine the increased amount of proline in common bean in response to drought stress. The expression levels of the genes were analyzed by both RNA-seq drought data and qPCR analysis. When all the results are considered together, the function, structure, conserved regions, abiotic stress response and duplication analysis of *PvTALE* genes have explained the evolution of *TALE* genes in common bean and the obtained results from this study could be helpful for researchers in the near future.

June 2023, 98 pages

Key Words: common bean (*P. vulgaris* L.), gene expression, genome-wide analysis, *TALE* gene family, transcriptomic analysis

TEŞEKKÜR

Tez araştırmalarımnda, yaptığım her çalışmada her zaman yanımda olup, beni destekleyip, tüm sorularıma cevap vererek bana akademik olarak büyük katkılar sağlayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. İlker BÜYÜK’e (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı),

Her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan Sayın Prof. Dr. E. Sümer. ARAS’a (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji, Anabilim Dalı),

Tez çalışmalarımnda bana yardımcı olan ve beni destekleyen Ankara Üniversitesi Bitki Moleküler Biyolojisi Laboratuvarı’nda çalışan tüm arkadaşlarıma,

Benden asla maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her daim yanımda olup beni yönlendiren aileme teşekkür ediyorum.

Fatma Nur AVCI
Ankara, Haziran 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 <i>Phaseolus vulgaris</i> ' in kökeni	3
2.1.2 <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	4
2.1.3 <i>Phaseolus vulgaris</i> 'in insan sağlığı için önemi	4
2.1.4 <i>Phaseolus vulgaris</i> ' in Dünya'daki ve Türkiye'deki ekonomik önemi	5
2.1.5 Fasulye bitkisinde oluşabilen hastalıklar	7
2.1.6 Bitkilerde stres nedir ve nasıl oluşur?	9
2.1.7 Abiyotik stres olan kuraklığın bitkilerdeki etkisi, mekanizması ve yönetimi	10
2.1.8 Kuraklığın olumsuz etkileri	10
2.1.9 Prolin sentezi.....	12
2.1.10 Kuraklık stresinin mekanizması ve yönetimi	13
2.1.11 Kuraklık stres toleransını arttıran çalışmalar	15
2.1.12 Transkripsiyon faktörleri.....	16
2.1.13 TF'lerin çeşitleri ve sınıflandırılması	17
2.1.14 Abiyotik strese transkripsiyon faktörlerinin rolü	18
2.1.15 Homeobox genleri nedir?	20
2.1.16 <i>TALE</i> gen ailesi.....	20
2.2 <i>TALE</i> Gen Ailesi Üzerine Yürütülen Çalışmaların Kaynak Özetleri	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1 Fasulyede <i>TALE</i> Genlerinin Tanımlanması	24
3.2 Fasulye ve <i>A. thaliana</i> <i>TALE</i> Üyelerinin Filogenetik Analizi ve Sınıflandırılması.....	27
3.3 Pv <i>TALE</i> Üyelerinin Domaini, Gen Yapısı ve Korunmuş Motif Analizleri	28
3.4 Pv <i>TALE</i> Genlerinin Cis-Element Analizi.....	32

3.5 PvTALE Üyelerinin Protein Yapılarının Analizi.....	32
3.6 PvTALE Genlerinin Duplikasyon ve Sinteni Analizi	33
3.7 PvTALE Gen Ailesinin mRNA Analizi.....	41
3.8 PvTALE Gen Ailesi Üyelerinin miRNA Analizi	45
3.9 Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Abiyotik Stres Uygulanması.....	46
3.10 Prolin Analizi.....	48
3.11 RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi	49
3.12 Gene Özgü Primer Tasarımı.....	51
3.13 PvTALE Gen Ailesinin Real-Time PCR İle Analizi Ve Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	52
4. BULGULAR.....	54
4.1 <i>P. vulgaris</i> 'teki TALE Genlerinin Belirlenmesi ve Tanımlanması.....	54
4.2 PvTALE Üyelerinin Filogenetik Analizi ve Sınıflandırılması.....	58
4.3 PvTALE Üyelerinin Gen Yapıları ve Korunmuş Motif Analizi	59
4.4 Kromozomal Konum Analizi	61
4.5 PvTALE Gen Ailesinin Duplikasyon ve Sinteni Analizi	61
4.6 PvTALE Genlerinde Cis-element Analizi.....	64
4.7 PvTALE Gen Ailesinin mRNA Analizi.....	65
4.8 PvTALE Gen Ailesinin miRNA Analizi.....	67
4.9 PvTALE Gen Ailesinin Üç Boyutlu Protein Modellemesi.....	68
4.10 Prolin Aktivitesi.....	72
4.11 RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi	72
4.12 PvTALE Gen Ailesi Üyelerinin Gerçek Zamanlı PCR ile Analizi	74
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ.....	82
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ.....	98

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°	Derece
µl	Mikrolitre
BON1	Calcium-dependent phospholipid-binding
C	Santigrat
cDNA	Komplementer DNA
DNA	Deoksiribonükleik asit
Da	Dalton
g	Gram
KIN7	DNA/RNA-bağlayıcı protein
mM	Milimolar
M	Molar
TALE	The three amino acid extension loop
TEPGE	Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TF	Transkripsiyon Faktörü
OSCA1	Hyperosmolality-gated calcium-permeable channel
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PUB11 E3	PLANT U-BOX PROTEIN 11 E3 ubiquitin ligase
PYL	PYRABACTIN RESISTANCE1
qPCR	Kantitatif PCR
RbohD/F	Respiratory burst oxidase homologues
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen enzimi
SLAC1	SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1
SnRK2	SNF1-related protein kinase
2PP2C	Protein phosphatase 2C

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Dünya genelinde 2020 yılındaki fasulye üretim miktarı ve dağılımı	5
Şekil 2.2 Fasulye üretiminin ülkelere göre dağılımı	6
Şekil 2.3 Türkiye’deki kuru fasulye üretim alanı ve miktarı	6
Şekil 2.4 Bitkideki kuraklık stres mekanizması	14
Şekil 2.5 Bitkilerde abiyotik stres altında transkripsiyon faktörleri aracılı sinyal iletimi	19
Şekil 3.1 Bitki transkripsiyon faktörleri veri tabanının arayüzü	24
Şekil 3.2 Phytozome 13 veri tabanının arayüzü	25
Şekil 3.3 Expasy ProtParam çevrimiçi aracının arayüzü	25
Şekil 3.4 Wolf PSORT çevrimiçi aracının arayüzü	26
Şekil 3.5 NLSdb veri tabanının arayüzü	27
Şekil 3.6 MEGA 7.0 yazılımı arayüzü	28
Şekil 3.7 NCBI Korunmuş domain arama çevrimiçi aracının arayüzü	29
Şekil 3.8 Motif finder çevrimiçi aracının arayüzü	29
Şekil 3.9 Gene Structure Display Server 2.0 çevrimiçi aracının arayüzü	30
Şekil 3.10 MEME V5.4.1 çevrimiçi aracının arayüzü	31
Şekil 3.11 TBtools yazılımının arayüzü	31
Şekil 3.12 PlantCARE çevrimiçi aracının arayüzü	32
Şekil 3.13 Phyre2 çevrimiçi aracının arayüzü	33
Şekil 3.14 PmiREN Plant MicroRNA Encyclopedia çevrimiçi aracı	45
Şekil 3.15 psRNATarget çevrimiçi aracı arayüzü	45
Şekil 3.16 Cytoscape 3.9.1 yazılımı arayüzü	46
Şekil 3.17 Kuraklık stresinin başlangıcı (17.05.22)	47
Şekil 3.18 Kuraklık stresinin son günü (24.05.22)	48
Şekil 3.19 IDT PrimerQuest Tool arayüzü	51
Şekil 4.1 PvTALE proteinlerinin hücre içi yerleşimlerinin ısı haritası ile gösterimi	58
Şekil 4.2 <i>P. vulgaris</i> ve <i>A. thaliana</i> ’dan 57 TALE proteininin peptit dizilerine dayanan filogenetik ağaç	59
Şekil 4.3 <i>PvTALE</i> gen ailesinin motifleri, korunmuş alanları ve gen yapısı	60
Şekil 4.4 <i>PvTALE</i> genlerinin 11 adet <i>P. vulgaris</i> kromozomu üzerindeki dağılımı	61
Şekil 4.5 <i>P. vulgaris</i> ’te <i>TALE</i> genleri arasındaki segmental-tandem duplikasyon ilişkisinin Circos grafiğinde gösterimi	63
Şekil 4.6 <i>TALE</i> üyelerinin fasulye ve seçilen diğer 5 bitki türü arasındaki sentenik ilişkileri	64
Şekil 4.7 <i>PvTALE</i> genlerinin 1500 upstream bölgesinde bulunan cis-elementlerin gösterimi	65
Şekil 4.8 Fasulyede çeşitli doku ve organlarda <i>PvTALE</i> genlerinin ifade seviyesinin gösterimi	67
Şekil 4.9 <i>PvTALE</i> genlerinin kuraklık stresi altındaki gen ifadeleri	68
Şekil 4.10 <i>PvTALE</i> gen ailesinin üyeleri ve ilişkili oldukları miRNA’lar	69

Şekil 4.11 <i>PvTALE</i> genlerinin 3 boyutlu protein homologileri	70
Şekil 4.12 Kuraklık stresi koşulları altında <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak, gövde ve köklerdeki prolin seviyeleri.....	73
Şekil 4.13 <i>PvTALE</i> gen ailesinden BEL1-like ve KNOX domainlerine ait olan genlerin RT-qPCR aracılığı ile mRNA ifade analizi.....	77



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Son yıllardaki fasulye üretimine ilişkin ulusal veriler	7
Çizelge 2.2 Fasulyenin son yıllardaki üretim miktarı	7
Çizelge 3.1 <i>Phaseolus vulgaris</i> ve <i>Arabidopsis thaliana</i> arasında saptanan duplikasyonlar	34
Çizelge 3.2 <i>Phaseolus vulgaris</i> ve <i>Oryza sativa</i> arasında saptanan duplikasyonlar	35
Çizelge 3.3 <i>Phaseolus vulgaris</i> ve <i>Glycine max</i> arasında saptanan duplikasyonlar	36
Çizelge 3.4 <i>Phaseolus vulgaris</i> ve <i>Solanum lycopersicum</i> arasında saptanan duplikasyonlar	39
Çizelge 3.5 <i>Phaseolus vulgaris</i> ve <i>Vigna unguiculata</i> arasında saptanan duplikasyonlar	40
Çizelge 3.6 <i>PvTALE</i> genlerinin farklı doku ve organlardaki log2 tabanına göre ifade seviyeleri	42
Çizelge 3.7 Tasarlanan <i>PvTALE</i> primerlerine ait dizi bilgisi.....	51
Çizelge 3.8 Real- time PCR malzemeleri ve kullanılan hacim.....	52
Çizelge 4.1 <i>PvTALE</i> ailesi üyelerine ilişkin bilgileri içeren katalog.....	55
Çizelge 4.2 Nanodrop spektrofotometre RNA ölçüm sonuçları	74
Çizelge 4.3 cDNA saflık ve miktar sonuçları	75

1. GİRİŞ

Phaseolus vulgaris L. bitkisi yabani ve kültür formu ile iki farklı gen havuzu oluşturarak dağılım göstermektedir. Günümüzde, fasulye bitkisi Türkiye’de ve Dünya’nın diğer birçok bölgesinde kolaylıkla yetişebilmektedir. Otsu yapıdaki fasulye bitkisinin 8-20 cm uzunluğundaki meyvesi, çeşitli renk ve desenlerde gelişebilmektedir (Smoliak vd. 1990, Lim 2012). Fasulye bitkisi diploit ($2n=22$) kromozom takımından oluşmakta ve kendi kendine tozlaşabilme özelliği sayesinde kolaylıkla melezleşerek verimli döller verebilmektedir. Ayrıca giderek artan Dünya nüfusunun beslenmesi için gerekli besin ihtiyacının karşılanması bakımından fasulye büyük önem arz etmektedir (Motto ve Salamini 1978, Harmsen vd.1987, De Ron vd. 2015).

Fasulye sahip olduğu protein, nişasta ve lif gibi makromoleküllerin yanı sıra insan beslenmesinde önemli olan sekiz adet mineral (P, Mg, Mn, K, Zn, Cu, Fe, Ca), tiamin, riboflavin, vitamin ve antioksidan da barındırmaktadır. İnsan sağlığı için önemli olan fasulye bitkisi, obezite, kanser ve inflamasyon gibi istenmeyen durumların önlenmesinde rol oynamaktadır (Jenkins 2007, Chung vd. 2008, Hayat vd. 2014, Ganesan ve Xu 2017). Fasulye, ekonomik önemi ve besin içeriği açısından hem dünyada hem de Türkiye’de değerli bir bitki türüdür.

Değişen iklim koşulları sebebiyle kuraklık gibi abiyotik stres koşulları altında fasulye veriminin düştüğü belirlenmiştir. Kuraklığa maruz kalan bitkiler, bu strese cevap olarak birtakım genetik ve biyokimyasal düzenlemelere ihtiyaç duymaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar kuraklık stresine maruz kalan bazı bitkilerde prolin gibi bazı amino asitlerin miktarının artışına işaret etmektedir. Transkripsiyon faktörleri, abiyotik ve biyotik strese karşı hassasiyet gösteren genlerin düzenlenmesinde görev almaktadır. Transkripsiyon faktörlerinden biri olan Homeobox genleri, korunmuş 60 amino asit (aa) uzunluğunda bir DNA bağlanma alanını kodlayan genlerdir. Homeobox genlerinden olan *TALE* gen ailesi bitkilerde özellikle kök oluşumundan sürgün apikal meristeminin oluşumuna ve korunmasına kadar pek çok önemli biyolojik süreçte rol oynamaktadır. Protein peptit kompozisyonu ve evrimine bağlı olarak *TALE* ailesi yapısal ve işlevsel anlamda heterodimerler olarak işlev gören KNOTTED- like homeodomain (KNOX) ve

BEL1-like homeodomain (BLH / BELL) proteinlerini içermektedir. Ayrıca *TALE* gen ailesi bitkide hormonların düzenlenmesinde de rol oynamaktadır.

Bu tez çalışmasında, biyoinformatik analizler ile fasulyedeki *TALE* gen ailesinin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitki örneklerinde prolin analizi yapılmış ve ardından *PvTALE* gen ailesi üyelerinin RNA-seq verileri ve Real-time PCR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) analizi aracılığıyla abiyotik stres cevabındaki rolü araştırılmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada elde edilen veriler literatür açısından ilk olması nedeniyle önem taşımaktadır.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kuramsal Temeller

2.1.1 *Phaseolus vulgaris*' in kökeni

Linnaeus'un (1957) yaptığı çalışma sonucunda fasulyenin ilk olarak Hindistan'da ortaya çıktığı düşünülmüştür. İlerleyen yıllarda Peru'daki tarih öncesi fasulye tohumları incelenerek fasulyenin çıkış yerinin Güney Amerika olduğu tespit edilmiştir (Brücher 1988). *Fabaceae* ailesinden olan *Phaseolus vulgaris* türünün yabani ve kültürleştirilmiş iki formu bulunmaktadır. Fasulyenin dünyada ilk çıkış yerine bakıldığında yabani tür olarak adlandırılan fasulyenin, Meksika'dan başlayarak Güney Amerika ve And Dağları'na kadar yayılım gösterdiği görülmüştür. Diğer form olan kültür fasulyesi Güney Amerika'da ve Mezoamerika'da gelişmiştir. Fasulyenin coğrafi dağılımları gözetildiğinde fasulyede iki tane ana gen havuzu olduğu anlaşılmıştır (Berglund-Brücher ve Brücher 1976, Kaplan 1981, Gepts vd. 2000).

Fasulyenin bölgesel çeşitlilik özelliği bulunmaktadır. Bölgesel çeşitlilik, fasulye bitkisindeki kültür formunda önemli bir özelliktir. Bu çeşitliliğin tanımlanmasında izlenen en kolay yöntem tohum rengi ve şeklinin değerlendirilmesine dayanmaktadır (Kaplan 1981). Yabanıl *P. vulgaris* bitkisi farklı coğrafi bölgelerde çeşitli tohum rengi ve şekilleri sergilemektedir (Gentry 1969). Burkat (1952) yaptığı çalışmada *P. vulgaris*'in yabanıl türü olan *Phaseolus aborigineus*'u tanımlamıştır (Burkat 1952). Kültür fasulyesinin Anadolu'ya gelişi iki hipotez ile açıklanmaktadır. Birinci hipoteze göre, Afrika'nın kuzeyinden Türkiye'ye gelerek İran ve Kafkaslardan Asya'ya geçtiği, ikinci hipoteze göre ise İberik yarımadasından başlayarak Avrupa'nın doğusu, ardından Rusya'dan Asya'ya ulaştığı düşünülmektedir (Şehirli 1988).

2.1.2 *Phaseolus vulgaris* L.

Phaseolus vulgaris (Leguminosae), *Phaseoleae* familyası, Papilionoideae alt familyasının bir üyesidir (Bressani 1993, Graham ve Ranalli 1997). Linneus'un (1753) yaptığı ilk çalışmalardan günümüze kadar tanımlanan tür sayısının ciddi şekilde arttığı görülmüştür. *Fabaceae* familyasının dikotiledon bir bitki türü olan fasulyenin 751 cins ve yaklaşık 20.000 türü bulunmaktadır (Tharanathan ve Mahadevamma 2013, Christenhusz ve Byng 2016, Payne 2016). Fasulye bitkisi diploittir, bu nedenle $2n=22$ kromozom takımından oluşur ve kendi kendine tozlaşabilme özelliği sayesinde kolaylıkla melezleşerek verimli döller verebilmektedir (Motto ve Salamini 1978, Harmsen vd.1987, De Ron vd. 2015).

Fasulye bitkisi otsu yapıya sahiptir (Smoliak vd. 1990). Ayrıca fasulyede mineraller, vitaminler, lif ve antioksidanlar bulunmaktadır. Fasulye bitkisinde 1-3 sayıda çiçeklenme görülmektedir ve biseksüel yapıya sahiptir. Yumurtalık ve kaliks tüylüdür. Meyvesi 8-20 cm uzunluğunda, çeşitli renk ve desenlerdedir (Lim 2012). Fasulyenin zayıf bir köke sahip olduğu, gövdesinin 0,3 ile 7 m arasında değiştiği ve gövdesinin aşağı kısmı yuvarlak iken üst kısmının altıgen şeklinde olduğu bilinmektedir (Giurcă 2009). Çeşitli bölgelerden alınan tohumların renginin, şeklinin ve desenlerinin farklı olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Singh vd. 1991, Morales 2003).

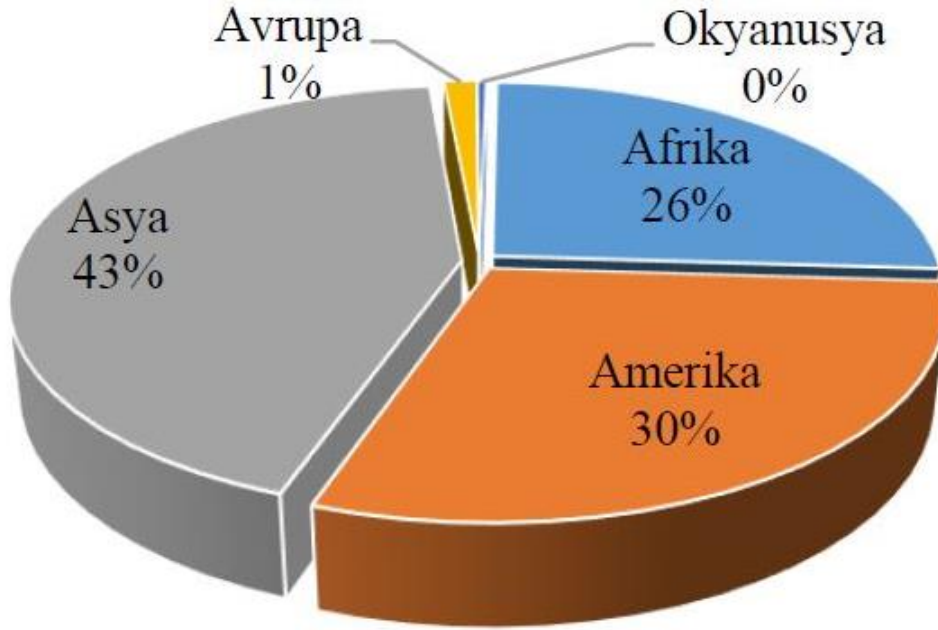
2.1.3 *Phaseolus vulgaris*'in insan sağlığı için önemi

İnsan besin tüketiminde önemli tahıllardan biri olan fasulyenin yaklaşık 20 çeşidi bulunmaktadır (de Almeida Costa vd. 2006, Lin vd. 2008). Fasulye diğer baklagillerden 2-3 kat daha fazla protein bulundurmaktadır (Siddiq vd. 2010). Fasulyenin insan beslenmesi için önemli olan protein, lif, nişasta, tiamin, riboflavin, sekiz mineral (P, Mg, Mn, K, Zn, Cu, Fe, Ca), antioksidanlar, antosiyoninler, proanto siyanidinler, fenolikler, flavonoidler ve flavonoller gibi farklı çeşitte flavonoidleri yapısında barındırdığı bilinmektedir (Sathe vd. 1984, Islam vd. 2002, Beninger ve Hosfield 2003, Choung vd. 2003, Pinheiro vd. 2010, Hayat vd. 2014, Santiago-Ramos vd. 2018, Los vd. 2018).

Ayrıca fasulye tüketimi birçok hastalığın önlenmesinde etkilidir (Jenkins 2007, Chung vd. 2008). Obezite, kardiyovasküler hastalıklar, şeker hastalığı, kanser ve diyabet gibi çeşitli hastalıklara karşı insan vücudu için oldukça yararlıdır. Bu hastalıkların önlenmesinde polifenollerin tüketilen miktarına ve insan vücudunun yararlanımına bağlı olarak antioksidan özellik göstererek önemli bir rol oynamaktadır (Jenkins 2007, Chung, vd. 2008, Oomah, vd. 2005, Akillioglu ve Karakaya 2010, Hayat vd. 2014, Ganesan ve Xu 2017).

2.1.4 *Phaseolus vulgaris*' in Dünya'daki ve Türkiye'deki ekonomik önemi

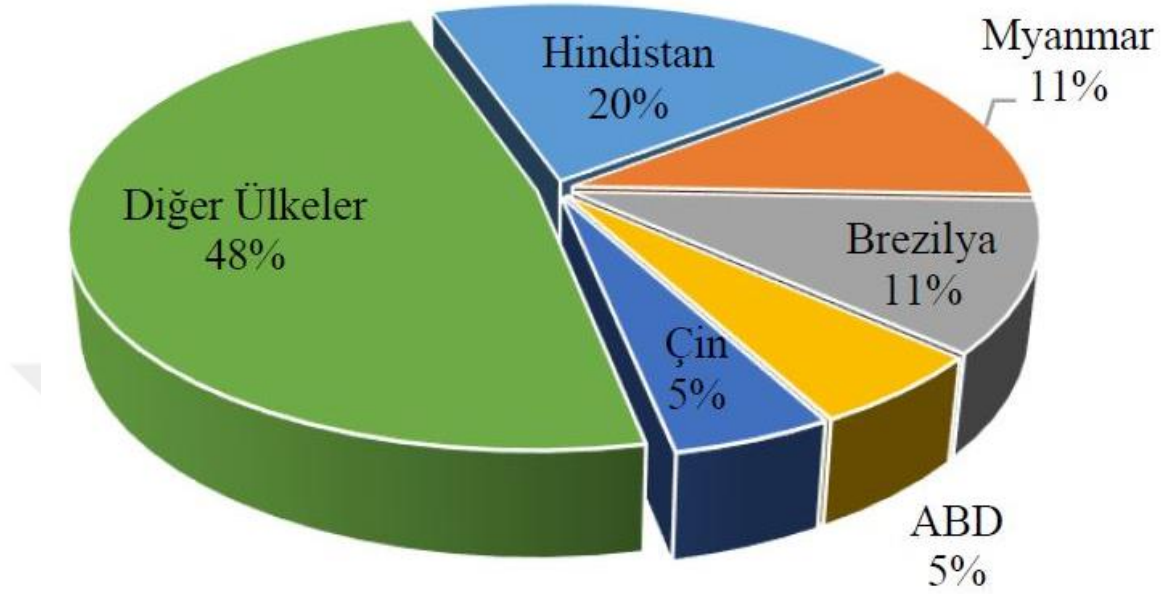
Fasulye bitkisi besin değeri açısından önemli mahsuller arasında yer almaktadır (Petty vd. 2015). Dünya'da 2020 yılı verilerine göre 34,80 milyon hektarlık alanda 790 kg/ha verim ortalamasıyla 27,55 milyon kuru fasulye üretimi yapılmıştır (TEPGE 2021).



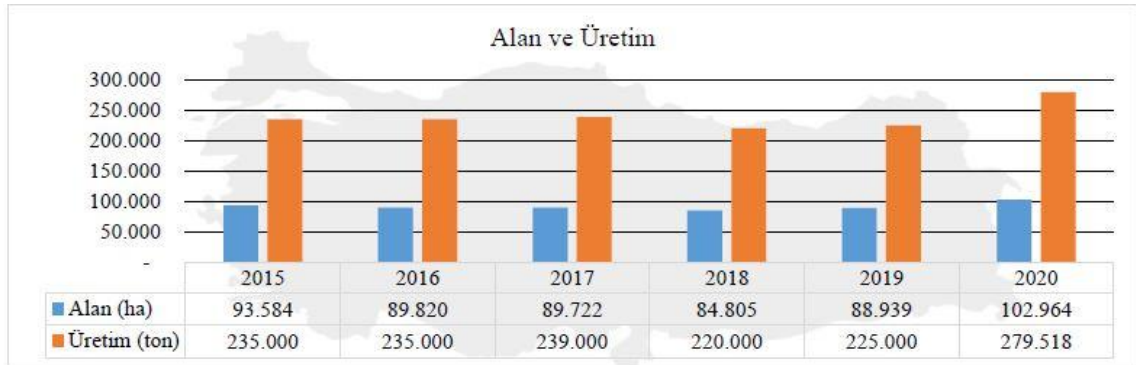
Şekil 2.1 Dünya genelinde 2020 yılındaki fasulye üretim miktarı ve dağılımı (TEPGE 2021)

Şekil 2.1'de verilen grafikte görüldüğü üzere fasulye üretiminde ilk sırada Asya kıtası bulunmaktadır. Ülkeler seviyesinde fasulye üretiminde ise ilk üç sırada Hindistan, Mynmar ve Brezilya yer almaktadır (Şekil 2.2.). Ayrıca Türkiye 2020 yılı verilerine

göre fasulye üretiminde Dünya’da 19’uncu, verimde ise 12 ’inci sıradadır (TEPGE 2021).



Şekil 2.2 Fasulye üretiminin ülkelere göre dağılımı (TEPGE 2021)



Şekil 2.3 Türkiye’deki kuru fasulye üretim alanı ve miktarı (TEPGE 2021)

Türkiye’de 2020 yılında 1 milyon dekar alanda 280 bin ton fasulye üretimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3). 2011-2020 yılları arasında ülke genelinde 79 bin ton ile üretimde artış olduğu görülmektedir. En fazla üretim Niğde ilinde gerçekleşmiştir (TEPGE 2021). TÜİK 2021 yılı verilerine göre fasulye üretimi bir önceki yıla göre %9,1 oranında artış göstermiştir. Ayrıca 2021 yılında Türkiye’de 305 bin ton kuru fasulye üretimi gerçekleştirilmiştir (TÜİK 2021).

Çizelge 2.1 Son yıllardaki fasulye üretimine ilişkin ulusal veriler (TÜİK 2022)

Sebzeler ürünleri üretim miktarları, 2022					
Production of vegetables, 2022					
[1.Tahmin - 1 st Estimation]					
					(Ton - Tonnes)
	Üretim - Production				
		Pay (%)		Pay (%)	Değişim (%)
Sebzeler - Vegetables	2021	Share (%)	2022	Share (%)	Change (%)
Fasulye (kuru) - Dry beans	305 000	0,5	285 000	0,4	-6,6
Fasulye (taze) - Beans (green)	510 366	1,6	504 930	1,6	-1,1
TÜİK, Bitkisel Üretim 1.Tahmini, 2022					
TürkStat, Crop Production 1 st Estimation, 2022					
Kaynak: Tarım ve Orman Bakanlığı					
Source: Ministry of Agriculture and Forestry					

TÜİK'in 2022 yılındaki 1. tahminine göre; kuru fasulye bir önceki yıla kıyasla %6,6 oranında azalarak 285 bin ton üretilmiştir.

Çizelge 2.2 Fasulyenin son yıllardaki üretim miktarı (TÜİK 2022)

Tahıllar ve diğer bitkisel ürünlerin üretim miktarları, 2022					
Production of cereals and other crops, 2022					
[2.Tahmin - 2 nd Estimation]					
					(Ton - Tonnes)
	Üretim - Production				
		Pay (%)		Pay (%)	Değişim (%)
Tahıllar ve diğer bitkisel ürünler	2021	Share (%)	2022	Share (%)	Change (%)
Cereals and other crops					
Fasulye (kuru) - Dry beans	305 000	0,5	270 000	0,4	-11,5
Fasulye (taze) - Beans (green)	510 366	1,6	522 277	1,6	2,3

TÜİK tarafından 2022 yılında yapılan 2. tahmine göre ise; kuru fasulye bir önceki yıla kıyasla %11,5 oranında azalarak 270 bin ton üretilmiştir (TÜİK 2022)

2.1.5 Fasulye bitkisinde oluşabilen hastalıklar

Fasulye bitkisinde görülen hastalıklar kendi içinde aşağıda ifade edildiği şekilde 6 gruba ayrılmaktadır;

Bakteriyel hastalıklar

Bakteriyel kahverengi nokta, yaygın bakteriyel yanıklık, bakteriyel solgunluk, dumanlı yanıklık, halo yanıklığı, wildfire hastalıkları gibi hastalıklar bakterilerden kaynaklanan ve bitkiye zarar veren hastalıklardır (Schwartz ve Corrales, 1989).

Mantar ve oomisit hastalıkları

Alternaria yaprağı ve bakla lekesi, açısıl yaprak lekesi, antraknoz, aphanomyces kökü ve hipokotil çürüklüğü, küllü sap yanıklığı (kömür çürüklüğü), siyah düğüm hastalığı (ascochyta yaprak lekesi), siyah kök çürüklüğü, maya lekesi, beyaz küf (sclerotinia çürüklüğü), beyaz yaprak lekesi, benek hastalığı, tüylü küf (lima) gibi hastalıklar mantar ve oomisitlerden kaynaklanmaktadır (Schwartz ve Corrales, 1989).

Nematodlar (Parazitler)

Krizantem yaprak nematod, lezyon nematodları, kök-düğüm nematodları, baykuş nematod, kist (soya fasulyesi) nematod, reniform nematod gibi nematodlar bitkilerde hastalıklar meydana getirmektedir (Schwartz ve Corrales, 1989).

Virüs hastalıkları

Fasulye altın mozaik, fasulye patiska mozaik, fasulye nekrozu mozaigi, fasulye bakla beneği, fasulye rugose mozaigi, fasulye güney mozaigi, fasulye yaz ölümü, fasulye sarı mozaik, fasulye ortak mozaik (siyah kök) gibi virüsler, fasulye bitkisinde hastalık oluşumuna sebep olmaktadır (Schwartz ve Corrales, 1989).

Fitoplazma hastalıkları

Cadıların süpürgesi, maçoluk, uzun gövde gibi fitoplazmik hastalıklar görülmektedir (Schwartz ve Corrales, 1989).

Bulaşıcı olmayan hastalıklar ve hasarlar

Hava kirliliği, pH, çevresel stresler, hava kirliliği, pestisit yaralanması, besin eksikliği, tohum kalitesi gibi faktörlerin bitki üstünde olumsuz etkileri bulunmaktadır (Schwartz ve Corrales, 1989).

2.1.6 Bitkilerde stres nedir ve nasıl oluşur?

Stres, bir organizmanın zararlı dış etkenleri algılaması sonucunda gösterdiği tepkidir (Selye 1936). Lichtenthaler'in (1988, 1996) yaptığı çalışmalar neticesinde stres eu-stres ve dis-stres olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Eu-stres bitkinin gelişimini olumlu etkilerken dis-stres bitki gelişimini olumsuz etkilemektedir. Aslında stresin bitkiyi bir dereceye kadar olumlu etkilediği ama eşik değerini geçince bitkinin yaşamsal fonksiyonlarını olumsuz etkileyerek zarar verdiği anlaşılmaktadır.

Sonraki yıllarda ise bitkilerdeki stres, bitkinin yaşamsal fonksiyonlarını etkileyen büyüme ve gelişmesinde farklılıklar oluşturan olumsuz koşul olarak tanımlanmıştır (Lichtenthaler 1996). Bitkilerdeki stres, abiyotik ve biyotik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Abiyotik stres, bitkide kuraklık, soğuk stresi, sıcaklık stresi, ağır metal stresi, tuz stresi gibi canlı olmayan dış etkenlerden meydana gelirken biyotik stres virüs, bakteri, mantar ve patojen gibi canlılardan oluşmaktadır (Suzuki vd. 2014, Gimenez vd. 2018).

Lichtenthaler (1988) yaptığı çalışmada bitkide strese maruz kalındığında gelişen cevabı 4 aşamada ele almaktadır;

Tepki aşaması

Tepki aşaması stresin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Adımlar sırasıyla normun saptanması, canlılığın azalması ve katabolik süreçlerin anabolizmaya geçmesiyle sonlanmaktadır.

Direnış aşaması

Direnış aşamasında, uzun süre stresin devam ettiği gözlenmektedir. Adımlar sırasıyla adaptasyon süreci, onarım süreci ve sertleşme ile son bulmaktadır.

Son aşama

Son aşamada uzun vadeli stres görülmektedir. Stres yoğunluğu çok yüksektir. Adaptasyon kapasitesinin üstünde fazlaca maruz kalınan stres sonucunda kronik hastalık veya ölümle sonuçlanmaktadır.

