



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TUZLULUK STRESİNE CEVAPTA ROL
OYNAYAN GENLERİN TÜRLER ARASI
TRANSKRİPTOMİK ANALİZLER İLE
ARAŞTIRILMASI**

Fatma Nur ÖLMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Temmuz / 2025
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Fatma Nur ÖLMEZ tarafından hazırlanan “Bitkilerde Tuzluluk Stresine Cevapta Rol Oynayan Genlerin Türler Arası Transkriptomik Analizler ile İncelenmesi” adlı tez çalışması 22/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAĞI

Danışman

Doç. Dr. Ali Tevfik UNCU

Üye

Doç. Dr. Necibe KAYAK

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

DECLARATION PAGE

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

Fatma Nur ÖLMEZ

Tarih:22/07/2025

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ****TUZLULUK STRESİNE CEVAPTA ROL OYNAYAN GENLERİN TÜRLER ARASI TRANSKRİPTOMİK ANALİZLER İLE ARAŞTIRILMASI****Fatma Nur ÖLMEZ****Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı****Danışman: Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU****2025, 72 Sayfa****Jüri****Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU****Prof. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI****Doç. Dr. Necibe KAYAK**

Domates (*Solanum lycopersicum*), buğday (*Triticum aestivum*), kanola (*Brassica napus*), Soya (*Glycine max*) ve mısır (*Zea mays*) ekonomik açıdan önemli olan bitkilerdir. Bitki türlerinde çeşitli abiyotik stres türlerinde transkriptomik analizler yapılmıştır. Fakat tuzluluk stresi altında belirtilen türlerin karşılaştırılması ve ortak gen arayışı konularında rapor eksikliği devam etmektedir. Bu nedenle, tuzluluk stresi altında türler arası ortak genlerin aranması amacıyla mevcut çalışma yürütülmüştür. Transkriptomik analizler, bitkilerde birçok özelliğin ve işlevin moleküler açıdan detaylı olarak açıklanmasına olanak sağlamaktadır. Yürütülen tez çalışması kapsamında tuzluluk stresi uygulanmış bitki türlerinin verileri alınarak Galaxy platformu aracılığıyla bir dizi algoritma kullanarak veri analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar bitki türleri arasında karşılaştırılmıştır. Abiyotik stres türlerinde etki gösteren ortak 17 gen tespit edilmiş ve 8 transkripsiyon faktörü bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Abiyotik stres, biyoinformatik analizler, transkriptomik analiz, tuzluluk stresi

ABSTRACT**MS THESIS****INTERSPECIFIC TRANSCRIPTOME ANALYSES FOR THE
IDENTIFICATION OF GENES INVOLVED IN SALT STRESS RESPONSES****Fatma Nur ÖLMEZ****THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS****Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ali Tefvik UNCU****2025, 72 Pages****Jury****Prof. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAĞI****Assoc. Prof. Dr. Ali Tefvik UNCU****Assoc. Prof. Dr. Necibe KAYAK**

Tomato (*Solanum lycopersicum*), wheat (*Triticum aestivum*), canola (*Brassica napus*), soybean (*Glycine max*), and maize (*Zea mays*) are economically important plants. Transcriptomic analyses have been conducted on plant species under various abiotic stress types. However, there is still a lack of reports on comparisons of species under salinity stress and the search for shared genes. Therefore, the current study was conducted to search for shared genes among species under salinity stress. Transcriptomic analyses allow for the detailed molecular elucidation of many traits and functions in plants. Within the scope of this thesis, data from plant species subjected to salinity stress were collected and analyzed using a series of algorithms via the Galaxy platform. The obtained results were compared among plant species. 17 genes affecting abiotic stress types were identified, and 8 transcription factors were identified.

Keywords: Abiotic stress, bioinformatic analyses, transcriptomics analyses, salt stress

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans dönemimiz boyunca bize ilham kaynağı olan ve çalışmalarımızda her türlü desteği bizlerden esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU' ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tüm bu süreçte bana eşlik eden ve hep yanımda olan eşim Ömercan'a ve aileme desteklerinden dolayı binlerce kez teşekkür ederim.

Fatma Nur ÖLMEZ
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
ÖNSÖZ	3
İÇİNDEKİLER	4
SİMGELER VE KISALTMALAR	6
1. GİRİŞ.....	7
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	8
2.1. Bitki Türleri	8
2.2. Seçilen Bitki Türlerinin Sınıflandırılması.....	9
2.3. Bitkilerde Stres Kavramı ve Tuzluluk Stresi	10
2.3.1. Yapılan Çalışmalar	13
2.4. RNA Dizileme (RNA seq).....	15
2.5. RNA Dizileme Basamakları	20
2.5.1. Kalite Kontrolü	20
2.5.2. Trimleme.....	20
2.5.3. Haritalama.....	21
2.5.4. Sayma.....	22
2.5.5. DESeq	23
2.5.6. BLAST.....	23
2.5.7. Gen Ontolojisi (GO)	24
2.5.8. KEGG Analizi.....	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1. Dizilerin Filtrelenmesi	26
3.2. Referans Genoma Haritalanması	26
3.3. Gen Ekspresyon Analizi	27
3.4. Diferansiyel Ekspresyon Genlerinin (DEG) Tanımlanması	27
3.5. Gen Ontoloji Analizi.....	28
3.6. Türlerde Ortak Olan Genlerin Modellenmesi	28
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	29
4.1. Diferansiyel İfade Analizi Sonuçları	29
4.1.1. Domates (<i>Solanum lycopersicum</i>)	29
4.1.2. Ekmeklik Buğday (<i>Triticum aestivum</i>).....	33
4.1.3. Kanola (<i>Brassica napus</i>).....	37
4.1.4. Soya (<i>Glycine max</i>).....	41
4.1.5. Mısır (<i>Zea mays</i>).....	45
4.2. Bitki Türlerinde Tuzluluk Stresi Altında Tespit Edilen Ortak Genler.....	49
4.3. Bitki Türlerinde Tuzluluk Stresi Altında Tespit Edilen Ortak TF'ler	61
4.4. Gen Ontoloji (GO) Sonuçları.....	64

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	65
5.1 Sonuçlar	65
5.2 Öneriler	65
6. KAYNAKLAR	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

mmol :milimol

Kısaltmalar

ABA : Absisik Asit
BLAST :Temel Yerel Hizalama Arama Aracı (Basic Local Alignment Search Tool)
BP :Biyolojik Proses
CC :Hücresel Bileşen (Cellular Component)
cDNA :Koplementer (tamamlayıcı) DNA
DEG :Diferansiyel Eksprese Genler
DNA :Deoksiribo Nükleik Asit
FPKM :Fragments Per Kilobase Of Exon Per Million Fragments Mapped (Haritalanmış Milyon Bazda Parça Sayısı)
GO :Gen Ontoloji
HSP :Heat shock protein (Isı şok protein)
KEGG :Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)
Log2FC :Log2 Fold Change (Log2 Kat Değişimi)
MF :Moleküler Fonksiyon
mRNA :Mesajcı Ribo Nükleik Asit
NaCl :Sodyum klorür
NCBI :National Center for Biotechnology Information.
PacBio :Pacific Biosciences
RNA :Ribo Nükleik Asit
rRNA :Ribozomal Ribo Nükleik Asit
TF :Transkripsiyon Faktörü

1. GİRİŞ

Bitkilerde tuzluluk stresi büyüme ve gelişmeyi etkileyen önemli bir abiyotik stres türüdür. Tuzluluk stresi, farklı bitkiler üzerinde çeşitli derecelerde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Bazı bitkiler tuza karşı daha hassasken, bazıları da tuzluluk stresine karşı orta düzeyde tolerans göstermektedir. Her bitkinin tuz toleransı farklıdır ve bu durum bitkilerin kök yapıları, su alma kapasiteleri ve iyon dengeleme mekanizmalarına bağlı olarak değişmektedir. Ancak yüksek tuz seviyeleri her durumda bitkilerin büyüme ve gelişmelerini, bitki verimini olumsuz etkileyebilmektedir.

Günümüzde ekilebilir arazilerde tuz birikiminin artmasıyla birlikte bitki türleri üzerinde tuzluluk stresi önemli bir tehlike arz etmektedir. Topraktaki tuz birikiminin artması bitkinin su alımını kısıtlamaktadır. Sodyum ve diğer iyonların çok yüksek derişimlerde bulunması bitki zehirlenmesine yol açabilmektedir. Bu sorunlardan dolayı bitkilerin tuzluluk stresine karşı dayanıklılık gösterebilmesi büyük bir önem taşımaktadır.

Moleküler düzeyde yapılan çalışmalarla birlikte strese maruz bırakılan bitkilerde meydana gelen değişiklikler RNA düzeyinde görülebilmektedir. Bu çalışmada ikisi aynı aileden farklı beş bitki türünün tuzluluk stresi altında transkriptomik verileri alınmış ve Galaxy platformunda belirli araçlar kullanılarak veri analizi gerçekleştirilmiştir. İfadesi değişen genler tespit edilmiş ve zenginleştirme analizleri yapılmıştır.

Çeşitli analizler sonucunda incelenen bitki türleri kapsamında 20 ortak gen tespit edilmiştir. Bu genlerin genellikle abiyotik ve biyotik stres türleri altında bitki tepkilerinde rol oynadığı yapılan literatür araştırmalarıyla beraber belirtilmiştir. Ortak genlerin tespitiyle birlikte incelenen bitki türleri kapsamında 8 ortak transkripsiyon faktörü ailesi tespit edilmiş olup, yine bu TF'lerin abiyotik stres türleri altında strese karşı tepkide rol oynadığı bulunmuştur. Gen ontoloji analizi kısmında en az üç türde ortak olan genlerin moleküler fonksiyonları başlığı altında sonuçlar açıklanmıştır.

İncelenen bitki türleri; tüm dünyada ve ülkemizde tarımsal açıdan önem arz eden, ekonomik açıdan oldukça önemli olan bitki türleridir. Giderek tuzluluğun bitkiler üzerinde yarattığı risk sonucunda bitkilerde meydana gelen değişikliklerin tespiti ve transkriptomiks analizlerinin yapılması yürütülen tez kapsamında literatüre özgün bir kazanım sunmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bitki Türleri

Domates (*Solanum lycopersicum*), çeşitli tarımsal bitkileri (örneğin patates, biber, patlıcan ve tütün) içeren Solanaceae familyasının bir üyesi olan önemli bir mahsul ürünüdür (*Genome Mapping and Molecular Breeding of Tomato - Foolad - 2007 - International Journal of Plant Genomics - Wiley Online Library, t.y.*). Köken olarak Peru ve Güney Amerika geldiği düşünülmektedir. İlk defa Meksikalılar tarafından kültüre alınmış olup Yeni Dünya keşfinden sonra Amerika'dan Avrupa'ya ve Dünyanın diğer kısımlarına yayılmıştır (Caliskan, 2012). Günümüzde Çin ve Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere dünyanın dört bir yanında çeşitleri yetiştirilebilmektedir. Domates, bir gıda olarak değerinin yanı sıra meyve olgunlaşması, bitki-patojen etkileşimleri ve moleküler genetik haritalama çalışmaları için önemli bir model sistem olarak hizmet etmiştir. Domates diploid bir bitki olup $2n=24$ kromozomludur (Bai ve Lindhout, 2007). Genomu yaklaşık olarak 900 Mb'dir. Genom dizilimi 2012'de uluslararası bir konsorsiyom tarafından tamamlanmıştır (Sato vd., 2012).

Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum*), Poaceae familyasına ait bir monokotiledon olup, pirinç ve mısırla birlikte dünyada en çok yetiştirilen üç tahıldan ürününden biridir. Günümüzde yetiştirilen buğdayın kökeni Asya bölgesinde bulunmaktadır ve oradan diğer kıtalara yayıldığı düşünülmektedir (Brambilla vd., 2022). Bu ürünün en fazla üretiminin yapıldığı yerler arasında Rusya, Çin, Hindistan ve Türkiye bulunmaktadır. $2n=6x=42$ kromozomlu alloheksaploid bir bitkidir. Yaklaşık olarak genom büyüklüğü 16 Gb'dir. "International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC)" tarafından ilk olarak 2018 yılında genom dizilemesi yapılmıştır (The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) vd., 2018).

Kanola (*Brassica napus*), Brassicaceae familyasına ait yağ üretiminde önemli bir yere sahip bitki türüdür. Köken olarak Avrupa'da doğal yollarla meydana gelen bir hibritleşme sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Kanada, Çin, Avrupa Ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede yetiştirilmektedir. Bitkisel yağ üretimi, hayvan yemi ve biyoenerji üretimi gibi alanlarda kullanımı oldukça yaygındır. $2n=4x=38$ kromozomlu allotetraploid bir bitkidir. Genom büyüklüğü yaklaşık olarak 1.13 Gb'dir. İlk olarak referans genomu 2014'te INRA, CIRAD, Beijing Genomics Institute (BGI) gibi kurumların da içerisinde olduğu uluslararası bir araştırmacı grubu tarafından yapılmıştır (Chalhoub vd., 2014)

Soya Fasulyesi (*Glycine max*), Fabaceae familyasına mensup tek yıllık otsu bir bitkidir. Köken olarak Doğu Asya'dan geldiği düşünülmektedir. Dünyada en çok yetiştirilen yağlı tohum bitkilerinden biri olan Soya fasulyesi; başta ABD, Çin ve Hindistan olmak üzere ülkemizde de Akdeniz Bölgesi'nde sınırlı düzeyde yetiştirilmektedir. Tek yıllık bir bitkidir. $2n=40$ kromozomlu ve genom büyüklüğü yaklaşık olarak 1.1 Gb'dır. Genom dizilimi 2010 yılında Soybean Genome Project tarafından tamamlanmıştır (Schmutz vd., 2010). Paleoploid bir bitki türü olup, 2 defa tüm genom duplikasyonu geçirmiştir. Bundan kaynaklı birçok genin birden fazla kopyası bulunmaktadır.

Mısır (*Zea mays*), Poaceae familyasına mensup bir bitki türüdür. Kökeni Meksika'dır. Yaklaşık olarak dokuz bin yıl önce atası teosiniteden evcilleştiği düşünülmektedir. Hayvan yemi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Boyu yaklaşık olarak 2 ile 3 metreye kadar uzayan tek yıllık bir bitkidir. $2n=2x=20$ kromozomludur. Genomu yaklaşık olarak 2.4 Gb'dır. (Haberer vd., 2005). Referans genomu ilk olarak 2009 yılında Maize Genome Sequencing Project kapsamında yayımlanmıştır (Schnable vd., 2009). Genomu oldukça büyük ve karmaşıktır. Çoğunlukla transpozonlardan (tekrar eden dizi) meydana gelmektedir.