Yenilenme aşaması

Yenilenme aşaması, maruz kalınan stresin şiddeti çok büyük değilse stres durumu ortadan kalktığına gözlenmektedir. Bu şekilde strese karşı cevap oluşturulmaktadır.

2.1.7 Abiyotik stres olan kuraklığın bitkilerdeki etkisi, mekanizması ve yönetimi

Kuraklık, bitkilerde görülen en şiddetli abiyotik streslerden birisidir. Kuraklık, bitkinin biyokimyasal, fizyolojik ve morfolojik özelliklerini etkilemektedir ve değiştirmektedir (Okorie vd. 2019). Farooq vd. (2009)'nin yaptığı çalışmada çeşitli bitkilerin kuraklık stresinde ekonomik verimlilik oranlarının ve yapısında bulundurduğu aminoasit ve minerallerin değiştiği açıklanmaktadır.

Ayrıca daha önceki yapılan çalışmalarda kuraklık stresine karşı bitkiler kimyasal (ABA gibi hormonlar) ve fizyolojik sinyaller (bitki dokular arasındaki iletim) göndererek tepkiler ve mekanizmalar oluşturduğu tespit edilmiştir (Tardieu vd. 1992). Kuraklık stresi etkisiyle bitkide meydana gelen değişiklikler sonucunda bitkide farklı reaksiyonlar, dokuların hasarı ve deformasyonu görülmektedir (Qin ve Davies 2011).

2.1.8 Kuraklığın olumsuz etkileri

Çeşitli bitkilerde kuraklık stresıyla ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Kuraklık stresine maruz bırakılan pirinçte ve buğdayda büyüme ve gelişmede gerilemeler görülmüştür. Kuraklık stresi, buğdayda büyüme sürecinin tüm aşamalarında olumsuz etkilere neden olurken pirinçte sadece üreme aşamasında çok fazla olumsuz etkiye neden olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca buğdayın vejetatif fazda kuraklık stresine karşı daha duyarlı olduğu ve bu yüzden bitkinin kök uzamasında, yaprakların büyüme ve

gelişmesinde etkisi olduğu görülmüştür (Zhang vd. 2018). *Medicago sativa* L. (yonca)'da yapılan çalışmada PEG 4000 kullanılarak oluşturulan kuraklık stresi altında yonca bitkisinin kök uzunluğunun arttığı ve stresin, çimlenme yüzdesini ve büyüme oranlarını düşürdüğü görülmüştür. Bitkilerde su eksikliğinin görülmesi sonucunda büyüme süreci baskılanarak sadece köklerde uygulanan bir baskı sonucu bitkinin su alma kapasitesine bağlı olarak su iletimi (turgor basıncı) değişmektedir (Nonami 1998, Zeid vd. 2006). Su kıtlığının bitkinin verimini ve vejetatif fazdaki gelişimini olumsuz etkilediği bilinmektedir (Dietz vd. 2021). Ayrıca kuraklık stresi altında bitkilerde sıvı kaybının görülmesi ile su kullanım etkinliği azalarak bitkide ozmotik ve iyon dengesinde değişiklikler gözlenmektedir (Egilla vd. 2005, Kumar vd. 2013). Büyüme ve gelişmenin etkilenmesinin yanı sıra bitkinin yaşadığı su kıtlığı fotosentez düzeninin bozulması, stomaların kapanmasına ve ABA hormonunun sentezlenmesine yol açmaktadır (Singh vd. 2015, Etesami vd. 2018, Xia vd. 2020, Dietz vd. 2021).

Abiyotik stres altında bitkilerde ozmoprotektan adı verilen çözünebilen maddeler sentezlenmektedir (Serraj vd 2002). Ayrıca su miktarındaki değişiklikler sebebiyle proteinlerin ve şekerlerin faaliyetleri azalırken, proteazın arttığı görülmüştür (Zeid vd. 2006). Nohutta yapılan çalışmada arjinin, prolin, izolösin, histidin, triptofan, allantoin miktarlarında yükselme görülürken gama-aminobütirik asit, alanin, tirozin, aspartik asit, serinalanin, glukozamin ve guaninin miktarında bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Triptofan ve prolinin bitkide kuraklık stresine cevap olarak yaprakta biriktiği anlaşılmıştır (Khan vd. 2019). *Glycine max* türünde kuraklık ve ısı stresi altında yapılan analizler sonucunda bitkideki aminoasitlerin birikiminde ciddi değişimler olduğu tespit edilmiştir (Das vd. 2017). Bitkide kuraklık stresi altında ozmolit adı verilen bazı şekerler (sakaroz, trehaloz, sorbitol, mannitol) sentezlenmektedir (Bartels ve Sunkar 2005). Kuraklık stresıyla birlikte bitkide şeker miktarları artmakta ve bu ozmolitler strese karşı bitkiyi savunmada rol oynamaktadır (Kasuga vd. 1999, Pilon-Smits vd. 1999, Gupta vd. 2005). Stresin yarattığı olumsuz duruma karşı bitkide savunma amacıyla reaktif oksijen (ROS) enzimleri de üretilmektedir. Stres altında bitkideki dokularda oksidatif yaralanmalar oluşmaktadır (Kosová vd. 2013). Yapılan bazı çalışmalarda ise biyotik strese maruz kalan bitkilerde ROS enzimlerinin artışı nedeniyle fotosentezin bozulduğu anlaşılmaktadır (Allahverdiev vd. 2008, Carvalho 2008).

Fotosentez sırasında, Mehler reaksiyonu ile O₂'ye daha fazla elektron sızıntısı oluşur. Kuraklık altında, kloroplasta yönelik gerçek tehditlerden biri, fenton reaksiyonu yoluyla tilakoidlerde hidroksil radikalının üretilmesidir. Hidroksil radikali, en kısa yarı ömre (~1 ms) sahip olan ancak aynı zamanda her biyolojik molekülle reaksiyona giren son derece güçlü oksitleyici potansiyele sahip olan bir ROS'tur (Kaur ve Asthir 2017). Hidroksi radikal gruplarını kaldıran enzimatik reaksiyon bulunmamaktadır ve hidroksi radikal, singlet oksijen, hidrojen peroksit, süper oksit anyon radikali birikmesi bitkinin işlevlerinin bozulmasına ve dokularına zarar vermesine yol açmaktadır (Kaur ve Asthir 2017, Ullah vd. 2018). Ayrıca normal şartlar altında bitkilerde ROS üretimi sorun oluşturmazken kuraklık, tuz ve sıcaklık gibi abiyotik stresler sonucunda bitkide ROS üretiminin kontrolü bozulmaktadır (İlyas vd. 2021).

2.1.9 Prolin sentezi

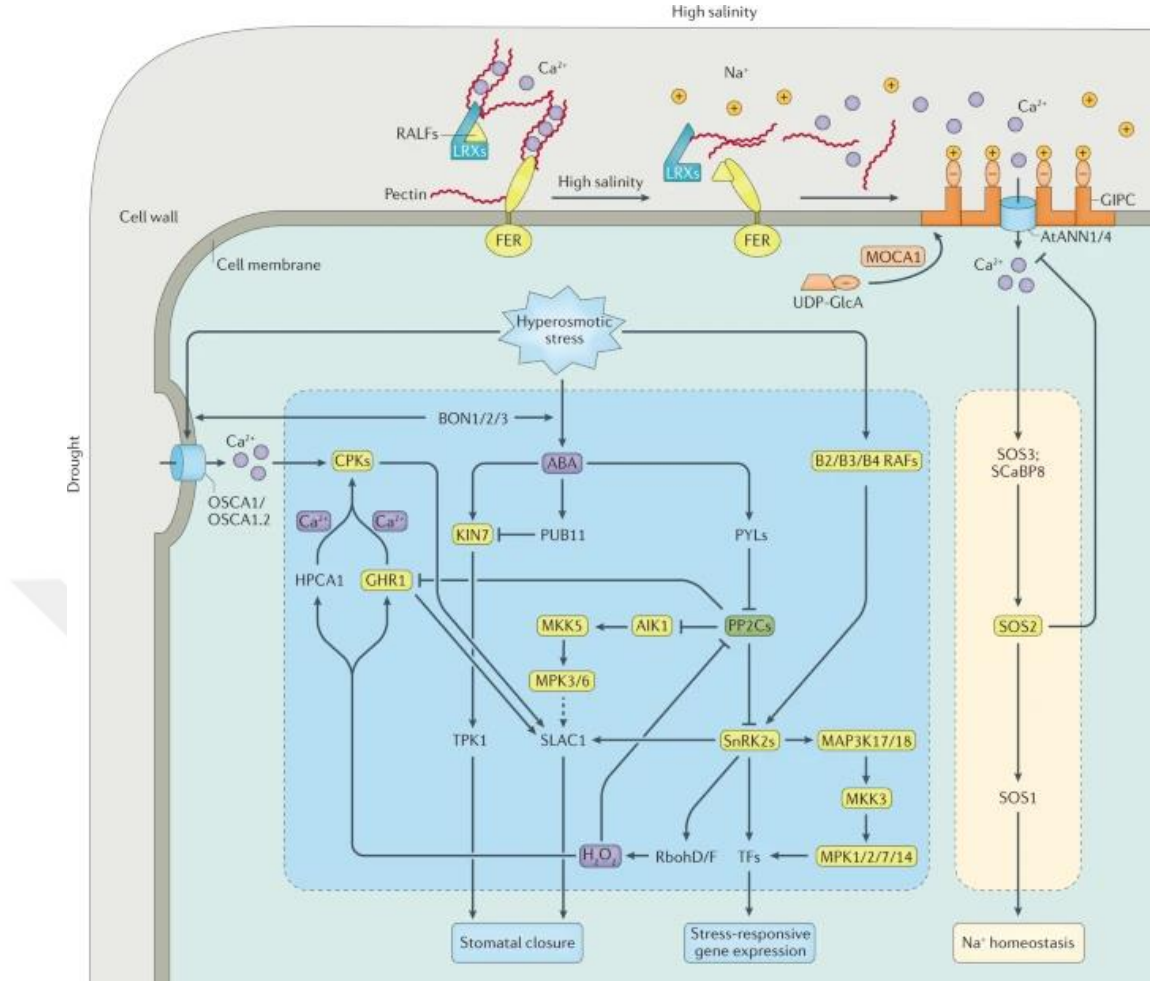
Prolin, olağanüstü bir konformasyonel sertliğe sahip proteinojenik bir amino asittir ve birincil metabolizma için gereklidir (Szabados ve Saviouré 2010). Gelişmiş bitkilerde ozmotik stresin artması ve kuraklık gibi abiyotik streslere maruz kalındığında prolin sentezinin arttığı görülmektedir (Nanjo vd. 1999). Ayrıca prolinin, katalaz (CAT), polifenol oksidaz (PPO), peroksidaz (POD) enzimlerini çalıştırıp aktivitesini korumada rol oynadığı tespit edilmiştir (Öztürk vd. 2002). CAT, PPO ve POD gibi antioksidan enzimler bitkinin savunmasında önemli rol oynamaktadır (Shahana vd. 2015). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda çeşitli abiyotik stresler (kuraklık, tuz, ağır metal, oksidatif stres, yüksek ışık) altında bitkilerde sentezlenen prolin miktarının arttığı görülmüştür (Saradhi vd. 1995, Yoshida vd. 1995, Schat vd. 1997, Fabro vd. 2004, Choudhary vd. 2005, Haudecoeur vd. 2009, Yang vd. 2009, Szabados ve Saviouré 2010). Ayrıca her abiyotik stres uygulanan bitkide prolin seviyesinin bir uyum içinde olmadığı söylenmektedir ve buna örnek olarak arpada tuz stresi altında prolin seviyesindeki düşüş gösterilmektedir (Chen vd. 2007, Patterson vd. 2009, Szabados ve Saviouré 2010).

2.1.10 Kuraklık stresinin mekanizması ve yönetimi

Abiyotik strese maruz kalan bitkiler, bu duruma adaptasyon sağlayacak mekanizmalar geliştirmiştir. Bu durum bitkinin fizyolojisini etkileyerek farklı reaksiyonların oluşmasına neden olmaktadır. Daha önce strese karşı verilen tepkinin anlaşılmasına yönelik çalışmalar bitkilerde stres cevabının düzenlenmesinde birçok faktörün rol oynadığını göstermiştir. Stres cevabı bitkinin birçok farklı bölgesinde meydana gelebilmektedir. Kuraklık stresi sonucunda bitkide aşırı birikmiş reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonu da oluşan tepkilerden birisidir (Zhang vd. 2022).

Bitkilerde biyokimyasal ve fiziksel değişiklere neden olan abiyotik stres bitki tarafından doğrudan algılanmamaktadır. Stresin algılanması dolaylı yollardan gerçekleşmektedir. Ca^{+2} iyonlarının hücre içi yoğunluğunun değişmesi dolaylı işaretlerden birisidir. Serbest Ca^{+2} iyonu stres uyarısına karşı spesifik özellik göstermektedir. Bu durum hangi stresin sürece dahil olduğunun anlaşılmasında yardımcı olmaktadır (Zhang vd. 2022).

Kuraklık, bitkilerde hiperozmotik stresi meydana getirmektedir. OSCA1 (hyperosmolality-gated calcium-permeable channel), hiperozmolarite -kalsiyum kanalında hiperozmotik sensör olarak görev almaktadır. OSCA1 hücre membranında bulunarak hiperozmotik stres sırasında Ca^{+2} iletiminin azalmasına, işlev bozukluğuna neden olmakta ve kök büyümesine olumsuz etki göstermektedir (Jojoa-Cruz vd. 2018, Liu vd. 2018, Maity vd. 2019, Zhang vd. 2022). Ayrıca ikincil haberci olan ROS sinyalizasyonu da oldukça önemlidir ve uzun süreli sinyal iletiminde görev almaktadır. Oluşan hiperozmotik stres sonucunda ABA (absisik asit) bağımlı ve ABA bağımsız iki tür sinyalleşme gerçekleşmektedir. ABA'nın hücredeki yoğunluğunun artması ve Ca^{+2} sinyalinin gerçekleşmesiyle BON1, BON2 VE BON3 (Calcium-dependent phospholipid-binding) gibi immün (bağışıklık) baskılayıcı proteinlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca kuraklık stresinin cevap mekanizmasında sinyalleşmede Ca^{+2} , ROS ve protein fosforilasyonu büyük önem taşımaktadır (Zhang vd. 2022).



Şekil 2.4 Bitkideki kuraklık stres mekanizması (Zhang vd. 2022)

Kuraklık ve diğer abiyotik stres çeşitlerine olan yanıtta protein kinaz (SnRK2) ve protein fosfat (PP2C) sinyal yolları da önemli rol oynamaktadır. Transkripsiyon faktörlerinin de görev aldığı bu mekanizmada SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1) proteini stoma açıklığını düzenlemektedir ve plazma membranında yerleşik olan RbohD/F (respiratory burst oxidase homologues) ise H_2O_2 (Hidrojen peroksit) düzenlenmesinde görev almaktadır.

ABA hormonu reseptör protein olan PYLs (PYRABACTIN RESISTANCE1)'e bağlanır ve iletilen reseptörün daha sonra PP2Cs (Tip 2 C Protein fosfat) ile etkileşime girmesini sağlamaktadır. Bu basamaktan sonra etkileşime giren ya da durdurulan reseptörler sonucunda SnRK2s'lerin tamamı ABA'ya bağımlı olmadığı için serbest bırakılmaktadır. SnRK2s'ler bu sayede stoma kapanması ve kuraklık stresine

karşı sinyal iletiminde rol almaktadır. ABA'dan bağımsız yolda ise SnRK2s'ler MAP3K (Map kinaz kinaz kinaz) ile etkileşime girerek stres sinyal iletimini gerçekleştirmektedir. Dahası MAP3K17/18, MKK3 ve MPK1/2/7/14'ün aşağıya doğru iletim gerçekleştirirken Ca ile bir bağlantısı bulunmamaktadır ve ABA hormonuna cevap olarak oluşmaktadır. ABA hormonu ile KIN7 (DNA/RNA-bağlayıcı protein) ve PUB11 E3 (PLANT U-BOX PROTEIN 11 E3 ubiquitin ligase) proteini ile etkileşimi sonucunda aşağı regüle edilerek strese verilen cevabın azalmasına neden olmaktadır (Zhang vd. 2022).

2.1.11 Kuraklık stres toleransını arttıran çalışmalar

Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda abiyotik strese maruz kalan bitkilerin toleransını arttırmak amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları;

1. Eksojen maddelerin bitkiye uygulanması stres altında miktarı artış gösteren ROS'ların üretiminin düzenlenmesini ve ozmotik dengenin ayarlanmasını sağlamaktadır (Banu vd. 2010).
2. Nitrik oksit adı verilen gaz molekülü bitkinin stres koşullarına karşı toleranslı hale getirilmesine yardımcı olmaktadır (Siddiqui vd. 2011, Planchet vd. 2014).
3. 24-epibrassinoid (EBL) adı verilen ürün eksojen olarak uygulandığında bitki büyümesini olumlu yönde etkilemekte ve bitkinin verimini arttırmaktadır (Talaat vd. 2015, Shahzad vd. 2018).
4. Glisin Betain bazı gıdaların bileşenidir ve bitkide su dengesini ayarlayarak strese karşı savunmada rol oynamaktadır (Oukarroum vd. 2012, Ross vd. 2014).
5. Metabolizmada önemli bir rol oynayan prolin aminoasiti ise eksojen olarak bitkiye uygulandığında kuraklık stresinde savunmada rol oynayan genleri düzenlemektedir (Moustakas vd. 2011).
6. Bitkinin büyümesine ve kuraklık stresi gibi olumsuz koşullarda bitkiye yardımcı olan PGP rizobakterileri ve mantarlar bulunmaktadır (Vacheron vd. 2013, Simard vd. 2015, Poupin vd. 2016).

7. Genetik mühendisliğinden yararlanılarak CRISPR/ Cas9 mutant ve transgenik bitkiler oluşturularak bitkinin olumsuz koşullara karşı toleranslı olması sağlanmaktadır (Martignago vd. 2020, Ilyas vd. 2021).

2.1.12 Transkripsiyon faktörleri

Transkripsiyon faktörleri, genlerin ifadesini düzenleyerek organizmanın işlevini gerçekleştirmesini ve gelişmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda transkripsiyon faktörlerinin cis- elementleriyle ilişkili olduğu ve düzenlendiği bilinmektedir (Hsia ve McGinnis 2003). En çok çalışılan protein sınıfı olan transkripsiyon faktörlerinin diğer proteinlerden farklı yetenekleri ve özellikleri bulunmaktadır. Dolaylı ya da doğrudan DNA' ya bağlanma özelliği göstermektedirler (Yusuf vd. 2012).

Transkripsiyon faktörlerinin (1) Spesifik DNA parçasına bağlanması (Bağlanacağı bölgeyi TF'ler tanımaktadır.) ve (2) RNA polimeraz, kromatin düzenleyici proteinler ile bağlanarak transkripsiyonel düzenlemede rol alması olmak üzere 2 önemli biyokimyasal rolü bulunmaktadır. TF'lerin DNA'ya bağlanabilmesi için spesifik bölgeleri bulunmaktadır. DNA'da bulunan bölgelere bağlandıklarında transkripsiyon faktörleri aktive edilmektedir ve bu nedenle bu bölgeye aktivasyon bölgesi adı verilmektedir (Mitchell ve Tjian 1989).

TF bileşenleri, aktivasyon alanlarıyla doğrudan ya da dolaylı olarak etkileşime girmektedir. Etkileşime girilmesinden sonra aktivasyon seviyesinin artması sağlanmaktadır. TF'lerinin bloke edici faktörlerle birleşimi sonucunda genin transkripsiyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (Latchman 1997). Ayrıca transkripsiyon faktörlerinin tamamı olmasa da çoğu DNA'ya dimer olarak bağlanmaktadır (Strader vd. 2022). Signh vd. (2002) yılında yaptığı çalışmada transkripsiyon faktörlerinin bitkilerde abiyotik stresle ilişki genlerin düzenlenmesinde görev aldığı bildirilmiştir.

2.1.13 TF'lerin çeşitleri ve sınıflandırılması

Transkripsiyon faktörlerini sınıflandırmanın zorluğuna rağmen bilim insanları kategorize etmek suretiyle sınıflandırma gerçekleştirmiştir. Transkripsiyon faktörleri 50-60 civarında ailede toplanmaktadır ve aşağıdaki kategorilere göre değerlendirilmektedirler (Gray vd. 2009, Jan vd. 2019).

a. Transkripsiyon faktörlerinin işlevi ve görevine göre sınıflandırılması

Gen ekspresyonu ve sinyal aldıktan sonra genomda değişiklik yapmasını baz almaktadır. Bu bağlamda TF'ler 2 gruba ayırmaktadır;

- 1.Housekeeping genler
- 2.Koşullu aktif olabilen TF'ler (Örn; Stres altında) (Jan vd. 2019).

b. Transkripsiyon faktörlerinin bitki türleri bakımından sınıflandırılması

Birçok bitki türünde transkripsiyon faktörleri tanımlanmıştır. Tanımlanan ve tespit edilen bu transkripsiyon faktörlerini bulmak için Plant Transcription Factor Database (PlantTFDB) veri tabanı kullanılmaktadır. Bu veri tabanında TF'ler ile birlikte transkripsiyon faktörleri düzenleyicilerine de ulaşılabilir. PlantTFDB sayesinde transkripsiyon faktörlerinin özelliklerine ve daha ayrıntılı bilgiye ulaşılabilir (Jan vd. 2019).

c. Transkripsiyon faktörlerinin yapılarına göre sınıflandırılması

Tüm nükleotit modellerinin detaylı bilgileri Gizli Markov (Hidden Markov) adı verilen yöntem ile ortaya çıkarılmıştır. Transkripsiyon faktörleri yapılarına göre 4'e ayrılmaktadır;

- Ana domain; 6 sınıf ve 21 aile içermektedir.
- Çinko koordinasyon DNA bağlanma alanları; 5 sınıf ve 13 aileden oluşmaktadır.
- Helix-turn-helix (HTH); 6 sınıf 15 aile içerir.

- Beta-scaffold faktör; DNA'daki küçük oluklarla etkileşimde bulunmaktadır, 11 sınıf ve 19 aileden oluşmaktadır.

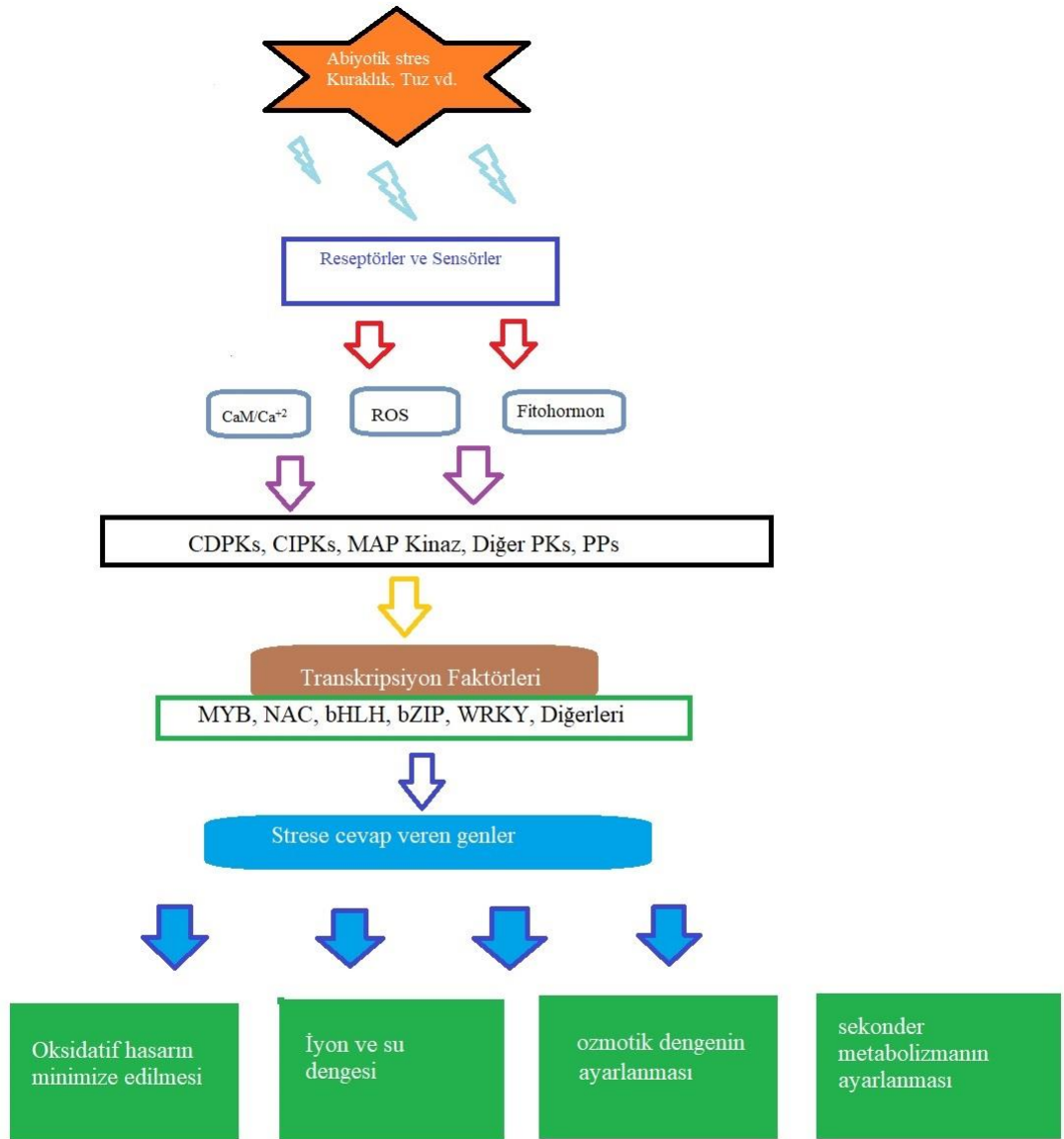
Diğer transkripsiyon faktörleri; sınıflandırılmadığı için tanımlanmamıştır (Jan vd. 2019).

d. Transkripsiyon faktörlerinin spesifik olması

Bazı bitki türlerine ait transkripsiyon faktörlerinin bulunabileceği spesifik veri tabanları bulunmaktadır. Ayrıca transkripsiyon faktörlerinin abiyotik ya da biyotik streslere cevap vermesi durumunda bitki genomunda değişiklikler yapması sebebiyle sınıflandırılma yapılmaktadır (Riaño-Pachón vd. 2007, Jan vd. 2019).

2.1.14 Abiyotik strese transkripsiyon faktörlerinin rolü

Bitkide çeşitli abiyotik stresler sonucunda (kuraklık, sıcaklık, soğuk, tuz vb.) meydana gelen stres hücre zarında bulunan sinyal reseptörleri ve sensörler tarafından algılanmaktadır. Bu zarlarda bulunan sensörler arasında MSL'ler (MscS benzeri proteinler), CNGC'ler (siklik nükleotid kapılı kanallar), GLR (glutamat reseptörü benzeri) kanallar, COLD1 (CHILLING-TOLERANCE DIVERGENCE 1), histidin kinazları, kalsiyum kanalları (Ca akılarından sorumlu), GPCR'ler (G-proteini ile eşleşmiş reseptörler) ve OSCA1 (azalmış hiperozmolaliteye bağlı kalsiyum artışı) bulunmaktadır.



Şekil 2.5 Bitkilerde abiyotik stres altında transkripsiyon faktörleri aracılı sinyal iletimi (Khan vd. 2018)

Sensörler aracılığıyla algılanan abiyotik stres sonucunda sinyal hücredeki ikincil habercilere (Ca^{+2} , Fitohormonlar ve ROS) iletilmektedir. Daha sonra CDPK'lar (kalsiyuma bağımlı protein kinazlar), MAPK (mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz), CIPK (CBL ile etkileşime giren protein kinaz), CBL'ler (kalsinörin-B benzeri proteinler) ve PP2C'ler (protein fosfataz 2C'ler) ile ROS etkili ya da Ca^{+2} etkili protein fosfatazların (PP'ler) ve protein kinazların (PK'ler) aktivasyonu gerçekleşmektedir. Protein kinazlar ve protein fosfatazlar aldıkları sinyali transkripsiyon faktörlerine

iletmektedir. Transkripsiyon faktörleri bu sayede fosforilasyona ya da defosforilasyona uğramaktadır. Böylece transkripsiyon faktörleri aktive edilmekte ve sonuç olarak abiyotik strese karşı cevapta rol oynayan genlerin düzenlenmesinde görev almaktadır (Khan vd. 2018).

2.1.15 Homeobox genleri nedir?

Homeodomain (HD) olarak bilinen Homeobox genleri, erken embriyonik gelişim sırasında birçok yapının oluşumunu yönlendiren önemli transkripsiyon faktörlerindendir (Duboule 1994) ve bu genler nematodlar, mantarlar, bitkiler ve insan gibi çeşitli organizmalarda tanımlanmıştır (Gehring vd.1994, Nam ve Nei 2005). Homeobox genleri, 60 amino asit (aa) uzunluğunda korunmuş bir DNA bağlanma alanını kodlayan genlerdir. Hayvan ve bitki genomlarında homeobox genleri, geniş bir gen ailesi ile temsil edilmektedir (Desplan vd. 1988, Mukherjee vd. 2009, Bürglin ve Affolter 2016).

HD'nin korunmuş amino asit dizisine ve diğer karakteristik motiflerin mevcudiyetine dayalı olarak "atipik" HD ile karakterize edilen ve "tipik" HD olmak üzere 2 ana grubu bulunmaktadır (Bürglin 1994). Homeobox domain dizilimlerine göre günümüze dek toplam 14 homeobox gen ailesi (Zinc finger-HD (PLINC), PINTOX, PHD, BLH, NDX (Nodulin homeobox genleri), KNOX (KNOTTED1-like homeobox), SAWADEE, HD-leucine zipper (HD-ZIP) I ile IV, DDT, WUSCHEL-like homeobox (WOX) ve Luminidependens (LD)) tanımlanmıştır (Que vd. 2022).

2.1.16 TALE gen ailesi

TALE genleri bir "atipik" HD'dir (Bürglin 1997, Chen vd. 2003). Diğer homeobox genlerinden farklı olarak *TALE* genlerinin 1. sarmalı ile 2. sarmalı arasında 3. ekstra amino asidi olduğu keşfedilmiştir (Duboule 1994, Bürglin 1995). 63 amino asit kalıntısı içeren ve ilk kez mısırdaki keşfedilen *TALE* genlerinin tüm ökaryotik soylardaki gelişimi kontrol ettiği, bitkilerde ise özellikle kök oluşumundan sürgün apikal meristeminin oluşumuna ve korunmasına dek önemli biyolojik süreçlerde roller oynadığı bilinmektedir (Vollbrecht vd. 1991, Lucas vd. 1995, Bürglin 1997, Lee vd. 2008).

Protein dizisine ve evrimine bağılı olarak *TALE* genlerinin yapısal ve işlevsel anlamda heterodimerler olarak işlev gören KNOTTED- like homeodomain (*KNOX*) ve BEL1-like homeodomain (*BLH/BELL*) proteinlerini içerdii bilinmektedir. *KNOX* ve *BELL* aileleri yeşil alglerde tek kopya halinde bulunurken kara bitkilerinde çeşitlenmiştir (Lee vd. 2008).

KNOX ailesi, sekans benzerliğı ve gen ekspresyon modeline göre üç sınıfa ayrılmaktadır; Sınıf I, STM, BP / *KNAT1*, *KNAT2* ve *KNAT6*'yı içerir; Sınıf II, *KNAT3*, 4, 5 ve 7'yi içerir. Sınıf III ise faaliyetlerini modüle etmek için diğeri *TALE* üyeleriyle etkileşime girebilen *KNATM* içerir (Kimura vd. 2008). *KNOX* genlerinin, anjiyospermilerin köklerinde, gövdelerinde, yapraklarında ve çiçeklerinde ifade edildiğı bilinmektedir (Furumizu vd. 2015, Guo vd. 2022). Yapılan çalışmalarda tütün ve pirinç için, *KNOX* genlerini aşırı ifade eden transgenik bitkilerin anormal yaprak morfolojileri sergilediğı gösterilmiştir (Tamaoki vd. 1997, Nagasaki vd. 2001). Ayrıca *KNOX* genlerinin, sitokinin, gibberellin, oksin, brassinosteroid ve absisik asit dahil olmak üzere çeşitli fitohormonlarla ilişkili metabolik aktiviteleri ve sinyal yollarını düzenlediğı de bilinmektedir (Becker vd. 2002, Hay ve Tsiantis 2010).

BELL ailesi, işlevleri karakterize edilen RPL / *BLH9*, PNF / *BLH8*, *ATH1*, *SAW1* / *BLH2*, *SAW2* / *BLH8*, *BEL1* ve işlevleri henüz anlaşılmamış *BLH1*, *BLH3*, *BLH5*, *BLH6*, *BLH7*, *BLH10* ve *BLH11*'den oluşmaktadır (Hamant ve Pautot 2010). *BELL* ailesi üyelerinin de çiçeklerin gelişimi ve düzenlenmesinde önemli rollere sahip olduğu bilinmektedir. *KNOX* ve *BELL* genlerinin bitkilerde farklı proteinlerle etkileşime girdiğı ve bu kombinasyonların çeşitli işlevlerde görev aldığı da bilinmektedir (Smith ve Hake 2002). *Arabidopsis* üzerinde yapılan bir çalışmada bazı genlerin transkripsiyonunu etkinleştirmek için Shoot Meristemless (STM) ve *KNAT1* gibi *KNOX* proteinlerinden bazıları ile *BELL1* proteinlerinin etkileşime girdiğı anlaşılmıştır (Bellaoui vd. 2001). *TALE*'ler yalnızca kendileriyle değil yumurta gelişimini kontrol etmek için MADS-Box ailesi üyeleri gibi diğeri TF'lerle ve *KNOX* *BELL* heterodimerlerini çekirdekten sitoplazmaya yeniden konumlandırarak negatif olarak düzenleyen Ovate proteinleri ile kompleksler oluşturabilmektedir (Hackbusch vd. 2005). Sonuç olarak bir bitkinin yaşam

döngüsü boyunca *TALE* genleri bir ya da birden fazla heterodimer kombinasyonlar oluşturarak çeşitli gelişim süreçlerini kontrol etmektedir (Arnaud ve Pautot 2014).

2.2 *TALE* Gen Ailesi Üzerine Yürütülen Çalışmaların Kaynak Özetleri

Aşağıda bazı bitkilerde belirlenen *TALE* gen ailesi için günümüze dek yapılmış çalışmalar özetlenmiştir;

Vandenboschia speciosa üzerinde yapılan bir çalışmada, 22 *TALE* geni tanımlanarak yapısı, evrimi ve ifadesi hakkında yeni bilgiler ortaya çıkarılmıştır. *TALE* genlerinin, türün hem sporofit hem de gametofit fazlarında ifade edildiği anlaşılmıştır (Ruiz-Estévez vd. 2017).

Pamukta 94 adet *TALE* geni tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda bazı *GhTALE* genlerinin pamuk büyümesi ve gelişimini düzenlemedeki işlevleri araştırılarak pamuk elyaf kalitesinin iyileştirilmesine katkı sağladığı anlaşılmıştır (Ma vd. 2019).

Armut bitkisi üzerinde yapılan çalışmada 18 *PbKNOX* geni tanımlanmıştır ve tanımlanan aile üyelerinin tümünün KNOX I ve / veya KNOX II alanlarını içerdiği tespit edilmiştir. Çalışmada *PbKNOX* genlerinin hücre duvarı kalınlaşması ve lignin biyosentezinde görev aldığı belirlenmiştir (Cheng vd. 2019).

Ekonomik açıdan önemli bir bitki olan ananasta *TALE* genleri detaylı olarak incelenmiştir ve bu genlerin çeşitli abiyotik streslerle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Ali vd. 2019).

Medicago truncatula ve *Pisum sativum*'daki *TALE* proteinleri incelenerek fitohormonal ilişkiler ve bu hormonların etkileri yoluyla farklı gelişimsel süreçleri incelenmiştir. Nodül organogenezinde önemli bir rol oynayarak nodül primordium/meristeminde eksprese edildiği anlaşılmıştır (Dolgikh vd. 2020).

Elma genomunda 22 adet *KNOX* geni tanımlanmıştır. *MdKNOX* genlerinin çoğunun tomurcuklarda yüksek ekspresyon sergilediği ve çiçek indüksiyon periyodu sırasında önemli ölçüde yukarı regüle edildiği ortaya çıkarılmıştır. *MdKNOX* genlerinin çiçeklenme ile ilişkili olduğu ve hormonlar aracılığıyla yanıt verdiği anlaşılmıştır (Jia vd. 2020).

Punica granatum L. bitkisinde *TALE* ailesine ait toplam 17 *TALE* geni tanımlanarak biyoinformatik yöntemlerle analiz edilmiştir. Sonuç olarak, *PgTALE*'nin genlerinin çoğunun, bitki üzerinde büyüme ve gelişmede rol oynadığı ayrıca stresle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Wang vd. 2020).

Glycine max'de yapılan bir çalışmada 68 adet *TALE* geni belirlenmiştir. *GmTALE* genlerinin genom çapında karakterizasyonu, evrimi ve ekspresyon profil analizleri incelenmiş olup, tuz ve dehidrasyon stresleri sırasında *GmTALE* genlerinin farklı düzenleyici rolleri ortaya çıkarılmıştır (Wang vd. 2021).

Pirinçte yapılan bir çalışma ile *TALE* genlerinin hedef direnç veya duyarlılık genlerinin ekspresyonunu etkinleştirmek için pirinç transkripsiyon faktörü OsTFIIA γ 1 veya OsTFIIA γ 5 (Xa5) ile etkileşimi araştırılmıştır (Xu vd. 2021).

Patates ile yapılan bir diğer çalışmada patates genomunda 17 adet *KNOX* geni tespit edilmiştir. Gen yapısı, protein özellikleri, promotör analizi, sentetik bölgeler, gen duplikasyonu, gen ekspresyonu ve kromozomal lokasyonları araştırılmıştır. Sonuçlara göre *StKNOX* genlerinin doku ekspresyon paternlerinin benzer olduğu ancak gruplar arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Saidi ve Hajibarat 2021).

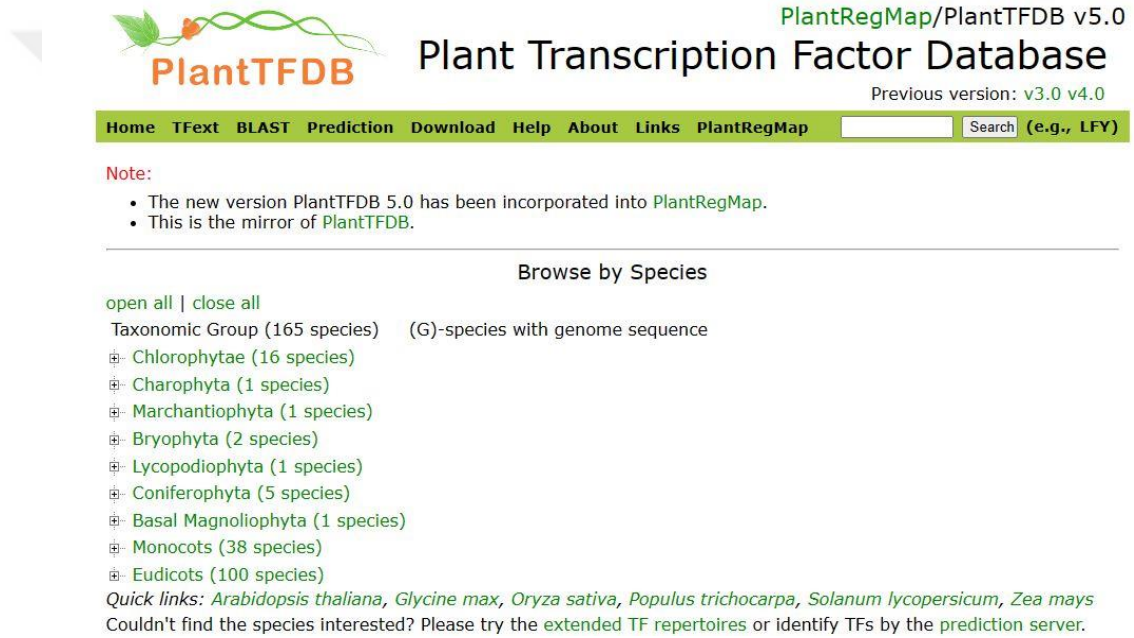
Juglans regia L. üzerinde yapılan bir çalışmada 69 adet *JrTALE* geni tanımlanmıştır. Birçok *JrTALE* geninin nispeten yüksek ekspresyona sahip olduğu anlaşılmıştır. *TALE* ailesinin gen işlevi hakkında değerli bilgiler sağlanmıştır (Guo vd. 2022).

Malus domestica üzerinde yapılan bir çalışma ile 19 *MdBLH* geni tanımlanarak, tuz ve mannitol stresi altında elma büyümesi ve gelişimi incelenmiştir (Li vd. 2022).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Fasulyede *TALE* Genlerinin Tanımlanması

TALE süper gen ailesi üyelerini tanımlamak ve belirlemek için ihtiyaç duyulan PF kodları (PF03789, PF03790, PF03791, PF05920, PF07526) PlantTFDB (<http://planttfdb.gao-lab.org/>) çevrimiçi aracından alınmıştır (Riaño-Pachón vd. 2007). Seçilen PF kodları *TALE* gen ailesini temsil ettiği için tercih edilmiştir (Finn vd. 2006).



Şekil 3.1 Bitki transkripsiyon faktörleri veri tabanının arayüzü

Ardından bu PF kodları kullanılarak fasulyedeki *TALE* genlerine ait dizi bilgileri (*Phaseolus vulgaris* v2.1 versiyonu) JGI Phytozome 13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) veri tabanından indirilmiştir (Goodstein vd. 2012).

Genome	Common name	Release Date
Diphysastrum complanatum v3.1		Sep 29, 2022
Amborella trichopoda var. SantaCruz_75 HAP1 v2.1		Sep 29, 2022
Amborella trichopoda var. SantaCruz_75 HAP2 v2.1		Sep 29, 2022
Liriodendron tulipifera YP108A v1.1	tuliptree	Sep 29, 2022
Liriodendron tulipifera YP108A alt v1.1	tuliptree	Sep 29, 2022
Thinopyrum intermedium v3.1	intermediate wheatsgrass	Sep 29, 2022

Phytozome, the Plant Comparative Genomics portal of the Department of Energy's Joint Genome Institute, provides JGI users and the broader plant science community a hub for accessing, visualizing and analyzing JGI-sequenced plant genomes, as well as selected genomes and datasets that have been sequenced elsewhere. By integrating this large collection of plant genomes into a single resource and performing comprehensive and uniform annotation and analyses, Phytozome facilitates accurate and insightful comparative genomics studies.

Şekil 3.2 Phytozome 13 veri tabanının arayüzü

PvTALE proteinlerinin moleküler ağırlığı (WM), protein uzunluğu (aa), izoelektrik noktası (pI) ExPASy ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) veri tabanı ile hesaplanmıştır.

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:

RESET Compute parameters

Şekil 3.3 ExPASy ProtParam çevrimiçi aracının arayüzü

Fasulyedeki TALE proteinlerinin hücre altı lokalizasyonlarının tespiti için Wolf PSORT (<https://www.genscript.com/wolf-psort.html?src=leftbar>) veri tabanından yararlanılmıştır (Xiong vd. 2016).

WoLF PSORT

Protein Subcellular Localization Prediction

[about WoLF PSORT](#) [WoLF PSORTについて](#) [links](#) [Example Output](#)

Please select an organism type:

- ☐ Animal
- ☐ Plant
- ☐ Fungi

Please select input method:

- ☒ From Text Area
- ☐ From File

Input Filename:

Seçilen dosya yok



Text Area: Enter multifasta format protein sequence(s) here.

Şekil 3.4 Wolf PSORT çevrimiçi aracının arayüzü

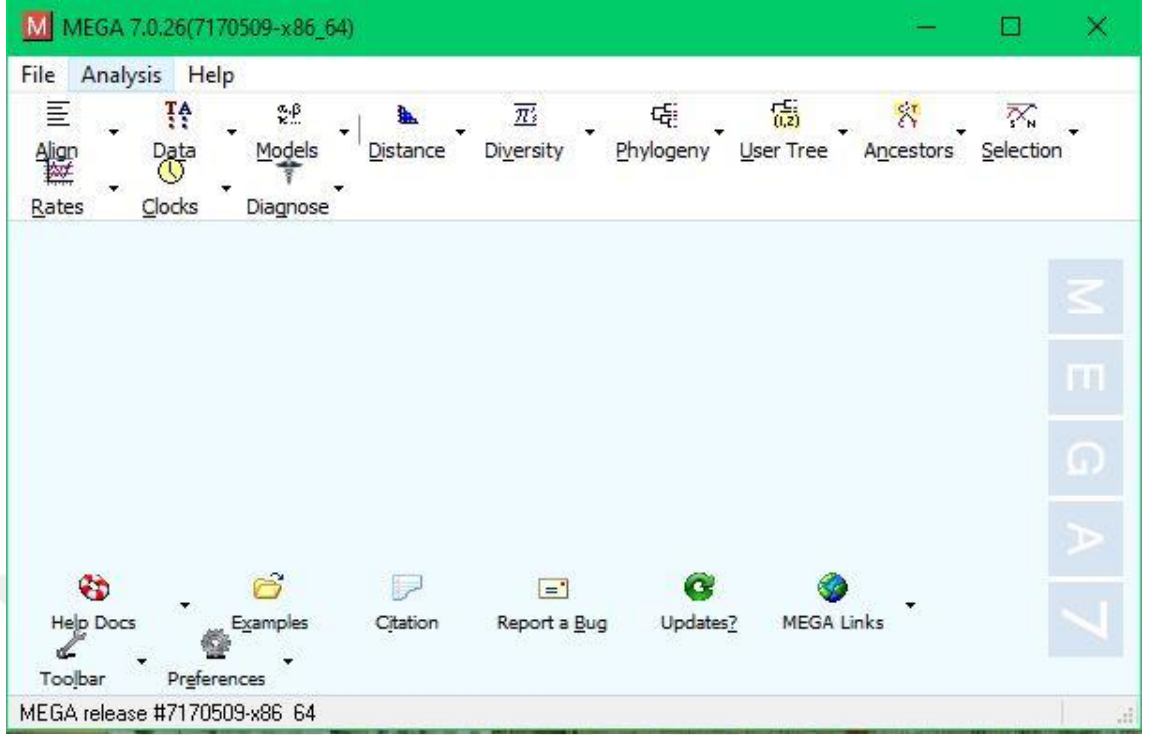
Hücre altı lokalizasyon analizi sonucunda elde edilen verilerden yararlanılarak NLSdb veri tabanı (<https://roslab.org/services/nlsdb/>) aracılığıyla nükleer lokalizasyonda bulunan genlerin sinyalleri (NES ya da NLS) belirlenmiştir (Bernhofer vd. 2018).



Şekil 3.5 NLSdb veri tabanının arayüzü

3.2 Fasulye ve *A. thaliana* TALE Üyelerinin Filogenetik Analizi ve Sınıflandırılması

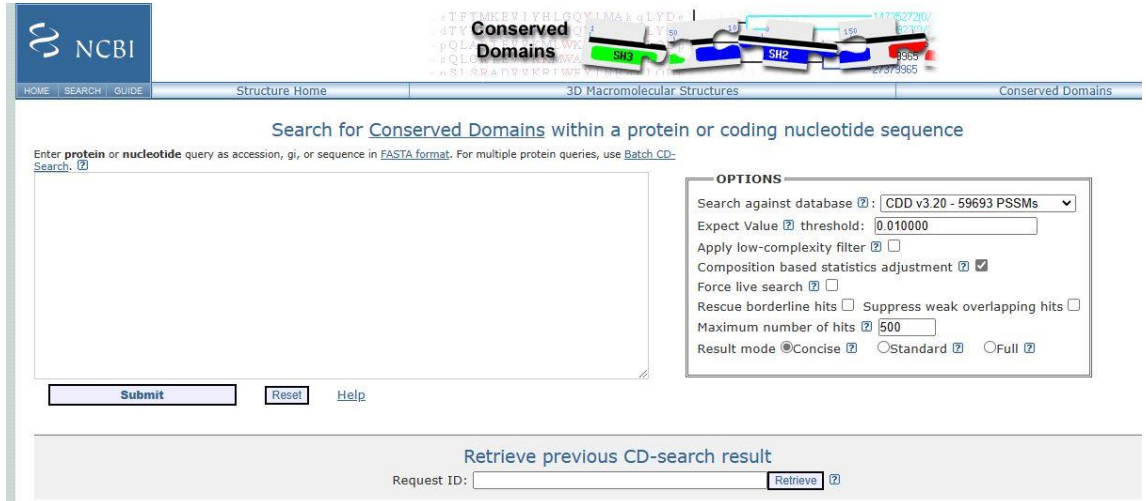
A. thaliana 'daki TALE üyeleri ve *P. vulgaris*'deki PvTALE üyelerinin peptit sekansları MEGA 7.0 (<https://megasoftware.net/>) yazılımı kullanılarak ClustalW parametresiyle hizalanmıştır (Tamura vd. 2011). Maksimum Likelihood (ML) yöntemi ile filogenetik ağaç çizilmiştir. Analiz için 'complete deletion' ve '1000 bootstrap' çoğaltması seçilmiştir. Gerçekleştirilen filogenetik analiz sonucunda genlerin ait olduğu domainlere bağlı olarak sınıflandırılması ve uygun şekilde renklendirilmesi yapılmıştır. *TALE* genleri KNOX domaini ve BEL1-like olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır.



Şekil 3.6 MEGA 7.0 yazılımı arayüzü

3.3 PvTALE Üyelerinin Domaini, Gen Yapısı ve Korunmuş Motif Analizleri

NCBI Conserved domain search (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>), JGI Phytozome 13 ve Motif finder (<https://www.genome.jp/tools/motif/>) kullanılarak PvTALE proteinlerindeki korunmuş domainler saptanmıştır (Marchler-Bauer vd. 2015).



NCBI

HOME SEARCH GUIDE Structure Home 3D Macromolecular Structures Conserved Domains

Search for **Conserved Domains** within a protein or coding nucleotide sequence

Enter **protein** or **nucleotide** query as accession, gi, or sequence in **FASTA format**. For multiple protein queries, use **Batch CD-Search**. [Search](#) ^(?)

Submit **Reset** [Help](#)

OPTIONS

Search against database ^(?): **CDD v3.20 - 59693 PSSMs**

Expect Value ^(?) threshold: **0.010000**

Apply low-complexity filter ^(?) ☐

Composition based statistics adjustment ^(?) ☒

Force live search ^(?) ☐

Rescue borderline hits ☐ Suppress weak overlapping hits ☐

Maximum number of hits ^(?) **500**

Result mode ☒ Concise ^(?) ☐ Standard ^(?) ☐ Full ^(?)

Retrieve previous CD-search result

Request ID: **Retrieve** ^(?)

Şekil 3.7 NCBI Korunmuş domain arama çevrimiçi aracının arayüzü



MOTIF Search

Search Motif Library Search Sequence Database Generate Profile KEGG2

[Help](#)

Compute **Clear**

Enter query sequence: (in one of the three forms)

Sequence ID (Example) mja:MJ_1041

Local file name **Dosya Seç** Seçilen dosya yok

Sequence data

Select motif libraries : ([Help](#))

Databases	Cut-off score (Click each database to get help for cut-off score)
☒ Pfam	1.0 * E-value
☐ NCBI-CDD	1.0 * E-value
☒ All ☐ COG	
☐ TIGRFAM ☐ SMART	
☐ PROSITE Pattern	☒ Skip entries with SKIP-FLAG
☐ PROSITE Profile	☒ Skip frequently matching (unspecific) profiles

Şekil 3.8 Motif finder çevrimiçi aracının arayüzü

Genlerin yapısı, konumu ve ekzon-intron analizleri için Gene Structure Display Server 2.0 (<http://gsds.gao-lab.org/>) veri tabanı kullanılmıştır (Guo vd. 2007).

GSDS_{2.0} Gene Structure Display Server

Home | Help | About | FAQ | Links: PlantRegMap

● Gene Features

Format: BED

Input features in BED format:

Input data:

or upload file: Seçilen dosya yok

Example

● Other Features to Display

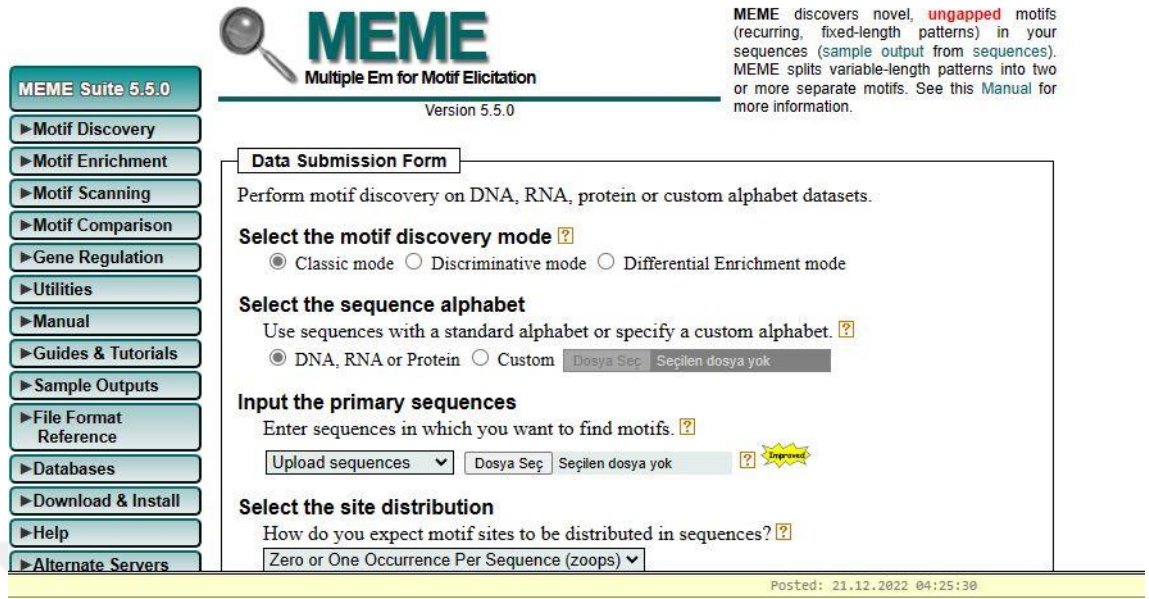
● Output (Phylogenetic Tree/Order)

● Image Format: SVG

How to Cite:
Bo Hu, Jinpu Jin, An-Yuan Guo, He Zhang, Jingchu Luo and Ge Gao. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8):1296-1297.

Şekil 3.9 Gene Structure Display Server 2.0 çevrimiçi aracının arayüzü

PvTALE proteinlerindeki korunmuş motifleri bulmak amacıyla MEME V5.4.1 çevrimiçi aracı (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) kullanılmıştır ve motif sayısı 10 olarak sınırlandırılmıştır (Bailey vd. 2006). Veriler TBtools aracılığıyla düzenlenmiş ve görselleştirilmiştir (Chen vd. 2018).



MEME Suite 5.5.0
Multiple Em for Motif Elicitation
Version 5.5.0

MEME discovers novel, **ungapped** motifs (recurring, fixed-length patterns) in your sequences (sample output from sequences). MEME splits variable-length patterns into two or more separate motifs. See this [Manual](#) for more information.

Data Submission Form

Perform motif discovery on DNA, RNA, protein or custom alphabet datasets.

Select the motif discovery mode ?

☒ Classic mode ☐ Discriminative mode ☐ Differential Enrichment mode

Select the sequence alphabet

Use sequences with a standard alphabet or specify a custom alphabet. ?

☒ DNA, RNA or Protein ☐ Custom

Input the primary sequences

Enter sequences in which you want to find motifs. ?

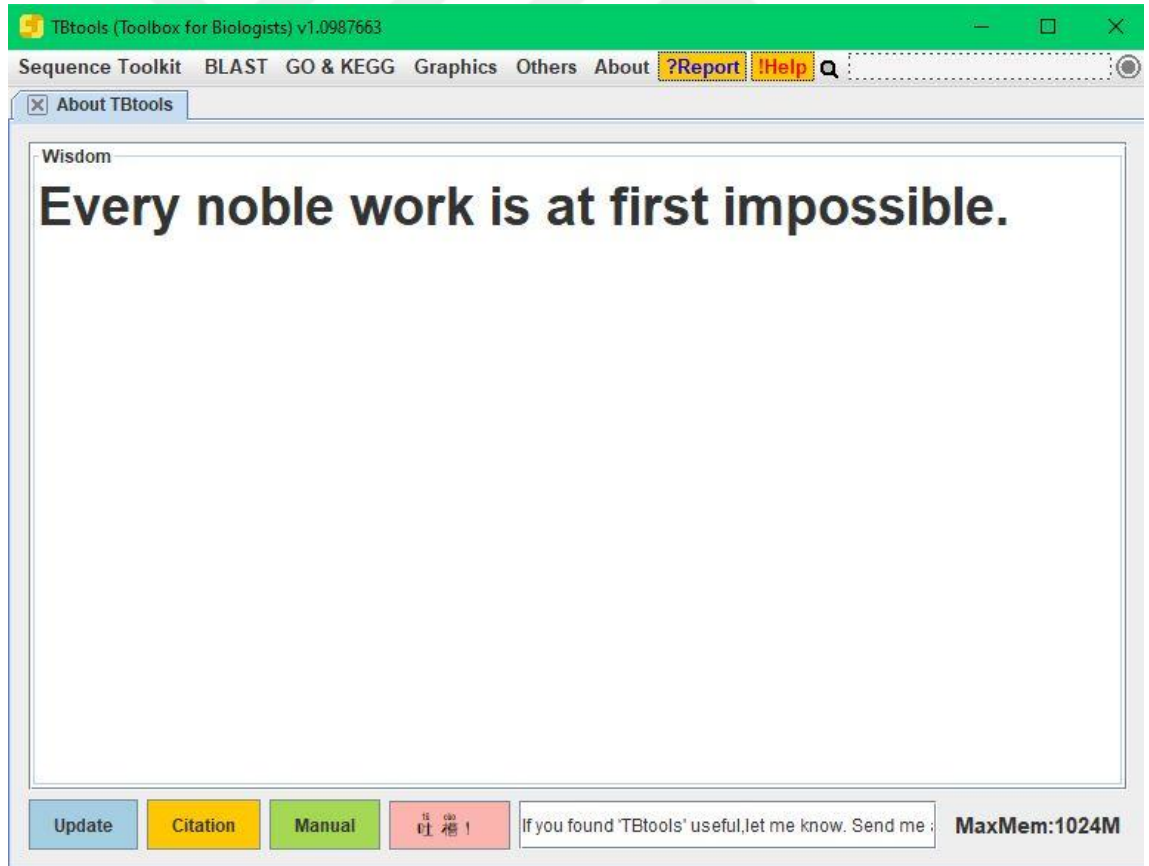
? 

Select the site distribution

How do you expect motif sites to be distributed in sequences? ?

Posted: 21.12.2022 04:25:30

Şekil 3.10 MEME V5.4.1 çevrimiçi aracının arayüzü



Sequence Toolkit BLAST GO & KEGG Graphics Others About ?Report !Help

About TBtools

Wisdom

Every noble work is at first impossible.

Update Citation Manual 吐糟!

If you found 'TBtools' useful, let me know. Send me : **MaxMem:1024M**

Şekil 3.11 TBtools yazılımının arayüzü

3.4 PvTALE Genlerinin Cis-Element Analizi

Phaseolus vulgaris L. türünde *TALE* gen ailesi üyelerinin her birinin 1500 bp upstream promotor sekansları Phytozome 13 veri tabanı kullanılarak indirilmiştir. *Arabidopsis thaliana* gibi ökaryotlarda promotör bölgesi 1500 upstream bölgesinde bulunmaktadır (Berendzen vd. 2015). Bu sekansların PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) aracılığıyla cis-element analizi yapılmıştır. Tespit edilen cis-elementlerin görselleştirilmesi TBtools kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Chen vd. 2018, Chen vd. 2020).

The image shows the PlantCARE web interface. On the left is a 'Menu' sidebar with options like 'Query CARE', 'Search for CARE', and 'Other Queries'. The main area is titled 'Search for CARE' and contains input fields for 'email address to send the results', 'reference name or ID for the sequence', and 'Sequence to submit'. There are also buttons for 'Search', 'Reset Form', and 'Demo'. Below the input fields, there are several warning messages in red text regarding browser compatibility, scheduling, and file size limits.

Şekil 3.12 PlantCARE çevrimiçi aracının arayüzü

3.5 PvTALE Üyelerinin Protein Yapılarının Analizi

Fasulyedeki *TALE* proteinlerinin peptit sekansları Phytozome 13 veri tabanından alınmıştır. Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>) çevrimiçi aracı kullanılarak proteinlerin 3 boyutlu modelleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda protein yapılarının güvenilirlik oranları elde edilmiştir (Kelley vd. 2015).

Please do not use "intensive mode" unless your search using "normal mode" indicates that a single model does *not* cover most of your sequence. ¹ 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 = 101% (expect slow processing) ²

E-mail Address	
Optional Job description	
Amino Acid Sequence ³	
Or try the sequence finder	
Modelling Mode ⁴	Normal ☒ Intensive ☐ Test ☐
Please tick as appropriate. ⁵	NOT for Profit ☐ FOR Profit (Commercial) ☐ Other ☒
Phyre Search Reset	

Şekil 3.13 Phyre2 çevrimiçi aracının arayüzü

3.6 PvTALE Genlerinin Duplikasyon ve Sinteni Analizi

P. vulgaris L. türündeki *TALE* gen ailesi üyeleri arasındaki tandem ve segmental duplikasyonlar TBtools aracılığıyla tespit edilmiştir. Duplikasyonlar Circos grafiğinde gösterilmiştir. Ayrıca fasulyedeki ve diğer türlerdeki *TALE* genlerinin ilişkisinin açıklanması için *Vigna unguiculata* (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Vunguiculata_v1_1), *Solanum lycopersicum* (ITAG3.2) (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Slycopersicum_ITAG3_2), *Oryza sativa* (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Osativa_v7_0), *Glycine Max* (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Gmax_Wm82_a2_v1), *Arabidopsis thaliana* TAIR10 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Athaliana_TAIR10) genomları ve diğer veriler JGI Phytozome 13 'den indirilmiştir (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>).

Çizelge 3.1 *Phaseolus vulgaris* ve *Arabidopsis thaliana* arasında saptanan duplikasyonlar

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	AtTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka\Ks
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	AT1G62990.1	0,102661018	NaN	NaN
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	AT1G23380.2	0,201003497	NaN	NaN
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	AT1G62360.1	0,455370205	NaN	NaN
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	AT1G70510.1	0,767573023	NaN	NaN
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	AT2G23760.1	0,298070949	NaN	NaN
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	AT4G36870.1	0,310943506	4,29494786431731	0,072397504
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	AT5G41410.1	0,379077182	2,81626543584072	0,134602789
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	AT5G41410.1	0,421594053	NaN	NaN
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	AT2G35940.1	0,299416964	4,02156400831134	0,074452865
PvTALE-04	Phvul.001G034200.1	AT4G32980.1	0,411302204	1,70859359656791	0,240725592
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	AT1G62990.1	0,149652879	NaN	NaN
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1	AT1G62360.1	0,230891219	2,50749427577259	0,092080457
PvTALE-20	Phvul.005G132700.1	AT2G27990.1	0,595211745	NaN	NaN
PvTALE-24	Phvul.008G114300.1	AT5G02030.1	0,351716296	3,95547047628264	0,088918954
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	AT2G35940.1	0,291119745	NaN	NaN
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	AT1G23380.2	0,350291937	1,88916877373378	0,185421198
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	AT1G70510.1	0,384762514	2,41711399421692	0,15918261
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	AT1G75410.1	0,358909987	2,92885024247058	0,122542963
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	AT2G16400.1	0,327615191	NaN	NaN
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	AT4G32040.1	0,226940379	NaN	NaN
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	AT4G34610.1	0,313866818	NaN	NaN
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	AT5G25220.1	0,121362972	5,77894685614624	0,02100088
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	AT5G11060.1	0,108355609	1,81671504444188	0,059643701
NaN=No Result					

Çizelge 3.2 *Phaseolus vulgaris* ve *Oryza sativa* arasında saptanan duplikasyonlar

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	OsTALE Gene ID	Ka	Ks	KaKs
PvTALE-33	Phvul,010G011900,1	LOC_Os01g62920,1	0,423272594	NaN	NaN
PvTALE-33	Phvul,010G011900,1	LOC_Os05g38120,1	0,479272538	NaN	NaN
PvTALE-06	Phvul,001G224900,1	LOC_Os01g19694,1	0,295878737	NaN	NaN
PvTALE-05	Phvul,001G195800,1	LOC_Os11g06020,1	0,440734576	NaN	NaN
PvTALE-03	Phvul,001G032200,1	LOC_Os03g51690,2	0,292580866	NaN	NaN
PvTALE-15	Phvul,003G174900,1	LOC_Os02g08544,1	0,259651356	3,54162645013789	0,073314157
PvTALE-15	Phvul,003G174900,1	LOC_Os06g43860,1	0,237184146	2,55823904102121	0,092713833
PvTALE-15	Phvul,003G174900,1	LOC_Os08g19650,1	0,143387314	3,53015119905106	0,040617896
PvTALE-24	Phvul,008G114300,1	LOC_Os01g62920,1	0,53332406	NaN	NaN
PvTALE-24	Phvul,008G114300,1	LOC_Os05g38120,1	0,48631332	NaN	NaN
PvTALE-22	Phvul,007G201400,1	LOC_Os01g19694,1	0,323705565	NaN	NaN
PvTALE-22	Phvul,007G201400,1	LOC_Os05g03884,1	0,345422023	NaN	NaN
PvTALE-30	Phvul,009G090500,3	LOC_Os02g08544,1	0,199698917	NaN	NaN
PvTALE-32	Phvul,009G209500,1	LOC_Os06g43860,1	0,264394693	2,87013713301765	0,092119185
NaN=No Result					

Çizelge 3.3 *Phaseolus vulgaris* ve *Glycine max* arasında saptanan duplikasyonlar

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	GmTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka_Ks
PvTALE-33	Phvul.010G011900.1	Glyma.01G104200.1	0,036359121	0,256739558	0,14161869
PvTALE-33	Phvul.010G011900.1	Glyma.03G070900.1	0,040501555	0,285198526	0,14201179
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Glyma.01G214800.1	0,016954228	0,314541398	0,05390142
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Glyma.01G028300.1	0,035372849	0,330992558	0,10686902
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Glyma.02G060000.1	0,13363698	0,979924256	0,13637481
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Glyma.02G036900.1	0,044253134	0,340244599	0,13006271
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Glyma.05G210300.1	0,05714669	0,336092154	0,1700328
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Glyma.05G210300.1	0,141302671	0,708528135	0,19943128
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Glyma.05G050600.1	0,040164036	0,654107894	0,06140277
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Glyma.08G016900.1	0,060353554	0,305387556	0,19762938
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Glyma.08G016900.1	0,132715393	0,674493898	0,19676293
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Glyma.08G284300.1	0,114712518	0,718237219	0,15971397
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Glyma.05G210300.1	0,141302671	0,708528135	0,19943128
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Glyma.05G050600.1	0,040164036	0,654107894	0,06140277
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Glyma.08G016900.1	0,060353554	0,305387556	0,19762938
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Glyma.08G016900.1	0,132715393	0,674493898	0,19676293
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Glyma.08G284300.1	0,114712518	0,718237219	0,15971397
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Glyma.11G062300.1	0,048516885	0,2440372	0,19880938
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Glyma.11G022200.1	0,042557187	0,287117519	0,14822219
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Glyma.11G027100.1	0,017059407	0,32710361	0,05215292
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Glyma.11G022200.1	0,130364774	0,841147469	0,15498445
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Glyma.08G016900.1	0,132715	0,674494	0,196763
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Glyma.08G284300.1	0,114713	0,718237	0,159714
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Glyma.11G062300.1	0,048517	0,244037	0,198809
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Glyma.11G022200.1	0,042557	0,287118	0,148222
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Glyma.11G027100.1	0,017059	0,327104	0,052153