2.2. Seçilen Bitki Türlerinin Sınıflandırılması

Çizelge 2.1. *Solanum lycopersicum* sistematigi

Domain	Ökaryotlar
Alem	Plantae (Bitkiler)
Bölüm	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım	Solanales
Familya	Solanaceae (Patlıcangiller)
Cins	Solanum
Tür	Solanum lycopersicum

Çizelge 2.2. *Triticum aestivum* sistematigi

Domain	Ökaryotlar
Alem	Plantae (Bitkiler)
Bölüm	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Liliopsida (Tek çenekliler)
Takım	Poales
Familya	Poaceae (Buğdaygiller)

Cins Tür	Triticum Triticum aestivum
-------------	-------------------------------

Çizelge 2.3. *Brassica napus* sistematığı

Domain	Ökaryotlar
Alem Bölüm Sınıf Takım Familya Cins Tür	Plantae (Bitkiler) Magnoliophyta (Kapalı tohumlular) Magnoliopsida (İki çenekliler) Brassicales Brassicaceae (Turpgiller) Brassica Brassica napus

Çizelge 2.4. *Glycine max* sistematığı

Domain	Ökaryotlar
Alem Bölüm Sınıf Takım Familya Cins Tür	Plantae (Bitkiler) Magnoliophyta (Kapalı tohumlular) Magnoliopsida (İki çenekliler) Fabales Fabaceae (Baklagiller) Glycine Glycine max

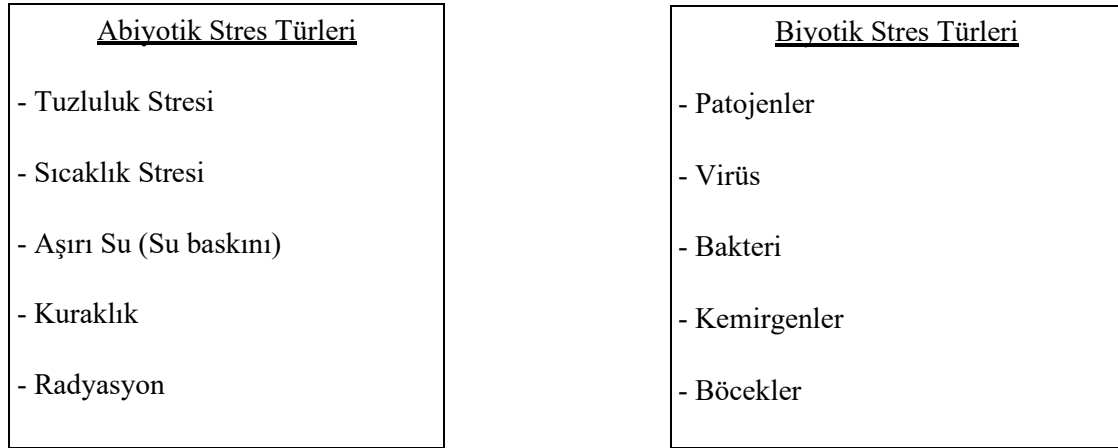
Çizelge 2.5. *Zea mays* sistematığı

Domain	Ökaryotlar
Alem Bölüm Sınıf Takım Familya Cins Tür	Plantae (Bitkiler) Magnoliophyta (Kapalı tohumlular) Liliopsida (Tek çenekliler) Poales Poaceae (Buğdaygiller) Zea Zea mays

2.3. Bitkilerde Stres Kavramı ve Tuzluluk Stresi

Bitkilerdeki stres kavramı, bitkilerin büyümesini, gelişimini veya üretkenliğini olumsuz yönde etkileyen dış etkenleri ifade etmektedir. Stresler, değişen gen ifadesi, hücrel metabolizma, büyüme oranlarındaki değişiklikler, ürün verimleri vb. gibi çok

çeşitli bitki tepkilerini tetiklemektedir. Bitkiler stres altındayken bazı farklılıklar gösterebilmektedirler. Ancak strese tolerans gösterebilen bitkiler strese maruz kaldıkları süreçte meydana gelen değişikliklere uyum göstermektedirler. Bitkilerde stres faktörleri abiyotik stres ve biyotik stres olmak üzere iki başlıkta incelenmektedir (Yılmaz vd., 2011).



Şekil 2.1. Biyotik ve abiyotik stres faktörleri gösterilmiştir

Stres faktörleri Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi sınıflandırılmaktadır. Abiyotik stres türlerinden biri olan tuzluluk stresi, her yıl küresel olarak geniş bir arazi alanını etkiler ve etkilenen alan günden güne artış göstermektedir. Bu artış durumu; tuzluluğu ürün üretimini büyük ölçüde sınırlayan büyük bir çevresel stres haline getirir. Yüksek tuzluluk, bitkilerin su alma kapasitelerini düşürür. Bu durum bitkilerde metabolik değişikliklerin gözlemlenmesiyle birlikte büyüme hızında düşüşe yol açmaktadır. Bitkilerde aşırı tuza maruz kalma yaşlanmaya neden olur ve ayrıca bitkinin fotosentetik yaprak alanını azaltır, bunun sonucunda bitki büyümesini sürdürememektedir (S. Verma vd., 2013). Bitkinin maruz kaldığı tuzluluk yoğunluğa ve süresine bağlı olarak büyüme, gelişme, çimlenme ve fotosentez gibi bitki için oldukça önem taşıyan biyolojik olayları etkilemektedir. Bitkilerde tuzun zararlı bir diğer etkisi de Na^+ , Cl^- ve SO_4^{2-} gibi iyonların yüksek derişimlerde birikmesiyle birlikte iyon toksisitesinin meydana gelmesidir (Yılmaz vd., 2011). Bu iyonların yüksek derişimlerde bitkide bulunması bitkilerde protein sentezinde çeşitli sorunla yol açabilmektedir.

Tuzluluk stresi altında bir bitkide ilk olarak görülebilecek etki hücre membranlarının hasar görmesidir. Tuzluluğun hücre membranları üzerinde sebep olduğu

etkileri incelemek için yapılan bir çalışmada, *Dactylis glomerata L.* bitkisine 200 mM NaCl uygulaması yapıldıktan sonra plazma membranında meydana gelen bazı değişiklikler gözlemlenmiş ve membran yapısında bozulmalar görülmüştür (Dutta Gupta, 2007).

Bitkilerin tuza maruziyeti sırasında, gen ekspresyon seviyelerinde değişiklikler meydana gelmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte stres altında eksprese edilen genler karakterize edilmiştir. Eksprese edilen genler fonksiyonlarına göre ;

- Ozmolitleri sentezleyen genler,
- Hücre bütünlüğünü koruyan genler,
- Antioksidatif enzimleri kodlayan genler,
- İyon dengesini düzenleyen genler,
- Transkripsiyon faktörlerini kodlayan genler

olarak gruplandırılmıştır (Borsani vd., 2003).

Bitkiler stresle mücadele etmek için ilgili genleri eksprese ederek stresle ilgili protein üretmektedirler (Sairam ve Tyagi, 2004). Şaperonlar olarak görev yapan Isı-Şoku (Hsps: Heat-Sock Proteins) Proteinleri ve Geç Embriyogenesis (LAE: Late Embriyogenesis Proteins) Proteinleri tuzluluk stresi altında eksprese olmaktadır (Holmberg ve Bülow, 1998).

Çizelge 2.6. Bazı bitki türlerinde tuz stresinde indüklenen genler ve fonksiyonları
(Parida ve Das, 2005).

Bitki Türleri	Genler/Proteinler	Karakteristik Özellikleri
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Sal 1</i>	Tuz stresi ile eksprese edilir, aşırı ifadesi Na ⁺ toksisitesini azaltır.
<i>Brassica napus</i>	<i>Bnd 22</i>	Tuz stresinde 22 kDa proteinini üretir.
<i>Lycopersicon esculentum</i> <i>Orzya sativa</i>	<i>Le-16 geni</i> <i>em</i>	Abiyotik stres altında bitki, ekspresyonunu artırır. ABA ve tuz stresiyle ekspresyonu artar.
<i>Zea mays</i>	<i>mlip15</i>	Tuz stresi ve ABA ile ekspresyonu artırılır, transkripsiyon faktörü sentezler.
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>HVD1</i>	Tuz stresinde kloroplasttaki fotosentez reaksiyonlarını düzenler.
<i>Pisum sativum</i>	<i>PDH45,</i> <i>PDH47</i>	Tuz stresinde DNA/RNA metabolizmasını düzenler.

2.3.1. Yapılan Çalışmalar

Walia ve arkadaşları (2006), Arpada yapılan bir çalışmada fide aşamasında tuzluluk stresine karşı genlerin profillenmesi amacıyla deney grubu ve kontrol grubu bitkilerinin transkriptomik verilerini elde edip analizlerini yapmışlardır. Tuzluluğa tepki olarak yukarı ve aşağı regüle edilen, karşılaştırılabilir sayıda birkaç gen seti bulunmuştur. Farklı şekilde ifade edilen genler, gen ontolojisi ve ifadeye dayalı hiyerarşik kümeleme kullanılarak verilerin özelliklerini belirlemek için karakterize edilmiştir. Tuzluluk stresine yanıtta belirgin bir özellik olan jasmonik asit biyosentezinde yer alan genlerin indüklendiği görülmüştür. Çok sayıda abiyotik stresle (ısı, kuraklık ve düşük sıcaklık vb.) ilişkili genin de tuzluluk stresine yanıt verdiği belirlenmiştir (Walia vd., 2006) .

Peng ve arkadaşları (2014), yaptıkları çalışmada Pamuk (*Gossypium spp.*)’da tuza dayanıklı ve duyarlı iki farklı genotip üzerinden tuzluluk stresi etkilerini incelemişlerdir. Dünyanın başlıca lif ürünlerinden biri olan Pamuk (*Gossypium spp.*), tuza dayanıklı ürün olarak sınıflandırılmasına rağmen, pamuk büyüme ve verimliliği, özellikle de çimlenme ve fide aşamalarında yüksek tuzluluk konsantrasyonlarından olumsuz olarak etkilenmektedir. Illumina dizileme teknolojisini kullanılarak tuz stresi altındaki pamuk yapraklarının fizyolojik deneyleri ve transkriptom dizilemesi gerçekleştirilmiştir. 72 saat süresince NaCl uygulaması sırasında biri tuza dayanıklı diğeri tuza duyarlı olmak üzere iki pamuk genotipinin 14 günlük fidelerinin fizyolojik değişimleriyle tanımlanan iki ayrı tuz stresi fazını dehidratasyon (4 saat) ve iyonik stresi (ozmotik restorasyon; 24 saat) incelenmiştir. Karşılaştırmalı transkriptomik, tuzluluk koşulları altında iki pamuk genotipinin yapraklarında iki zaman noktasında (4 saat ve 24 saat) gen ve miRNA’ların farklı ifadelerini izlemek için kullanılmıştır. Farklı şekilde birlikte ifade edilen unigenlerin ifade kalıpları, 24 saatlik tuz maruziyeti sırasında, 819 transkripsiyon faktörü her iki genotipte farklı şekilde ifade edildiği ve 129 unigen özellikle tuza dayanıklı genotipte ifade edildiği belirlenmiştir. Tuz stresi altında, bilinen ailelerden 108 korunan miRNA, tuza dayanıklı genotipte iki zaman noktasında farklı şekilde ifade edilmiştir. “Kalsiyum bağımlı protein kinaz”, “mitogenle aktive olan protein kinaz” ve hormonların (absisik asit ve etilen) biyosentezinde ve sinyal iletiminde yer alan zar reseptörlerini, taşıyıcıları ve yolları kodlayan önemli ifade edilmiş genlerin yukarı düzenlendiği belirtilmiştir (Peng vd., 2014) .

Zeng ve arkadaşları (2014), yaptıkları çalışmada Soya'da tuz stresini RNA-seq ile analiz etmişlerdir. Tuz stresi bitki üzerinde verimi azaltan önemli bir etki yaratmaktadır. Tuza duyarlı ve toleranslı iki bitki hattı 120 mM NaCl uygulaması 9 gün süresince yapılmıştır. RNA izolasyonu sonrası Illumina Truseq kiti kullanılarak PolyA+ kütüphaneleri oluşturulmuştur. Okumalar Illumina HiSeq 2500 ile elde edilmiştir. Tuz stresi altında 0 (kontrol), 6, 12 ve 24 saatlik dört zaman noktasının her biri için üç biyolojik tekrarı olan iki soya fasulyesi hattından alınan yirmi dört örnek RNA-Seq ile analiz edilmiştir. RNA-Seq sonucunda üretilen toplam okuma sayısı 397,5 milyon olarak belirlenmiştir ve bunlardan 354,6 milyonu (%89,2) soya fasulyesi referans genomuna benzersiz bir şekilde eşlendiği görülmüştür. 0'nci saatteki genlerin ifade profili tuza dayanıklı ve tuza duyarlı hat arasında karşılaştırılarak tuza dayanıklı ve tuza duyarlı hat arasında toplam 2374 farklı şekilde ifade edilen gen (DEG) belirlenmiştir. Tüm uygulamalardaki 154 ortak DEG içerisinde tuza dayanıklı ila tuza duyarlı hattın ifade seviyesinin Log2FoldChange'i farklı zaman noktaları arasında karşılaştırılmıştır. 6, 12, 24 saatteki Log2FoldChange 0.saattekenden büyükse genlerin yukarı regüle edildiği düşünülmüş ve 6, 12, 24 saatteki Log2 0.saattekenden düşükse genlerin aşağı regüle edildiği düşünülmüştür.

Ek olarak, 154 yaygın DEG arasında 13 gen, tuza dayanıklı veya tuza duyarlı türlerde ekspresyon ifadesinin oldukça değiştiği görülmüştür (Zeng vd., 2019).

Gen ontoloji (GO) zenginleştirme analizi, potansiyel işlevlerini değerlendirmek için farklı şekilde ifade edilen genler üzerinde gerçekleştirilmiştir. GO terimlerinin açıklamaları Phytozome'dan elde edilmiş ve GO biyolojik süreç kategorisinden yararlanılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen veriler; "uyarıcıya yanıt", "katalitik aktivite", "bağlanma", "sinyal iletimi", "antioksidan aktivite", "enzim düzenleyici aktivite", "taşıyıcı aktivite", "transkripsiyon faktörü aktivitesi" ve "büyüme" gibi terimler dokuz geniş işlevsel gruba sınıflandırılmıştır (Zeng vd., 2019).

Han ve arkadaşları (2023), yaptıkları çalışmada tuza duyarlı japonica çeşidi "Tong 35 (T35)" ve tuza dayanıklı japonica çeşidi "Ji Nongda (JND709)" pirinç çeşitlerinde 150 mmol/L NaCl uygulanmasıyla tuzluluk stresi ile ilgili çalışma yapmışlardır. Tuza duyarlı ve tolerant örneklerden üç tekrarlı 12 adet cDNA kütüphanesi oluşturulmuştur. Yaklaşık olarak her bir örnek başına 9,57 G ham dizi verisi elde edilmiştir. Beş adet karşılaştırılmış veri grubunda 16.829 adet diferansiyel ekspresyon gen tespit edilmiştir. Diferansiyel ekspresyon edilen gen tespitinden sonra elde edilen veriler zenginleştirme analizi gen

ontoloji (GO) analizi ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) yolak analizine tabi tutulmuştur.