Çizelge 3.3 *Phaseolus vulgaris* ve *Glycine max* arasında saptanan duplikasyonlar (devam)

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	GmTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka_Ks
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Glyma.11G022200.1	0,130365	0,841147	0,154984
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Glyma.16G142800.1	0,132593	0,930913	0,142434
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Glyma.17G132600.1	0,043083	0,621946	0,069272
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Glyma.18G141200.1	0,121821	0,751844	0,16203
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Glyma.03G202300.1	0,036469	0,321397	0,113469
PvTALE-06	Phvul.001G224900.1	Glyma.03G231100.1	0,082375	0,298584	0,275885
PvTALE-03	Phvul.001G032200.1	Glyma.04G049500.1	0,123729	0,710043	0,174255
PvTALE-04	Phvul.001G034200.1	Glyma.04G050800.1	0,182793	0,550907	0,331804
PvTALE-04	Phvul.001G034200.1	Glyma.06G051600.1	0,173941	0,601317	0,289267
PvTALE-06	Phvul.001G224900.1	Glyma.10G147000.1	0,168491	0,54107	0,311403
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Glyma.13G312900.1	0,304358	2,57608	0,118148
PvTALE-03	Phvul.001G032200.1	Glyma.14G091200.1	0,022354	0,278219	0,080348
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Glyma.19G199500.1	0,036932	0,294375	0,125458
PvTALE-18	Phvul.004G148100.1	Glyma.07G104800.1	0,064461	0,200775	0,321063
PvTALE-18	Phvul.004G148100.1	Glyma.09G172800.1	0,060528	0,216633	0,279402
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	Glyma.01G214800.1	0,058235	0,749092	0,077741
PvTALE-12	Phvul.003G016200.1	Glyma.02G086400.1	0,136741	0,393609	0,347404
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	Glyma.05G050600.1	0,041215	0,284093	0,145077
PvTALE-12	Phvul.003G016200.1	Glyma.07G172500.1	0,124089	0,378392	0,327937
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	Glyma.11G027100.1	0,054417	0,773672	0,070335
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1	Glyma.13G157300.1	0,025891	0,356016	0,072724
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1	Glyma.15G202200.1	0,080827	0,977935	0,08265
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	Glyma.17G132600.1	0,03754	0,238952	0,157101
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1	Glyma.17G104800.1	0,020942	0,322005	0,065037
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1	Glyma.07G263600.1	0,128276	0,637947	0,201076

Çizelge 3.3 *Phaseolus vulgaris* ve *Glycine max* arasında saptanan duplikasyonlar (devam)

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	GmTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka_Ks
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1	Glyma.09G007500.1	0,033644	0,245375	0,137112
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1	Glyma.15G111900.1	0,039705	0,245375	0,161814
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1	Glyma.17G010200.1	0,086371	0,602133	0,143442
PvTALE-20	Phvul.005G132700.1	Glyma.12G077800.1	0,2399	0,881808	0,272055
PvTALE-24	Phvul.008G114300.1	Glyma.01G104200.1	0,177209	0,821593	0,215689
PvTALE-25	Phvul.008G212100.1	Glyma.02G269900.1	0,12614	0,446961	0,282218
PvTALE-24	Phvul.008G114300.1	Glyma.03G070900.1	0,173912	0,778816	0,223303
PvTALE-25	Phvul.008G212100.1	Glyma.14G047000.1	0,018412	0,267273	0,06889
PvTALE-22	Phvul.007G201400.1	Glyma.03G231100.1	0,192722	0,621883	0,309901
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Glyma.03G202300.1	0,150621	0,785504	0,191751
PvTALE-22	Phvul.007G201400.1	Glyma.10G147000.1	0,062773	0,316001	0,198647
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Glyma.19G199500.1	0,149574	0,742045	0,201569
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	Glyma.02G036900.1	0,352984	1,864393	0,189329
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	Glyma.04G064100.1	0,046755	0,290704	0,160834
PvTALE-28	Phvul.009G060500.1	Glyma.04G029200.1	0,048108	0,274538	0,175231
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	Glyma.04G185100.1	0,117249	0,271312	0,432153
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	Glyma.06G065200.1	0,049404	0,278414	0,177448
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	Glyma.06G009500.1	0,079101	0,236608	0,334312
PvTALE-28	Phvul.009G060500.1	Glyma.06G029200.1	0,052345	0,273889	0,191119
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1	Glyma.09G095700.1	0,025828	0,431697	0,05983
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1	Glyma.13G157300.1	0,084375	0,832386	0,101365
PvTALE-32	Phvul.009G090500.3	Glyma.14G112400.1	0,106426	0,655329	0,1624
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1	Glyma.15G202200.1	0,022729	0,417894	0,054389
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1	Glyma.17G104800.1	0,077933	0,843337	0,09241
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	Glyma.17G215500.1	0,122489	0,728103	0,16823

Çizelge 3.4 *Phaseolus vulgaris* ve *Solanum lycopersicum* arasında saptanan duplikasyonlar

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	GmTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka_Ks
PvTALE-33	Phvul.010G011900.1	Solyc09g011380.3	0,34493787	NaN	NaN
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Solyc02g065490.3	0,278852429	1,767145134	0,157798
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Solyc02g089940.3	0,172168528	3,116924238148960	0,055237
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Solyc04g079830.2	0,355166718	2,5593793120433200	0,138771
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Solyc05g005090.3	0,276239105	NaN	NaN
PvTALE-33	Phvul.010G011900.1	Solyc09g011380.3	0,34493787	NaN	NaN
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Solyc08g081385.1	0,144028701	2,061220561334100	0,069875
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Solyc08g080120.3	0,101414428	3,2038724113854600	0,031654
PvTALE-06	Phvul.001G224900.1	Solyc01g100510.3	0,300225078	NaN	NaN
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Solyc01g007070.3	0,266188344	2,475059297159460	0,107548
PvTALE-03	Phvul.001G032200.1	Solyc04g077210.3	0,160789391	2,1409175644423700	0,075103
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Solyc06g074120.3	0,389344356	NaN	NaN
PvTALE-04	Phvul.001G034200.1	Solyc08g065420.3	0,461172919	1,655114458462790	0,278635
PvTALE-18	Phvul.004G148100.1	Solyc06g072480.1	0,404856074	2,824064648427190	0,143359
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	Solyc08g080120.3	0,152738586	NaN	NaN
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1	Solyc12g010410.2	0,254905882	3,0146682199448100	0,084555
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1	Solyc02g081120.3	0,177487134	1,6566394614984900	0,107137
PvTALE-24	Phvul.008G114300.1	Solyc09g011380.3	0,335463417	1,5513756040971200	0,216236
PvTALE-24	Phvul.008G114300.1	Solyc10g086640.2	0,38565558	1,920450079715140	0,200815
PvTALE-22	Phvul.007G201400.1	Solyc01g100510.3	0,299314896	3,101640357304650	0,096502
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Solyc01g007070.3	0,299722031	2,397656688441450	0,125006
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Solyc06g074120.3	0,397358277	NaN	NaN
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Solyc11g068950.2	0,39691663	5,130730683970450	0,077361
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	Solyc01g109980.3	0,311696891	1,4693797072002800	0,212128
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	Solyc04g080790.3	0,386576939	2,051218240516580	0,188462

Çizelge 3.4 *Phaseolus vulgaris* ve *Solanum lycopersicum* arasında saptanan duplikasyonlar (devam)

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	GmTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka_Ks
PvTALE-28	Phvul.009G060500.1	Solyc04g080780.2	0,321452115	2,9513860054283900	PvTALE-28
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	Solyc05g005090.3	0,407424838	2,3353265718847100	0,174462
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1	Solyc12g010410.2	0,249913475	NaN	NaN
NaN=No Result					

Çizelge 3.5 *Phaseolus vulgaris* ve *Vigna unguiculata* arasında saptanan duplikasyonlar

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	AtTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka\Ks
PvTALE-33	Phvul.010G011900.1	Vigun05g112800.1	0,181285	0,749591872	0,241845
PvTALE-33	Phvul.010G011900.1	Vigun10g059300.1	0,022841	0,15848182	0,144122
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Vigun02g172100.1	0,007561	0,204032384	0,037056
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Vigun02g177500.1	0,025948	0,154691149	0,167742
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Vigun02g177500.1	0,1276	0,814718853	0,156619
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Vigun02g137100.1	0,023353	0,126920222	0,183997
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Vigun02g079500.1	0,008325	0,165933446	0,050169
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2	Vigun03g310400.1	0,080372	0,794479439	0,101163
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2	Vigun03g234200.1	0,127213	0,96242085	0,13218
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1	Vigun03g042200.1	0,02672	0,161401173	0,16555
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1	Vigun03g270000.1	0,140669	0,90306899	0,155768
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1	Vigun03g042200.1	0,137972	0,791226749	0,174377
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Vigun01g180200.1	0,016417	0,196023573	0,08375
PvTALE-06	Phvul.001G224900.1	Vigun01g209400.1	0,047343	0,220957136	0,214264
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Vigun05g231800.1	0,28731	2,618316407	0,109731
PvTALE-06	Phvul.001G224900.1	Vigun07g139600.1	0,176768	0,760531761	0,232427
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Vigun07g014500.1	0,14292	0,897992703	0,159155
PvTALE-03	Phvul.001G032200.1	Vigun08g034600.1	0,027947	0,169669705	0,164712
PvTALE-04	Phvul.001G034200.1	Vigun08g036800.1	0,030058	0,109074365	0,275573
PvTALE-04	Phvul.001G034200.1	Vigun09g225900.1	0,19392	0,647990968	0,299263
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1	Vigun11g121700.1	0,332605	2,151828278	0,154568
PvTALE-18	Phvul.004G148100.1	Vigun04g034500.1	0,105383	0,139939467	0,753059
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	Vigun02g172100.1	0,055939	0,89724	0,062345
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1	Vigun03g366200.1	0,00738	0,233835	0,031561
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1	Vigun03g310400.1	0,019846	0,231253	0,08582
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1	Vigun09g054100.1	0,087595	0,934718	0,093713
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1	Vigun09g212500.1	0,188552	2,177159	0,086605
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1	Vigun03g443600.1	0,152635	0,667994	0,228497
PvTALE-20	Phvul.005G132700.1	Vigun05g246400.1	0,033072	0,173861	0,190223
PvTALE-20	Phvul.005G132700.1	Vigun11g139500.1	0,225721	0,871025	0,259145
PvTALE-24	Phvul.008G114300.1	Vigun05g112800.1	0,027558	0,10142	0,271718

Çizelge 3.5 *Phaseolus vulgaris* ve *Vigna unguiculata* arasında saptanan duplikasyonlar (devam)

PvTALE Gene Name	PvTALE Gene ID	AtTALE Gene ID	Ka	Ks	Ka\Ks
PvTALE-25	Phvul.008G212100.1	Vigun08g174300.1	0,008444	0,104709	0,080641
PvTALE-22	Phvul.007G201400.1	Vigun01g209400.1	0,186595	0,734191	0,25415
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Vigun01g180200.1	0,142215	0,906308	0,156917
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Vigun05g231800.1	0,336943	2,275946	0,148045
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Vigun07g014500.1	0,025915	0,19001	0,136389
PvTALE-22	Phvul.007G201400.1	Vigun07g139600.1	0,038201	0,162113	0,235647
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1	Vigun11g121700.1	0,339274	1,849388	0,183452
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	Vigun02g079500.1	0,349067	1,666607	0,209448
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	Vigun03g234200.1	0,349975	2,450749	0,142803
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	Vigun03g366200.1	0,188914	2,166367	0,087203
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1	Vigun03g366200.1	0,085658	1,013078	0,084552
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	Vigun08g011700.1	0,391874	1,823667	0,214883
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1	Vigun09g088300.1	0,060939	0,111972	0,544236
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1	Vigun09g054100.1	0,014907	0,20542	0,072566
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3	Vigun09g212500.1	0,02855	0,233976	0,12202
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1	Vigun09g268200.1	0,043229	0,137349	0,314741

3.7 PvTALE Gen Ailesinin mRNA Analizi

Fasulye bitkisinde *PvTALE* genlerinin kuraklık stresi altındaki ekspresyon profillerini değerlendirmek üzere daha önce Büyük vd. (2016) tarafından açıklandığı şekilde SRR8284481 (kuraklıkla muamele edilmiş yaprak) ve SRR8284480 (kuraklık deneyi için kontrol yaprağı) numaralı SRA verileri Genomics workbench programı (QIAGEN CLC bio, Aarhus, Denmark) aracılığıyla analiz edilmiştir. Elde edilen RPKM (milyonda kilobaz başına okuma) verileri Log2 tabanına çevrilerek TBtools programı aracılığıyla ısı haritası oluşturulmuştur ve görselleştirilmiştir (Chen vd. 2018).

Ayrıca JGI Phytozome 13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) çevrimiçi aracı kullanılarak *PvTALE* genlerinin farklı doku ve organlardaki FPKM (milyon baz çifti dizisi başına transkript dizisinin kilobaz başına okuma) değerleri de temin edilmiştir. Ardından bu ifade değerleri Log2 tabanına çevrilmiş ve TBtools programı aracılığıyla ısı haritası oluşturulmuştur (Chen vd. 2018).

Çizelge 3.6 PvTALE genlerinin farklı doku ve organlardaki log2 tabanına göre ifade seviyeleri

	Çiçek Tomurcukları	Çiçek	Olgun yeşil Podlar	Yaprakla r	Nodüller r	Kök10	Kök 19	Gövde 10	Gövde 19	Genç Podlar	Genç Trifoliatlar
PvTALE-01	2,502330602	4,30137	4,040980077	3,945139	3,295282	4,288801	4,483558	4,08865	4,342697	3,689634632	3,652945331
PvTALE-02	1,09017595	2,92941	2,928844037	2,53829	3,144373	3,770723	4,199751	3,301295	3,997473	3,096599207	2,905928478
PvTALE-03	0,310340121	0,90149	-5,573466862	0	2,290719	2,012569	4,063848	6,048716	6,755555	-0,63039393	0
PvTALE-04	-0,932361283	-0,40354	0	-3,75633	-6,38082	-4,18442	-5,87832	0,248535	0,422233	-0,18935125	0,86710573
PvTALE-05	4,539469035	5,98987	6,94716351	5,444601	5,672369	4,396981	4,872238	5,778209	6,012323	5,506017922	5,37517848
PvTALE-06	3,740279983	4,25716	3,685267407	-0,47393	1,305679	1,530071	1,968644	3,828022	4,817112	3,674234648	0,833497337
PvTALE-07	3,318461465	2,78681	3,812395539	4,121679	4,557594	4,644029	4,864731	3,395474	4,071162	-0,01304304	4,130519083
PvTALE-08	2,81905501	2,45602	-0,798366139	-4,4112	-2,59074	0,695994	0,211635	3,737362	3,446256	0,252173413	-3,321928095
PvTALE-09	5,224734898	6,14716	5,955196542	4,861856	2,866315	4,067036	4,569613	5,326609	5,53135	4,736442522	4,797428082
PvTALE-10	-0,60823228	0,79244	4,850649426	5,14082	4,797584	2,941482	4,450947	2,509442	2,278877	2,054501216	3,080145979
PvTALE-11	1,003602237	2,15543	4,312302131	2,526069	5,452332	4,367022	5,192431	1,161565	-0,63711	2,272321853	0,381837084
PvTALE-12	0	-3,36587	0	0	0	0	0	-1,56064	-1,03209	0	0
PvTALE-13	1,737686761	0,60597	-5,10780329	-1,38458	-2,38082	0,703101	-0,92413	3,192036	3,178396	-1,78090894	-5,011587974
PvTALE-14	0,096261853	0,4916	-0,545824107	0	-4,8365	-0,46594	-2,6529	3,90352	3,044394	0,532067552	0

Çizelge 3.6 PvTALE genlerinin farklı doku ve organlardaki log2 tabanına göre ifade seviyeleri (devam)

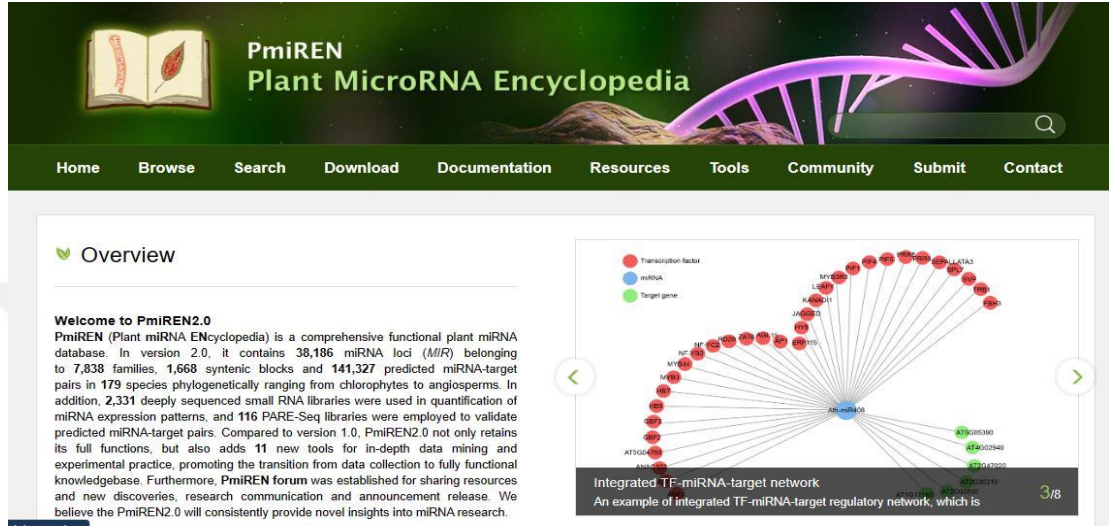
	Çiçek Tomurcukları	Çiçek	Olgun yeşil Podlar	Yaprakla r	Nodüller r	Kök10	Kök 19	Gövde 10	Gövde 19	Genç Podlar	Genç Trifoliatlar
PvTALE-15	4,909773104	5,46571	4,795507223	5,69624 4	6,04830 2	4,54101 9	5,19979	3,38322	3,67412 2	3,92846507 8	5,283329168
PvTALE-16	4,487164743	3,17856	1,766383141	0,7433	1,47664 1	3,48684 3	3,47469 6	3,06695	4,93201 4	1,58688481 3	3,809208624
PvTALE-17	3,370722275	2,37712	1,76256143	4,59072 2	5,16988 5	1,61588 7	3,56303 6	1,85279 8	3,31019 5	1,75146372 1	4,638131776
PvTALE-18	4,074933523	0,81065	-4,573466862	-1,96578	1,34312 4	0,11636 5	0,89917 6	1,60074 5	1,46519 1	- 2,27229733	-0,810966176
PvTALE-19	1,585443319	2,57362	6,418561033	2,78177 9	2,27798 5	1,51803 1	3,67310 4	4,84874 8	5,40268 8	2,12201002	2,652371763
PvTALE-20	1,595503661	0,18142	-4,158429363	-1,04692	-1,191	- 4,08314	- 1,84166	2,06246 7	2,86076 4	- 1,25842515	-1,932361283
PvTALE-21	4,124245409	3,55213	-2,899695094	0	2,08031 7	- 0,77843	0,25217 3	4,55704 2	5,16522 9	1,31150311 5	0
PvTALE-22	2,111365231	1,52807	2,406808748	-1,39973	0,86868 7	0,44254 5	1,49978 2	4,53431 1	4,22002	1,57966289 7	-1,275786313
PvTALE-23	4,793219623	6,49004	5,593025033	5,33881 7	4,78628 3	4,69510 3	5,08555 2	5,83635 3	5,71679 9	4,67072705 4	4,940072761
PvTALE-24	3,170726276	3,52055	2,517023672	1,00863	1,53206 8	0,58880 5	1,04054 2	3,85967 1	3,84338 1	1,76043387 5	-0,061902439
PvTALE-25	3,239856258	2,73401	-3,279283757	0	-5,15843	- 3,27928	- 0,38836	3,51702 4	4,81075 2	1,36289064 3	0
PvTALE-26	-0,524915117	- 1,08314	0,001441974	2,78617 8	-1,03209	- 5,01159	- 1,53533	1,45890 7	1,18840 1	0,64154602 9	2,747817029
PvTALE-27	0,257010618	- 0,26361	1,603596675	1,72334	1,67219 9	3,59454 9	3,48039 4	4,17056 6	4,38853 4	0,07450543 6	2,858179974
PvTALE-28	0,01720929	0,33914	1,673556424	0,0229	0,75787 7	- 1,93236	- 0,12029	1,09963 2	1,51551 1	2,46936505 4	2,951960729
PvTALE-29	-0,336427665	1,56218	-1,10780329	-4,29336	-0,79336	- 2,92139	- 1,06492	-0,33279	-0,42469	0,8623522	-1,49410907

Çizelge 3.6 *PvTALE* genlerinin farklı doku ve organlardaki log2 tabanına göre ifade seviyeleri (devam)

	Çiçek Tomurcukları	Çiçek	Olgun yeşil Podlar	Yaprakla r	Nodüller r	Kök10	Kök 19	Gövde 10	Gövde 19	Genç Podlar	Genç Trifoliatlar
<i>PvTALE-30</i>	3,122341408	5,13459	6,178933698	6,178476	4,46408	2,428946	3,330128	5,393245	4,969335	5,377297306	5,139428565
<i>PvTALE-31</i>	0	0	0	0	-2,86775	0,253384	0,370722	0	0	0	0
<i>PvTALE-32</i>	4,184200936	5,33999	5,82125101	5,429382	6,009817	5,848798	5,667608	3,910541	4,243212	4,546400619	5,292965755
<i>PvTALE-33</i>	2,858378925	3,22141	1,648925559	1,62293	2,329124	0,725959	2,181739	3,964491	4,686108	1,474046599	1,368489001
<i>PvTALE-34</i>	1,185866545	0,89064	2,683696454	-1,52284	-1,07704	-1,39214	0,492622	2,181103	3,716991	2,013998146	-0,595096878

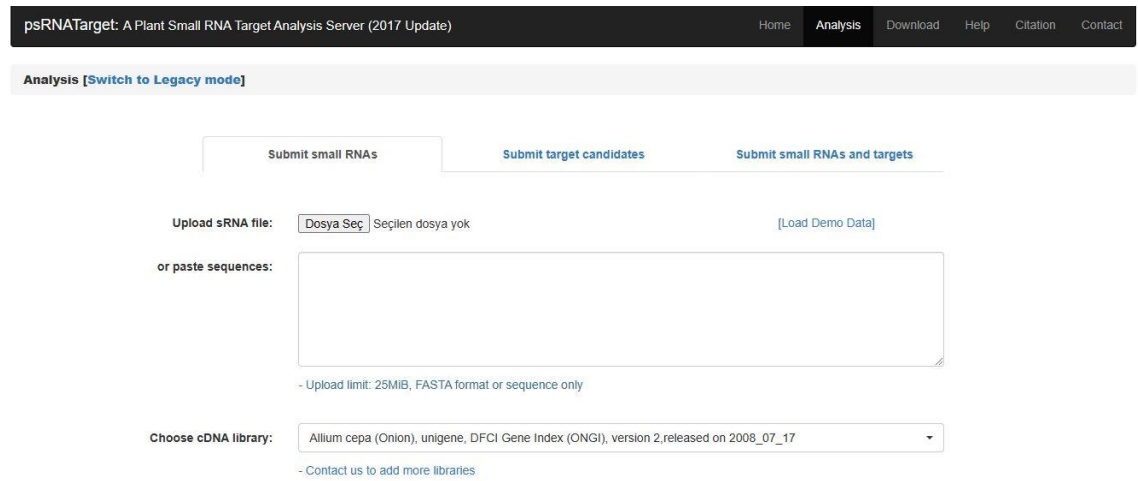
3.8 PvTALE Gen Ailesi Üyelerinin miRNA Analizi

Fasulyedeki olgun-miRNA sekansları PmiREN (<https://www.pmiREN.com/>) çevrimiçi aracı kullanılarak indirilmiştir (Guo vd. 2022).



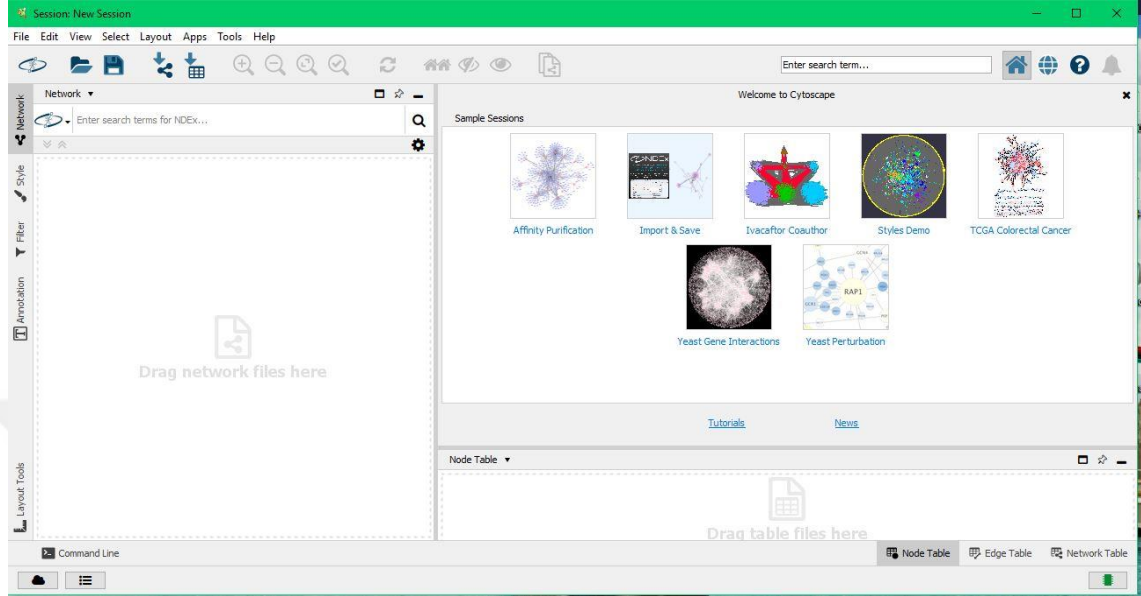
Şekil 3.14 PmiREN Plant MicroRNA Encyclopedia çevrimiçi aracı

Daha sonra psRNATarget (<https://www.zhaolab.org/psRNATarget/>) çevrimiçi aracı kullanılarak *PvTALE* gen ailesi üyelerini hedefleyen miRNA'lar belirlenmiştir (Zhang, 2005).



Şekil 3.15 psRNATarget çevrimiçi aracı arayüzü

Ayrıca Cytoscape 3.9.1 (<https://cytoscape.org/download.html>) yazılımı kullanılarak miRNAlar ile *PvTALE* genleri arasındaki ilişki görselleştirilmiştir (Kohl vd. 2011).



Şekil 3.16 Cytoscape 3.9.1 yazılımı arayüzü

3.9 Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Abiyotik Stres Uygulanması

Çalışmada 'Eskişehir, Bölge Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen yerli bir fasulye çeşidi olan 'Zülbiye' kullanılmıştır. Temin edilen tohumlar +4°C dolapta saklanmıştır. Ardından bu tohumlardan 48 tanesi seçilmiş ve distile su içerisinde 2 saat bekletilmiştir. Toplam ağırlığı 55 gr olacak şekilde saksılara toprak aktarılmıştır ve 48 adet tohumun bu saksılara ekimi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemini takiben bitkiler, +25°C sıcaklık, %70 nem ve 50 mmol m⁻² s⁻¹ fotosentetik foton akısına göre ayarlanmış bitki yetiştirme kabinine alınmıştır. Bitkiler bitki yetiştirme kabininde gece (8 saat) ve gündüz (16 saat) periyodunda yetiştirilmeye bırakılmıştır. İlk günden itibaren her gün düzenli olarak bitkilerin tepsi içerisindeki yerleri değiştirilmiştir. Bitkiler Hoagland besin solusyonu (A ve B besini) ile 8 gün süreyle, trifoliat aşamaya ulaşınca kadar büyütülmüştür. Sulama işlemi iki günde bir yapılmıştır. Hoagland besin solusyonu 0.2 L ölçüsünde 1/10'luk hazırlanmıştır. 2 mM Ca, 10⁻⁶ M Mn, 2.10⁻⁷ M Cu, 4 mM NO₃, 1 mM Mg, 10⁻⁸ M NH₄, 2 mM K, 10⁻⁶ M Zn, 10⁻⁶ M B, 0.2 mM P ve 10⁻⁴ M Fe olan mikro ve makro besinlerini içermektedir. Mikro besinler NH₄Mo,

$MnSO_4ZnSO_4.7H_2O$, H_3BO_3 , $CuSO_4.5H_2O$ 'den oluşmaktadır. Makro besinler K_2SO_4 , $Ca(NO_3)_2.4H_2O$, KCl , $MgSO_4.7H_2O$ ve KH_2PO_4 içermektedir. Çözeltideki iyonların son konsantrasyonlarıdır (Barac vd. 2014). Ardından bitkiler stres ve kontrol grubu olmak üzere (24'er) iki gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu bitkileri için sulama devam ettirilirken kuraklık grubu bitkiler için sulama kesilmiştir. Bu aşamadan itibaren hem kontrol grubu hem de stres grubu bitkilerinin saksılarının ağırlıkları ölçülerek takip edilmiştir. Kontrol grubu bitkileri düzenli olarak sulandığı için bitki büyümesi devam ederken, kuraklık grubunda stres semptomları görülünceye dek deney sürdürülmüştür (Şekil 3.17 ve Şekil 3.18). Stres uygulamasının 7. gününde hem kontrol hem de stres grubundan bitki örnekleri üç biyolojik tekrarlı alınmış ve örneklem alınırken üç farklı bitkiden alınan (yaprak, gövde ve kök) dokulardan bir numune (Örneğin; Yaprak kontrol 1, gövde kontrol 1 ve kök kontrol 1) olacak şekilde ayarlanmıştır ve numuneler havanda sıvı azot yardımı ile ezilerek $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklamaya bırakılmıştır.



Şekil 3.17 Kuraklık stresinin başlangıcı (17.05.22)

Şekil 3.17'de soldaki tepsideki bitkiler kontrol grubu iken sağdaki tepsideki bitkiler, kuraklık stresi uygulanmış bitkilerdir. Sağdaki bitkilere 7 gün süresince su verilmemiştir.



Şekil 3.18 Kuraklık stresinin son günü (24.05.22)

Şekil 3.18’te soldaki kontrol grubunun yapraklarının ve gövdesinin stres grubuna göre daha fazla büyüdüğünü ve stres grubu bitkilerinin solarak yapraklarının iyice küçüldüğü görülmektedir.

3.10 Prolin Analizi

Fasulye bitkisinden üç biyolojik tekrarlı alınan 18 örneğin prolin analizi için 6M ortofosforik asit, ninhidrin asit, %3 sülfosalisik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Yaprak numuneleri yaklaşık 0.1 gr – 0.2 gr ağırlığında ölçülmüştür. Ninhidrinden 0.5625 gr tartılıp üzerine glisiyal asetik asit eklenerek seyreltilmiştir. 60 °C’lik su banyosu kullanarak bu karışım homojenize hale getirilmiş ve üzerine 6M ‘lık ortofosforik asit eklenmiştir. Hazırlanan tüplere sülfosalisik asit ve 2mM’lık prolin çözeltisi eklenmiştir. Örnekler 25 °C’de 13000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiş ve takiben numunelerin üzerine 1 ml ninhidrin asit ve 1 ml glasiyal asetik asit eklenmiştir. Tüm örnekler (standartlar dahil) 1 saat 98-99 °C su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosundan alınan tüpler buz içine bırakılarak reaksiyonun durması için 10 dakika buzda bekletilmiştir. Her tüpe 2 mL tolüen eklenerek ve her tüpü elde hafifçe çevrilerek tüplerde iki faz ayrımı görülmüştür. Üst faz tolüen ve tüm prolini içerirken, alt fazda geriye kalan bileşenler bulunmaktadır. Daha sonra Uv Spektrofotometre cihazında 520 nm dalga boyu kullanılarak örneklerin okumaları alınmış ve Bates vd. (1973) göre hesaplamaları yapılmıştır.

3.11 RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Sıvı nitrojenle ezilip toz haline getirilen bitki örnekleri -80 °C’de muhafaza edilmektedir. Buzdolabından alınan bitki örneklerinden FavorPrep™ Plant Total RNA Mini Kit (Biotech Corp., Ping-Tung, Taiwan) yardımı ile RNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen RNA’lar NanoDrop Lite (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılarak kalite açısından test edilmiştir.

RNA izolasyon protokolü

1. Sıvı nitrojenle toz haline getirilen bitki örneğinden 100 mg kadar alınan bitki örnekleri ependorf tüplerine alınır.
2. Her örnek tüpüne 500 µL FARB Tamponu eklenir ve kuvvetlice vortekslenir. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyon işlemi yapılır.
3. Yeni toplama tüpleri alınarak içlerine filtre kolonu yerleştirilir ve homojenat filtre kolonuna aktarılır. Ardından (~18.000 xg) 1 dakika süresince santrifüjlenir.
4. Süpernatant toplama tüpünden yeni bir tüpe aktarılır ve süpernatantın hacmini ayarlanır. (Süpernatantı aktarırken herhangi bir birikinti ve peleti pipetlemekten uzak durulmalıdır)
5. 1 hacim (süpernatant miktarı) %70 RNaz içermeyen etanol ilave edilir ve vorteksleyerek iyice karıştırılır.
6. Bir FARB Mini Kolonunu toplama tüpüne yerleştirilir ve sonra etanol eklenmiş numune karışımı (herhangi bir çökelti dahil) FARB Mini Kolona aktarılır. 1 dakika boyunca tam hızda santrifüjlenir, sıvıyı attıktan sonra ve FARB Mini Kolonunu Toplama Tüpüne geri konulur.
7. Örnek karışımının geri kalanı için 6. adım tekrarlanır.
8. FARB Mini Kolona 500 µl Yıkama Tamponu 1 eklendikten sonra, 1 dakika tam hızda santrifüjlenir. Alta süzülen sıvı kısmı atılır ve FARB Mini Kolonunu Toplama Tüpüne geri getirilir.
9. FARB Mini Kolona 750 µl Yıkama Tamponu 2 eklenir, 1 dakika tam hızda santrifüjlenir. Sıvı kısmı atılır ve FARB Mini Kolonu Toplama Tüpüne geri

konulur. (Not: İlk kullanımda Yıkama Tamponu 2'ye etanol eklendiğinden emin olunmalıdır).