GO sonuçları moleküler fonksiyon başlığında “katalitik aktivite” 169, “sinyal iletim aktivitesi” 22 ve “bağlanmada” 42 gen olduğunu göstermiştir. Hücresel bileşen başlığı altında genellikle “hücre” 336 ve “organel” 177 gen olduğu tespit edilmiştir. Biyolojik süreç başlığı altında ise “metabolik süreç” 496, “hücresel süreç” 352 gen bulunmuştur. KEGG analizi sonucunda 232 yolağın ve 819 genin istatistiksel olarak sınıflandırılması ortaya koyulmuştur (Han vd., 2023).

2.4. RNA Dizileme (RNA seq)

RNA molekülleri tüm canlı hücrelerin temel bileşeni olma özelliği taşımaktadır. RNA temelli çalışmaların çoğunun nihai hedefi belirli bir koşul altında belirli bir hücredeki her RNA molekülünün türünü ve bolluğunu anlamak üzerine kurulmuştur. 1990’lı yılların başında Adams ve arkadaşları (1992), tarafından geliştirilen ifade edilmiş dizi etiketi (EST) yöntemi, tamamlayıcı DNA (cDNA) klonlarını kısmen dizileyerek gen ifadesini incelemekte ve hem diziyi hem de karşılık gelen RNA’ların bolluğunu ortaya çıkartmaktadır. EST verileri, bu yıllarda genomlardaki yeni genlerin tanımlanmasında önemli bir rol oynamıştır. Ancak, yöntemin yüksek dizileme maliyeti, ifade analizinde kullanımını sınırlamıştır (Adams vd., 1992). Velculescu ve arkadaşları (1995), tarafından geliştirilen “Serial Analysis of Gene Expression (SAGE)” yöntemi, gen başına ifade analizinin maliyetini önemli ölçüde azaltmıştır. Bunun nedeni cDNA başına yalnızca kısa bir etiket bölgesinin dizilenme yönteminde kullanılmasıdır (Velculescu vd., 1995).

1990’ların ortalarında DNA mikrodizi teknolojisinin ortaya çıkması, büyük ölçekli çalışmalar için çok daha uygun fiyatlı olması nedeniyle gen ifadesi analizi için EST ve SAGE yöntemlerinin yerini almıştır (Lockhart vd., 1996; Schena vd., 1995).

Gen ekspresyonunun DNA mikrodizi analizi, transkriptlerden türetilen floresanla etiketlenmiş hedeflerin, katı bir yüzeye tutturulmuş problara hibridizasyonuna dayanmaktadır. Ancak bu yöntem transkriptlerin genom çapında araştırılmasına imkan sunarken mikrodizi problemlerini tasarlamak için dizi bilgisi veya referans genomları/transkriptomlarının mevcut olması gerekmesi bu teknolojinin geliştirilmesini ve uygulanmasını sınırlamıştır (Hrdlickova vd., 2017) .

Geçmişten günümüze birden fazla dizileme yöntemleri ve platformları geliştirilmiştir. Bunlardan ilki Sanger dideoksi sentez (Sanger vd., 1977; Sanger ve

Coulson, 1975) ve Maxam-Gilbert (Maxam ve Gilbert, 1980) kimyasal bölünme yöntemleridir. Bu iki yöntem birinci nesil sekanslama yöntemleri olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde Maxam-Gilbert yöntemi toksik reaktif içerdiği için kullanılmamakta ve Sanger dideoksi yöntemi de küçük genomlar için kullanılmaktadır. İnsan Genom Projesi Sanger dideoksi sekanslama yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Bentley, 2000).

Zaman ve maliyetin yüksek oluşu açısından dezavantajları bulunması sonucunda yeni yöntemlerin keşfedilme zorunluluğu doğmuştur. İkinci nesil sekanslama teknolojisinde geliştirilen cihazlar İllumina, 454 pyro-sequencing ve İon Torrent gibi platformlardır (Glenn, 2011; Schuster, 2008).

Yaklaşık olarak 50 ila 500 baz çifti fragmentleri arasında okuma yapmaktadır (Voelkerding vd., 2009). Çalışma prensibi hazırlık aşaması, sekanslama ve elde edilen verinin analizi gibi adımlardan oluşmaktadır. İkinci nesil sekanslama yöntemleri kısa okuma temelli çalışmaktadır. Dolayısıyla okuma doğruluğu çok yüksek olmaktadır fakat çok fazla ve kısa sayıda fragment bulunduğu için birleştirme aşaması (assembly) zor olmaktadır.

Yeni nesil sekanslama yöntemlerine son zamanlarda üçüncü nesil sekanslama yöntemleri eklenmiştir. Üçüncü nesil sekanslama yöntemleriyle birlikte çok daha kısa sürede daha uzun okumalar elde edilebilmektedir. Büyük veri üretilmesi hem maliyet hem de zaman açısından oldukça avantaj sağlayabilmektedir. Kısa okumalara kıyasla birleştirme aşaması göz önüne alındığında uzun okumalarda hata payı daha az olmaktadır. Uzun okuma teknolojisini Pacific Biosciences (PacBio), Oxford Nanopore, “gerçek zamanlı tek molekül dizileme (Single Molecul Real Time)” sekanslama platformları kullanmaktadır.

PacBio makinlerinde bulunan sistem, DNA polimerazın aktivitesini eş zamanlı olarak göstermeye dayalı bir teknolojidir. Oldukça hızlı olan bu yöntem, okumaların büyüklüğü 10 kb’yi aşabildiği için de novo genom dizilemelerinde de sıklıkla kullanılabilir (Rhoads ve Au, 2015).

Bir diğer teknoloji de Oxford Nanopore şirketi tarafından geliştirilmiştir. Nanopor teknolojisi, membran üzerine sabitlenmiş, küçük porlar içeren ve bu porlardan moleküllerin geçişini olanak sağlayan farklı bir teknolojidir. Moleküllerin geçişi esnasında akım ölçülmesine dayanmaktadır (Laver vd., 2015). Her molekülün kendine ait farklı iyon akımı olması nedeniyle tanımlama yapılmasını mümkün kılmıştır. Uygun

boyutta porlar kullanıldığında her bir nükleotid farklı iyon akımına sahip olduğu için değişim ölçülerek dizileme yapılabilir.

Oxford Nanopore şirketi MinION, PromethION ve SmidgION gibi platformlarında bu teknolojiyi kullanmaktadır (Mikheyev ve Tin, 2014). Nanopor teknolojisinin hata oranı çok yüksek olmasına karşın, uzun okuma yapması, maliyetinin düşük olması ve hızlı olması yöntemi kullanılabilir kılmaktadır.

Dizileme cihazları DNA temelli çalışmalar için uyumludur. RNA dizilemesi için öncelikle bir hazırlık aşamasının yapılması gerekmektedir. Bu nedenle, RNA'dan tamamlayıcı (complementer) DNA kütüphanesi hazırlanması gerekir. Hazırlanan her bir cDNA kütüphanesinin uçlarına adaptör sekans adı verilen belirli boyutta sekanslar eklenmektedir. cDNA kütüphane hazırlama yöntemi araştırılan RNA türü, boyutu, dizisi ve yapısına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

Kütüphane oluşturmak için:

1. İlgi duyulan RNA moleküllerinin nasıl bulunacağı;
2. RNA'nın tanımlanmış boyut aralıklarına sahip çift sarmallı cDNA'lara nasıl dönüştürüleceği;
3. cDNA uçlarına amplifikasyon ve dizileme için adaptör dizilerinin nasıl yerleştirileceği

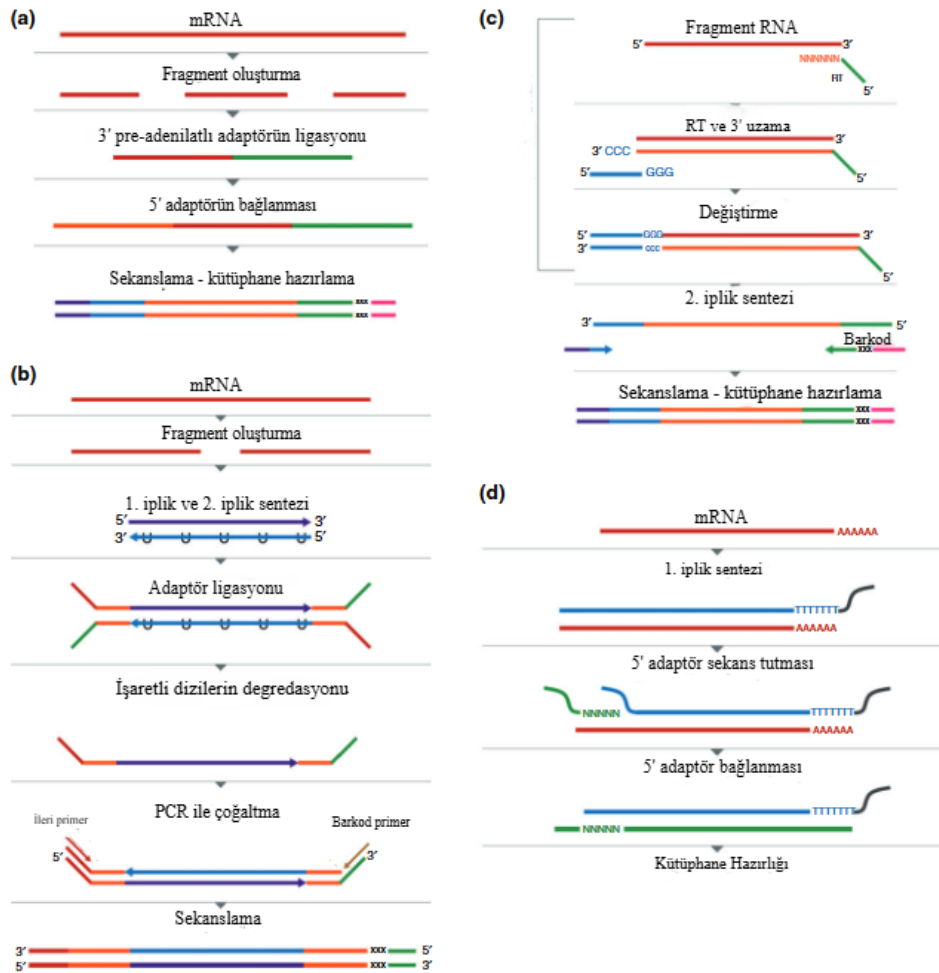
gibi hususlar önem taşımaktadır.

Poliadenile edilmiş RNA'nın dizilenmesi RNA-seq'in en yaygın uygulamasıdır. Ökaryotik organizmalarda, çoğu protein kodlayan RNA (mRNA) ve birçok uzun kodlamayan RNA (lncRNA) (>200 nt) bir poli(A) kuyruğu içerir. Poli(A) kuyruğu, poli(A) + RNA'ların toplam hücrel RNA'dan zenginleştirilmesi için teknik olarak kolaylık sağlamaktadır. Poli(A) + RNA seçimi, oligo-dT molekülleriyle kaplanmış manyetik veya selüloz boncuklarla gerçekleştirilebilmektedir. Poli(A) saflaştırma, çok düşük miktarda RNA mevcut olmadığı sürece poli(A) + RNA'yı seçmek için tercih edilen bir yöntemdir (Levin vd., 2010).

Prokaryotik mRNA'lar gibi poliadenile edilmemiş RNA'ların dizilenmesindeki önemli bir sorun, hücredeki en bol bulunan RNA türü olan ancak çoğu çalışmada pek ilgi görmeyen ribozomal RNA'ların (rRNA'lar) nasıl ortadan kaldırılacağıdır. rRNA'ları ortadan kaldırmaya yönelik bir yaklaşım, rRNA'larla hibridize olabilen diziye özgü problemlere dayanmaktadır. İstenmeyen rRNA'lar veya cDNA'ları, biyotinlenmiş DNA veya kilitli nükleik asit (LNA) problemleri tarafından hibridize edilmekte ve ardından streptavidin boncuklarıyla tüketilmesi sağlanmaktadır.

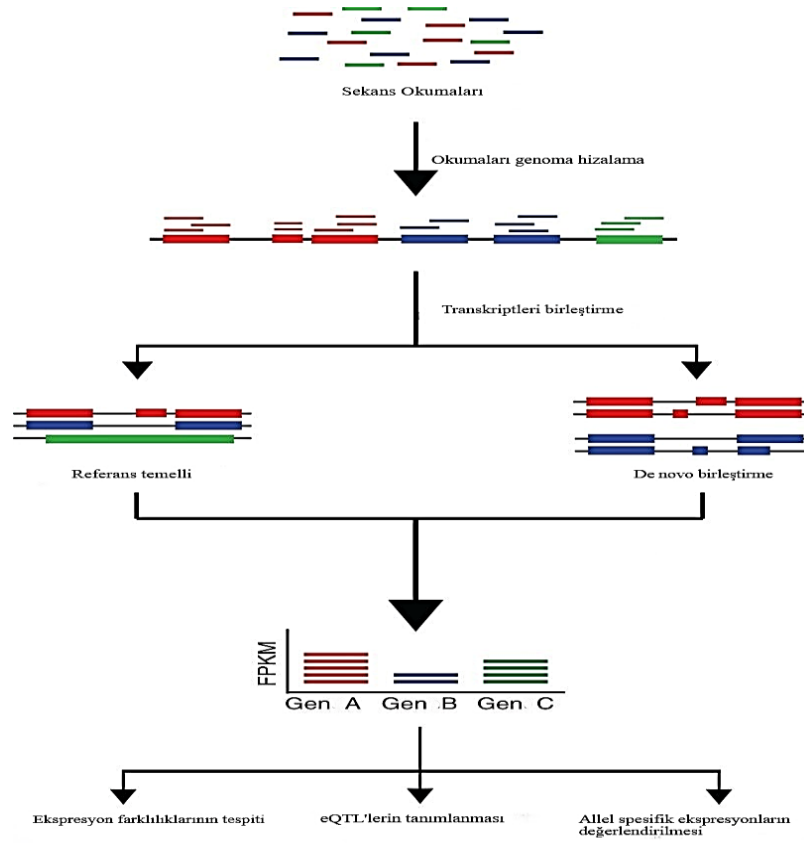
Alternatif olarak, rRNA'lar antisens DNA oligoları tarafından hedeflenir ve RNase H tarafından sindirilir, bu yöntem aynı zamanda prob yönlendirmeli bozunma (PDD) olarak da bilinir. Bu yaklaşım hibridizasyondan daha kolay olsa bile, rRNA'ların sürekli olarak kapsanmasını ve farklı türler için tasarlanmış benzersiz prob setlerine gereksinim duymaktadır.