10. FARB Mini Kolonu kurutmak amacıyla 3 dakika daha tam hızda santrifüjlenir (Bu adım, sonraki enzimatik reaksiyonu engellemek için kalan sıvıyı önleyecektir).
11. FARB Mini Kolonu bir Elüsyon Tüpüne (sağlanan 1,5 ml mikrosantrifüj tüpü) yerleştirilir.
12. FARB Mini Kolonunun membran merkezine 30 ~ 50 µl RNaz içermeyen ddH₂O eklenir. FARB Mini Kolonu 1 dakika bekletilir. (Etkili elüsyon için, RNaz içermeyen ddH₂O'nun membran merkezine dağıtıldığından ve tamamen emildiğinden emin olunmalıdır).
13. RNA'yı ayırtırmak için FARB Mini Kolonunu 1 dakika boyunca tam hızda santrifüjlenir.
14. RNA -80C'de saklanır.

cDNA sentezi protokolü

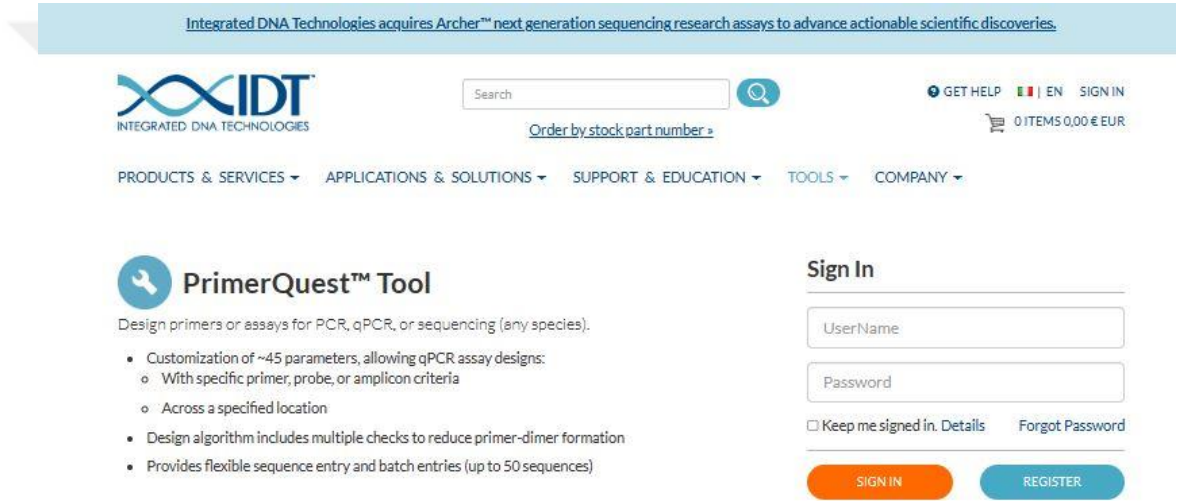
Elde edilen RNA örnekleri tek ipliğe sahiptir ve qPCR analizinde kullanılabilmesi için tamamlayıcı ipliğinin olması gerekir. Bu sebeple RNA örneklerinden cDNA oluşturmak için iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad) kullanılarak cDNA sentezi yapılmıştır. Her bir reaksiyonda; 5x iScript Reaksiyon mixi (4 µl), iScript Reverse Transcriptase (1 µl), RNA örneği ve ddH₂O kullanılmıştır. Reaksiyonun toplam hacmi, RNA ve ddH₂O miktarının toplamı 20 µl olacak şekilde ayarlanmıştır ve sıcaklık döngüleri için Biometra TProfessional Basic marka PCR cihazı (Analytik Jena, Almanya) kullanılmıştır. Yapılan cDNA sentezinde kullanılan malzemeler ve hacimler aşağıda verilmiştir.

cDNA sentezinde kullanılan sıcaklık döngüleri aşağıdaki gibidir;

1. Priming döngüsü 25 °C'de 5 dakika
2. Reverse Transcription 46 °C' de 20 dakika
3. RT inactivation 95 °C 'de 1 dakika
4. Opsiyonel 4°C 'de sınırsız olarak seçilmiştir.

3.12 Gene Özgü Primer Tasarımı

RNAseq verilerine yönelik çizilen ısı haritaları analiz edilerek stres koşulları altında ifadeleri en fazla farklılaşan genler tespit edilmiştir. KNOX domainine sahip üyelerden *PvTALE-06*, *PvTALE-16*, *PvTALE-22*, *PvTALE-30* genleri ve BEL1-like domainine sahip üyelerden ise *PvTALE-10*, *PvTALE-20*, *PvTALE-27*, *PvTALE-28*, *PvTALE-29*, *PvTALE-33* genleri seçilmiştir. NCBI veri tabanından bu genlerin CDS dizileri indirilmiş ve Integrated DNA Technologies (IDT), PrimerQuest Tool (<https://www.idtdna.com>) aracılığıyla primer tasarımları yapılmıştır (Şekil 3.19).



Şekil 3.19 IDT PrimerQuest Tool arayüzü

Çizelge 3.7 Tasarlanan *PvTALE* primerlerine ait dizi bilgisi

<i>PvTALE</i> alt ailesi	Gen isimleri	İleri primer (5'-3')	Baz sayısı	Tm (°C)	GC (%)	Geri primer (5'-3')	Baz sayısı	Tm (°C)	GC (%)
KNOX-Class II	<i>PvTALE-06</i>	GAGTTGTCCAGACCCTTCAAT	21	58	48	TTCATCAGAGCGGTTGTTATCT	22	57	41
BEL1-like	<i>PvTALE-10</i>	AAGCCTTCTCTGACCTCTCT	20	57	50	GGTAGTGCTTG TACCTTCTGTC	22	60	50
KNOX-Class I	<i>PvTALE-16</i>	GTCAAGTGAAGGCGGAGATAG	21	60	52	AAGAGCGGAGGAGATTGTTG	20	57	50
BEL1-like	<i>PvTALE-20</i>	CCTTACCCTACAGACTGATAA A	24	59	42	ATTGGCTTCCA TACTCGTACTC	22	58	45
KNOX-Class II	<i>PvTALE-22</i>	CAAAGGAGGCAAGGAGGATAC	21	60	52	CCAGACCCGTCATTCTGATAG	22	60	50
BEL1-like	<i>PvTALE-27</i>	GAGAACACGGTCAAAGGTAAGA	22	58	45	TATCCAGTTCTGCTAGAGGT	20	57	50

Çizelge 3.7 Tasarlanan *PvTALE* primerlerine ait dizi bilgisi (devam)

<i>PvTALE</i> alt ailesi	Gen isimle ri	İleri primer (5'- 3')	Baz sayıs ı	Tm (°C)	GC (%)	Geri primer (5'- 3')	Baz sayıs ı	Tm (°C)	GC (%)
BEL1- like	<i>PvTA</i> <i>LE-28</i>	TGGTGGAAATG TGGTGGATAG	21	58	48	GCCTTCAACTC TGAGGAAAGT	21	58	48
BEL1- like	<i>PvTA</i> <i>LE-29</i>	CCACCTCAAAT CCTCTCATTCA	22	58	45	CAAGCATCAGC ATGGACATTAC	22	58	45
KNOX- Class I	<i>PvTA</i> <i>LE-30</i>	TCACTCACTCA TCTCTCCTCTC	22	60	50	GTGGTAGTGTT GTCGGTGTAG	21	60	52
BEL1- like	<i>PvTA</i> <i>LE-33</i>	CTTCCTTTGTA CGACCCTTCTT	22	58	45	TCTTCCTTCACA CCACAACC	20	57	50

3.13 *PvTALE* Gen Ailesinin Real-Time PCR İle Analizi Ve Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

RT-qPCR analizleri için Büyük vd. (2019) tarafından önerilen parametrelere uygun olacak şekilde iTaq Universal SYBR Green Supermix (Biorad, ABD) kullanılmıştır. Fasulye bitkisinden alınan 18 örnekten her bir örnek için 3 tekrarlı olacak şekilde reaksiyonlar yürütülmüştür. RT-qPCR reaksiyonları Mic (Magnetic Induction Cycler) qPCR (Biomolecular Systems, Avustralya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. RT-qPCR'den elde edilen veriler, referans olarak Actin (ACT) geni kullanılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülü ile normalize edilmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001).

Çizelge 3.8 Real- time PCR malzemeleri ve kullanılan hacim

Real-time PCR Malzemeleri	Hacim (rxn)	Toplam Son hacim (38x)
SYBR Green Mix (2x)	5 µl	190 µl
İleri Primer (10 µM)	0,5 µl	19 µl
Geri Primer (10 µM)	0,5 µl	19 µl
Su (Type I water)	3 µl	114 µl
cDNA (100 ng)	1 µl /10 µl	38 µl /380µl

Yapılan qPCR analizinde oluşturulan reaksiyonlardaki döngüler şu şekilde ayarlanmıştır;

1. Real- time PCR'daki ön deneratürasyon 95°C'de 30 döngü
2. Denatürasyon aşamasında 95°C'de 15 döngü
3. Uzama / Bağlama aşamasında 60° C' de 30 döngü
4. Erime eğrisi analizinde ise 60 ° C'den 95 °C'ye doğru bir artış gerçekleşmektedir.

Bu protokole göre qPCR (Real- time) analizinde toplamda 40 döngü ile reaksiyon tamamlanmaktadır. Daha sonra bu elde edilen veriler Multiple t testi, Graphpad Prism 9.0.0.121 (<https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>) yazılımı ile istatistiksel analizi yapılarak grafikler oluşturulmuştur. İki yönlü ANOVA tekniği ve Fisher'in en küçük anlamlı fark testi 0,05 anlamlılık düzeyinde kullanılmıştır. Grafiklerde Alpha değerinin 0,05 seçilmesi önemli bir kriterdir ve analizler buna göre yapılmıştır (Berkman vd. 2019).

4. BULGULAR

4.1 *P. vulgaris*'teki TALE Genlerinin Belirlenmesi ve Tanımlanması

Bu çalışmada, fasulye genomunda 35 adet *PvTALE* geni tanımlanmış ve isimlendirilmiştir. Tanımlanan 35 adet *PvTALE* geninin fasulyede 11 farklı kromozom üzerinde dağıldığı belirlenmiştir. Aynı zamanda, *PvTALE* gen ailesi üyelerinin moleküler ağırlığı (MW), protein uzunluğu (aa, amino asit), izoelektrik noktası (pI), hücre içi lokalizasyonu ve korunmuş domainleri gibi temel özellikleri araştırılarak bu veriler listelenmiştir (Çizelge 4.1). *PvTALE* proteinlerinin moleküler ağırlıklarının, 14149.01 Da ile 87184.43 Da, pI değerlerinin 4,77- 8,47 ve protein uzunluklarının ise 127 aa (*PvTALE12*) ile 785 aa (*PvTALE20*) arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 *PvTALE* ailesi üyelerine ilişkin bilgileri içeren katalog

Gen İsimleri	<i>P. vulgaris</i> Genomik Veri tabanı Kimliği	<i>P. vulgaris</i> genomu üzerindeki fiziksel konumu			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlık (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararlı ya da kararsız	Alifatik İndeks	GRAVY	NCBI Accession Numarası
		Kromozom	Başlangıç pozisyonu (bp)	Bitiş pozisyonu (bp)								
PvTALE-01	Phvul.001G011000.1.v2.1	1	850225	855005	637	5,66	70612.78	50.61	kararsız	74.73	-0.586	XP_007160715.1
PvTALE-02	Phvul.001G011100.1.v2.1	1	861317	866004	638	5,84	70828.03	48.96	kararsız	75.06	-0.593	XP_007160717.1
PvTALE-03	Phvul.001G032200.1.v2.1	1	2986014	2991724	398	6,47	45705.70	55.57	kararsız	53.72	-1.043	XP_007160965.1
PvTALE-04	Phvul.001G034200.1.v2.1	1	3219786	3223533	570	5,81	62929.32	49.80	kararsız	79.65	-0.387	XP_007160994.1
PvTALE-05	Phvul.001G195800.1.v2.1	1	45522289	45526794	679	6,61	73757.83	45.29	kararsız	64.55	-0.628	XP_007162972.1
PvTALE-06	Phvul.001G224900.1.v2.1	1	47970467	47976339	283	6,14	32533.09	54.57	kararsız	70.00	-0.736	XP_007163321.1
PvTALE-07	Phvul.002G024800.1.v2.1	2	2580242	2587781	732	6,69	79344.54	48.24	kararsız	62.69	-0.575	XP_007156875.1
PvTALE-08	Phvul.002G064100.2.v2.1	2	7665196	7674753	311	5,16	35175.66	41.96	kararsız	68.42	-0.684	XP_007157365.1
PvTALE-09	Phvul.002G153300.2.v2.1	2	30701843	30708406	286	6,31	32577.89	55.73	kararsız	85.24	-0.597	XP_007158449.1
PvTALE-10	Phvul.002G159000.1.v2.1	2	31374897	31379625	638	6,08	71157.37	46.69	kararsız	63.42	-0.690	XP_007158519.1
PvTALE-11	Phvul.002G292000.1.v2.1	2	46088200	46092273	647	6,25	72328.57	51.48	kararsız	63.89	-0.695	XP_007160096.1
PvTALE-12	Phvul.003G016200.1.v2.1	3	1594869	1596388	127	5,09	14149.01	39.87	kararlı	80.79	-0.507	XP_007153209.1

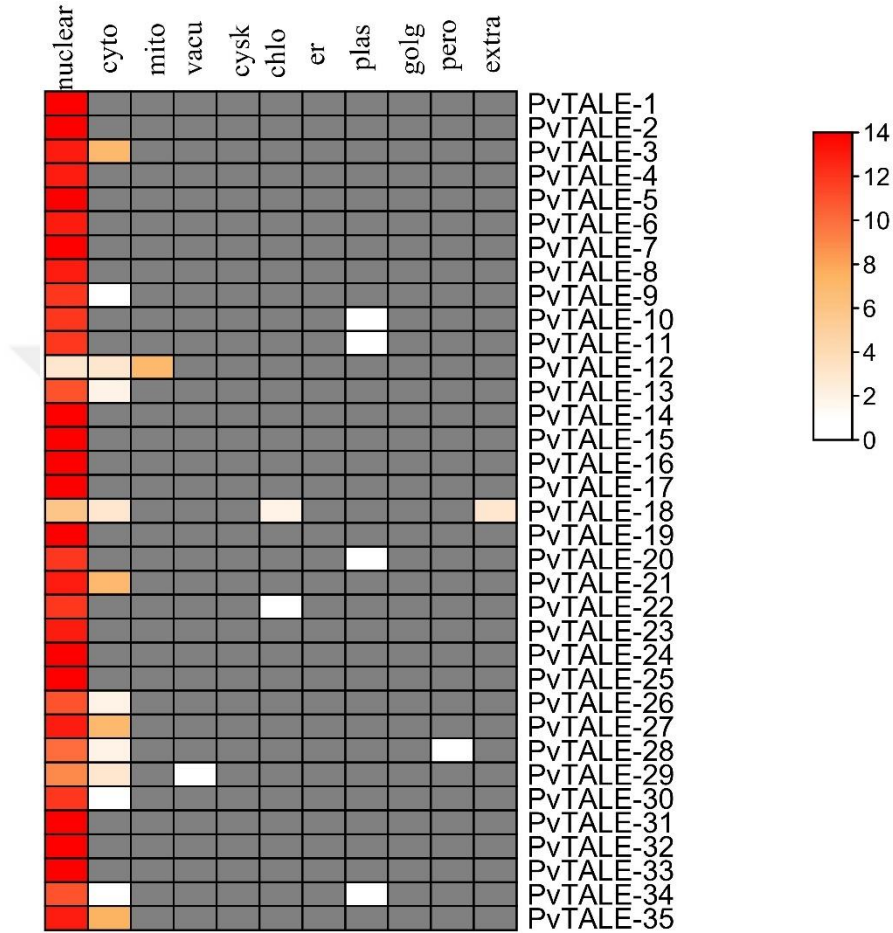
Çizelge 4.1 *PvTALE* ailesi üyelerine ilişkin bilgileri içeren katalog (devam)

Gen İsimleri	<i>P. vulgaris</i> Genomik Veri tabanı Kimliği	<i>P. vulgaris</i> genomu üzerindeki fiziksel konumu			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlık (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararlı ya da kararsız	Alifatik İndeks	GRAVY	NCBI Accession Numarası
		Kromozom	Başlangıç pozisyonu (bp)	Bitiş pozisyonu (bp)								
PvTALE-13	Phvul.003G062500.1.v2.1	3	8739342	8750416	323	5,38	36627.60	55.01	kararsız	74.06	-0.557	XP_007153755.1
PvTALE-14	Phvul.003G081800.2.v2.1	3	13510855	13515994	370	6,52	41655.56	43.06	kararsız	60.38	-0.789	XP_007153990.1
PvTALE-15	Phvul.003G174900.1.v2.1	3	39677400	39684849	347	5,53	39724.16	52.94	kararsız	70.03	-0.853	XP_007155117.1
PvTALE-16	Phvul.003G213500.1.v2.1	3	44001710	44008951	289	6,2	32833.05	54.07	kararsız	80.03	-0.608	XP_007155574.1
PvTALE-17	Phvul.003G250500.1.v2.1	3	48873540	48881342	778	6,78	84399.36	54.87	kararsız	57.49	-0.691	XP_007156003.1
PvTALE-18	Phvul.004G148100.1.v2.1	4	44969689	44974427	149	4,77	17167.37	73.36	kararsız	72.08	-0.809	XP_007152658.1
PvTALE-19	Phvul.005G119300.3.v2.1	5	35459461	35465739	708	8,47	76554.01	44.47	kararsız	68.11	-0.609	XP_007150021.1
PvTALE-20	Phvul.005G132700.1.v2.1	5	37216524	37223084	785	6,37	87184.43	49.25	kararsız	68.79	-0.614	XP_007150172.1
PvTALE-21	Phvul.006G145800.1.v2.1	6	25180451	25187118	375	6,35	42000.00	39.41	kararlı	59.33	-0.737	XP_007147684.1
PvTALE-22	Phvul.007G201400.1.v2.1	7	32412462	32416692	305	5,16	34897.45	49.79	kararsız	78.98	-0.581	XP_007145002.1
PvTALE-23	Phvul.007G267900.1.v2.1	7	38901726	38906220	649	7,81	71444.79	44.89	kararsız	65.53	-0.641	XP_007145789.1

Çizelge 4.1 *PvTALE* ailesi üyelerine ilişkin bilgileri içeren katalog (devam)

Gen İsimleri	<i>P. vulgaris</i> Genomik Veri tabanı Kimliği	<i>P. vulgaris</i> genomu üzerindeki fiziksel konumu			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlık (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararlı ya da kararsız	Alifatik İndeks	GRAVY	NCBI Accession Numarası
		Kromozom	Başlangıç pozisyonu (bp)	Bitiş pozisyonu (bp)								
PvTALE-24	Phvul.008G114300.1.v2.1	8	13367165	13373327	583	6,9 2	64784.67	45.76	kararsız	73.91	-0.548	XP_007140461.1
PvTALE-25	Phvul.008G212100.1.v2.1	8	56038144	56042705	303	6,7 2	34809.65	41.32	kararsız	66.67	-0.666	XP_007141628.1
PvTALE-26	Phvul.009G004801.1.v2.1	9	864844	866980	385	6,1 2	42435.44	35.77	kararlı	68.10	-0.529	XP_007135942.1
PvTALE-27	Phvul.009G060400.1.v2.1	9	11028917	11033808	518	5,8 1	58337.29	44.90	kararsız	73.96	-0.621	XP_007136630.1
PvTALE-28	Phvul.009G060500.1.v2.1	9	11035125	11037662	422	6,2 3	47463.78	48.24	kararsız	81.85	-0.415	XP_007136632.1
PvTALE-29	Phvul.009G077100.1.v2.1	9	13001459	13004978	561	5,9 1	62509.35	50.24	kararsız	81.27	-0.371	XP_007136819.1
PvTALE-30	Phvul.009G090500.3.v2.1	9	14537220	14541202	470	5,9 8	52754.12	41.14	kararsız	78.09	-0.607	XP_007136985.1
PvTALE-31	Phvul.009G176750.1.v2.1	9	26285148	26295693	295	6,0 7	33700.15	34.74	kararlı	72.07	-0.643	XP_007138056.1
PvTALE-32	Phvul.009G209500.1.v2.1	9	31707622	31713542	363	5,4 3	40978.58	55.82	kararsız	70.96	-0.777	XP_007138444.1
PvTALE-33	Phvul.010G011900.1.v2.1	10	1529445	1534930	600	6,4 5	66159.90	48.67	kararsız	71.30	-0.525	XP_007134014.1
PvTALE-34	Phvul.011G082200.1.v2.1	11	7654972	7661970	744	6,4 2	82211.47	48.38	kararsız	64.38	-0.634	XP_007132286.1
PvTALE-35	Phvul.011G099100.1.v2.1	11	10442746	10447885	733	7,2 4	79675.34	45.13	kararsız	64.17	-0.642	XP_007132496.1

Hücre içi yerleşim tahminlerine göre, 35 adet PvTALE proteini arasında 34 tanesinin esas olarak nükleer bölgede bulunduğu belirlenmiştir. Sadece PvTALE12 proteini mitokondride yerleşim göstermektedir (Şekil 4.1).

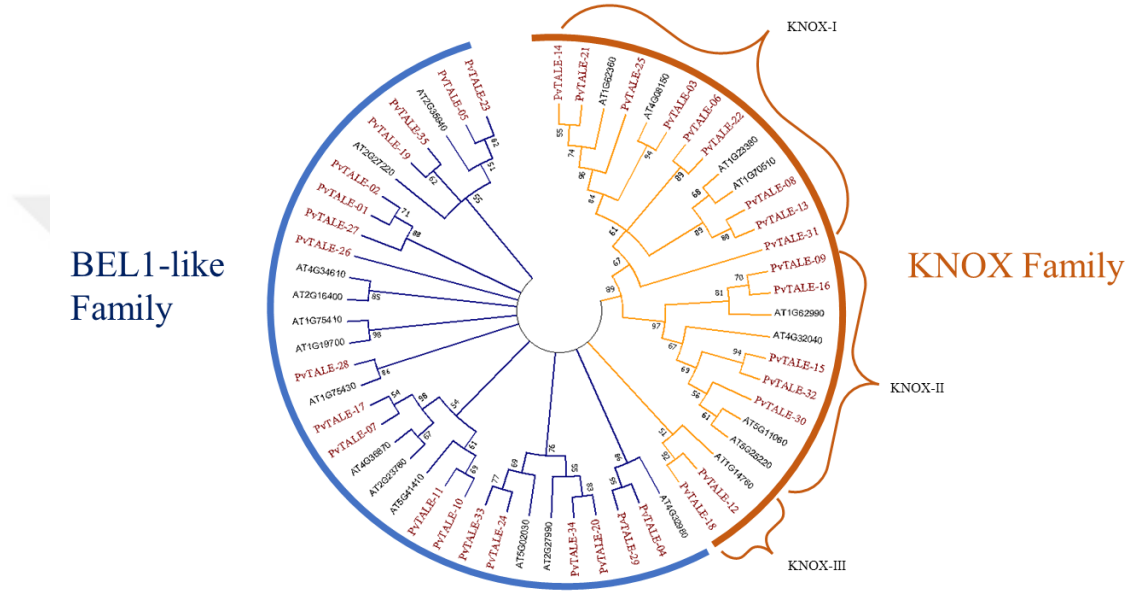


Şekil 4.1 PvTALE proteinlerinin hücre içi yerleşimlerinin ısı haritası ile gösterimi

4.2 PvTALE Üyelerinin Filogenetik Analizi ve Sınıflandırılması

Fasulye genomunda bulunan 35 adet TALE proteinine ve *Arabidopsis thaliana*'daki 22 adet TALE proteinine ait peptit sekansları kullanılarak MEGA (sürüm 7.0) yazılımı ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenik ağaç oluşturulurken Maximum Likelihood (ML) yöntemi ile 1000 bootstrap değeri seçilmiştir. PvTALE proteinleri ve *Arabidopsis thaliana* 'daki toplam 57 adet TALE proteininin KNOX ve BELL1-like olmak üzere iki alt domaine ayrıldığı belirlenmiştir. Ek olarak, KNOX ailesinin de kendi içinde KNOX-

I, KNOX-II, KNOX-III gruplarına ayrıldığı gözlenmiştir. *P. vulgaris*'te KNOX ailesine ait 16, *A. thaliana*'da ise 9 adet üye bulunmaktadır. BELL1-like ailesine ait 19 üye, *A. thaliana*'da ise 13 adet üye bulunmaktadır. Şekil 4.2 'de *P. vulgaris* ve *A. thaliana*'dan 57 TALE proteininin peptit dizilerine dayanan filogenetik ağaç, PvTALE üyeleri kırmızı renkte, *Arabidopsis thaliana* üyelerinin ise siyah renkte gösterimi ile kategorize edilerek verilmiştir.



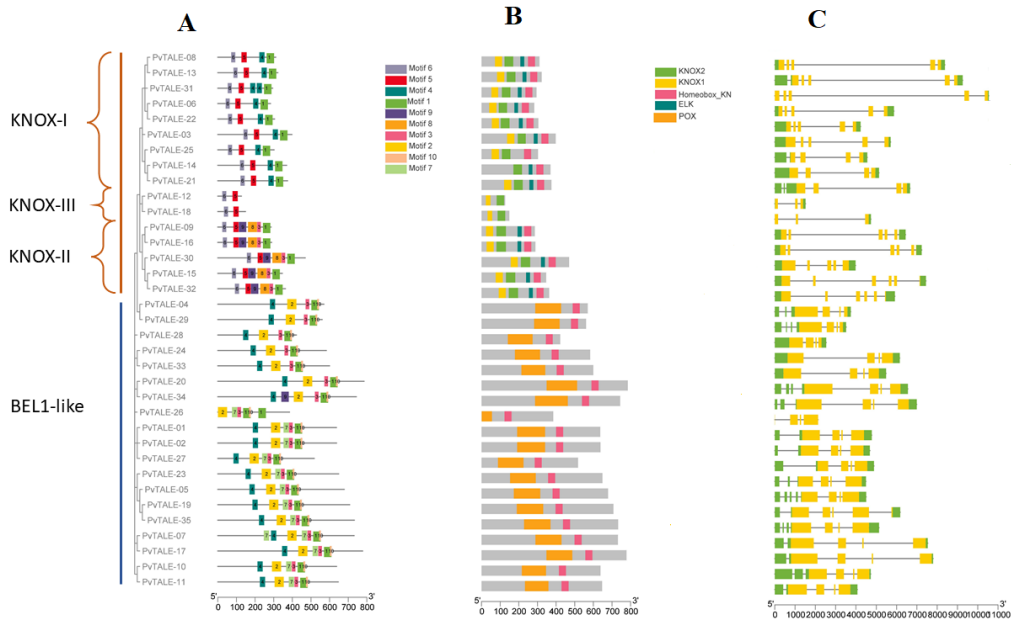
Şekil 4.2 *P. vulgaris* ve *A. thaliana*'dan 57 TALE proteininin peptit dizilerine dayanan filogenetik ağaç. Filogenetik ağaçtaki Bell-like domainine sahip olan üyelerin çizgileri mavi renk, KNOX domainine sahip üyeler ise turuncu renk ile gösterilmiştir. Fasulyedeki TALE üyelerinin isimleri kırmızı, *Arabidopsis thaliana*'daki üyeler ise siyah olarak renklendirilmiştir. Ayrıca ağaçtaki rakamlar bootstrap değerlerini göstermektedir.

4.3 PvTALE Üyelerinin Gen Yapıları ve Korunmuş Motif Analizi

Phytozome 13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) veri tabanı üzerinden PvTALE proteinlerine ait sekanslar indirilmiştir. Ardından MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) (Bailey vd. 2009) çevrimiçi analiz aracı kullanılarak PvTALE proteinlerine ait korunmuş motifler belirlenmiştir. Buradan elde edilen sonuçlara göre Şekil 4.2'de alt ailelere ayrılmış olan PvTALE aile üyelerinin her bir aile/alt ailenin kendi içinde motif benzerlikleri gösterdiği görülmüştür. BEL1-like ailesinin motif 1, 2, 3 ve 10'u içerdiği, ancak KNOX ailesi üyelerinin tamamının Motif

5 ve 6'yı içerdği bulunmuştur. KNOX-II alt ailesinde motif 1, 3, 5, 6, 8 ve 9, KNOX-I alt ailesinde motif 1, 4, 5, 6 ve KNOX-III alt ailesinde motif 5 ve 6'nın ayırt edici motifler olduğu belirlenmiştir. Domain analizi sonucunda BEL1- like alt ailesinde POX ve Homeodomain_KN domainleri, KNOX ailesinde (KNOX-I, KNOX-II ve KNOX-III) ise KNOX1, KNOX2, ELK ve Homeodomain_KN domainleri saptanmıştır (Şekil 4.3).

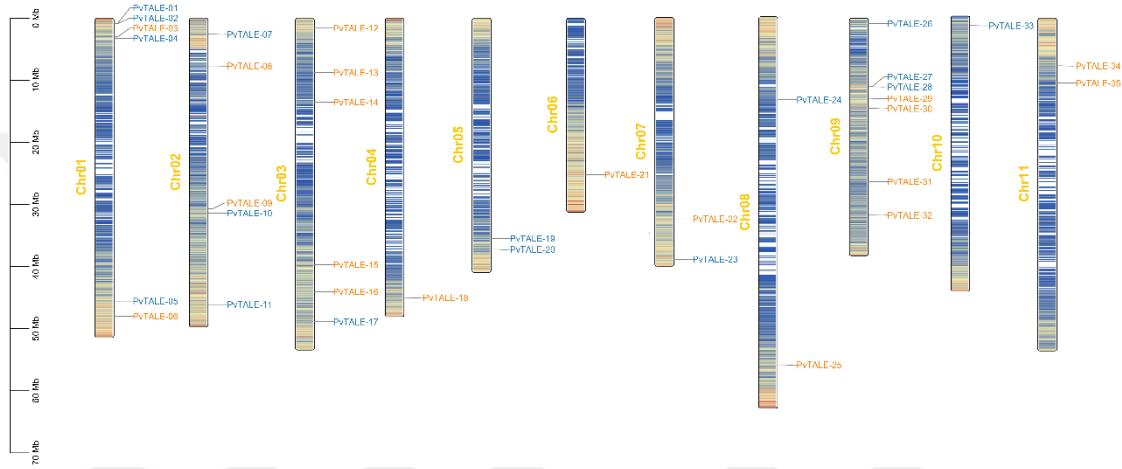
PvTALE gen ailesi üyelerinin gen yapısı, fonksiyonu ve evrimsel ilişkileri 'Gene Structure Display Server' veri tabanı kullanılarak çıkarılmıştır (Hu, Jin et al. 2015). Elde edilen sonuçlara göre, *PvTALE* genlerinin 4-6 arasında ekzon, 4-7 arasında intron içerdği belirlenmiştir. Aynı alt aileye mensup *PvTALE* genlerinin benzer gen yapıları sergilediği tespit edilmiştir. Özellikle, BEL1- like alt ailesindeki tüm genlerin dört ekzon içerdği görülmüştür (Şekil 4.3). Ardından Motif finder, NCBI Conserved domain search ve JGI Phytosome 13, Gene Structure Display Surver 2.0 ve MEME V5.4.1 veritabanlarından gelen bilgiler TBtools aracılığıyla düzenlenerek görselleştirilmiştir (Şekil 4.3) (Chen vd. 2018).



Şekil 4.3 *PvTALE* gen ailesinin motifleri, korunmuş alanları ve gen yapısı. *PvTALE* genlerinin Rectangular formda filogenetik ağacı oluşturulmuştur. Tüm şekillerde, genlerin yönü 5'-3'tür. A. *PvTALE* proteinlerinin motifleri, B. *PvTALE* genlerinin korunmuş alanları, C. *PvTALE* genlerinin CDS-UTR-intron yapısı, çizgi ile gösterilen kısımlar intronlar, sarı kısımlar ise ekzonlardır.

4.4 Kromozomal Konum Analizi

PvTALE genlerinin *P. vulgaris*'e ait 11 kromozom üzerinde dağılımı yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir. Kromozom sıcaklık haritasında kromozomlar üzerinde yerleşimine göre genlerin yoğunluğu gösterilmiştir. Chr09'un en fazla sayıda *PvTALE* geni (yedi gen) içeren ve Chr04, Chr08 ve Chr10'unda en az sayıda *PvTALE* geni (Her kromozomda bir gen) içeren kromozomlar olduğu görülmüştür (Şekil 4.4.).



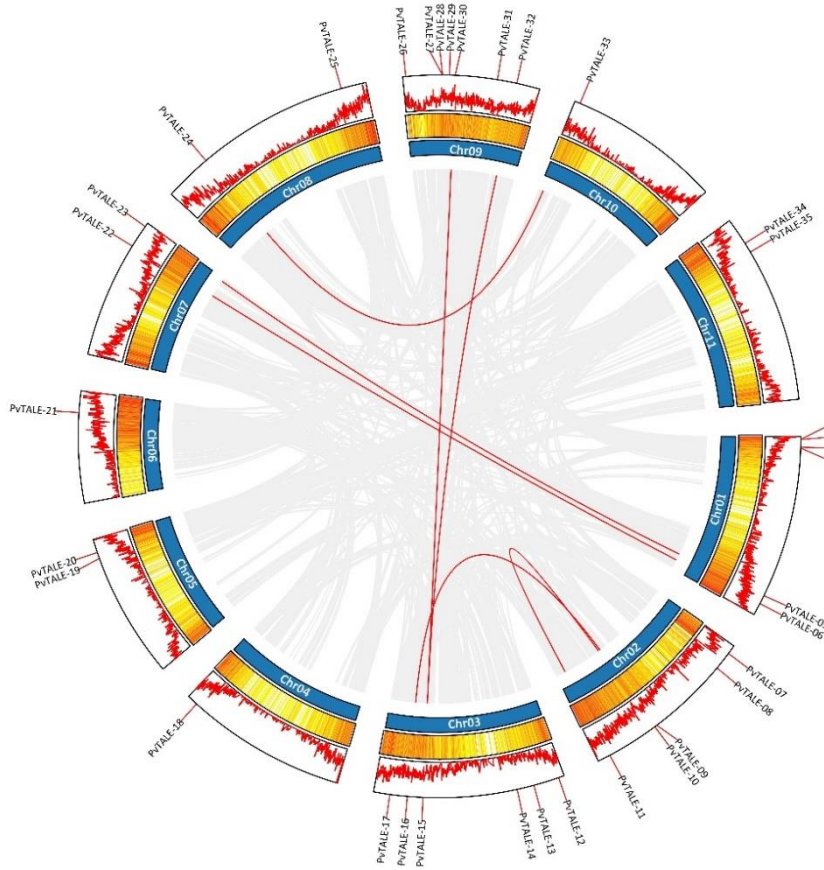
Şekil 4.4 *PvTALE* genlerinin 11 adet *P. vulgaris* kromozomu üzerindeki dağılımı. Verilen ölçek Megabaz (Mb) cinsindendir. KNOX ve BEL1- like alt ailelere ait genlerin isimleri sırasıyla turuncu ve mavi renklerle gösterilmiştir.

4.5 *PvTALE* Gen Ailesinin Duplikasyon ve Sinteni Analizi

Tandem ve segmental duplikasyonlar gen ailelerinin oluşumunda büyük önem taşımaktadır (Cannon vd. 2004). Holub ve Eric'e (2001) göre, tandem duplikasyonlar aynı kromozom üzerinde 200 kb'den daha küçük alanlarda gen kümelenmesi sonucu meydana gelmektedir. Bu tez çalışmasında, *PvTALE-10* ve *PvTALE-11* genleri arasında sadece bir adet tandem duplikasyon olayı (Chr02) tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

Segmental duplikasyonlar, gen kümelerinin farklı kromozomlar arasındaki duplikasyonudur (Leister 2004, Panchy vd. 2016). Bu çalışmada, altı adet segmental duplikasyona uğramış gen çifti (*PvTALE-24* / *PvTALE-33*; *PvTALE-16* / *PvTALE-09*; *PvTALE-15* / *PvTALE-32*; *PvTALE-15* / *PvTALE-29*; *PvTALE-22* / *PvTALE-06* ve

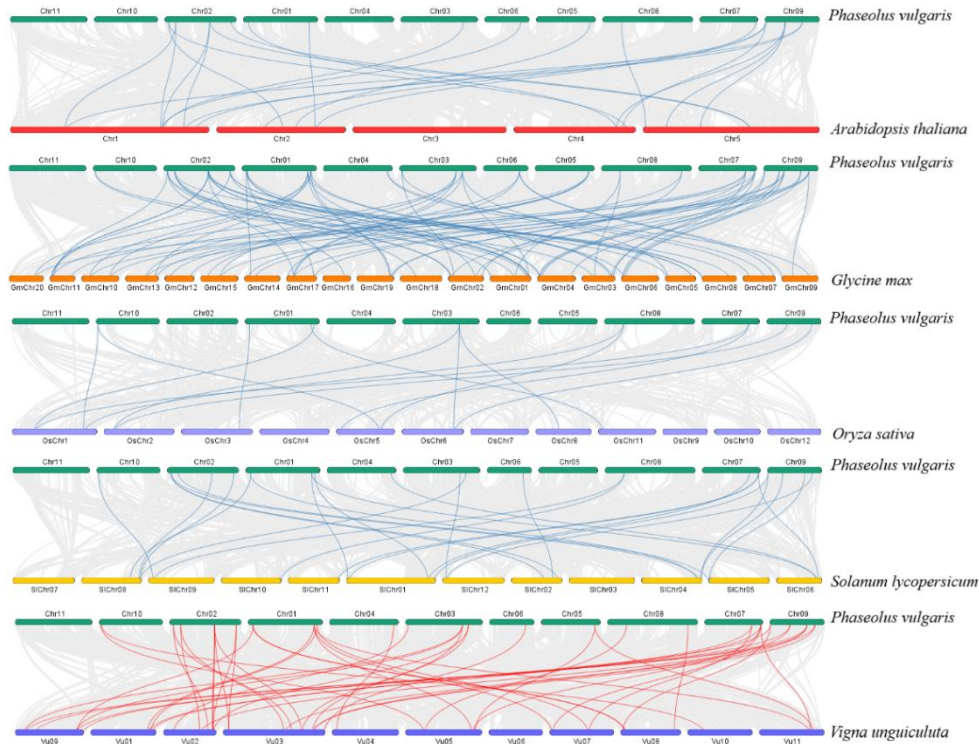
PvTALE-23 / PvTALE-05) tespit edilmiştir (Şekil 4.5). Tandem duplikasyonların aksine segmental duplikasyon olaylarının *PvTALE* gen ailesinin büyümesinden birincil olarak sorumlu olduğu bulunmuştur. Duplikasyon sonuçlarının gösterimi Şekil 4.5'te Circos grafiğinde sunulmuştur.



Şekil 4.5 *P. vulgaris*' te *TALE* genleri arasındaki segmental-tandem duplikasyon ilişkisinin Circos grafiğinde gösterimi. Fasulye genomundaki kolineer çizgiler gri renkte sunulmuştur ve kırmızı çizgiler ise genler arasındaki duplikasyon olaylarını göstermektedir. Fasulye genomunun kromozomdaki gen yoğunluğu dalga grafiği ve ısı grafiği ile ifade edilmiştir.

Üç dikot (*Arabidopsis thaliana*, *Vigna unguiculata*, *Solanum lycopersicum*) ve iki monokot (*Glycine max*, *Oryza sativa*) bitki türüne ait *TALE* genleri, *TALE* üyelerinin fasulye ve bahsedilen bu türler arasındaki evrimsel ilişkilerini araştırmak için kullanılmıştır. Buna göre, *A. thaliana*, *V. unguiculata*, *S. lycopersicum*, *G. max* ve *O. sativa*'da sırasıyla toplam 23, 48, 27, 65 ve 14 adet *PvTALE* ortolog geni tanımlanmıştır (Şekil 4.6).

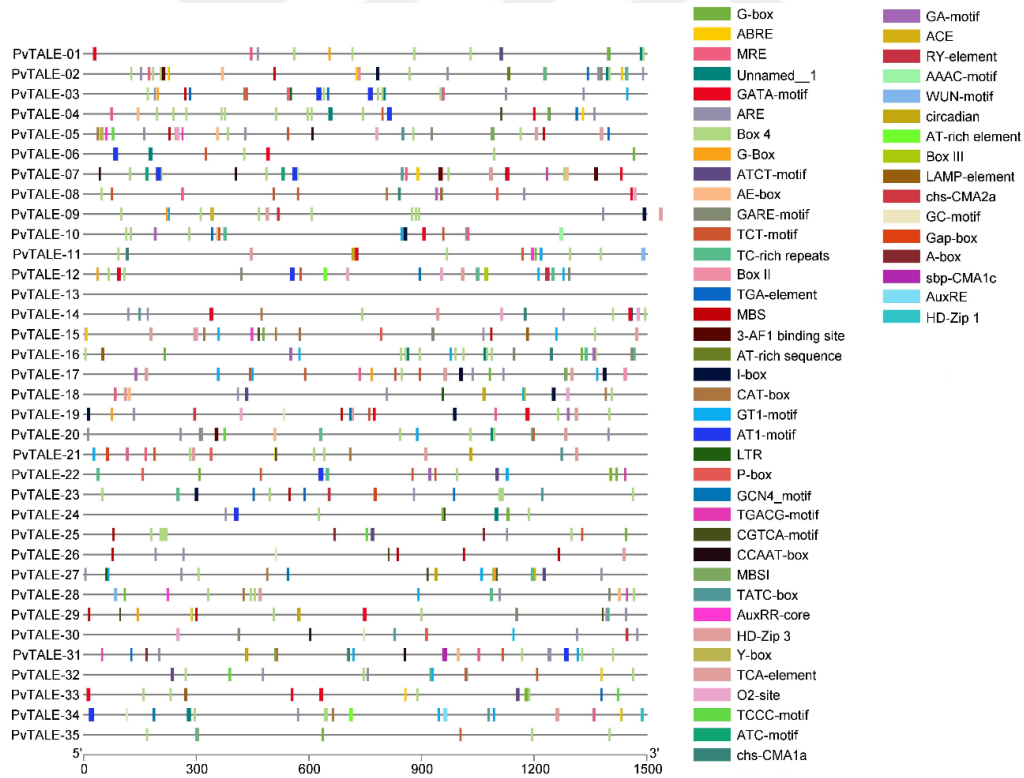
P. vulgaris ve çalışılan diğer beş türdeki *TALE* ortolog gen çiftlerinin Ka/Ks (eşanlamlı olmayan ikame/eşanlamlı ikame) oranları, *TALE* gen ailesini etkileyen evrimsel olaylara ışık tutmak için TBtools ile tahmin edilmiştir. *G. max*-*P. vulgaris* arasındaki ve *P. vulgaris*-*V. unguiculata* arasındaki ortolog gen çiftleri için elde edilen Ka/Ks oranlarının 1'den küçük olduğu belirlenmiştir. *P. vulgaris*-*S. lycopersicum* arasındaki ortolog gen çiftlerinden 7 tanesi için Ka/Ks değeri elde edilememiş olup kalan diğer çiftler için bu değerin yine 1'den küçük olduğu tespit edilmiştir. *P. vulgaris*-*O. sativa* arasında görülen ortolog gen çiftleri arasında sadece 4 gen çiftinde Ka/Ks oranının 1'den küçük olduğu belirlenmiş iken diğer ortolog gen çiftleri için sonuç elde edilememiştir. Son olarak ise *P. vulgaris*-*A. thaliana* arasında tespit edilen ortolog genlerden 11 tanesinin Ka/Ks oranının 1'den küçük olduğu görülürken, kalan ortolog çiftler için sonuç alınamamıştır. Çıkmayan sonuçlar ise NaN olarak ifade edilmiştir. Elde edilen Ka/Ks değerlerinin 1'den küçük olması *TALE* genlerinin evrimsel süreçte yoğun negatif seçilim baskısına maruz kaldığı düşünülmektedir (Choudhuri 2014).



Şekil 4.6 *TALE* üyelerinin fasulye ve seçilen diğer 5 bitki türü arasındaki sentenik ilişkileri. Arka planda gri renkteki alanlar fasulye ve seçilen diğer 5 türdeki kollinear alanları gösterirken mavi-kırmızı çizgiler sentenik ortolog gen çiftlerini göstermektedir.

4.6 *PvTALE* Genlerinde Cis-element Analizi

Cis elementleri, gen ekspresyonunun transkripsiyonel düzenlenmesinde önemli roller oynamaktadır (Bilal vd. 2016, Wang vd. 2017). Bu nedenle, *PvTALE* gen ailesinin promotör bölgesi, cis-elementleri tanımlamak için her genin 1500 yukarı akış dizisi kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuç olarak, *PvTALE* gen ailesinin promotör bölgesinde giberellin duyarlılığı, ışığa duyarlılık, absisik asit duyarlılığı, kuraklık indüklenebilirliği, oksin duyarlılığı, savunma ve stres tepkisi, tohuma özgü düzenleme, MeJA duyarlılığı, sirkadiyen kontrol, anaerobik indüksiyon ve salisik asit duyarlılığı ile ilişkili cis elementlerin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Buradan elde edilen veriler sonucunda *PvTALE* gen ailesinin bitkide abiyotik stres ve çeşitli hormonlara karşı verilen yanıtlar gibi çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynayabileceği anlaşılmıştır. Şekil 4.7’de promotör bölgesinde bulunan cis-elementler şematik olarak gösterilmiştir.

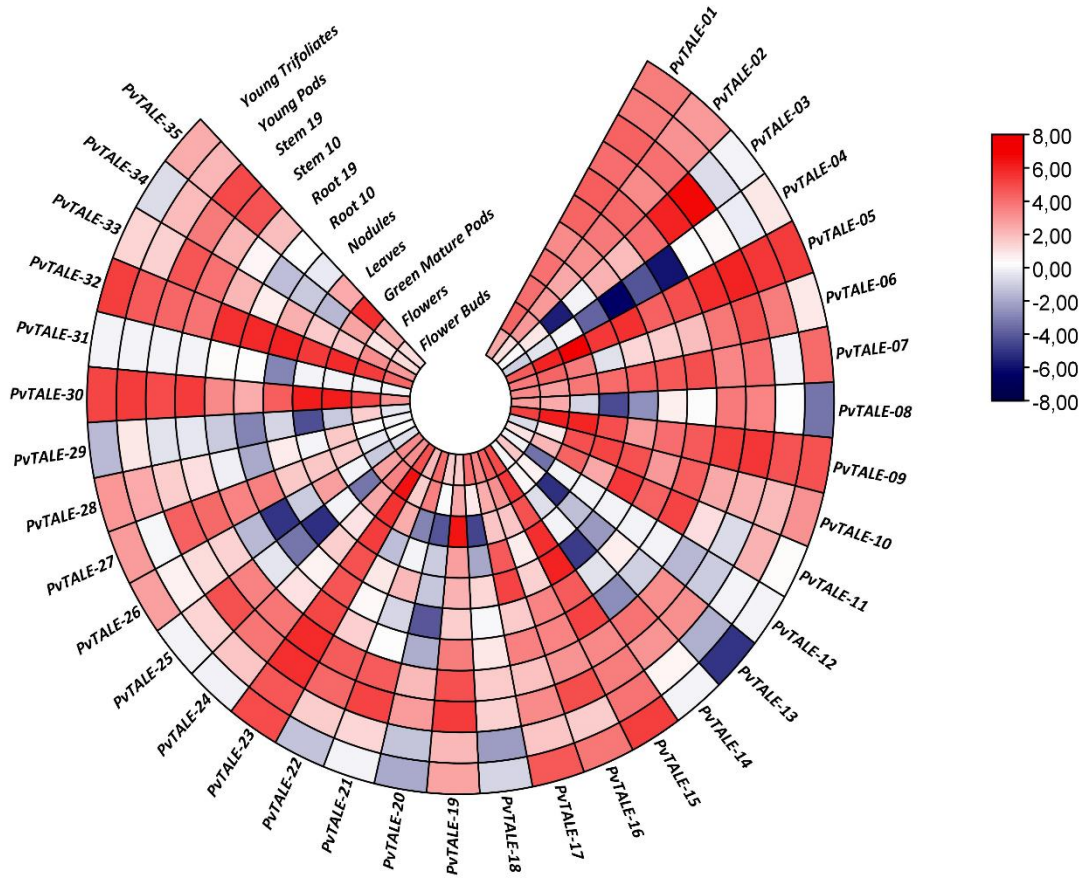


Şekil 4.7 *PvTALE* genlerinin 1500 upstream bölgesinde bulunan cis-elementlerin gösterimi

4.7 *PvTALE* Gen Ailesinin mRNA Analizi

Çiçek tomurcukları, çiçekler, nodüller ve köklerdeki *PvTALE* genlerinin mRNA seviyeleri için Phytozome 13 veri tabanı kullanılmıştır. Elde edilen FKPM (Milyon eşlenmiş okuma başına transkriptin Kilobaz Başına Fragmanları) değerleri daha sonra TBtools kullanılarak ısı haritası oluşturmak üzere önce log₂'ye dönüştürülmüştür (Çizelge 1.6). Çizilen ısı haritasına göre, fasulyenin farklı dokularında *PvTALE* genlerinin değişen seviyelerde ifade edildiği görülmüştür. *PvTALE* genleri genellikle çeşitli alt ailelerde çeşitli ifade modelleri sergilemektedir. KNOX-III alt grubundan *PvTALE-12* ve *PvTALE-18* genleri en düşük seviyede ifade gösterirken, tüm KNOX-II üyeleri *P. vulgaris*'in neredeyse tüm dokularında yüksek ifade seviyeleri ortaya koymaktadır. KNOX-I alt grubunun üyeleri ise hemen hemen tüm dokularda nispeten düşük ifade seviyesi sergilemektedir (Şekil 4.8).

BEL-1 like alt ailedeki aynı klada ait *PvTALE* genlerinde de benzer ifade kalıpları ve doku spesifik ekspresyon görülmüştür. Örneğin, *PvTALE-4/PvTALE-29*, *PvTALE-24/PvTALE-33*, *PvTALE-01/02/27*, *PvTALE-05/19/35*, *PvTALE-07/17* ve *PvTALE-10/11* benzer ifade düzeylerine sahip filogenetik ağaca göre aynı kladda yer alan gen çiftleridir (Şekil 4.3 ve 4.8).

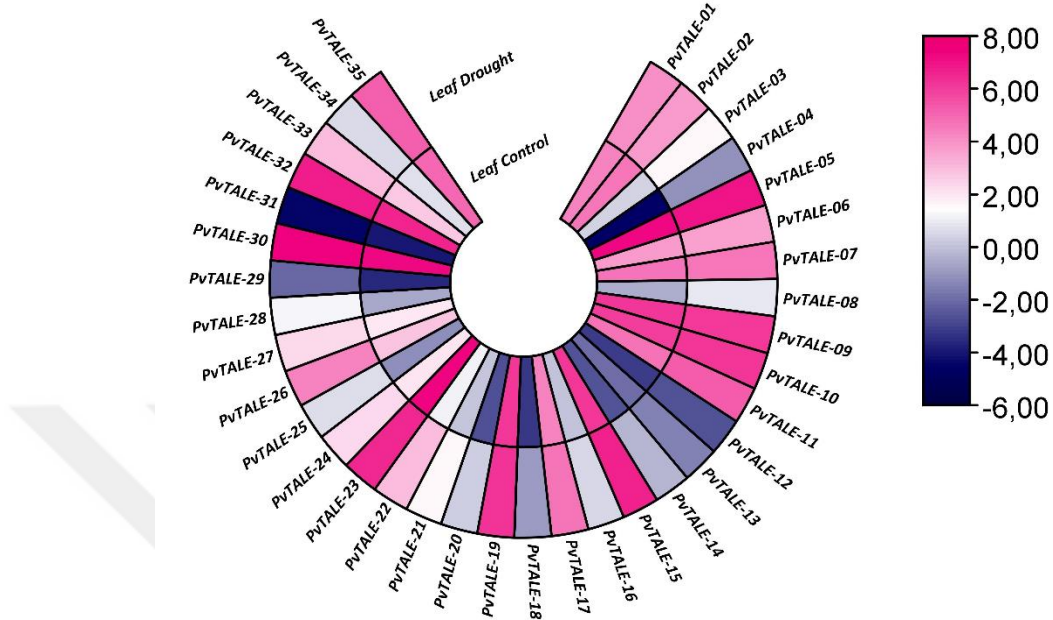


Şekil 4.8 Fasulyede çeşitli doku ve organlarda *PvTALE* genlerinin ifade seviyesinin gösterimi

Ayrıca materyal-metot bölümünde de belirtildiği üzere kuraklık RNA-seq datalarından elde edilen verilere göre *PvTALE* genlerinin ifade seviyelerini modellemek için ısı grafiği oluşturulmuştur (Şekil 4.9). Sonuç olarak, KNOX-II alt grubuna dahil genlerin kuraklık stresi altındaki ifade seviyesinin arttığı, KNOX-III alt grubuna dahil genlerin ise nispeten düşük seviyede ifade olduğu gözlenmiştir. KNOX-I alt grubunda, *PvTALE-03, 06, 21, 22* genleri nispeten yüksek ifade düzeyleri sergilerken, *PvTALE-08, 13, 14, 31, 25* genleri kuraklık stresine yanıt olarak düşük seviyede ifade olmaktadır (Şekil 4.9).

BEL1-like alt ailesinden *PvTALE-01, 02, 05, 07, 10, 11, 17, 19, 23, 24, 26, 27, 33, 35* genlerinin ifadesi artarken bu gruptan sadece *PvTALE-04, 20, 28, 29, 34* genleri kuraklık stresine yanıt olarak düşük seviyede ifade edilmektedir. Genel olarak, çoğu

PvTALE geninin ifade seviyesinin kuraklık stresine bağılı olarak değıştiğı tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

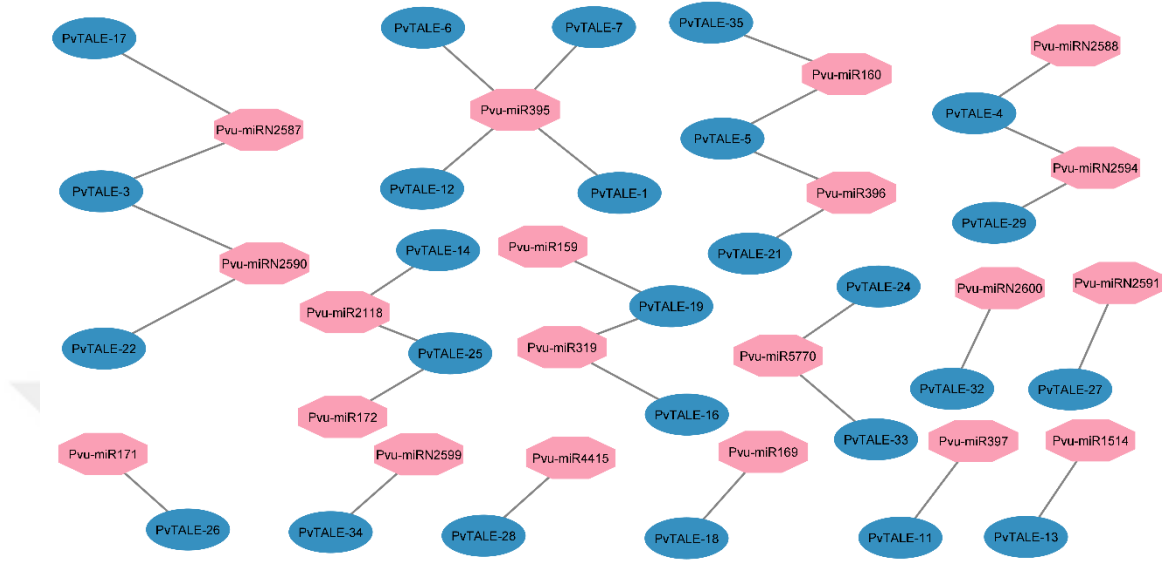


Şekil 4.9 *PvTALE* genlerinin kuraklık stresi altındaki gen ifadeleri

4.8 *PvTALE* Gen Ailesinin miRNA Analizi

Fasulyedeki olgun-miRNA dizileri PmiREN çevrimiçi aracı kullanılarak indirilmiştir ve psRNATarget çevrimiçi aracı kullanılarak *PvTALE* genlerini hedefleyen miRNA'lar analiz edilmiştir. Cytoscape v3.9.1 programı kullanarak elde edilen veriler sonucunda miRNalar ile *PvTALE* genleri arasındaki ilişki görselleştirilmiştir (Şekil 4.10). Elde edilen sonuçlar neticesinde, toplam 20 farklı miRNA'nın *PvTALE* genlerini hedef aldığı bulunmuştur. Bu miRNA'lar ve hedefledikleri genler; Pvu-miR159 (*PvTALE*-19), Pvu-miR160 (*PvTALE*-05, *PvTALE*-35), Pvu-miR169 (*PvTALE*-18), Pvu-miR171 (*PvTALE*-26), Pvu-miR172 (*PvTALE*-25), Pvu-miR319 (*PvTALE*-16, *PvTALE*-19), Pvu-miR395 (*PvTALE*-01, *PvTALE*-06, *PvTALE*-07, *PvTALE*-12), Pvu-miR396 (*PvTALE*-05, *PvTALE*-21), Pvu-miR397 (*PvTALE*-11), Pvu-miR1514 (*PvTALE*-13), Pvu-miR2118 (*PvTALE*-14, *PvTALE*-25), Pvu-miRN2587 (*PvTALE*-03, *PvTALE*-17), Pvu-miRN2588 (*PvTALE*-04), Pvu-miRN2590 (*PvTALE*-22), Pvu-miRN2591 (*PvTALE*-27), Pvu-miRN2594 (*PvTALE*-29), Pvu-miRN2600 (*PvTALE*-32), Pvu-miRN2599 (*PvTALE*-34),

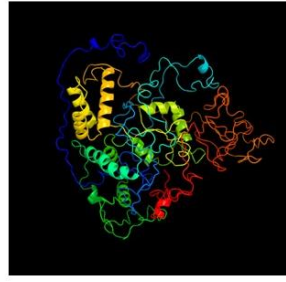
Pvu-miR4415 (*PvTALE-28*) ve Pvu-miR5770 (*PvTALE-24*, *PvTALE-33*) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



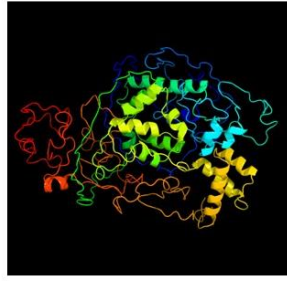
Şekil 4.10 *PvTALE* gen ailesinin üyeleri ve ilişkili oldukları miRNA'lar. Pembe renkteki kutucuklar miRNA'ları, mavi kutucuklar ise genleri göstermektedir

4.9 *PvTALE* Gen Ailesinin Üç Boyutlu Protein Modellemesi

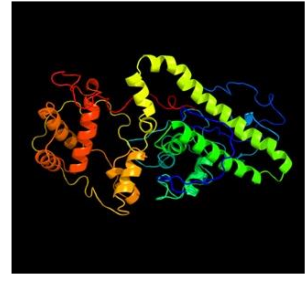
Phaseolus vulgaris L. protein sekansları Phytozome 13 veri tabanı aracılığıyla indirilmiştir. Ardından Phyre2 çevrimiçi aracı kullanılarak *PvTALE* gen ailesinin peptit sekansları analiz edilmiştir. Proteinlerin 3 Boyutlu yapısı oluşturulurken intensive modu tercih edilmiştir. Analiz sonucunda proteinlerde %90'dan yüksek güvenilirlikte sonuç alınmıştır (Şekil 4).



PvTALE-01



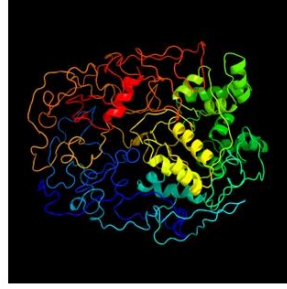
PvTALE-02



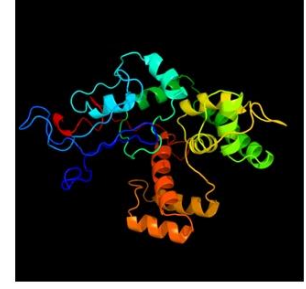
PvTALE-03



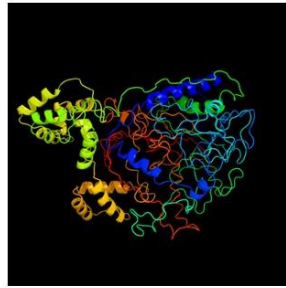
PvTALE-04



PvTALE-05



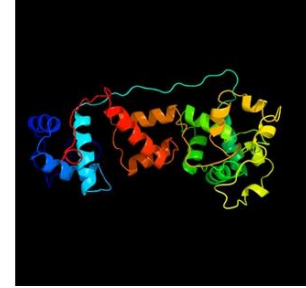
PvTALE-06



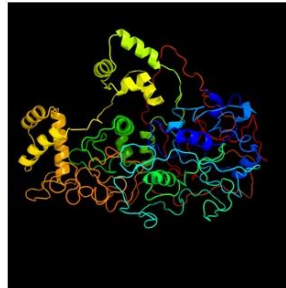
PvTALE-07



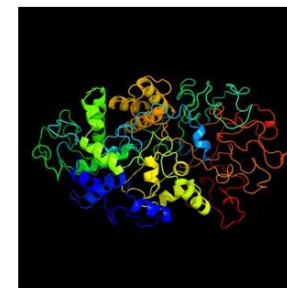
PvTALE-08



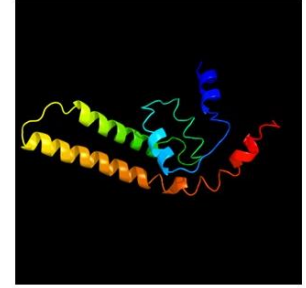
PvTALE-09



PvTALE-10

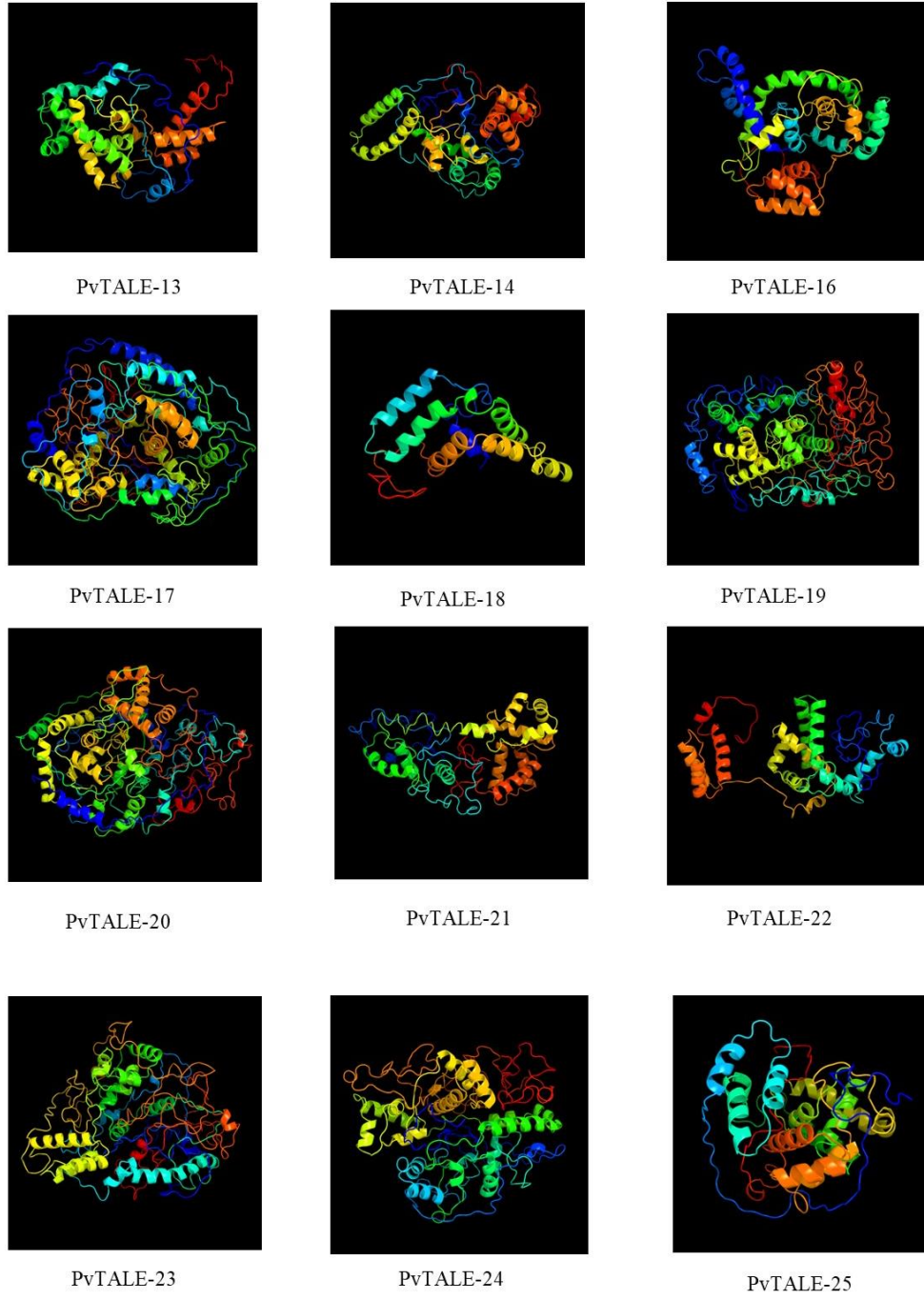


PvTALE-11

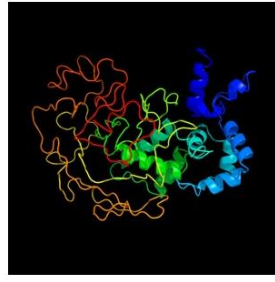


PvTALE-12

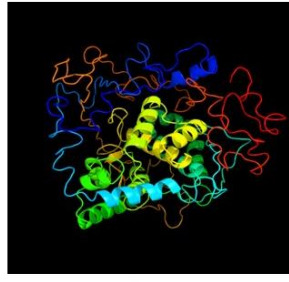
Şekil 4.11 *PvTALE* genlerinin 3 boyutlu protein homologileri



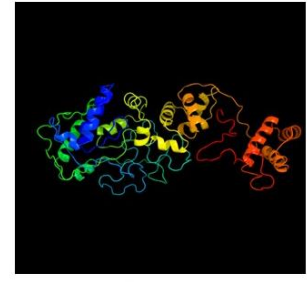
Şekil 4.11 *PvTALE* genlerinin 3 boyutlu protein homolojileri (devam)



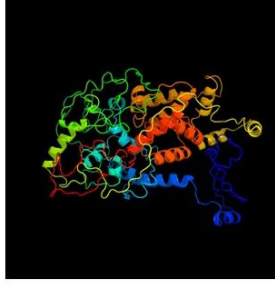
PvTALE-26



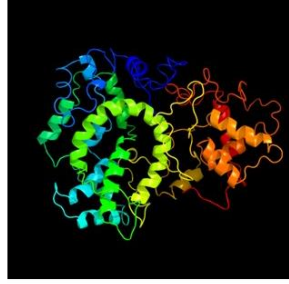
PvTALE-27



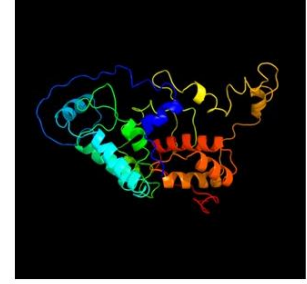
PvTALE-28



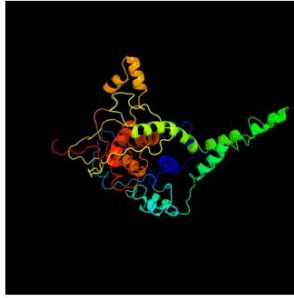
PvTALE-29



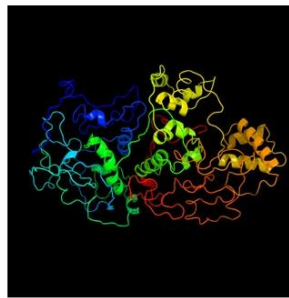
PvTALE-30



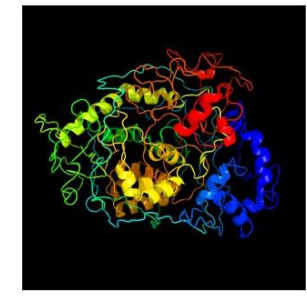
PvTALE-31



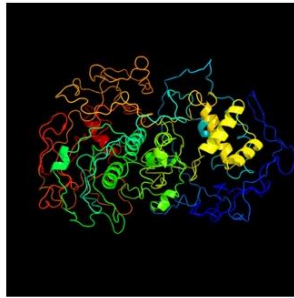
PvTALE-32



PvTALE-33



PvTALE-34

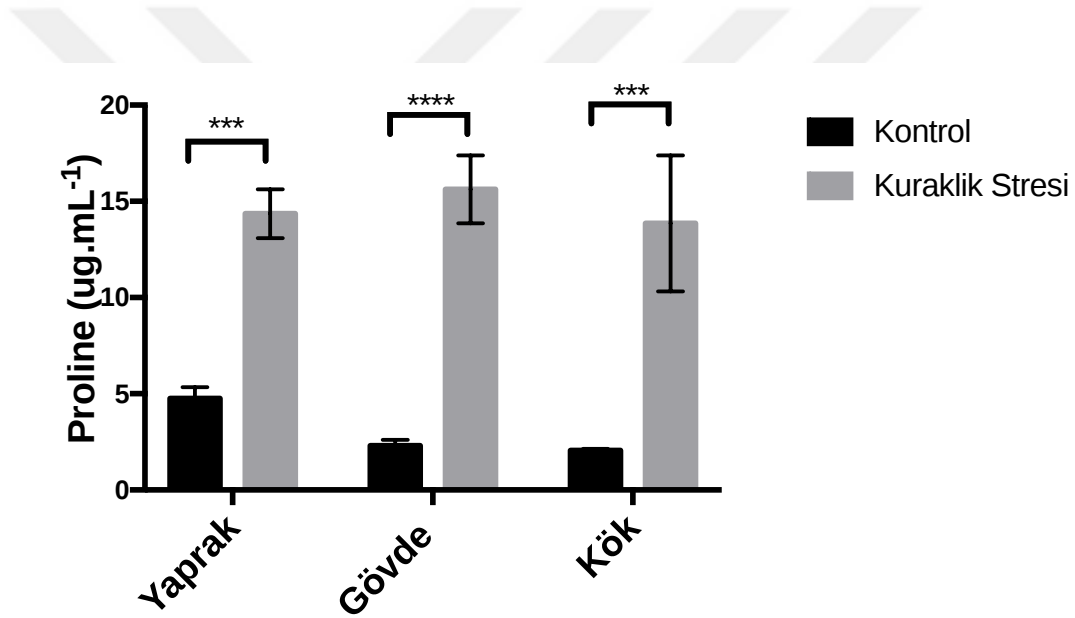


PvTALE-35

Şekil 4.11 *PvTALE* genlerinin 3 boyutlu protein homolojileri (devam)

4.10 Prolin Aktivitesi

Yüksek bitkilerde prolin birikimi, biyotik veya abiyotik stres koşullarının neden olduğu bozulmuş fizyolojik durumun bir işaretidir (Hosseini et al. 2022). Stres koşullarına yanıt olarak prolin seviyesindeki değişiklikleri belirlemek amacıyla yapılan prolin analizinde kuraklık stresi uygulanan fasulye bitkisinde kontrol grubuna göre yaprakta, gövdede ve kökte anlamlı seviyede artışlar belirlenmiştir. Daha sonra bu elde edilen verilere, istatistik analizi Graphpad Prism 9.0.0.121 yazılımı ile Multiple t-testine uygulanmış ve ardından grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 Kuraklık stresi koşulları altında *P. vulgaris*' in yaprak, gövde ve köklerindeki prolin seviyeleri. Grafikteki yıldız işaretleri (***P < 0.0002, ****P < 0.0001 ilgili genler) verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.