Farklı bir yöntem olarak, rRNA'lar ve diğer RNA'lar dahil olmak üzere tüm cDNA'lar daireselleştirilir ve rRNA problemlerine hibridize edilir. Hibridize diziler daha sonra dupleks-spesifik nükleaz (DSN) tarafından sindirilir ve bu da onları amplifikasyon için kullanılamaz hale getirir. Ancak bu yöntem yüksek miktarda toplam RNA gerektirmektedir.



Şekil 2.2. İplik spesifik RNA-seq için yöntemler (Hrdlickova vd., 2017).

Poli (A) seçilimi ve RNA ayırma işlemlerinden sonra RNA küçük fragmentler halinde parçalanmaktadır. Her bir parçanın başına adaptör sekanslar yerleştirilmektedir. Bu işlemlerden sonra mRNA sekanslamaya hazır hale getirilir.

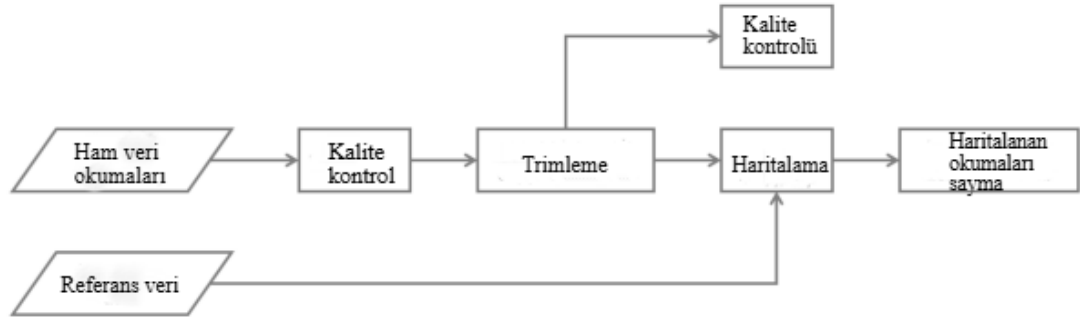


Şekil 2.3. RNA-seq veri analizi

RNA-Seq okumaları hizalandıktan sonra, haritalanan okumalar transkriptlerle birleştirilebilir hale gelmektedir. Hesaplamalı programların çoğu, transkript modellerini referans genoma yapılan okuma hizalamalarından çıkarmaktadır. Transkript birleştirme için alternatif bir yaklaşım olan de novo assembly, referans genoma ihtiyaç duymadan transkriptlerin birleştirilme yapıldığı bir yaklaşımdır. Uzun okumalar için Overlap-Layout-Consensus (OLC) teknolojileri kullanılmaktadır. Okumalar arasında benzer noktalar bulunur, bu benzerliklere göre sıralama yapılır ve en olası dizilim belirlenmektedir. Kısa okumalar için De Bruijn Graph tabanlı yöntem kullanılmaktadır. Okumalar k-mer adı verilen kısa ve belirli uzunlukta dizilere bölünür. K-mer'lerden bir grafik oluşturulur ve bu grafik izlenerek dizilim birleştirilmektedir. De novo assembly yönteminin avantajları; yeni türler için genom elde edilebilir ve genomdaki yapısal olan farklılıklar tespit edilebilir oluşudur. Dezavantajları ise tekrarlayan diziler, okumaların kaliteli ve uzun olmaması durumunda hatalı hizalamaların meydana gelmesi ve oldukça yüksek hesaplama gücü ve hafıza gerektirme sorunlarının bulunmasıdır (Robertson vd., 2010).

Kısa okuma verilerinden transkriptlerin yeniden birleştirilmesi büyük bir zorluk olduğundan dolayı transkript birleştirme için altın standart olan bir yöntem yoktur. Transkriptomun doğası (örneğin, gen karmaşıklığı, polimorfizm derecesi, alternatif ekleme, ifadenin dinamik aralığı), yaygın teknolojik zorluklar (örneğin, dizileme hataları) ve biyoinformatik iş akışının özellikleri (örneğin, gen açıklaması, izoformların çıkarımı) transkriptom birleştirme kalitesini önemli ölçüde etkileyebilir (Kukurba ve Montgomery, 2015).

2.5. RNA Dizileme Basamakları



Şekil 2.4. Genel olarak RNA-seq iş akışı (Beukers ve Allmer, 2023).

2.5.1. Kalite Kontrolü

Sekanslama sonucu elde edilen veriye ham veri denir ve ham veri okumaları elde edildikten sonra yapılacak ilk işlem Galaxy aracı kullanılarak Babraham Enstitüsü tarafından geliştirilen, FastQC ile okumaların kalite kontrollerinin yapılması işlemidir. Bu araç okuma kalitesini konuma göre özetler, dizideki adaptör sekanslar hakkında bilgi verir, bazların kalite miktarları ve buna benzer birçok temel istatistiki bilgiyi HTML formatında bir raporda vermektedir.

2.5.2. Trimleme

Trimmomatic (Bolger vd., 2014), Cutadapt (Martin, 2011) ve Trim Galore! gibi araçlar okumalardaki düşük kalitede olan bazları, adaptör sekansları ortadan kaldırmaktadır. Trimmomatic okumalar içindeki teknik dizileri tespit etmek için iki yaklaşım kullanmaktadır. İlki, 'basit mod' olarak adlandırılır ve okuma ile kullanıcı

tarafından sağlanan teknik dizi arasında yaklaşık bir eşleşme bularak çalışır. Bu mod, adaptörler ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) primerleri veya bunların parçaları dahil olmak üzere tüm teknik diziler için çalışma avantajına sahiptir. “Palindrom modu” olarak adlandırılan ikinci mod, özellikle dizilenen DNA parçasının okuma uzunluğundan daha kısa olduğu ve okumaların sonunda adaptör kontaminasyonuna neden olduğu bu yaygın 'adaptör okuma' senaryosunu tespit etmeyi amaçlamaktadır. Bu, özellikle Miseq tarafından desteklenen daha uzun okuma uzunlukları için geçerlidir (Bolger vd., 2014).

2.5.3. Haritalama

Bir referans dizisi mevcut olduğunda referans genoma haritalama veya açıklamalı transkriptoma haritalama olmak üzere iki alternatif yol mümkün hale gelmektedir. Bir genom veya transkriptom referansının kullanılmasına bakılmaksızın, okumalar benzersiz bir şekilde eşlenebilmektedir.

Genomik çoklu okumalar öncelikle tekrarlayan dizilerden veya paralog genlerin paylaşılan alanlarından kaynaklanır. Bunlar normalde genoma eşlendiğinde eşleme çıktısının önemli bir bölümünü oluşturur ve atılmamalıdır. Referans transkriptom olduğunda, çoklu eşleme daha da sık ortaya çıkar çünkü genomda benzersiz bir şekilde eşlenmiş bir okuma, eksonu paylaşan transkriptomdaki tüm gen izoformlarına eşit derecede iyi hizalanmaktadır (González-Bodí ve Huerta-Cepas, 2025). Her iki durumda da genom veya transkriptom eşlemesi transkript tanımlama ve kantifikasyonu gerçekleştirmektedir.

TopHat (Kim ve Salzberg, 2011), STAR (Dobin vd., 2013), HISAT (D. Kim vd., 2015) gibi algoritmalar elde edilen okumalara referans bir genoma hizalama işlemini gerçekleştirmektedirler.

HISAT (transkriptlerin eklenmiş hizalanması için hiyerarşik indeksleme), RNA dizileme deneylerinden gelen okumaları hizalamak için oldukça verimli bir sistemdir. HISAT, Burrows-Wheeler dönüşümü ve Ferragina-Manzini (FM) indeksine dayalı bir indeksleme şeması kullanmaktadır. Her hizalamayı sabitlemek için tüm genom FM indeksi ve bu hizalamaların çok hızlı uzantıları için çok sayıda yerel FM indeksi olmak üzere hizalama için iki tür indeks kullanmaktadır (Rao, 2024).

HISAT'ın insan genomu için hiyerarşik indeksi, her biri yaklaşık olarak 64.000 bp'lik bir genom bölgesini temsil eden 48.000 yerel FM indeksi içermektedir. HISAT bam. formatında çıktı üretmektedir. Gerçek ve simüle edilmiş veri kümeleri üzerinde

yapılan testler, HISAT'ın şu anda mevcut olan en hızlı sistem olduğunu ve diğer tüm yöntemlerden eşit veya daha iyi doğruluk sağladığını göstermektedir (Trapnell vd., 2012). Çok sayıda indekse rağmen HISAT yalnızca 4,3 gigabayt bellek gerektirmektedir. HISAT, 4 milyardan büyük bazlar dahil olmak üzere her boyuttaki genomu desteklemektedir (D. Kim vd., 2015).

2.5.4. Sayma

Haritalama işleminden sonra değişen genlerin ifadelerinin tespiti için sayma işleminin yapılması gerekmektedir.

2.5.4.1. StringTie

Genellikle HISAT çıktılarıyla çalışmaktadır. StringTie, her veri kümesi için genleri ayrı ayrı birleştirir ve bunları birleştirirken her genin ve her izoformun ifade seviyelerini tahmin etmektedir (Thakur, 2024). StringTie, en çok ifade edilen transkriptle başlayan ve aynı anda birleştirip kantitatifleştirdiği bir akış algoritması kullanır (Pertea vd., 2015). Daha sonra bu transkript ile ilişkili okumaları kaldırır ve tüm okumalar kullanılana kadar veya kalan okuma sayısı transkripsiyonel gürültü seviyesinin altına düşene kadar işlemi tekrarlayarak daha fazla izoform birleştirmektedir (Pertea vd., 2016). Kullanıcılar StringTie'ye referans gen modelleri içeren bir dosya sağlama seçeneğine sahiptir; bu açıklama dosyası, bilinen genler için ekzon-intron yapısının bir spesifikasyonunu ve bu genlerin adlarını içermektedir. Kullanıcı bu açıklama dosyasını sağlarsa, StringTie bunu birleştirme için bir kılavuz olarak kullanır ve birleştirdiği genleri bu dosyadaki adlarla etiketlemektedir (Pertea vd., 2016).

StringTie merge aracı kullanılarak StringTie sonucunda elde edilen verilerin birleştirilme işlemi yapılmaktadır (Pertea vd., 2016).

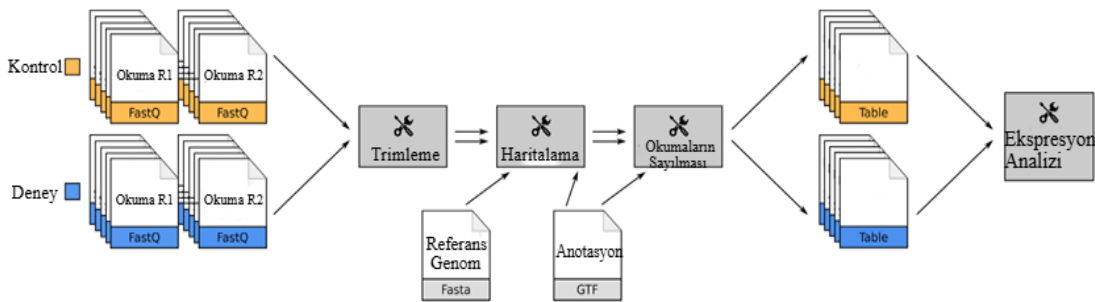
2.5.4.2.Kallisto

Sayma işlemi için kullanılan bir diğer araç Kallisto'dur. Kallisto diğer araçlardan farklı olarak pseudo-alignment (yalancı hizalama) yaklaşımı kullanarak bir okumanın referans genoma hizalama yapmadan hangi transkripte ait olduğunu en olası şekilde

bulmaktadır (Sullivan vd., 2025). Oldukça hızlı olan bu yöntem düşük hafıza gerektirdiği gibi gereksiz nükleotid hizalamalarından da kaçınmaktadır. Kallisto, her RNA-seq okumasını ve transkriptom referansını k-mer adı verilen dizileri ayırmaktadır (Loving vd., 2025). Bir okuma birden fazla transkriptle eşlendiği durumda Kallisto, bu transkriptleri ihtimal olarak değerlendirir ve bir olasılık hesabıyla birlikte her transkribe kaç katı eşleme olduğunu hesaplamaktadır (Du vd., 2020). Bu yöntemle birlikte milyon birim başına transkript (TPM) hesabı yapılmaktadır.

2.5.5. DESeq

Diferansiyel gen ekspresyonu için kullanılan bir araçtır. Sayım işlemi bittikten sonra değişen gen ifadelerinin tespiti için kullanılmaktadır (Costa-Silva vd., 2017). Varyans (dağılım) ve ifadelerin değişme oranları ($\log_2\text{FoldChange}$) tahmininde bulunmaktadır. DESeq sayma işleminden sonra elde ettiği verileri göstermek amacıyla “negatif binom dağılımına ait genelleştirilmiş lineer model (GLM)” kullanılmaktadır. Her bir gen için bir varyans parametresi tahmin etmekte ve bu değer varyans fonksiyonu içerisinde kullanılmaktadır. Düşük okuma sayısına sahip genlerde daha doğru sonuç alınmasını sağlamaktadır (Anders ve Huber, 2010). İfadesi artan genler “+”, azalan genler ise “-” olarak $\log_2\text{FoldChange}$ değerlerinde belirtilmektedir .



Şekil 2.5. Referans temelli RNA-seq veri analizi için iş akışı (Grüning vd., 2017).

2.5.6. BLAST

Temel Yerel Hizalama Aracı (BLAST), bir DNA, RNA veya protein dizisini büyük bir veritabanında benzer dizilerle karşılaştırmak veya hizalama yapmak amacıyla kullanılan bir algoritmadır. Arama yapılan diziyi küçük kısımlara (k-mer) ayırmaktadır

(Eric vd., 2014). Seçilen veritabanında bu küçük parçalar taranır ve yüksek benzerlik gösteren bölgeler bulunmaktadır (T. Madden, t.y.) .

2.5.7. Gen Ontolojisi (GO)

Genlerin ve gen ürünlerinin fonksiyon tanımlamasını yapmak ve sınıflandırmak için kullanılmaktadır. Bir genin işlevini:

1. Biyolojik proses,
2. Moleküler Fonksiyon,
3. Hücresel Bileşen

olmak üzere üç şekilde açıklamaktadır.

Diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin fonksiyonel anotasyonlarının yapılması gerekmektedir.

Gen Ontoloji Konsorsiyomu; *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus* ve *Saccharomyces cerevisiae* olmak üzere üç model organizma veritabanının bulunduğu ortak bir projesidir (Ashburner vd., 2000). Konsorsiyomun amacı herhangi bir organizmadaki genlerin ve gen ürünlerinin rollerini tanımlamak için yapılandırılmış, kesin bir şekilde tanımlanmış ortak ve kontrollü bir kelime dağarcığı üretmektir (Gene Ontology Consortium, 2004).