4.11 RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Bitki yaprak, gövde ve kök örneklerinden FavorPrep™ Plant Total RNA Mini Kit (Biotech Corp., Ping-Tung, Taiwan) ile toplam RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen RNA'ların NanoDrop Lite (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE,

ABD) spektrofotometre kullanılarak saflık ve kaliteleri test edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2 Nanodrop spektrofotometre RNA ölçüm sonuçları

Örnekler	Saflık Miktarı (A260/ A280)	Örnek Miktarı (ng/µl)
RNA-1 (Yaprak Stres)	2.20	1032
RNA-2 (Yaprak Stres)	2.19	971
RNA-3 (Yaprak Stres)	2.19	1114
RNA-4 (Yaprak kontrol)	2.21	1222,5
RNA-5 (Yaprak kontrol)	2.20	1164,1
RNA-6 (Yaprak kontrol)	2.14	226
RNA-7 (Gövde Stres)	2.12	118,6
RNA-8 (Gövde Stres)	2.11	227,5
RNA-9 (Gövde Stres)	2.22	1306,4
RNA-10 (Gövde Kontrol)	2.09	190,3
RNA-11 (Gövde Kontrol)	2.15	610,2
RNA-12 (Gövde Kontrol)	2.07	127,2
RNA-13 (Kök Stres)	2.15	147,7
RNA-14 (Kök Stres)	2.14	320
RNA-15 (Kök Stres)	2.14	353,3
RNA-16 (Kök Kontrol)	2.11	354,5
RNA-17 (Kök Kontrol)	2.10	328,7
RNA-18 (Kök Kontrol)	2.11	380,8

iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad) kullanılarak RNA’lardan cDNA sentezi yapılmıştır (Çizelge 4.3). Ardından elde edilen cDNA örnekleri 1/5 oranında seyreltilerek, cDNA ara stokları -20 dolaba kaldırılmıştır.

Çizelge 4.3 cDNA saflık ve miktar sonuçları

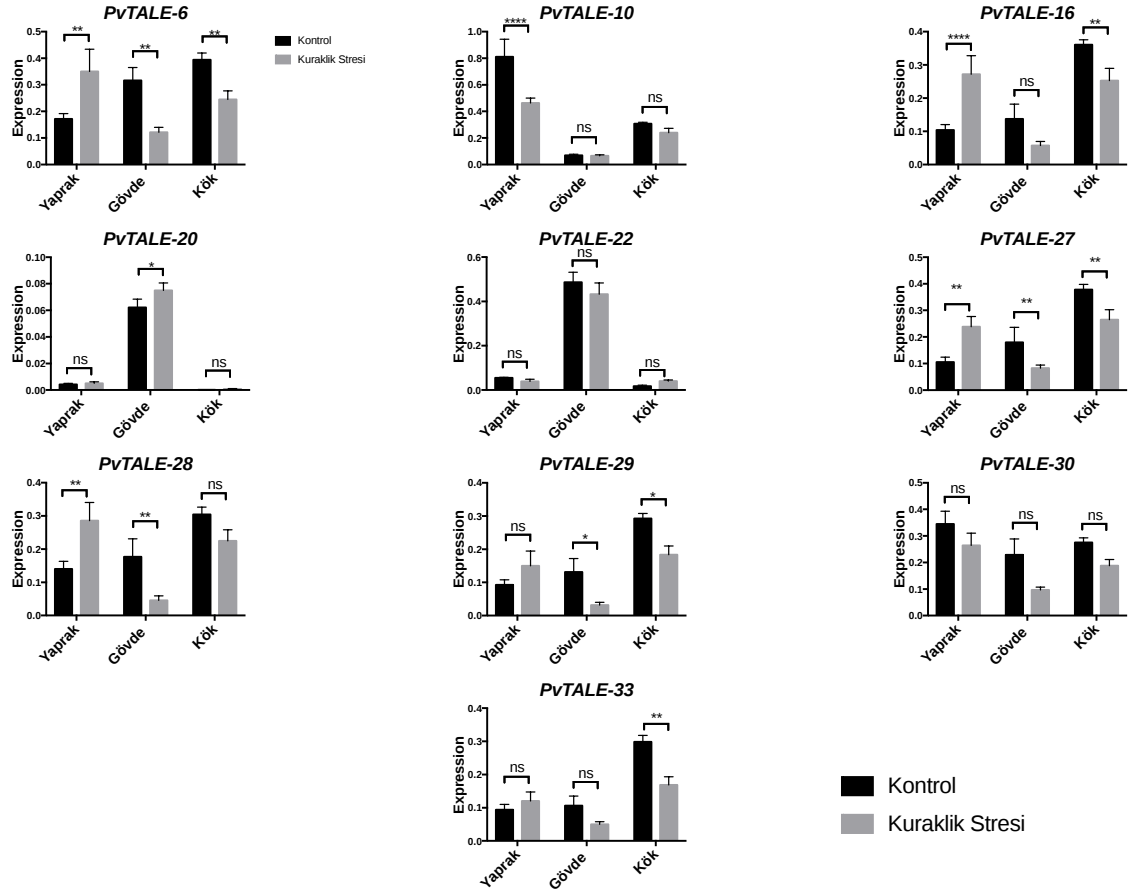
Örnekler	Saflık (A260/ A280)	Miktar (ng/μl)
cDNA-1 (Yaprak Stres)	1.90	1136.4
cDNA-2 (Yaprak Stres)	1.89	1091.1
cDNA-3 (Yaprak Stres)	1.90	1079.6
cDNA-4 (Yaprak kontrol)	1.90	1150.7
cDNA-5 (Yaprak kontrol)	1.90	1108.3
cDNA-6 (Yaprak kontrol)	1.91	1136.3
cDNA-7 (Gövde Stres)	1.89	1146.4
cDNA-8 (Gövde Stres)	1.90	1196.3
cDNA-9 (Gövde Stres)	1.90	1198.2
cDNA-10 (Gövde Kontrol)	1.89	1106.1
cDNA-11 (Gövde Kontrol)	1.90	1219.3
cDNA-12 (Gövde Kontrol)	1.90	1350.7
cDNA-13 (Kök Stres)	1.90	1260.4
cDNA-14 (Kök Stres)	1.90	1129.1
cDNA-15 (Kök Stres)	1.90	1044.3
cDNA-16 (Kök Kontrol)	1.91	1163.2
cDNA-17 (Kök Kontrol)	1.90	1210.8
cDNA-18 (Kök Kontrol)	1.89	1087.4

4.12 PvTALE Gen Ailesi Üyelerinin Gerçek Zamanlı PCR ile Analizi

RNA-seq verilerinin analizi sonucunda stres altındaki ifade seviyeleri kontrole göre yüksek olan ve stresle ilişkili cis-element ihtiva eden 10 adet *PvTALE* geni seçilmiş ve kuraklık stresi altındaki mRNA profilleri RT-qPCR analizi ile değerlendirilmiştir (Şekil 4.9). Seçilen bu genlerin dördü KNOX alt ailesinin (*PvTALE-06*, *PvTALE-16*, *PvTALE-22*, *PvTALE-30*) ve altısı BEL1- like alt ailesinin (*PvTALE-10*, *PvTALE-20*, *PvTALE-27*, *PvTALE-28*, *PvTALE-29*, *PvTALE-33*) üyeleridir. Bu genler için primer tasarımı yapılmış ve kuraklık stresi altında yaprak, gövde ve kök dokularından elde edilen

RNA’lardan sentezlenen cDNA’lar kalıp olarak kullanılarak RT-qPCR aracılığı ile mRNA ifade analizi gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, kuraklık stresi altında *PvTALE-06*, *PvTALE-16*, *PvTALE-27*, *PvTALE-28* ve *PvTALE-29* genlerinin yaprakta kontrole göre yukarı regüle olduğu, gövde ve kök dokularında ise aşağı regüle olduğu bulunmuştur. Ek olarak, *PvTALE-10* ve *PvTALE-30* genlerinin kuraklık stresi altında fasulyenin tüm dokularında aşağı regüle olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13). *PvTALE-20* geni ifadesinin kök dokusunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği, halbuki aynı koşullarda ilgili genin ifadesinde gövde dokusunda anlamlı bir düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir. *PvTALE-33* geninin yaprak ve gövdedeki ifade değişiklikleri istatistiksel olarak anlamsız bulunurken, kuraklık stresine yanıt olarak kök dokusunda ifadesinde önemli bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.13). Transkriptom verileriyle karşılaştırıldığında, seçilen *PvTALE* genlerinin ifade şekli *P. vulgaris* yapraklarında *PvTALE-10* ve *PvTALE-28* genleri dışında diğer tüm genler için neredeyse aynı olduğu görülmüştür (Şekil 4.9 ve 4.13). Sonuç olarak, kuraklık stresi altında fasulyenin çeşitli dokularında diferansiyel ekspresyon paternleri tespit edilmiştir. Bu tespit, kuraklık stresine tepki vermede *PvTALE* genlerinin potansiyel işlevlerine işaret etmektedir.



Şekil 4.13 *PvTALE* gen ailesinden BEL1-like ve KNOX domainlerine ait olan genlerin RT-qPCR aracılığı ile mRNA ifade analizi. Grafikteki yıldız işaretleri (* $P < 0.0332$, ** $P < 0.0021$, *** $P < 0.0002$, **** $P < 0.0001$ ilgili genler) verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir. (*PvActin* geniyle normalizasyonu yapılmıştır ve oluşturulan grafikte dikey çubuklar standart sapmayı göstermektedir).

5. TARTIŞMA

Günümüze kadar yapılan biyoteknoloji ve biyoinformatik alanında yapılan çalışmalar sayesinde bazı bitki türlerinin tüm genomlarının *TALE* ailesinin üyelerini içerdiği bulunmuştur. Ancak fasulye gibi diğer bitki türlerinde, *TALE* ailesi üyelerinin genom çapında keşfedilmesine ve karakterize edilmesine hala ihtiyaç vardır.

Bu tez çalışmasında fasulyede 35 adet *PvTALE* geni tanımlanmıştır ve elde edilen bu sayının literatürde farklı türler için gerçekleştirilen diğer çalışmalardan farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda cevizde 69 (Guo vd. 2022), pamukta 94 (Ma vd. 2019) soya fasulyesinde ise 68 adet gen bulunmuştur ve bu sayı fasulyede saptanan *TALE* genlerinden fazladır (Wang vd. 2021). Ancak bu tez çalışmasında fasulyeden elde ettiğimiz *TALE* gen sayısı daha önceki çalışmalarda *A. thaliana* (22 gen) (Hamant ve Pautot, 2010) ve eğrelti otundan (22 gen) (Ruiz-Estévez vd. 2017) elde edilenlerden yüksektir. Kavakta ise fasulyedeki ile aynı sayıda *TALE* geni tespit edildiği anlaşılmıştır (Zhao vd. 2019).

Daha önce *Glycine max* 'de yapılan filogenetik ağaç sınıflandırılması baz alınarak fasulyede *TALE* gen ailesi BEL1-like ve KNOX olmak üzere iki ana alt aileye ayrılmıştır (Wang vd. 2021). KNOX alt ailesi de kendi içinde KNOX-I, KNOX-II, KNOX-III 'e ayrılmaktadır. Örneğin POX alanları BEL1-like domain ile ELK alanları ise KNOX alt ailesi ile ilişkilendirilmiştir. Burada açıklandığı üzere BEL1-like domaini bitki büyümesi ve gelişmesinde rol alırken KNOX domaini ELK yapısını içinde bulundurarak burada nükleer lokalizasyonda işlev yaptığı söylenmektedir (Wang vd. 2021). Proteinlerin aktiviteleri büyük ölçüde hücrelerin içinde bulundukları yere göre yönetildiğinden, her proteinin hücre içi konumunu bulmak önemlidir (Wang vd. 2021). Bu tez çalışmasında, hücre içi lokalizasyon analizleri sonucunda, mitokondride bulunduğu tespit edilen *PvTALE*-12 proteini dışında *PvTALE* proteinlerinin nükleer bölgede yerleşik olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, yakın zamanda Wang vd. (2021) *G. max*'taki 68 *TALE* proteininden 64'ünün nükleer bölgede bulunduğunu tespit etmiştir. Han vd. (2022) tarafından daha önce yapılan bir çalışmada, *T. aestivum*'daki *TALE* proteinlerinin çoğunda çekirdek bölgesinde yer aldığı bulunmuştur. Ayrıca bu

çalışmada, TALE proteinlerinin bitkilerde farklı gelişimsel ve metabolik süreçlerde rol oynadıkları için mitokondri gibi hücrenin farklı bölgelerinde de bulunabileceği belirtilmiştir (Han vd. 2022).

Bu tez çalışmasında *P. vulgaris*'te BEL1-like alt familyanın protein uzunluğu ve moleküler ağırlığının KNOX alt familyasındakilerden daha fazla olduğu bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarda da *G. max* (Wang vd. 2021), *G. arboreum*, *G. raimondii*, *G. barbadense*, *G. hirsutum* (Ma vd. 2019) ve *P. trichocarpa*'da (Hou vd. 2021) benzer durumlar bildirilmiştir. Ayrıca intronların genomun evrimine katkıda bulunduğu iyi bilinen bir olgudur (William Roy ve Gilbert 2006). Fasulyede, intron sayısı *PvTALE* genleri arasında değişiklik göstermiştir. Dikkat çekici bir şekilde, TALE alt aileleri ve alt gruplarının *PvTALE* gen yapıları açısından benzerlikler paylaştığı bulunmuştur. Daha önce, benzer durumlar Wang ve arkadaşları (2021) tarafından *G. max* için rapor edilmiştir.

Segmental ve tandem duplikasyonlar gen ailelerinin oluşmasında genom evrimi sürecinde büyük önem taşımaktadır ve buna göre gen ailelerinin üyeleri artış ya da azalış göstermektedir (Cannon vd. 2004, Guo vd. 2022). Fasulye bitkisinde gen duplikasyonu analizinde çoğunlukla segmental duplikasyon ve bir adet tandem duplikasyon olduğu görülmüştür ve segmental duplikasyonların *PvTALE* gen ailesinin büyümesinde oynadığı önemli roller vurgulanmıştır.

Elde edilen bulgulara benzer şekilde, *Glycine max* (Wang vd. 2021), *Triticum aestivum* (Han vd. 2022) ve *Juglans regia* L.'de (Guo vd. 2022) TALE gen ailesi genişlemesinin de segmental duplikasyonlarla ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada, iki monokotiledon (*Glycine max* ve *Oryza sativa*) ve üç dikotiledon (*Arabidopsis thaliana*, *Vigna unguiculata* ve *Solanum lycopersicum*) seçilmiştir ve *PvTALE* üyelerinin evrimsel ilişkilerini daha fazla incelemek için sinteni çalışmaları yapılmıştır. *G. max*, *O. sativa*'da, *A. thaliana*, *V. unguiculata* ve *S. lycopersicum*'da toplamda 177 adet *PvTALE* ortolog geni tanımlanmıştır (Şekil 4.6). En iyi sinteni *P. vulgaris*, *G. max* (soya fasulyesi) ve *V. unguiculata* arasında gösterilmiştir. Ayrıca, çeşitli türler arasındaki sintenik gen eşleşmelerinin, *PvTALE* gen ailesi üzerindeki evrimsel çalışmalar için

yararlı olabileceği düşünülmektedir. Güncel bir çalışma olan Yang vd. (2022) yaptığı *P.meme* çalışmasında ise ortolog gen ilişkisi için 4 tane *P.meme* türü seçilmiş ve en çok ortolog gen ilişkisinin *P.meme* ile *P.armenica* arasında olduğu tespit edilmiştir. Que vd. (2022) yaptığı bir diğer çalışmada ise *Moso bambu*'nun pirinç *TALE* genleriyle yüksek senteniye sahip olduğu gösterilmiştir. Han vd. (2022)'nin *Triticum aestivum*'da yaptığı çalışmada da buğday ve diğer 5 tür arasındaki ortolog gen ilişkisine değinilmiştir. En fazla ortolog gen ilişkisi 68 gen ile buğday ile *Oryza sativa* arasında ve 62 gen ile buğday ile *Aegilops tauschii* arasında tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında *PvTALE* genlerinin gerçekleştirilen promotor analizi neticesinde bitkinin büyüme ve gelişmesi, hormonlar, ışığa duyarlılık, abiyotik stres koşullarına karşı duyarlılık gibi farklı stres ve koşulların düzenlemesindeki rolü ifade edilmiştir. Jia vd. (2021) çalışmasında *KNOX* geninin ABA stresinde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Paolis vd. (2019) yaptığı çalışmada ise bitkinin büyüme ve gelişmesinde etkili olan sitokin hormonunun *KNOX-I* ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca sitokinine ek olarak oksin, giberellin, brassinosteroidler de *KNOX-I* ile ilişkilidir ve *KNOX-II* domainin yaprak gelişiminde rol oynamadığı söylenmektedir. Diğer bir örnek olan Furumizu vd. (2015) yaptığı çalışmada ise *KNOX-I* ve *KNOX-II* domainlerinin birbirlerine antagonistik etki ettiği gösterilmiştir. Daha önceki yapılan çalışmalarda *TALE* gen ailesinin proteinleri sürgün apikal meristemlerin oluşumunu kontrol ettiği ve katkı sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca meristematik hücrelerin farklılaşmaması için hormonal yolları düzenlemektedir. Organ başlatma bölgelerinde *TALE* genlerinin ekspresyonunun aşağı regüle edildiğini, *KNOX* domainin ve *BEL1* domainin ekspresyonu yaprağın şekillenmesinde ve büyümesinde düzenlendiğini, *TALE* genlerinin bitkinin çiçeklenmeye geçişini düzenlediğini ve son olarak yumurtlama ve meyve gelişimini kontrol etmektedir (Hamant ve Pautot 2010, Sharma vd. 2014). Örneğin *PgTALE*'nin apikal meristemlerin, çiçeklerin, karpellerin ve ovüllerin gelişimini düzenlemesinde etkili olabileceği açıklanmıştır (Wang vd. 2020). *PtHB* 'nin kavakta çeşitli stres yanıtı ve hormonal cevabında düzenleyici rolü olduğu aynı zamanda çıkan cis-element sonuçlarının Çin lahanasına benzediğini söylenmiştir (Hou vd. 2021). *Moso Bambu*'daki *PhTALE* genlerinin hızlı büyüme aşamasında sekonder hücre duvarı gelişimini düzenlemede rol oynadığını açıklamaktadır (Que vd. 2022).

Orkide bitkisinde *KNOX* genlerinin araştırıldığı bir çalışmada *KNOX* genlerinin promotör bölgesinde ABA (absisik asit), MeJa ve ışığa duyarlılık cis-elementlerinin fazlaca bulunduğu tespit edilmiştir ve bu elementlerin ışık ve fitohormonları regüle ettiği belirlenmiştir (Zhang vd. 2022). Ayrıca *TALE* gen ailesi biyotik strese de rol oynadığına dair çalışmalar vardır. Örneğin tatlı portakal bitkisindeki *TALE* genlerinin *D.citri* enfeksiyonu ile oluşan biyotik strese karşı cevapta rol oynayabileceği ifade edilmiştir (Peng vd. 2021). Diğer bir çalışmada ise biberde patojen kaynaklı gelişen bakteriyel nokta hastalığına karşı olan dirençte *TALE* gen ailesinin rol oynadığı tespit edilmiştir (Zhu vd. 2021).

Bitki yaşamının büyük bir bölümünün mikroRNA'lar (miRNA'lar) tarafından düzenlendiği bilinmektedir. Bitkilerde mikroRNA'lar 20 yıldan daha kısa bir süre önce keşfedilmiş olmalarına rağmen, araştırmalar, yaprak morfogenez, vejetatif faz kayması, çiçeklenme zamanlaması ve çevresel sinyallere duyarlılık gibi gelişimsel süreçlerin temel kontrolörü olduklarını göstermiştir (Millar, 2020). Bu tez çalışmasında, *TALE* genlerini hedeflediği tespit edilen toplamda 20 tane miRNA bulunmuştur. Pvu-miR159 ve Pvu-miR2118'in *PvTALE-19* ve *PvTALE-25*, *PvTALE-14* genlerini hedef aldığı gözlenmiştir. Bu miRNA'ların daha önce Arenas-Huertero vd. (2009) tarafından fasulyede tuz ve kuraklık stresine yanıtta önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir.

PvTALE-25 genini hedef alan Pvu-miR172 de fasulyede stres tepkisi için önemli bir role sahip olduğu bilinen bir başka miRNA'dır (Simon vd. 2009). *PvTALE-5* ve *PvTALE-35* genlerini hedefleyen Pvu-miR-160'ın Valdés-López vd. (2010) tarafından fasulyede P eksikliğine yanıt verdiği gösterilmiş ve farklı abiyotik streslere yanıtta da rol oynadığı varsayılmıştır. *PvTALE-1*, *PvTALE-6* ve *PvTALE-18* genlerini hedef alan miR395 ve miR169'un daha önce *Brassica nopolus*'ta P, S, Cu homeostaz mekanizmasına dahil olduğu bulunmuştur (Buhtz vd. 2008). *PvTALE-16* ve *PvTALE-19*'u hedef aldığı tespit edilen Pvu-miR319'un daha önce *Arabidopsis thaliana* ve pirinç bitkilerinde abiyotik streslere yanıt verdiği tanımlanmıştır (Valdés-López vd. 2010, Li vd. 2019). *PvTALE-11* genini hedef alan Pvu-miR397'nin, manganaz eksikliği altında fasulyenin yaprak ve kök dokularında güçlü bir şekilde inhibe edildiği bulunmuştur. Ayrıca, *PvTALE-13* genini hedef alan Pvu-miR1514'ün *P. vulgaris*'te P, N, Fe ve Mn

eksikliğine yanıtta rol oynadığı gösterilmiştir (Valdés-López vd. 2010). Bu çalışmada *PvTALE-26*'yı hedef alan *Pvu-miR171*, fasulyede abiyotik strese yanıt verdiği bildirilen bir başka miRNA'dır (Laskar vd. 2021). Buradan, *PvTALE* genlerini hedefleyen miRNA'ların neredeyse tamamının, daha önce fasulye de dahil olmak üzere çeşitli bitki türlerinde abiyotik strese yanıtın kilit oyuncularını olarak tanımlanan miRNA'lar olduğu sonucuna varılabilmektedir. Güncel çalışmalarda *TALE* genlerinin seçilen organizmadaki miRNA analizleri yapılmamıştır (Zhao vd. 2019, Guo vd. 2022, Ali vd. 2019, Wang vd. 2021, Ruiz-Estévez vd. 2017).

Düşük veya yüksek sıcaklıklar, su kıtlığı veya fazlalığı, yüksek tuzluluk, ağır metaller ve UV radyasyonunu içeren abiyotik stres faktörleri, bitki büyümesi ve gelişimi için zararlıdır ve küresel olarak tarımsal verim üzerinde önemli bir olumsuz etkiye sahiptir (He vd. 2018). İlgili *TALE* genlerinin *G. max* (Wang vd. 2021), *P. trichocarpa* (Hou vd. 2021), *T. aestivum* (Han vd. 2022) ve *C. sinensis*'te (Peng vd. 2021) çeşitli abiyotik uyarılara verilen tepkilerle bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, *P. vulgaris*'in farklı dokularında kuraklık stresine yanıt olarak *PvTALE* genlerinin reaksiyonunu değerlendirmek için RT-qPCR analizleri gerçekleştirilmiştir. RT-qPCR verilerine göre *PvTALE-6*, *PvTALE-16*, *PvTALE-27* ve *PvTALE-28* genlerinin yapraklarda kuraklık stresi altında yukarı regüle edilmesi ise dikkat çekicidir (Şekil 4.13). Bu sonuçlar RNA-seq transkriptom verilerinden elde edilenlerle benzerdir (Şekil 4.9). Ancak, *PvTALE-6*, *PvTALE-16*, *PvTALE-27* ve *PvTALE-28* genlerinin ifade düzeyleri gövde ve kök dokularında kuraklığa yanıt olarak ya azalmış ya da değişmemiştir. Yaprak dokuları, gövde veya kök dokusuna göre abiyotik stres faktörlerine karşı daha savunmasız olabilmektedir. Ayrıca, daha önce Wang vd. (2021) tarafından önerildiği gibi, yaprak dokuları kuraklık stresine yanıt olarak *PvTALE* genlerini yüksek oranda mobilize edebilmektedir.

6. SONUÇ

Yapılan bu çalışmada *Phaseolus vulgaris* L. türünde *TALE* genlerinin 35 üyesi olduğu belirlenmiştir. 35 *PvTALE* geni fasulyenin 11 kromozomuna eşit olmayan bir şekilde dağılım göstermiştir. *PvTALE* genleri KNOX ve BEL1-like adlı alt aileye bölünmüştür. KNOX alt ailesi kendi içinde KNOX-I, KNOX-II, KNOX-III şeklinde ayrılma göstermiştir. Aynı alt ailedeki genler aynı yapıda, motifte, korunmuş alanları ve biyolojik işlevleri birbirlerine benzerlik göstermiştir. Gen duplikasyonu analizi sonucunda ise segmental ve tandem duplikasyon olayları tespit edilmiştir. Segmental duplikasyonların *TALE* gen ailesinin evrimleşmesine katkı sağladığı düşünülmektedir. Yapılan sinteni analizi sonucunda fasulye ve diğer türleri arasındaki evrimsel ilişki tespit edilmiştir. Bu analiz *PvTALE* genlerinin evrimleşmesine ışık tutabilecek niteliktedir. Ayrıca 1500 bp upstreamden alınan promotor bölgesinin cis element analizi, abiyotik stres uygulanması, prolin analizi, Real-time PCR analizi sonucunda *PvTALE* genlerinin hormonal düzenlemede, bitki büyüme ve gelişmesinde, abiyotik strese rol oynadığı anlaşılmıştır. Bu tez çalışmasında sadece abiyotik stres uygulanmıştır ancak yapılan diğer güncel çalışmalarda *PvTALE* genlerinin biyotik strestede rol oynadığı açıklanmıştır. Tüm bu sonuçlar birleştirildiğinde *PvTALE* genlerinin fonksiyonu, görevi, yapısı, korunmuş bölgesi, abiyotik stres karşısındaki cevabı ve duplikasyon analizleri sonucunda fasulyedeki *TALE* genlerinin evrimleşmesinin açıklanmasına ve ilerdeki çalışmalara yardımcı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akillioglu, H. G., & Karakaya, S. 2010. Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and in vitro digestion process. *Food Science and Biotechnology*, 19, 633-639.
- Ali, H., Liu, Y., Azam, S. M., Ali, I., Ali, U., Li, W., Ashraf, H. J., Jie, Y., Olsson, S., & Qin, Y. 2019. Genome Wide Identification and Expression Profiles of TALE Genes in Pineapple (*Ananas comosus* L). *Tropical Plant Biology*, 12(4), 304-317.
- Allakhverdiev, S. I., Kreslavski, V. D., Klimov, V. V., Los, D. A., Carpentier, R., & Mohanty, P. 2008. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynthesis research*, 98(1), 541-550.
- Arenas-Huertero, C., Pérez, B., Rabanal, F., Blanco-Melo, D., De la Rosa, C., Estrada-Navarrete, G., Sanchez, F., Covarrubias, A. A., & Reyes, J. L. 2009. Conserved and novel miRNAs in the legume *Phaseolus vulgaris* in response to stress. *Plant molecular biology*, 70(4), 385-401.
- Arnaud, N., & Pautot, V. 2014. Ring the BELL and tie the KNOX: roles for TALEs in gynoecium development. *Frontiers in plant science*, 5, 93.
- Bailey, T. L., Boden, M., Buske, F. A., Frith, M., Grant, C. E., Clementi, L., Ren, J., Li, W. W., & Noble, W. S. 2009. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic acids research*, 37(suppl_2), W202-W208.
- Bailey, T. L., Williams, N., Misleh, C., & Li, W. W. 2006. MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs. *Nucleic acids research*, 34(suppl_2), W369-W373.
- Banu, M. N. A., Hoque, M. A., Watanabe-Sugimoto, M., Islam, M. M., Uraji, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., & Murata, Y. 2010. Proline and glycinebetaine ameliorated NaCl stress via scavenging of hydrogen peroxide and methylglyoxal but not superoxide or nitric oxide in tobacco cultured cells. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 74(10), 2043-2049.
- Barac, T., Taghavi, S., Borremans, B., Provoost, A., Oeyen, L., Colpaert, J. V., Vangronsveld, J., & van der Lelie, D. 2004. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. *Nature biotechnology*, 22(5), 583-588.
- Bartels, D., & Sunkar, R. 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Critical reviews in plant sciences*, 24(1), 23-58.
- Bates, L., Waldren, R. a., & Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Becker, A., Bey, M., Bürglin, T. R., Saedler, H., & Theissen, G. 2002. Ancestry and diversity of BEL1-like homeobox genes revealed by gymnosperm (*Gnetum gnemon*) homologs. *Development Genes and Evolution*, 212(9), 452.
- Bellaoui, M., Pidkowich, M. S., Samach, A., Kushalappa, K., Kohalmi, S. E., Modrusan, Z., Crosby, W. L., & Haughn, G. W. 2001. The Arabidopsis BELL1

- and KNOX TALE homeodomain proteins interact through a domain conserved between plants and animals. *The Plant Cell*, 13(11), 2455-2470.
- Beninger, C. W., & Hosfield, G. L. 2003. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. *Journal of agricultural and Food chemistry*, 51(27), 7879-7883.
- Berendzen, K. W., Stüber, K., Harter, K., & Wanke, D. 2006. Cis-motifs upstream of the transcription and translation initiation sites are effectively revealed by their positional disequilibrium in eukaryote genomes using frequency distribution curves. *BMC bioinformatics*, 7(1), 1-19.
- Berglund-Brücher, O., & Brücher, H. 1976. The South American wild bean (*Phaseolus aborigineus* Burk.) as ancestor of the common bean. *Economic Botany*, 257-272.
- Berkman, S. J., Roscoe, E. M., & Bourret, J. C. 2019. Comparing self-directed methods for training staff to create graphs using Graphpad Prism. *Journal of applied behavior analysis*, 52(1), 188-204.
- Bernhofer, M., Goldberg, T., Wolf, S., Ahmed, M., Zaugg, J., Boden, M., & Rost, B. 2018. NLSdb—major update for database of nuclear localization signals and nuclear export signals. *Nucleic acids research*, 46(D1), D503-D508.
- Bilas, R., Szafran, K., Hnatuszko-Konka, K., & Kononowicz, A. K. 2016. Cis-regulatory elements used to control gene expression in plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 127(2), 269-287.
- Bressani, R. 1993. Grain quality of common beans. *Food Reviews International*, 9(2), 237-297.
- Brücher, H. 1988. The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris* in South America. *Genetic Resources of Phaseolus Beans: Their maintenance, domestication, evolution and utilization*, 185-214.
- Buhtz, A., Springer, F., Chappell, L., Baulcombe, D. C., & Kehr, J. 2008. Identification and characterization of small RNAs from the phloem of *Brassica napus*. *The Plant Journal*, 53(5), 739-749.
- Burglin, T. 1994. A comprehensive classification of homeobox genes. *Guidebook to the homeobox genes*, 25.
- Burkart, A. E. 1952. Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas: descripción sistemática de la familia, los géneros y las principales especies, de su distribución y utilidad en el país y en las regiones limítrofes.
- Bürglin, T. R. 1995. The evolution of homeobox genes. *Biodiversity and evolution*, 291-336.
- Bürglin, T. R. 1997. Analysis of TALE superclass homeobox genes (MEIS, PBC, KNOX, Iroquois, TGIF) reveals a novel domain conserved between plants and animals. *Nucleic acids research*, 25(21), 4173-4180.
- Bürglin, T. R., & Affolter, M. 2016. Homeodomain proteins: an update. *Chromosoma*, 125(3), 497-521.