2.5.8. KEGG Analizi

KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), genlerin işlevlerini anlamak için sistematik bir veri tabanıdır ve genomik bilgileri daha üst düzey işlevsel bilgilerle ilişkilendirmek amacıyla kullanılmaktadır. KEGG projesi, Japonya Eğitim, Bilim, Spor ve Kültür Bakanlığı'nın İnsan Genomu Programı kapsamında Mayıs 1995'te başlatılmıştır (*KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes | Nucleic Acids Research | Oxford Academic*, t.y.).

Genomik bilgilerin bulunduğu, tamamen dizilenmiş tüm genomların ve bazı kısmi genomların gen kataloglarını içeren ve gen işlevlerinin en güncel anotasyonlarının bulunduğu GENES veri tabanı,

Metabolizma, zar taşınımı, sinyal iletimi ve hücre döngüsü gibi hücrel süreçlerin grafiksel temsillerini içeren PATHWAY veri tabanı,

Kimyasal bileşikler, enzim molekülleri ve enzimatik reaksiyonları içeren LIGAND veri tabanı olmak üzere KEGG, içerisinde birden fazla veri tabanı barındırmaktadır.

GO sonucunda hangi genin az veya fazla temsil edildiğinin tespiti için bir zenginleştirme analizi (enrichment analyses) yapılması gerekmektedir. KEGG analizi için clusterProfiler, DAVID ve Enrichr gibi araçlar kullanılabilir (L. Chen vd., 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Biyoinformatik Analiz

Biyoinformatik araçlarla ilerleyen analizlerin gerçekleştirilebilmesi için Galaxy (<https://usegalaxy.eu/>) platformu kullanılmıştır. Tez kapsamında kullanılacak veriler NCBI SRA veri tabanından alınmıştır. Tez kapsamında birbirine uzak ve yakın akraba türlerden oluşan 5 farklı bitki türü kullanılmış olup bu türler sırası ile domates (*Solanum lycopersicum*), ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*), kanola (*Brassica napus*), soya (*Glycine max*) ve mısır (*Zea mays*) bitkileridir. SRA veri tabanında veri tespiti için yapılan filtreleme işleminde kullanılan kriterler sırası ile doku tipi: yaprak, veri ortalama büyüklüğü: 7.4Gb, Okuma platformu: Kısa okuma ve stres koşulu tuz stresi şeklindedir. Bu kriterlere uyan kontrol ve uygulama grubuna sahip en az 3 tekrarlı veri setleri tespit edilmiştir. Toplamda 32 adet RNA-Seq ham veri seti analiz edilmiş olup toplam veri büyüklüğü 268.8 Gb olarak hesaplanmıştır. Her tür için tez içerisinde bir kontrol ve stres grubuna ait veri setinin DESeq2 grafik sonuçları örnek olarak verilmiştir.

Galaxy platformuna yüklenen veriler, Faster Download and Extract Reads in FASTQ (Leinonen vd., 2011) aracı kullanılarak forward ve reverse okumalar şeklinde hazır hale getirilmiştir.

3.1. Dizilerin Filtrelenmesi

Dizileme sonrası kalite kontrolünün yapılması için FastQC v0.74 programı kullanılmıştır. Tüm ham veriler filtrelenmiş ve çeşitli raporlar elde edilmiştir. Ham verilerden düşük skorlu okumalar ve adaptör sekansların atılması amacıyla Trimmomatic (Bolger vd., 2014) aracı kullanılmıştır.

3.2. Referans Genom Haritalanması

Elde edilen temiz okumalar bitkilerin ayrı ayrı referans genomlarına eşlenmiştir. Referans genom Galaxy platformuna yüklenerek analiz işleminin bir sonraki adımına geçilmiştir.

Çizelge 3.1. Bitkilerin referans genomlarının bulunduğu veri tabanları.

Bitki	Referans Genom
Domates	Sol Genomics Network
Ekmeklik buğday	Ensembl Plants
Kanola	Ensembl Plants
Soya	Phytozome
Mısır	Grass Genome Hub

Sekansı genoma haritalamak için HISAT (D. Kim vd., 2015) v2.2.1 programı kullanılmıştır. HISAT sonucunda BAM formatında çıktılar elde edilmiştir.

3.3.Gen Ekspresyon Analizi

Gen Ekspresyon Analizi için referans genoma eşlenmiş okumaların değişen gen ekspresyon ifadelerini belirlemek amacıyla Kallisto quant (Bray vd., 2016) v0.48.0 programı kullanılmıştır. Program ile RNA-Seq verilerinde bulunan genlerin ekspresyon seviyeleri, sekans bolluğu ve izoform genlerin ekspresyon seviyeleri hesaplanmıştır. Bu program pseudo-hizalama temeline dayalı çalışmaktadır.

3.4. Diferansiyel Eksprese Genlerin (DEG) Tanımlanması

Örnekler arasında farklı seviyelerde ifade edilen genlerin belirlenmesi ve bu genlerin ifade düzeyinin analizlerinin yapılması amacıyla DESeq2 (Love vd., 2014) v2.11.40.8 aracı kullanılmıştır. Bu aşamayla beraber tüm verilere ait gen ifade düzeyleri, ifade düzeyi arasındaki değişiklikler ve izoform gen ifade seviyelerindeki farklılıkların hesaplanması yapılmıştır.

DESeq2 sonucunda elde edilen çıktılar Annotate DESeq2\DEXSeq output tables v1.1.0 kullanılarak işlenmiştir.

log2FC değerine göre genler artandan azalana göre Sort v.1.2.0 programı kullanılarak sıralandırılmıştır. Ekspresyonu negatif ve pozitif yönde değiştiği tespit edilen genlerin ID alınmıştır.

3.5. Gen Ontoloji Analizi

İfade düzeylerinde farklılık olan genlerin yer aldığı biyolojik süreç, hücrenel bileşen ve moleküler fonksiyon hakkında bilgi almak amacıyla gen ontoloji analizleri yapılmıştır. Analiz sonucunda farklı ifade düzeyine sahip genler fonksiyonlarına göre gruplandırılmış ve KOBAS 2.0 (Xie ve ark., 2011) programı kullanılmıştır

3.6. Türlerde Ortak Olan Genlerin Modellenmesi

İncelediğimiz bitki türlerinde tuzluluk stresi altında ortak olduğu tespit edilen genlerin modellerinin yapılması amacıyla UniProt kullanılarak genlerin dizileri FASTA formatında elde edilmiştir. Swiss-Prot kullanılarak her genin modellenmesi yapılmıştır ve Bölüm 4'te detaylı olarak paylaşılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bir bitkinin tuzluluk stresine karşı verdiği yanıtın araştırılması ve verilerin analiz edilmesi bilimsel olarak oldukça önem taşımaktadır. Aynı aileden iki farklı türde ve bunların dışında üç farklı aileden bitkilerin tuzluluk stresi altında elde edilen verileri alınarak transkriptomik analizler yapılmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda her bir bitki türü içerisinde ekspresyonu farklılaşmış genler tespit edilmiş olup, türler arası benzer genlerin olduğu tespit edilmiştir.

4.1. Diferansiyel İfade Analizi Sonuçları

Kontrol grubu ve deney grubu arasında diferansiyel olarak eksprese edilen genleri tespit etmek amacıyla DESeq2 aracı kullanılmıştır. Bu bölümde her bir bitki türü için ekspresyonu azalan ve artan genler tablo şeklinde belirtilmiş olup her bir tablo tespit edilen gene ait logaritmik kat değişikliği (log2FC), P-Değeri, Standart Hata gibi istatistiksel değerleri içermektedir.

4.1.1. Domates (*Solanum lycopersicum*)

Çizelge 4.1. DESeq2 programı ifadesi azalan yönde olan genler

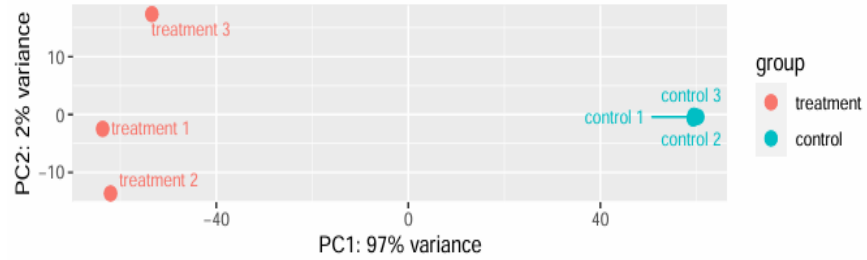
Gene ID	Base mean	log2(FC)	StdErr
Solyc02g070110	747,48	-14,86	1,33
Solyc02g067940	376,71	-13,88	1,30
Solyc03g111300	1430,31	-12,37	0,65
Solyc02g067750	122,22	-12,25	1,40
Solyc03g117860	2279,21	-11,72	0,46
Solyc03g043620	1580,46	-11,57	0,51
Solyc04g012080	8669,42	-10,94	0,26
Solyc08g036640	348,17	-10,90	0,76
Solyc04g017740	47,20	-10,89	1,25
Solyc07g065150	25,36	-9,97	1,27
Solyc01g007710	3927,13	-9,97	0,30
Solyc00g006670	3453,30	-9,96	0,46
Solyc08g078400	44,56	-8,94	1,19
Solyc10g005320	12,15	-8,94	1,44
Solyc06g049010	12,36	-8,94	1,39
Solyc10g076370	109,33	-8,92	0,74
Solyc10g050880	33,38	-7,91	1,73

Solyc06g072450	5,99	-7,91	1,49
Solyc04g080920	11,66	-7,91	1,37
Solyc11g021160	3,11	-6,96	3,55
Solyc09g066360	11,15	-6,95	1,76
Solyc12g010600	6,05	-6,95	1,43
Solyc01g028850	1,38	-5,77	4,02
Solyc08g005510	5,64	-4,93	1,13
Solyc02g032210	5,67	-4,92	1,26
Solyc03g095900	0,67	-3,77	3,27
Solyc02g085430	32,83	-3,77	0,60
Solyc02g078900	509,97	-2,99	0,38
Solyc01g014990	1,59	-1,99	1,65
Solyc08g079210	1,62	-2,01	2,23

Çizelge 4.2. DESeq2 programı ifadesi artan yönde olan genler

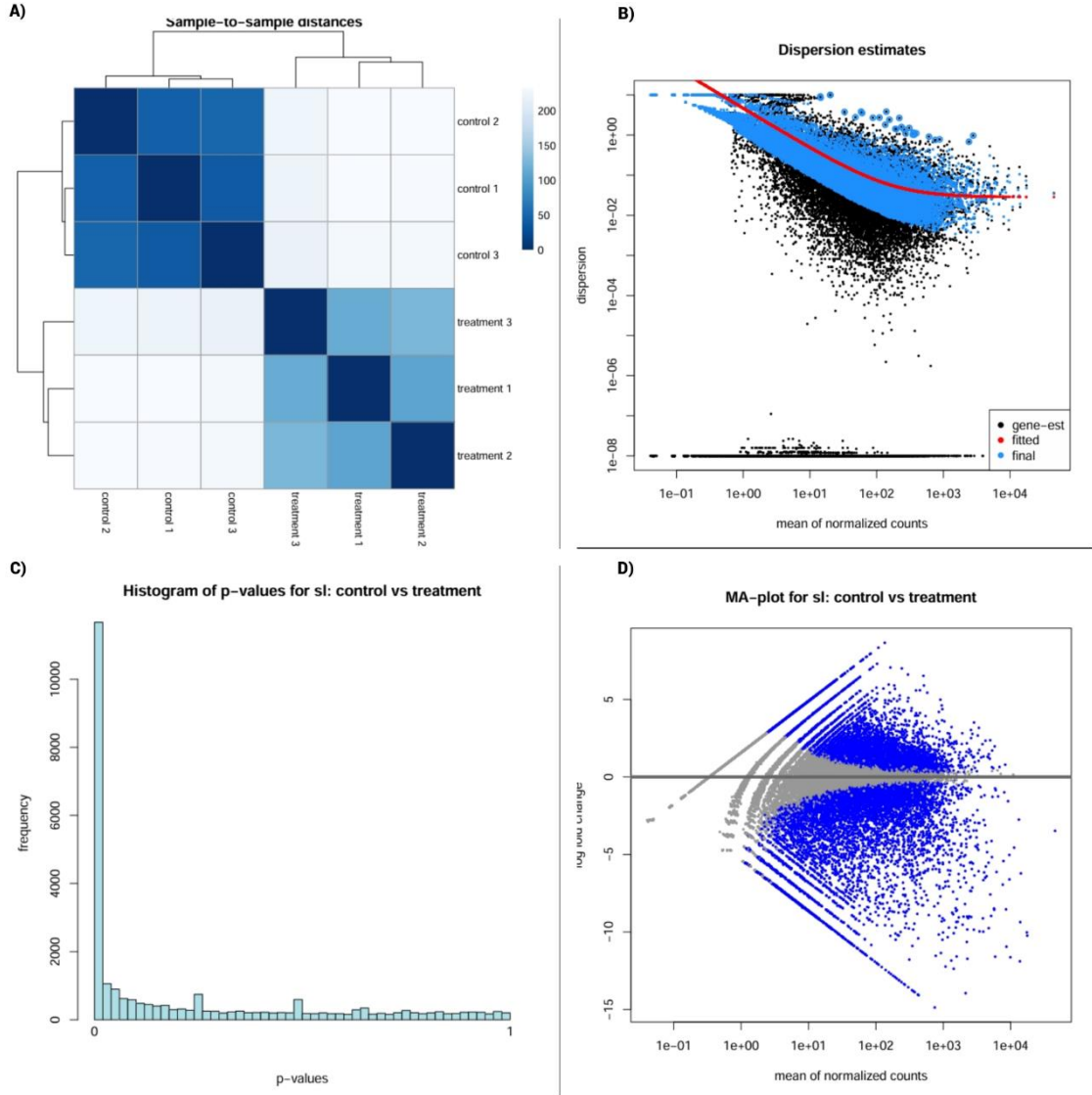
Gene ID	Base mean	log2(FC)	StdErr
Solyc02g078040	135,52	8,64	1,19
Solyc07g052540	108,95	8,33	1,20
Solyc03g119210	83,86	7,95	1,93
Solyc08g005960	81,31	7,90	1,26
Solyc07g043500	73,31	7,75	1,19
Solyc08g078910	243,04	6,99	0,88
Solyc11g020960	42,59	6,97	1,20
Solyc10g050430	83,36	6,96	1,21
Solyc07g052240	41,82	6,94	1,19
Solyc04g009590	187,67	5,89	0,69
Solyc03g078620	40,06	5,89	1,30
Solyc07g048110	19,95	5,88	1,23
Solyc08g066510	19,93	5,88	1,22
Solyc01g091040	39,43	5,87	1,22
Solyc01g009410	19,76	5,86	1,23
Solyc07g061890	21,01	4,93	1,28
Solyc04g016480	20,91	4,93	1,24
Solyc09g074570	10,37	4,93	1,29
Solyc07g063090	10,31	4,93	1,27
Solyc03g118510	57,89	4,93	0,85
Solyc02g093970	67,87	3,91	0,66
Solyc02g070780	87,57	3,91	0,59
Solyc07g017680	10,49	3,91	1,24
Solyc01g049920	5,05	9,90	1,33
Solyc09g061940	10,49	2,91	1,17
Solyc05g025800	5,61	2,91	1,41
Solyc06g030590	2,54	2,91	1,49
Solyc04g014310	2,55	2,91	1,78
Solyc06g074340	10,26	2,97	1,11

DESeq2 analizi sonucunda 34.673 genin diferansiyel olarak ekspresyonun değiştiği tespit edilmiştir. Ekspresyonu değişen ifade tespiti aşamasından sonra elde edilen sonuçlar GO analizine tabii tutulmuştur.



şekil 4.1. DESeq2 sonucunda elde edilen iki boyutlu PCA analizi gösterilmektedir. Domates verilerinde, gen ekspresyon varyansının yüksek olduğu iki grup boyunca konumlandırılma yapılmıştır.

şekil 4.1.'de eldeki rneklelerin benzerlikleri ve farklılıkları görselleştirilmiştir. PC1, varyansın %97'sini, PC2, varyansın %2'sini açıklamaktadır. İki bileşen göz önüne alındığında veri setindeki varyansın toplam olarak %99'unu açıklamaktadır. Grafikte görülen mavi noktalar kontrol guruplarını (C), kırmızı noktalar ise deney guruplarını (T) ifade etmektedir. Kontrol grubunun (C) kendi içerisinde grafikte yakın olması ve deney grubu (T) ile ayrışması tuzluluk stresi altında deney ve kontrol gurupları arasında dikkat çekici farklılıklar olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.2. DESeq2 sonuçları gösterilmektedir. Grafikte, gen ekspresyonu profillemesine dayalı olarak örnekler arasındaki mesafeler görselleştirilmiştir (A). Grafikte, her bir gen için bir nokta belirtilmiş ve belirli bir ifade gücüne sahip genler için dağılım değeri gösterilmektedir (B). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında yapılan diferansiyel ekspresyon genlerinin p-değerlerinin dağılımı gösterilmektedir (C). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında diferansiyel ekspresyon genleri gösterilmektedir. Her bir nokta bir geni temsil eder ve logaritmik kat değişimi ile normalize edilen ortalama gen sayıları karşılaştırılmıştır (D).

Şekil 4.2.'de örneklerin belirli özelliklerine göre grafikleri verilmiştir. Şekil 4.2. - A'da gen ekspresyonlarına göre örnekler arası mesafe görselleştirilmiştir. Belirtilen grafikteki renk skalası incelenen örnekler kapsamında benzerlikleri ve farklılıkları belirtmektedir. Koyu mavi tonlar örnekler arasındaki büyük farkları, açık mavi tonlar ise benzerlikleri ifade etmektedir. Kontrol ve deney gruplarının yakın konumlanması biyolojik açıdan tekrarlanabilirliğin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Şekil 4.2. B'de her bir gen için dağılımlarına uygun bir eğri oluşturulmuştur. Bir gen için belirli ifadeye sahip olması durumunda beklenen dağılım grafiğidir. Her bir siyah

nokta bir geni ifade etmektedir. Dağılımın ortalama ifade seviyesi ve maksimum olasılık tahmini ile ilişkisini ortaya koymaktadır.

Şekil 4.2.- C’de gösterilen histogram grafiği, deney ve kontrol grupları arasında ekspresyonunda farklılık olan genlerin sayısının p-değerine göre dağılımı belirtmektedir. P-değeri düşük olan (0’a yakın) genler, uygulanan stres türü altında ekspresyonlarının farklılaştığını göstermektedir.

Şekil 4.2.-D’de belirtilen X eksenini normalize edilmiş gen sayılarının ortalamasını göstermektedir. Y eksenini ise Log2FC deney ve kontrol grupları arasındaki ekspresyon farklılıklarını logaritmik ölçekte belirtmektedir. Grafik, alt kısmında kalan genler için tuzluluk stresi altında aşağı regüle edildiğini, grafiğin üst kısmında olan genler için ise tuzluluk stresi altında yukarı regüle edildiğini belirtmektedir.

4.1.2. Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum*)

Çizelge 4.3. DESeq2 programı ifadesi azalan yönde olan genler

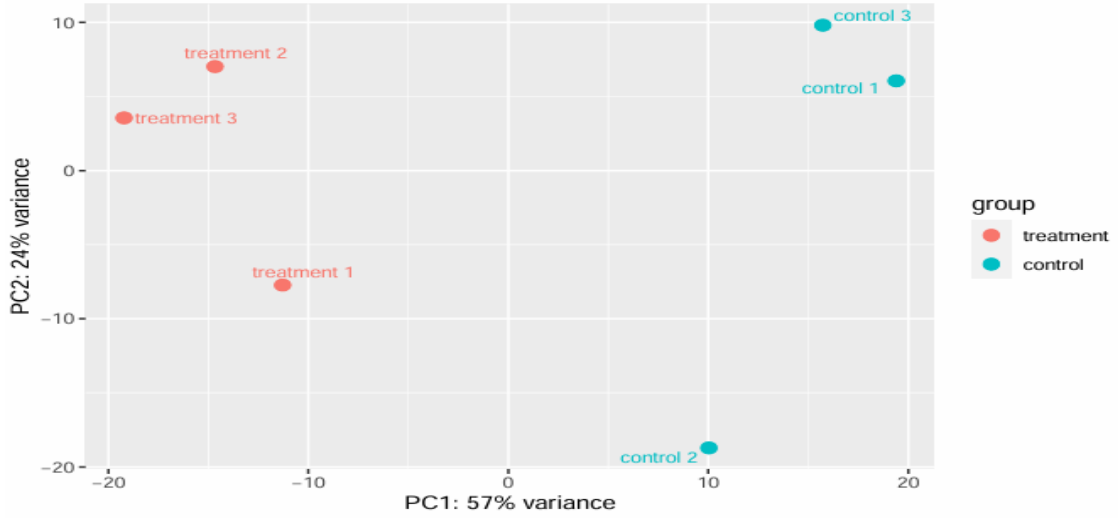
Gene ID	Base mean	log2(FC)	StdErr
TraesCSU02G045	13,56	-7,25	1,71
TraesCS5B02G150	12,68	-7,15	3,91
TraesCS2D02G534	12,39	-7,11	1,52
TraesCS3B02G529	11,14	-6,96	1,69
TraesCS1A02G084	37,61	-6,83	1,37
TraesCS7A02G092	16,35	-6,54	1,35
TraesCS2D02G533	11,38	-5,99	1,53
TraesCS2A02G018	5,61	-5,96	1,61
TraesCSU02G1871	5,34	-5,90	1,53
TraesCS2B02G581	2,70	-4,91	2,93
TraesCS7D02G169	5,08	-4,81	1,60
TraesCS4D02G103	289,64	-4,51	0,58
TraesCS5B02G002	12,16	-3,89	0,90
TraesCS6B02G435	1,19	-3,74	2,23
TraesCS1D02G154	1,18	-3,73	2,38
TraesCS3B02G183	1,13	-3,67	2,81
TraesCS1B02G429	10,12	-3,55	0,88
TraesCS3D02G367	0,93	-3,45	2,91
TraesCS4B02G388	0,85	-3,25	3,12
TraesCS3B02G281	1,53	-2,99	2,29
TraesCS2B02G101	4,19	-2,98	1,26
TraesCS5B02G552	0,65	-2,89	3,97
TraesCS2A02G048	141,01	-2,70	0,41
TraesCS2A02G161	91,92	-2,67	0,48

TraesCS5A02G342	11	-2,57	2,10
TraesCS3A02G537	0,49	-2,47	3,99
TraesCS5B02G459	1,04	-2,33	2,51
TraesCS7A02G274	5,46	-2,33	1,05
TraesCS2A02G116	6,74	-2,23	1,08
TraesCS3D02G078	3,01	-2,15	1,96

Çizelge 4.4. DESeq2 programı ifadesi artan yönde olan genler

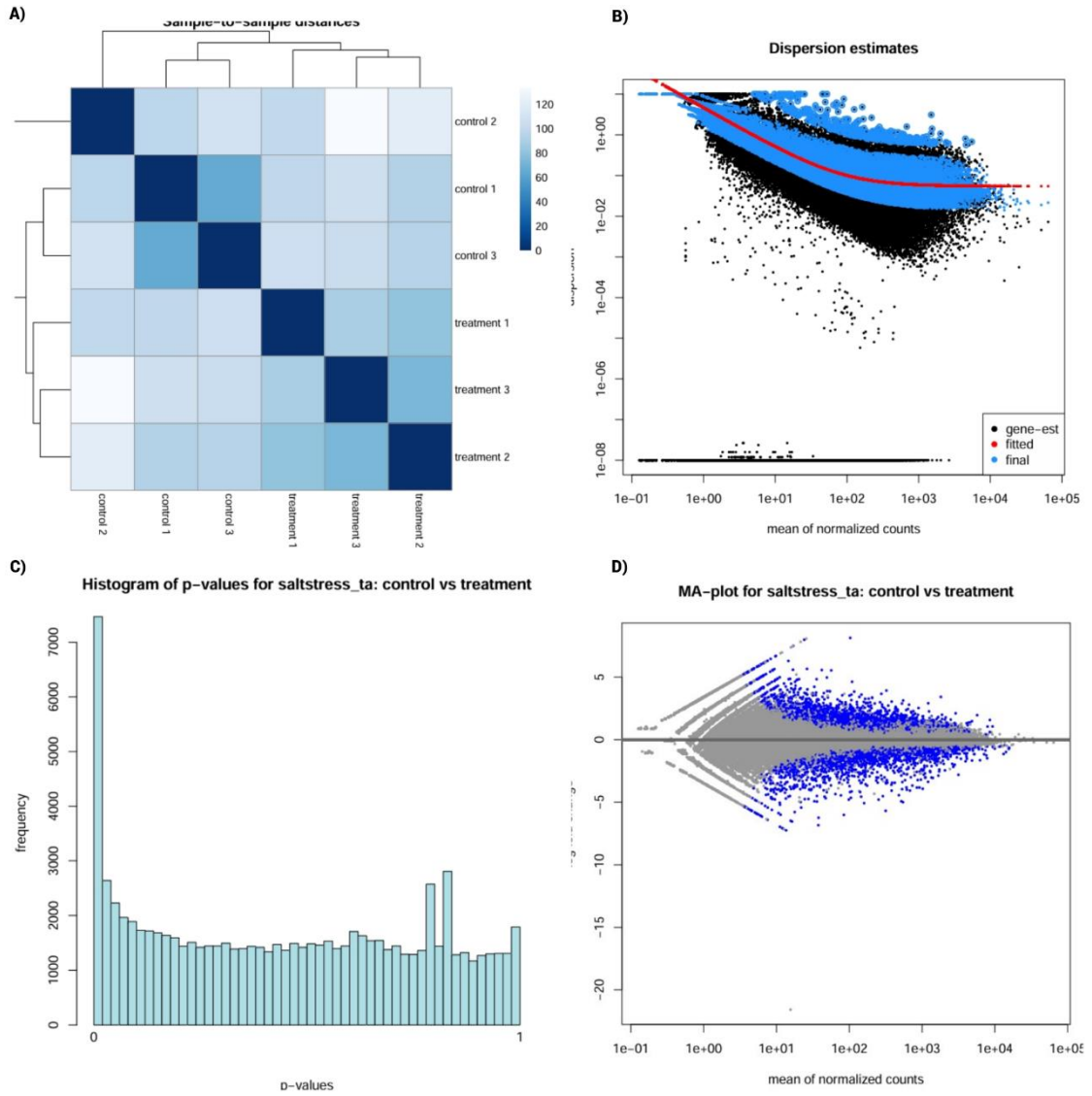
Gene ID	Base mean	log2(FC)	StdErr
TraesCS7D02G369	102,96	8,13	1,79
TraesCS2A02G107	25,60	8,07	3,9
TraesCS2B02G568	9,45	7,99	0,70
TraesCSU02G180	21,43	7,81	3,90
TraesCS5D02G401	16,96	7,49	1,38
TraesCS4D02G032	11,88	6,96	3,91
TraesCS6A02G000	9,64	6,6	1,40
TraesCS5A02G391	8,30	6,45	1,45
TraesCS5B02G354	7,52	6,30	1,39
TraesCS2B02G244	14,57	6,29	1,45
TraesCS5D02G358	5,97	5,97	4,6
TraesCS5A02G122	5,78	5,91	1,59
TraesCS4A02G036	5,57	5,86	1,80
TraesCS3B02G014	5,26	5,79	3,91
TraesCS4A02G498	41,89	5,56	0,88
TraesCS5B02G061	4,14	5,44	1,58
TraesCS3A02G455	6,49	5,09	1,46
TraesCS5D02G359	9,62	4,76	1,30
TraesCS3B02G151	2,26	4,56	2,47
TraesCS2A02G513	1,95	4,34	2,46
TraesCS5D02G280	5,57	3,95	1,65
TraesCS5B02G071	1,36	3,83	3,45
TraesCS6D02G330	25,49	3,65	0,75
TraesCS1D02G101	1,10	3,51	2,88
TraesCS3A02G346	2,00	3,27	1,97
TraesCS3A02G446	0,85	3,19	3,04
TraesCS1B02G436	0,75	2,97	3,96
TraesCS3D02G291	0,71	2,89	3,27
TraesCS4A02G210	2,63	2,78	1,62
TraesCS6B02G102	6,08	2,57	1,05

DESeq2 analizi sonucunda yaklaşık olarak 88.000 genin diferansiyel olarak ekspresyonun değiştiği tespit edilmiştir. Ekspresyonu değişen ifade tespiti aşamasından sonra elde edilen sonuçlar GO analizine tabii tutulmuştur.



Şekil 4.3. DESeq2 sonucunda elde edilen iki boyutlu PCA analizi gösterilmektedir. Ekmeklik buğday verilerinde, gen ekspresyon varyansının yüksek olduğu iki grup boyunca konumlandırılma yapılmıştır.