- Büyük, İ., Inal, B., İlhan, E., Tanriseven, M., Aras, S., & Erayman, M. 2016. Genome-wide identification of salinity responsive HSP70 s in common bean. *Molecular biology reports*, 43, 1251-1266.
- Büyük, İ., İlhan, E., Şener, D., Özsoy, A. U., & Aras, S. 2019. Genome-wide identification of CAMTA gene family members in *Phaseolus vulgaris* L. and their expression profiling during salt stress. *Molecular biology reports*, 46, 2721-2732.
- Cannon, S. B., Mitra, A., Baumgarten, A., Young, N. D., & May, G. 2004. The roles of segmental and tandem gene duplication in the evolution of large gene families in *Arabidopsis thaliana*. *BMC plant biology*, 4(1), 1-21.
- Carvalho, M. d. 2008. Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signal Behav*, 3(3), 156-165.
- Chen, C., Chen, H., He, Y., & Xia, R. 2018. TBtools, a toolkit for biologists integrating various biological data handling tools with a user-friendly interface. *BioRxiv*, 289660(10.1101), 289660.
- Chen, C., Chen, H., Zhang, Y., Thomas, H. R., Frank, M. H., He, Y., & Xia, R. 2020. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. *Molecular plant*, 13(8), 1194-1202.
- Chen, H., Rosin, F. M., Prat, S., & Hannapel, D. J. 2003. Interacting transcription factors from the three-amino acid loop extension superclass regulate tuber formation. *Plant physiology*, 132(3), 1391-1404.
- Chen, Z., Cuin, T. A., Zhou, M., Twomey, A., Naidu, B. P., & Shabala, S. 2007. Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 58(15-16), 4245-4255.
- Cheng, X., Li, M., Abdullah, M., Li, G., Zhang, J., Manzoor, M. A., Wang, H., Jin, Q., Jiang, T., & Cai, Y. 2019. In Silico genome-wide analysis of the pear (*Pyrus bretschneideri*) KNOX family and the functional characterization of PbKNOX1, an *Arabidopsis* BREVIPEDICELLUS orthologue gene, involved in cell wall and lignin biosynthesis. *Frontiers in Genetics*, 10, 632.
- Choudhary, N., Sairam, R., & Tyagi, A. 2005. Expression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.).
- Choudhuri, S. 2014. Fundamentals of molecular evolution. *Bioinformatics for beginners*, 27-53.
- Choung, M.-G., Choi, B.-R., An, Y.-N., Chu, Y.-H., & Cho, Y.-S. 2003. Anthocyanin profile of Korean cultivated kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of agricultural and Food chemistry*, 51(24), 7040-7043.
- 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.
- Chung, H.-J., Liu, Q., Pauls, K. P., Fan, M. Z., & Yada, R. 2008. In vitro starch digestibility, expected glycemic index and some physicochemical properties of starch and flour from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Canada. *Food Research International*, 41(9), 869-875.

- Das, A., Rushton, P. J., & Rohila, J. S. 2017. Metabolomic profiling of soybeans (*Glycine max* L.) reveals the importance of sugar and nitrogen metabolism under drought and heat stress. *Plants*, 6(2), 21.
- de Almeida Costa, G. E., da Silva Queiroz-Monici, K., Reis, S. M. P. M., & de Oliveira, A. C. 2006. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food chemistry*, 94(3), 327-330.
- De Ron, A. M., Papa, R., Bitocchi, E., González, A. M., Debouck, D. G., Brick, M. A., Fourie, D., Marsolais, F., Beaver, J., & Geffroy, V. 2015. Common bean. In *Grain legumes* (pp. 1-36). Springer.
- Desplan, C., Theis, J., & O'Farrell, P. H. 1988. The sequence specificity of homeodomain-DNA interaction. *Cell*, 54(7), 1081-1090.
- Dietz, K. J., Zörb, C., & Geilfus, C. M. 2021. Drought and crop yield. *Plant Biology*, 23(6), 881-893.
- Dolgikh, A. V., Rudaya, E. S., & Dolgikh, E. A. 2020. Identification of bell transcription factors involved in nodule initiation and development in the legumes *pisum sativum* and *medicago truncatula*. *Plants*, 9(12), 1808.
- Duboule, D. 1994. Guidebook to the homeobox genes. Oxford University Press.
- Egilla, J., Davies, F., & Boutton, T. 2005. Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of *Hibiscus rosa-sinensis* at three potassium concentrations. *Photosynthetica*, 43(1), 135-140.
- Etesami, H., & Maheshwari, D. K. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and environmental safety*, 156, 225-246.
- Expasy Protparam. 2020. SIB Swiss Institute of Bioinformatics | Expasy, Erişim tarihi:06.11.2022
- Fabro, G., Kovács, I., Pavet, V., Szabados, L., & Alvarez, M. E. 2004. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(4), 343-350.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In *Sustainable agriculture* (pp. 153-188). Springer.
- Finn, R. D., Mistry, J., Schuster-Böckler, B., Griffiths-Jones, S., Hollich, V., Lassmann, T., Moxon, S., Marshall, M., Khanna, A., & Durbin, R. 2006. Pfam: clans, web tools and services. *Nucleic acids research*, 34(suppl_1), D247-D251.
- Furumizu, C., Alvarez, J. P., Sakakibara, K., & Bowman, J. L. 2015. Antagonistic roles for KNOX1 and KNOX2 genes in patterning the land plant body plan following an ancient gene duplication. *PLoS Genetics*, 11(2), e1004980.

- Ganesan, K., & Xu, B. 2017. Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. *International journal of molecular sciences*, 18(11), 2331.
- Gehring, W. J., Affolter, M., & B r glin, T. 1994. Homeodomain proteins. Annual review of biochemistry, 63(1), 487-526.
- Gene structure display server v2.0 .2015. www.gsds.gao-lab.org
- Gentry, H. S. 1969. Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Economic Botany*, 23(1), 55-69.
- Gepts, P., Papa, R., Coulibaly, S., Mej  a, A. G., & Pasquet, R. 2000. Wild legume diversity and domestication-insights from molecular methods. The Seventh Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF), Japan, International Workshop on Genetic Resources, Ibaraki, Japan, 13-15 October, 1999: Part 1, wild legumes.,
- Gimenez, E., Salinas, M., & Manzano-Agugliaro, F. 2018. Worldwide research on plant defense against biotic stresses as improvement for sustainable agriculture. *Sustainability*, 10(2), 391.
- Giurc  , D. 2009. Morphological and phenological differences between the two species of the *Phaseolus* genus (*Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus coccineus*). *Cercet  ri Agronomice   n Moldova*, 42(2), 39-45.
- Goodstein, D. M., Shu, S., Howson, R., Neupane, R., Hayes, R. D., Fazo, J., Mitros, T., Dirks, W., Hellsten, U., & Putnam, N. 2012. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic acids research*, 40(D1), D1178-D1186.
- Graham, P., & Ranalli, P. 1997. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 53(1-3), 131-146.
- 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, A.-Y., Zhu, Q.-H., Chen, X., & Luo, J.-C. 2007. GSDS: a gene structure display server. *Yi chuan= Hereditas*, 29(8), 1023-1026.
- Guo, C., Quan, S., Zhang, Z., Kang, C., Liu, J., & Niu, J. 2022. Genome-wide Identification, Characterization and Expression profile of TALE gene family in (*Juglans regia* L.). *Scientia Horticulturae*, 297, 110945.
- 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, A. K., & Kaur, N. 2005. Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *Journal of biosciences*, 30(5), 761-776.
- Hackbusch, J., Richter, K., M  ller, J., Salamini, F., & Uhrig, J. F. 2005. A central role of *Arabidopsis thaliana* ovate family proteins in networking and subcellular localization of 3-aa loop extension homeodomain proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(13), 4908-4912.

- Hamant, O., & Pautot, V. 2010. Plant development: a TALE story. *Comptes rendus biologies*, 333(4), 371-381.
- Han, Y., Zhang, L., Yan, L., Xiong, X., Wang, W., Zhang, X.-H., & Min, D.-H. 2022. Genome-wide analysis of TALE superfamily in *Triticum aestivum* reveals TaKNOX11-A is involved in abiotic stress response. *BMC genomics*, 23(1), 1-21.
- Harmsen, R., Bliss, F., & Osborn, T. 1987. Breeding beans resistant to bruchids.
- Haudecoeur, E., Planamente, S., Cirou, A., Tannieres, M., Shelp, B., Moréra, S., & Faure, D. 2009. Proline antagonizes GABA-induced quenching of quorum-sensing in *Agrobacterium tumefaciens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14587-14592.
- Hay, A., & Tsiantis, M. 2010. KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. *Development*, 137(19), 3153-3165.
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., & Bashir, S. 2014. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(5), 580-592.
- Holub, E. B. 2001. The arms race is ancient history in *Arabidopsis*, the wildflower. *Nature Reviews Genetics*, 2(7), 516-527.
- Hosseinifard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, Ł., & Garnczarska, M. 2022. Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: a review. *International journal of molecular sciences*, 23(9), 5186.
- Hou, J., Sun, Y., Wang, L., Jiang, Y., Chen, N., & Tong, S. 2021. Genome-Wide Analysis of the Homeobox Gene Family and Identification of Drought-Responsive Members in *Populus trichocarpa*. *Plants*, 10(11), 2284.
- 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. GSDD 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8), 1296-1297.
- Ilyas, M., Nisar, M., Khan, N., Hazrat, A., Khan, A. H., Hayat, K., Fahad, S., Khan, A., & Ullah, A. 2021. Drought tolerance strategies in plants: a mechanistic approach. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(3), 926-944.
- Islam, F., Basford, K., Jara, C., Redden, R., & Beebe, S. 2002. Seed compositional and disease resistance differences among gene pools in cultivated common bean. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49(3), 285-293.
- 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.
- Jenkins, A. L. 2007. The glycemic index: Looking back 25 years. *Cereal foods world*, 52(2), 50.

- Jia, P., Xing, L., Zhang, C., Zhang, D., Ma, J., Zhao, C., Han, M., Ren, X., & An, N. 2021. MdKNOX19, a class II knotted-like transcription factor of apple, plays roles in ABA signalling/sensitivity by targeting ABI5 during organ development. *Plant Science*, 302, 110701.
- Jia, P., Zhang, C., Xing, L., Li, Y., Shah, K., Zuo, X., Zhang, D., An, N., Han, M., & Ren, X. 2020. Genome-wide identification of the MdKNOX gene family and characterization of its transcriptional regulation in *Malus domestica*. *Frontiers in plant science*, 11, 128.
- Jin, J., Zhang, H., Kong, L., Gao, G., & Luo, J. 2014. PlantTFDB 3.0: a portal for the functional and evolutionary study of plant transcription factors. *Nucleic acids research*, 42(D1), D1182-D1187.
- Jojoa-Cruz, S., Saotome, K., Murthy, S. E., Tsui, C. C. A., Sansom, M. S., Patapoutian, A., & Ward, A. B. 2018. Cryo-EM structure of the mechanically activated ion channel OSCA1. 2. *Elife*, 7, e41845.
- Kaplan, L. 1981. What is the origin of the common bean? *Economic Botany*, 35(2), 240-254.
- Kasuga, M., Liu, Q., Miura, S., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. 1999. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nature biotechnology*, 17(3), 287-291.
- Kaur, G., & Asthir, B. 2017. Molecular responses to drought stress in plants. *Biologia plantarum*, 61(2), 201-209.
- 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.
- Khan, N., Bano, A., Rahman, M. A., Rathinasabapathi, B., & Babar, M. A. 2019. UPLC-HRMS-based untargeted metabolic profiling reveals changes in chickpea (*Cicer arietinum*) metabolome following long-term drought stress. *Plant, cell & environment*, 42(1), 115-132.
- Khan, S.-A., Li, M.-Z., Wang, S.-M., & Yin, H.-J. 2018. Revisiting the role of plant transcription factors in the battle against abiotic stress. *International journal of molecular sciences*, 19(6), 1634.
- Kimura, S., Koenig, D., Kang, J., Yoong, F. Y., & Sinha, N. 2008. Natural variation in leaf morphology results from mutation of a novel KNOX gene. *Current Biology*, 18(9), 672-677.
- 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.
- Kosová, K. r., Vítámvás, P., Planchon, S. b., Renaut, J., Vanková, R., & Prášil, I. T. 2013. Proteome analysis of cold response in spring and winter wheat (*Triticum aestivum*) crowns reveals similarities in stress adaptation and differences in regulatory processes between the growth habits. *Journal of Proteome Research*, 12(11), 4830-4845.

- Kumar, A., Gupta, A., Azooz, M., Sharma, S., Ahmad, P., & Dames, J. 2013. Genetic approaches to improve salinity tolerance in plants. In *Salt stress in plants* (pp. 63-78). Springer.
- Laskar, P., Bhattacharya, S., Chaudhuri, A., & Kundu, A. 2021. Exploring the GRAS gene family in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): characterization, evolutionary relationships, and expression analyses in response to abiotic stresses. *Planta*, 254(4), 1-21.
- Latchman, D. S. 1997. Transcription factors: an overview. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 29(12), 1305-1312.
- Lee, J.-H., Lin, H., Joo, S., & Goodenough, U. 2008. Early sexual origins of homeoprotein heterodimerization and evolution of the plant KNOX/BELL family. *Cell*, 133(5), 829-840.
- Leister, D. 2004. Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends in genetics*, 20(3), 116-122.
- Li, H., Zhao, Q., Wang, H., Dong, Q., & Xu, Y. 2022. Genome-Wide Identification, Expression Profiling and Protein-Protein Interaction Properties of the BEL-Like Homeodomain Gene Family in Apple. *Phyton*, 91(2), 315.
- 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.
- Lim, T. 2012. *Phaseolus vulgaris*. In *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants* (pp. 815-848). Springer.
- Lin, L.-Z., Harnly, J. M., Pastor-Corrales, M. S., & Luthria, D. L. 2008. The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food chemistry*, 107(1), 399-410.
- Linnaeus, C. 1753 *Species plantarum*. L. Salvius, Stockholm.
- Linnaeus, C. 1957. *Species Plantarum: A Facsimile of the First Edition 1753*. Adlard & Son for the Ray Society.
- Liu, X., Wang, J., & Sun, L. 2018. Structure of the hyperosmolality-gated calcium-permeable channel OSCA1. 2. *Nature Communications*, 9(1), 5060.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
- Los, F. G. B., Zielinski, A. A. F., Wojeicchowski, J. P., Nogueira, A., & Demiate, I. M. 2018. Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): whole seeds with complex chemical composition. *Current Opinion in Food Science*, 19, 63-71.
- Lucas, W. J., Bouché-Pillon, S., Jackson, D. P., Nguyen, L., Baker, L., Ding, B., & Hake, S. 1995. Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. *Science*, 270(5244), 1980-1983.

- Ma, Q., Wang, N., Hao, P., Sun, H., Wang, C., Ma, L., Wang, H., Zhang, X., Wei, H., & Yu, S. 2019. Genome-wide identification and characterization of TALE superfamily genes in cotton reveals their functions in regulating secondary cell wall biosynthesis. *BMC plant biology*, 19(1), 1-20.
- Maity, K., Heumann, J. M., McGrath, A. P., Kopcho, N. J., Hsu, P.-K., Lee, C.-W., Mapes, J. H., Garza, D., Krishnan, S., & Morgan, G. P. 2019. Cryo-EM structure of OSCA1. 2 from *Oryza sativa* elucidates the mechanical basis of potential membrane hyperosmolality gating. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(28), 14309-14318.
- Marchler-Bauer, A., Derbyshire, M. K., Gonzales, N. R., Lu, S., Chitsaz, F., Geer, L. Y., Geer, R. C., He, J., Gwadz, M., & Hurwitz, D. I. 2015. CDD: NCBI's conserved domain database. *Nucleic acids research*, 43(D1), D222-D226.
- Martignago, D., Rico-Medina, A., Blasco-Escámez, D., Fontanet-Manzanque, J. B., & Caño-Delgado, A. I. 2020. Drought resistance by engineering plant tissue-specific responses. *Frontiers in plant science*, 10, 1676.
- Millar, A. A. 2020. The function of miRNAs in plants. In (Vol. 9, pp. 198): MDPI.
- Mitchell, P. J., & Tjian, R. 1989. Transcriptional regulation in mammalian cells by sequence-specific DNA binding proteins. *Science*, 245(4916), 371-378.
- Morales, F. J. 2003. Common bean. In *Virus and virus-like diseases of major crops in developing countries* (pp. 425-445). Springer.
- 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.
- Moustakas, M., Sperdouli, I., Kouna, T., Antonopoulou, C.-I., & Therios, I. 2011. Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Growth Regulation*, 65, 315-325.
- Mukherjee, K., Brocchieri, L., & Bürglin, T. R. 2009. A comprehensive classification and evolutionary analysis of plant homeobox genes. *Molecular biology and evolution*, 26(12), 2775-2794.
- Multiple Expectation Maximizations for Motif Elicitation MEME 4.11.1 .2023.www.meme-suite.org, Erişim tarihi:06.11.2022
- Nagasaki, H., Sakamoto, T., Sato, Y., & Matsuoka, M. 2001. Functional analysis of the conserved domains of a rice KNOX homeodomain protein, OSH15. *The Plant Cell*, 13(9), 2085-2098.
- Nam, J., & Nei, M. 2005. Evolutionary change of the numbers of homeobox genes in bilateral animals. *Molecular biology and evolution*, 22(12), 2386-2394.
- Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshida, Y., Sanada, Y., Wada, K., Tsukaya, H., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. 1999. Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 18(2), 185-193.

- Nlsdb a database of nuclear localization signals .2017.<https://roslab.org/services/nlsdb/>, Erişim tarihi: 06.11.2022
- Nonami, H. 1998. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *Journal of Plant Research*, 111(3), 373-382.
- Okorie, V. O., Mphambukeli, T. N., & Amusan, S. O. 2019. Exploring the political economy of water and food security nexus in BRICS. *Africa Insight*, 48(4), 21-38.
- Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. 2005. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935-942.
- Oukarroum, A., El Madidi, S., & Strasser, R. 2012. Exogenous glycine betaine and proline play a protective role in heat-stressed barley leaves (*Hordeum vulgare* L.): a chlorophyll a fluorescence study. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 146(4), 1037-1043.
- Öztürk, L., & Demir, Y. 2002. In vivo and in vitro protective role of proline. *Plant growth regulation*, 38(3), 259-264.
- Panchy, N., Lehti-Shiu, M., & Shiu, S.-H. 2016. Evolution of gene duplication in plants. *Plant physiology*, 171(4), 2294-2316.
- Paolis, A. D., Frugis, G., Giannino, D., Iannelli, M. A., Mele, G., Rugini, E., Silvestri, C., Sparvoli, F., Testone, G., & Mauro, M. L. 2019. Plant cellular and molecular biotechnology: following Mariotti's steps. *Plants*, 8(1), 18.
- Patterson, J. H., Newbigin, E., Tester, M., Bacic, A., & Roessner, U. 2009. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 60(14), 4089-4103.
- Payne, A. 2016. Why do taxonomists write the meanest obituaries. The open nature of the science of classification virtually guarantees fights. *Nautilus* <http://nautilus.us/issue/35/boundaries/whydo-taxonomists-write-the-meanest-obituaries>.
- Peng, W., Yang, Y., Xu, J., Peng, E., Dai, S., Dai, L., Wang, Y., Yi, T., Wang, B., & Li, D. 2021. TALE Transcription Factors in Sweet Orange (*Citrus sinensis*): Genome-Wide Identification, Characterization, and Expression in Response to Biotic and Abiotic Stresses. *Frontiers in plant science*, 12.
- Peng, W., Yang, Y., Xu, J., Peng, E., Dai, S., Dai, L., Wang, Y., Yi, T., Wang, B., & Li, D. 2022. TALE Transcription Factors in Sweet Orange (*Citrus sinensis*): Genome-Wide Identification, Characterization, and Expression in Response to Biotic and Abiotic Stresses. *Frontiers in plant science*, 12, 3215.
- Petry, N., Boy, E., Wirth, J. P., & Hurrell, R. F. 2015. The potential of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as a vehicle for iron biofortification. *Nutrients*, 7(2), 1144-1173.
- Phytozome v13. 2016-2023. www.phytozomes.net, Erişim tarihi:05.11.2022

- Pilon-Smits, E. A., Terry, N., Sears, T., & van Dun, K. 1999. Enhanced drought resistance in fructan-producing sugar beet. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37(4), 313-317.
- Pinheiro, C., Baeta, J. P., Pereira, A. M., Domingues, H., & Ricardo, C. P. 2010. Diversity of seed mineral composition of *Phaseolus vulgaris* L. germplasm. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(4), 319-325.
- Planchet, E., Verdu, I., Delahaie, J., Cukier, C., Girard, C., Morère-Le Paven, M.-C., & Limami, A. M. 2014. Absciscic acid-induced nitric oxide and proline accumulation in independent pathways under water-deficit stress during seedling establishment in *Medicago truncatula*. *Journal of experimental botany*, 65(8), 2161-2170.
- PlantCARE, a plant cis-acting regulatory element database .1999.
- Poupin, M. J., Greve, M., Carmona, V., & Pinedo, I. 2016. A complex molecular interplay of auxin and ethylene signaling pathways is involved in *Arabidopsis* growth promotion by *Burkholderia phytofirmans* PsJN. *Frontiers in plant science*, 7, 492.
- PrimerQuest Tool .1987. <https://www.idtdna.com>, Erişim tarihi: 24.10.2022
- Qin, F., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. 2011. Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance. *Plant and Cell Physiology*, 52(9), 1569-1582.
- Que, F., Liu, Q., Zha, R., Xiong, A., & Wei, Q. 2022. Genome-Wide Identification, Expansion, and Evolution Analysis of Homeobox Gene Family Reveals TALE Genes Important for Secondary Cell Wall Biosynthesis in Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*). *International journal of molecular sciences*, 23(8), 4112.
- Riaño-Pachón, D. M., Ruzicic, S., Dreyer, I., & Mueller-Roeber, B. 2007. PlnTFDB: an integrative plant transcription factor database. *BMC bioinformatics*, 8(1), 1-10.
- Rodziewicz, P., Swarczewicz, B., Chmielewska, K., Wojakowska, A., & Stobiecki, M. 2014. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(1), 1-19.
- Ross, A. B., Zangger, A., & Guiraud, S. P. 2014. Cereal foods are the major source of betaine in the Western diet—analysis of betaine and free choline in cereal foods and updated assessments of betaine intake. *Food chemistry*, 145, 859-865.
- Ruiz-Estévez, M., Bakkali, M., Martín-Blázquez, R., & Garrido-Ramos, M. A. 2017. Identification and characterization of TALE homeobox genes in the endangered fern *Vandenboschia speciosa*. *Genes*, 8(10), 275.
- Saidi, A., & Hajibarat, Z. 2021. Genome wide identification of StKNOX gene family and characterization of their expression in *Solanum tuberosum*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37, 102160.
- Santiago-Ramos, D., de Dios Figueroa-Cárdenas, J., Véles-Medina, J. J., & Salazar, R. 2018. Physicochemical properties of nixtamalized black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *Food chemistry*, 240, 456-462.

- Saradhi, P. P., AliaArora, S., & Prasad, K. 1995. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV-induced peroxidation. *Biochemical and biophysical research communications*, 209(1), 1-5.
- Sathe, S. K., Deshpande, S., Salunkhe, D., & Rackis, J. J. 1984. Dry beans of Phaseolus. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins, and lipids. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 21(1), 41-93.
- Schat, H., Sharma, S. S., & Vooijs, R. 1997. Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia plantarum*, 101(3), 477-482.
- Schwartz, H. F., & Corrales, M. A. P. 1989. Bean production problems in the tropics. CIAT.
- Selye, H. 1936. A syndrome produced by various noxious agents. *Nature (London)*, 138, 32-33.
- Serraj, R., & Sinclair, T. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, cell & environment*, 25(2), 333-341.
- Shahana, T., Rao, P. A., Ram, S. S., & Sujatha, E. 2015. Mitigation of drought stress by 24-epibarassinolide and 28-homobrassinolide in pigeon pea seedlings. *Int J Multi Curr Res*, 3, 905-911.
- Sharma, P., Lin, T., Grandellis, C., Yu, M., & Hannapel, D. J. 2014. The BEL1-like family of transcription factors in potato. *Journal of Experimental Botany*, 65(2), 709-723.
- Siddiq, M., Ravi, R., Harte, J., & Dolan, K. 2010. Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *LWT-Food Science and Technology*, 43(2), 232-237.
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., & Basalah, M. O. 2011. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma*, 248, 447-455.
- Simard, S., Asay, A., Beiler, K., Bingham, M., Deslippe, J., He, X., Philip, L., Song, Y., & Teste, F. 2015. Resource transfer between plants through ectomycorrhizal fungal networks. *Mycorrhizal networks*, 133-176.
- Simon, S. A., Meyers, B. C., & Sherrier, D. J. 2009. MicroRNAs in the rhizobia legume symbiosis. *Plant physiology*, 151(3), 1002-1008.
- Singh, K. B., Foley, R. C., & Oñate-Sánchez, L. 2002. Transcription factors in plant defense and stress responses. *Current opinion in plant biology*, 5(5), 430-436.
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., & Prasad, S. M. 2015. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 14(3), 407-426.
- Singh, S. P., Gepts, P., & Debouck, D. G. 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany*, 45(3), 379-396.
- Smith, H. M., Boschke, I., & Hake, S. 2002. Selective interaction of plant homeodomain proteins mediates high DNA-binding affinity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(14), 9579-9584.

- Smoliak, S., Ditterline, R., Scheetz, J., Holzworth, L., Sims, J., Wiesner, J., Baldrige, D., & Tibke, G. 1990. Common bean. Montana State University, Animal and Range Sciences Extension Service, Forage extension program, Bozeman, USA.
- Strader, L., Weijers, D., & Wagner, D. 2022. Plant transcription factors—Being in the right place with the right company. *Current opinion in plant biology*, 65, 102136.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., & Mittler, R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*, 203(1), 32-43.
- Szabados, L., & Saviouré, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15(2), 89-97.
- Şehirali, S. 1988. *Yemeklik dane baklagiller*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Talaat, N. B., Shawky, B. T., & Ibrahim, A. S. 2015. Alleviation of drought-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.) plants by dual application of 24-epibrassinolide and spermine. *Environmental and Experimental Botany*, 113, 47-58.
- Tamaoki, M., Kusaba, S., Kano-Murakami, Y., & Matsuoka, M. 1997. Ectopic expression of a tobacco homeobox gene, NTH15, dramatically alters leaf morphology and hormone levels in transgenic tobacco. *Plant and Cell Physiology*, 38(8), 917-927.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), 2731-2739.
- Tardieu, F., & Davies, W. J. 1992. Stomatal response to abscisic acid is a function of current plant water status. *Plant physiology*, 98(2), 540-545.
- Tbtools ,<http://cj-chen.github.io/tbtools/>, Erişim tarihi: 28.10.22
- TEPGE, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge>, Erişim tarihi:25.11.2022
- Tharanathan, R., & Mahadevamma, S. 2003. Grain legumes—a boon to human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 14(12), 507-518.
- The psRNA Target Server .2017. www.plantgrn.noble.org/psRNATarget, Erişim tarihi:07.11.2022
- TÜİK, <https://www.tuik.gov.tr/>, Erişim tarihi: 27.04.2023
- Ullah, A., Manghwar, H., Shaban, M., Khan, A. H., Akbar, A., Ali, U., Ali, E., & Fahad, S. 2018. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(33), 33103-33118.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.-L., Touraine, B., Moënné-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., & Prigent-Combaret, C. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in plant science*, 4, 356.
- Valdés-López, O., Yang, S. S., Aparicio-Fabre, R., Graham, P. H., Reyes, J. L., Vance, C. P., & Hernández, G. 2010. MicroRNA expression profile in common bean

- (*Phaseolus vulgaris*) under nutrient deficiency stresses and manganese toxicity. *New Phytologist*, 187(3), 805-818.
- Vollbrecht, E., Veit, B., Sinha, N., & Hake, S. 1991. The developmental gene Knotted-1 is a member of a maize homeobox gene family. *Nature*, 350(6315), 241-243.
- Wang, G., Zhai, Y.-J., Xue, Z.-Z., & Xu, Y.-Y. 2021. Improving Protein Subcellular Location Classification by Incorporating Three-Dimensional Structure Information. *Biomolecules*, 11(11), 1607.
- Wang, L., Yang, X., Gao, Y., & Yang, S. 2021. Genome-wide identification and characterization of TALE superfamily genes in soybean (*Glycine max* L.). *International journal of molecular sciences*, 22(8), 4117.
- Wang, W., Jiang, W., Liu, J., Li, Y., Gai, J., & Li, Y. 2017. Genome-wide characterization of the aldehyde dehydrogenase gene superfamily in soybean and its potential role in drought stress response. *BMC genomics*, 18(1), 1-17.
- Wang, Y., Zhao, Y., Yan, M., Zhao, H., Zhang, X., & Yuan, Z. 2020. Genome-wide identification and expression analysis of TALE gene family in Pomegranate (*Punica granatum* L.). *Agronomy*, 10(6), 829.
- William Roy, S., & Gilbert, W. 2006. The evolution of spliceosomal introns: patterns, puzzles and progress. *Nature Reviews Genetics*, 7(3), 211-221.
- www.bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/, Erişim tarihi:08.11.2022
- Xia, Y., Farooq, M. A., Javed, M. T., Kamran, M. A., Mukhtar, T., Ali, J., Tabassum, T., ur Rehman, S., Munis, M. F. H., & Sultan, T. 2020. Multi-stress tolerant PGPR *Bacillus xiamenensis* PM14 activating sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) red rot disease resistance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 640-649.
- Xiong, E., Zheng, C., Wu, X., & Wang, W. 2016. Protein subcellular location: the gap between prediction and experimentation. *Plant molecular biology reporter*, 34, 52-61.
- Xu, X., Xu, Z., Ma, W., Haq, F., Li, Y., Shah, S. M. A., Zhu, B., Zhu, C., Zou, L., & Chen, G. 2021. TALE-triggered and iTALE-suppressed Xa1 resistance to bacterial blight is independent of OsTFIIAγ1 or OsTFIIAγ5 in rice. *Journal of Experimental Botany*.
- Yang, S.-L., Lan, S.-S., & Gong, M. 2009. Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. *Journal of plant physiology*, 166(15), 1694-1699.
- Yoshida, Y., Kiyosue, T., Katagiri, T., Ueda, H., Mizoguchi, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Wada, K., Harada, Y., & Shinozaki, K. 1995. Correlation between the induction of a gene for Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress. *The Plant Journal*, 7(5), 751-760.
- 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.

- Zeid, I., & Shedeed, Z. 2006. Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Biologia plantarum*, 50(4), 635-640.
- Zhang, D., Lan, S., Yin, W.-L., & Liu, Z.-J. 2022. Genome-wide identification and expression pattern analysis of KNOX gene family in Orchidaceae. *Frontiers in plant science*, 13.
- Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z., & Zhu, J.-K. 2022. Abiotic stress responses in plants. *Nature Reviews Genetics*, 23(2), 104-119.
- Zhang, J., Zhang, S., Cheng, M., Jiang, H., Zhang, X., Peng, C., Lu, X., Zhang, M., & Jin, J. 2018. Effect of drought on agronomic traits of rice and wheat: A meta-analysis. *International journal of environmental research and public health*, 15(5), 839.
- Zhang, Y. 2005. miRU: an automated plant miRNA target prediction server. *Nucleic acids research*, 33(suppl_2), W701-W704.
- Zhao, K., Zhang, X., Cheng, Z., Yao, W., Li, R., Jiang, T., & Zhou, B. 2019. Comprehensive analysis of the three-amino-acid-loop-extension gene family and its tissue-differential expression in response to salt stress in poplar. *Plant Physiology and Biochemistry*, 136, 1-12.
- Zhu, Q., Gao, S., & Zhang, W. 2021. Identification of Key Transcription Factors Related to Bacterial Spot Resistance in Pepper through Regulatory Network Analyses. *Genes*, 12(9), 1351.