Şekil 4.3.'de elde edilen örneklerin benzerlikleri ve farklılıkları görselleştirilmiştir. PC1, varyansın %57'sini, PC2, varyansın %24'ünü açıklamaktadır. İki bileşen göz önüne alındığında veri setindeki varyansın toplam olarak %81'ini açıklamaktadır. Grafikte görülen mavi noktalar kontrol gruplarını (C), kırmızı noktalar ise deney gruplarını (T) ifade etmektedir. Kontrol grubunun (C) kendi içerisinde grafikte yakın olması ve deney grubu (T) ile ayrışması tuzluluk stresi altında deney ve kontrol grupları arasında dikkat çekici farklılıklar olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4. DESeq2 sonuçları gösterilmektedir. Grafikte, gen ekspresyonu profillemesine dayalı olarak örnekler arasındaki mesafeler görselleştirilmiştir (A). Grafikte, her bir gen için bir nokta belirtilmiş ve belirli bir ifade gücüne sahip genler için dağılım değeri gösterilmektedir (B). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında yapılan diferansiyel ekspresyon genlerinin p-değerlerinin dağılımı gösterilmektedir (C). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında diferansiyel ekspresyon genleri gösterilmektedir. Her bir nokta bir geni temsil eder ve logaritmik kat değişimi ile normalize edilen ortalama gen sayıları karşılaştırılmıştır (D).

Şekil 4.4.'te örneklerin belirli özelliklerine göre grafikleri verilmiştir. Şekil 4.4 - A'da gen ekspresyonlarına göre örnekler arası mesafe görselleştirilmiştir. Belirtilen grafikteki renk skalası incelenen örnekler kapsamında benzerlikleri ve farklılıkları belirtmektedir. Koyu mavi tonlar örnekler arasındaki büyük farkları, açık mavi tonlar ise benzerlikleri ifade etmektedir. Kontrol ve deney gruplarının yakın konumlanması biyolojik açıdan tekrarlanabilirliğin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Şekil 4.4-B'de her bir gen için dağılımlarına uygun bir eğri oluşturulmuştur. Bir gen için belirli ifadeye sahip olması durumunda beklenen dağılım grafiğidir. Her bir siyah

nokta bir geni ifade etmektedir. Dağılımın ortalama ifade seviyesi ve maksimum olasılık tahmini ile ilişkisini ortaya koymaktadır.

Şekil 4.4-C’de gösterilen histogram grafiği, deney ve kontrol grupları arasında ekspresyonunda farklılık olan genlerin sayısının p-değerine göre dağılımı belirtmektedir. P-değeri düşük olan (0’a yakın) genler, uygulanan stres türü altında ekspresyonlarının farklılaştığını göstermektedir.

Şekil 4.4-D’de belirtilen X eksenini normalize edilmiş gen sayılarının ortalamasını göstermektedir. Y eksenini ise Log2FC deney ve kontrol grupları arasındaki ekspresyon farklılıklarını logaritmik ölçekte belirtmektedir. Grafik, alt kısmında kalan genler için tuzluluk stresi altında aşağı regüle edildiğini, grafiğin üst kısmında olan genler için ise tuzluluk stresi altında yukarı regüle edildiğini belirtmektedir.

4.1.3. Kanola (*Brassica napus*)

Çizelge 4.5. DESeq2 programı ifadesi azalan yönde olan genler

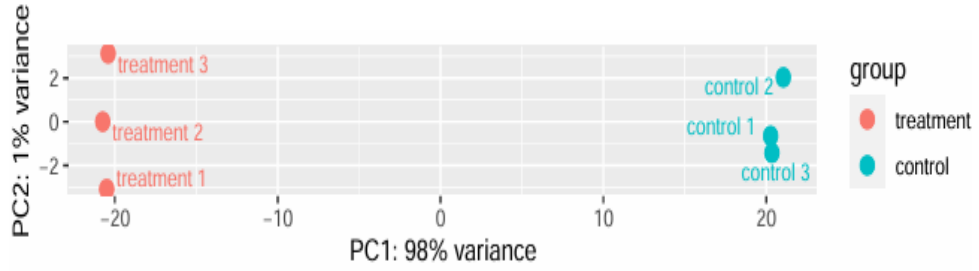
Gene ID	Base mean	log ₂ (FC)	StdErr
GSBRNA2T00050955	519,26	-12,60	1,20
GSBRNA2T00078119	226,86	-11,41	1,23
GSBRNA2T00129911	98,72	-10,20	1,31
GSBRNA2T00107069	45,73	-9,10	1,41
GSBRNA2T00058404	324,08	-8,48	0,34
GSBRNA2T00087954	21,18	-7,98	1,81
GSBRNA2T00020233	19,56	-7,87	3,90
GSBRNA2T00022148	10,41	-6,96	1,99
GSBRNA2T00030559	9,47	-6,82	2,04
GSBRNA2T00075272	8,08	-6,59	2,83
GSBRNA2T00058230	6,50	-6,28	3,01
GSBRNA2T00084468	4,92	-5,88	3,30
GSBRNA2T00156277	4,19	-5,65	3,08
GSBRNA2T00048664	123,79	-5,24	2,90
GSBRNA2T00150045	1,93	-4,53	3,93
GSBRNA2T00016279	1,82	-4,45	3,93
GSBRNA2T00044864	1,29	-3,95	3,94
GSBRNA2T00036932	1,19	-3,84	3,94
GSBRNA2T00023297	1,02	-3,62	3,95
GSBRNA2T00126669	25,36	-3,40	1,06
GSBRNA2T00102027	0,73	-3,14	3,97
GSBRNA2T00100428	9,34	-2,93	2,17
GSBRNA2T00103891	9,79	-2,79	2,20
GSBRNA2T00103527	12,30	-2,59	1,48
GSBRNA2T00016774	3,72	-2,33	2,96

GSBRNA2T00099174	7,04	-2,25	2,14
GSBRNA2T00067257	3,31	-2,14	2,81
GSBRNA2T00146715	8,52	-2,09	2,26
GSBRNA2T00071313	0,34	-2,05	4,04
GSBRNA2T00095507	9,16	-2,01	2,20

Çizelge 4.6. DESeq2 programı ifadesi artan yönde olan genler

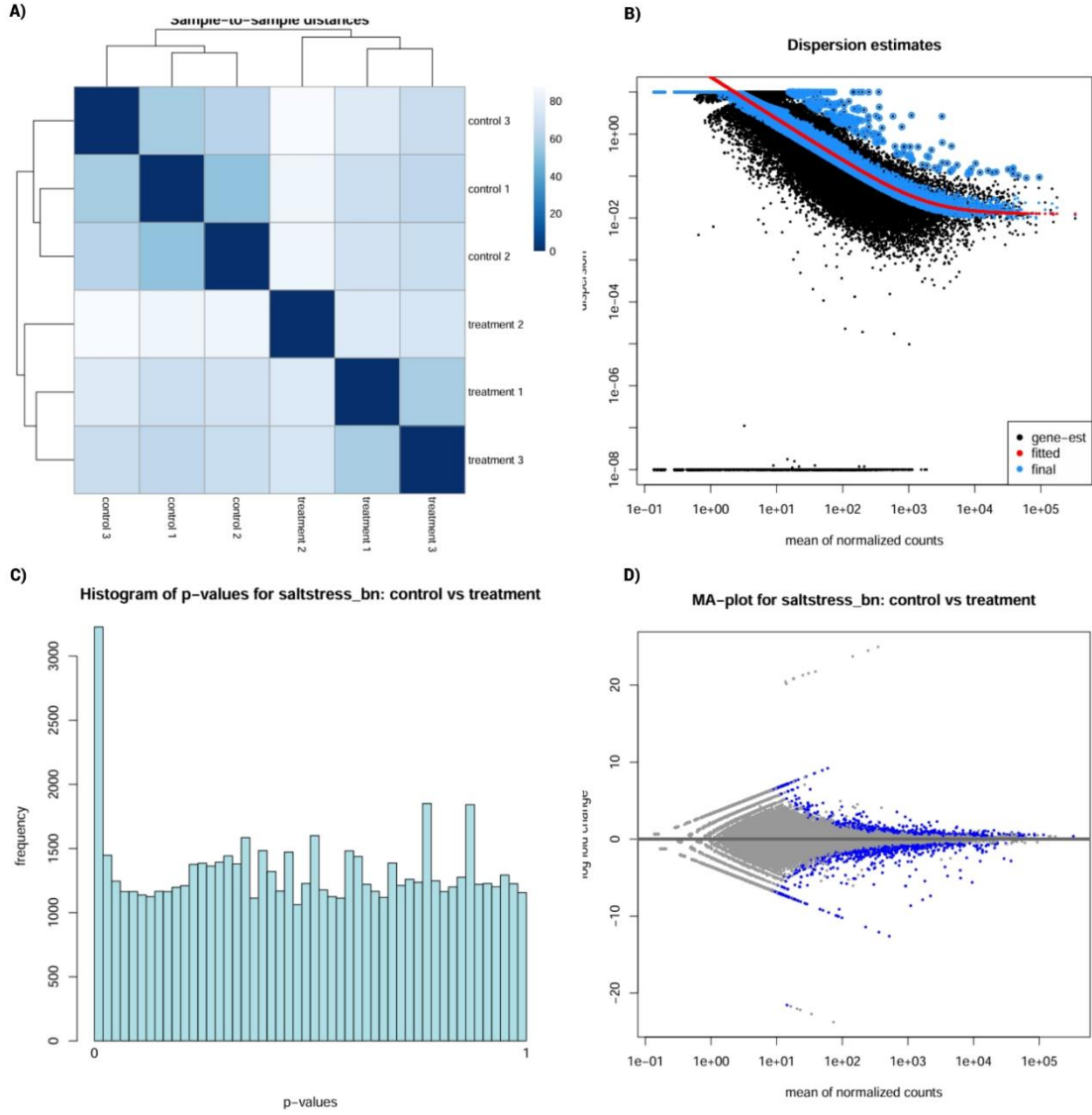
Gene ID	Base mean	log ₂ (FC)	StdErr
GSBRNA2T00026460	59,90	9,20	1,35
GSBRNA2T00078236	49,49	8,92	1,40
GSBRNA2T00071632	38,76	8,57	3,90
GSBRNA2T00062879	17,95	7,46	1,76
GSBRNA2T00091230	16,53	7,34	1,82
GSBRNA2T00046591	15,10	7,21	1,87
GSBRNA2T00098991	11,26	6,79	2,28
GSBRNA2T00078430	8,05	6,31	2,49
GSBRNA2T00047176	6,20	5,93	2,76
GSBRNA2T00067118	5,28	5,70	2,85
GSBRNA2T00028031	4,92	5,60	2,59
GSBRNA2T00120300	4,09	5,33	3,12
GSBRNA2T00123866	3,24	4,99	3,04
GSBRNA2T00096151	15,36	4,80	1,65
GSBRNA2T00081594	1,98	4,29	3,92
GSBRNA2T00089155	1,56	3,94	3,93
GSBRNA2T00085998	1,42	3,81	3,93
GSBRNA2T00037340	1,25	3,62	3,93
GSBRNA2T00135979	9,18	3,57	1,85
GSBRNA2T00031087	12,26	3,34	1,68
GSBRNA2T00066048	4,04	3,23	2,99
GSBRNA2T00121526	9,14	2,95	2,00
GSBRNA2T00099534	9,19	2,95	1,87
GSBRNA2T00007663	0,72	2,83	3,96
GSBRNA2T00135388	3,92	2,70	3,28
GSBRNA2T00031807	11,80	2,69	1,72
GSBRNA2T00133446	5,93	2,50	2,33
GSBRNA2T00111740	5,03	2,49	2,78
GSBRNA2T00002203	2,04	2,30	3,89
GSBRNA2T00108724	15,14	2,28	1,60

DESeq2 analizi sonucunda yaklaşık olarak 74.400 genin diferansiyel olarak ekspresyonun değiştiği tespit edilmiştir. Ekspresyonu değişen ifade tespiti aşamasından sonra elde edilen sonuçlar GO analizine tabii tutulmuştur.



Şekil 4.5. DESeq2 sonucunda elde edilen iki boyutlu PCA analizi gösterilmektedir. Kanola verilerinde, gen ekspresyon varyansının yüksek olduğu iki grup boyunca konumlandırılma yapılmıştır.

Şekil 4.5.'te elde edilen örneklerin benzerlikleri ve farklılıkları görselleştirilmiştir. PC1, varyansın %98'ini, PC2, varyansın %1'ini açıklamaktadır. İki bileşen göz önüne alındığında veri setindeki varyansın toplam olarak %99'unu açıklamaktadır. Grafikte görülen mavi noktalar kontrol gruplarını (C), kırmızı noktalar ise deney gruplarını (T) ifade etmektedir. Kontrol grubunun (C) kendi içerisinde grafikte yakın olması ve deney grubu (T) ile ayrışması tuzluluk stresi altında deney ve kontrol grupları arasında dikkat çekici farklılıklar olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.6. DESeq2 sonuçları gösterilmektedir. Grafikte, gen ekspresyonu profillemesine dayalı olarak örnekler arasındaki mesafeler görselleştirilmiştir (A). Grafikte, her bir gen için bir nokta belirtilmiş ve belirli bir ifade gücüne sahip genler için dağılım değeri gösterilmektedir (B). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında yapılan diferansiyel ekspresyon genlerinin p-değerlerinin dağılımı gösterilmektedir (C). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında diferansiyel ekspresyon genleri gösterilmektedir. Her bir nokta bir geni temsil eder ve logaritmik kat değişimi ile normalize edilen ortalama gen sayıları karşılaştırılmıştır (D).

Şekil 4.6.'da örneklerin belirli özelliklerine göre grafikleri verilmiştir. Şekil 4.6-A'da gen ekspresyonlarına göre örnekler arası mesafe görselleştirilmiştir. Belirtilen grafikteki renk skalası incelenen örnekler kapsamında benzerlikleri ve farklılıkları belirtmektedir. Koyu mavi tonlar örnekler arasındaki büyük farkları, açık mavi tonlar ise benzerlikleri ifade etmektedir. Kontrol ve deney gruplarının yakın konumlanması biyolojik açıdan tekrarlanabilirliğin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Şekil 4.6-B’de her bir gen için dağılımlarına uygun bir eğri oluşturulmuştur. Bir gen için belirli ifadeye sahip olması durumunda beklenen dağılım grafiğidir. Her bir siyah nokta bir geni ifade etmektedir. Dağılımın ortalama ifade seviyesi ve maksimum olasılık tahmini ile ilişkisini ortaya koymaktadır.

Şekil 4.6-C’de gösterilen histogram grafiği, deney ve kontrol grupları arasında ekspresyonunda farklılık olan genlerin sayısının p-değerine göre dağılımı belirtmektedir. P-değeri düşük olan (0’a yakın) genler, uygulanan stres türü altında ekspresyonlarının farklılaştığını göstermektedir.

Şekil 4.6-D’de belirtilen X eksenini normalize edilmiş gen sayılarının ortalamasını göstermektedir. Y eksenini ise Log2FC deney ve kontrol grupları arasındaki ekspresyon farklılıklarını logaritmik ölçekte belirtmektedir. Grafik, alt kısmında kalan genler için tuzluluk stresi altında aşağı regüle edildiğini, grafiğin üst kısmında olan genler için ise tuzluluk stresi altında yukarı regüle edildiğini belirtmektedir.

4.1.4. Soya (*Glycine max*)

Çizelge 4.7. DESeq2 programı ifadesi azalan yönde olan genler

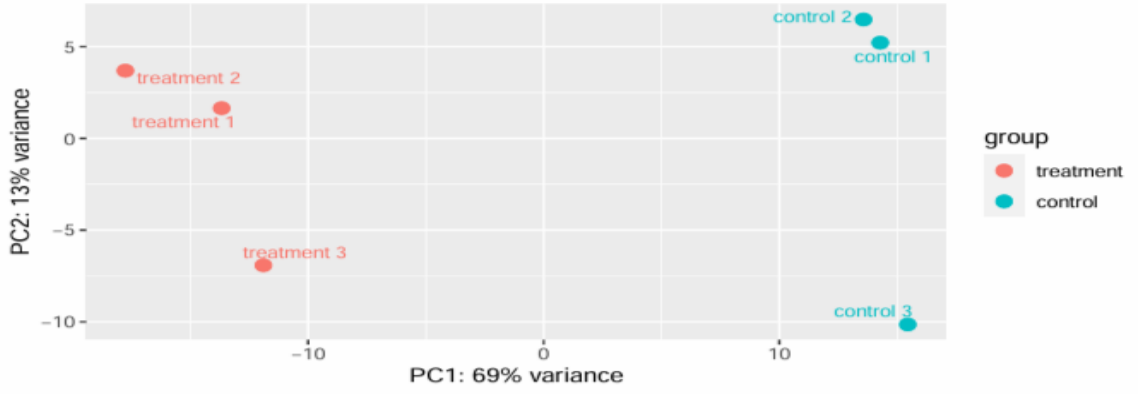
Gene ID	Base mean	log2(FC)	StdErr
Glyma.17G066600	1993,72	-9,71	0,11
Glyma.10G198300	1497,70	-9,43	0,10
Glyma.19G021700	372,60	-8,51	0,16
Glyma.02G222600	22,52	-7,73	1,25
Glyma.07G198800	17,77	-7,39	1,28
Glyma.01G012700	15,33	-7,17	1,28
Glyma.13G295400	9,81	-6,53	1,34
Glyma.02G208900	534,15	-6,49	0,16
Glyma.06G164800	471,05	-6,16	0,14
Glyma.17G155000	95,11	-5,75	0,53
Glyma.02G207700	337,43	-5,66	0,16
Glyma.03G101700	315,72	-5,03	0,26
Glyma.04G233800	2,95	-4,80	1,72
Glyma.07G259400	2,94	-4,79	3,67
Glyma.03G240700	21,39	-4,40	0,77
Glyma.03G174200	4,57	-4,38	1,58
Glyma.16G121900	2,21	-4,37	1,89
Glyma.05G110700	2,03	-4,26	1,85
Glyma.03G201200	1,58	-3,90	2,24
Glyma.11G170100	1,57	-3,89	2,07
Glyma.20G192800	1,41	-3,74	2,33
Glyma.10G143200	1,17	-3,47	2,47
Glyma.01G132600	1,02	-3,27	2,64

Glyma.07G242800	1,83	-2,98	1,92
Glyma.11G160000	54,10	-2,85	0,38
Glyma.02G109100	2602,05	-2,76	0,12
Glyma.07G125500	336,88	-2,55	0,46
Glyma.06G051600	2,41	-2,41	1,72
Glyma.10G144400	1,19	-2,22	2,31
Glyma.09G245800	0,43	-2,05	3,99

Çizelge 4.8 DESeq2 programı ifadesi artan yönde olan genler

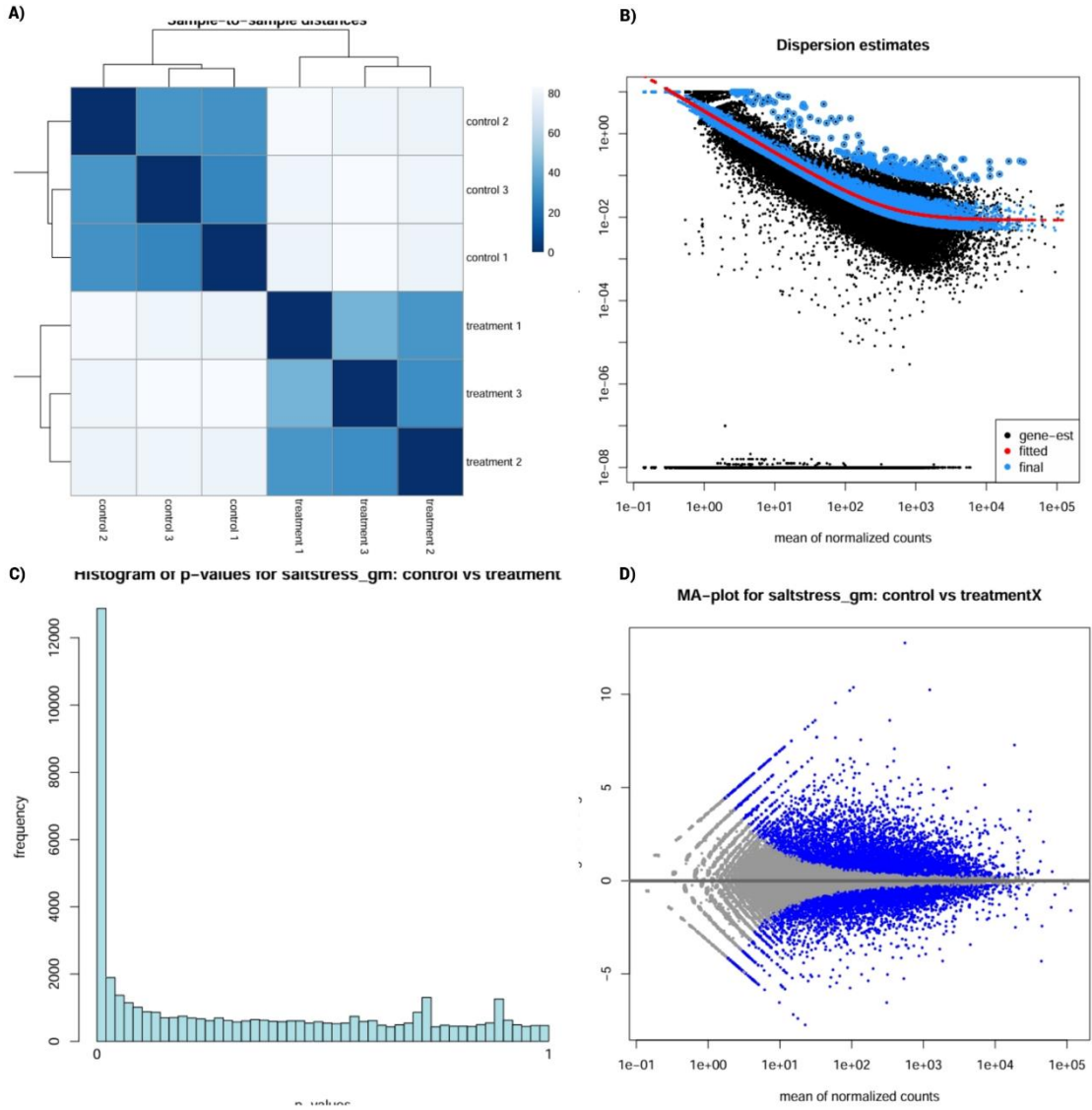
Gene ID	Base mean	log2(FC)	StdErr
Glyma.16G185100	105,85	10,37	1,20
Glyma.08G180600	1225,20	10,23	0,55
Glyma.18G029900	94,01	10,20	1,20
Glyma.16G162600	59,40	9,53	1,21
Glyma.14G102900	339,38	8,60	0,60
Glyma.06G198600	31,02	8,60	1,23
Glyma.01G229800	2941,15	8,51	0,10
Glyma.10G285300	32,63	7,70	1,24
Glyma.01G091300	32,45	7,69	1,23
Glyma.17G116800	10,66	7,05	1,36
Glyma.19G086200	10,05	6,97	1,35
Glyma.10G089300	8,95	6,81	1,37
Glyma.06G276500	8,66	6,76	1,38
Glyma.10G007200	5,28	6,05	1,50
Glyma.07G236800	15,53	5,72	1,14
Glyma.15G275400	4,15	5,69	1,67
Glyma.10G043900	2,79	5,13	1,84
Glyma.12G133200	2,74	5,09	1,76
Glyma.01G211800	288,75	4,89	0,23
Glyma.05G162400	4,39	4,73	1,53
Glyma.11G129300	1,88	4,56	2,13
Glyma.16G174200	1,40	4,13	2,64
Glyma.18G211000	210,08	3,90	0,22
Glyma.17G093500	1,16	3,86	2,27
Glyma.02G060900	0,92	3,53	2,71
Glyma.02G197900	3,50	2,93	1,42
Glyma.18G254700	65,68	2,85	0,35
Glyma.09G164100	72,30	2,77	0,31
Glyma.06G294200	8,36	2,44	0,85
Glyma.16G174800	14,97	2,06	0,70

DESeq2 analizi sonucunda 56.044 genin diferansiyel olarak ekspresyonun değiştiği tespit edilmiştir. Ekspresyonu değişen ifade tespiti aşamasından sonra elde edilen sonuçlar GO analizine tabii tutulmuştur.



Şekil 4.7. DESeq2 sonucunda elde edilen iki boyutlu PCA analizi gösterilmektedir. Soya verilerinde, gen ekspresyon varyansının yüksek olduğu iki grup boyunca konumlandırılma yapılmıştır.

Şekil 4.7.'de elde edilen örneklerin benzerlikleri ve farklılıkları görselleştirilmiştir. PC1, varyansın %69'unu, PC2, varyansın %13'ünü açıklamaktadır. İki bileşen göz önüne alındığında veri setindeki varyansın toplam olarak %82'sini açıklamaktadır. Grafikte görülen mavi noktalar kontrol gruplarını (C), kırmızı noktalar ise deney gruplarını (T) ifade etmektedir. Kontrol grubunun (C) kendi içerisinde grafikte yakın olması ve deney grubu (T) ile ayrışması tuzluluk stresi altında deney ve kontrol grupları arasında dikkat çekici farklılıklar olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.8. DESeq2 sonuçları gösterilmektedir. Grafikte, gen ekspresyonu profillemesine dayalı olarak örnekler arasındaki mesafeler görselleştirilmiştir (A). Grafikte, her bir gen için bir nokta belirtilmiş ve belirli bir ifade gücüne sahip genler için dağılım değeri gösterilmektedir (B). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında yapılan diferansiyel ekspresyon genlerinin p-değerlerinin dağılımı gösterilmektedir (C). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında diferansiyel ekspresyon genleri gösterilmektedir. Her bir nokta bir geni temsil eder ve logaritmik kat değişimi ile normalize edilen ortalama gen sayıları karşılaştırılmıştır (D).

Şekil 4.8.'de örneklerin belirli özelliklerine göre grafikleri verilmiştir. Şekil 4.8 - A'da gen ekspresyonlarına göre örnekler arası mesafe görselleştirilmiştir. Belirtilen grafikteki renk skalası incelenen örnekler kapsamında benzerlikleri ve farklılıkları belirtmektedir. Koyu mavi tonlar örnekler arasındaki büyük farkları, açık mavi tonlar ise benzerlikleri ifade etmektedir. Kontrol ve deney gruplarının yakın konumlanması biyolojik açıdan tekrarlanabilirliğin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Şekil 4.8-B’de her bir gen için dağılımlarına uygun bir eğri oluşturulmuştur. Bir gen için belirli ifadeye sahip olması durumunda beklenen dağılım grafiğidir. Her bir siyah nokta bir geni ifade etmektedir. Dağılımın ortalama ifade seviyesi ve maksimum olasılık tahmini ile ilişkisini ortaya koymaktadır.

Şekil 4.8-C’de gösterilen histogram grafiği, deney ve kontrol grupları arasında ekspresyonunda farklılık olan genlerin sayısının p-değerine göre dağılımı belirtmektedir. P-değeri düşük olan (0’a yakın) genler, uygulanan stres türü altında ekspresyonlarının farklılaştığını göstermektedir.

Şekil 4.8-D’de belirtilen X eksenini normalize edilmiş gen sayılarının ortalamasını göstermektedir. Y eksenini ise Log2FC deney ve kontrol grupları arasındaki ekspresyon farklılıklarını logaritmik ölçekte belirtmektedir. Grafik, alt kısmında kalan genler için tuzluluk stresi altında aşağı regüle edildiğini, grafiğin üst kısmında olan genler için ise tuzluluk stresi altında yukarı regüle edildiğini belirtmektedir.

4.1.5. Mısır (*Zea mays*)

Çizelge 4.9. DESeq2 programı ifadesi azalan yönde olan genler

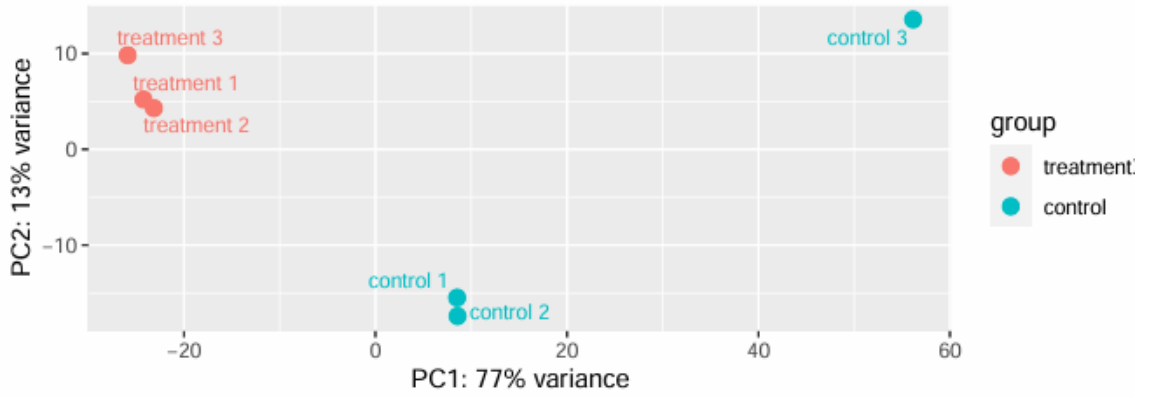
Gene ID	Base mean	log ₂ (FC)	StdErr
Zm00001d011508	72,87	-9,52	1,40
Zm00001d038870	46,58	-8,88	2,01
Zm00001d040026	27,74	-8,13	1,86
Zm00001d017453	24,29	-7,94	1,28
Zm00001d031228	17,42	-7,46	1,35
Zm00001d037894	235,64	-7,01	0,83
Zm00001d002820	12,48	-6,98	1,35
Zm00001d004509	10,45	-6,72	2,68
Zm00001d047276	16,26	-6,39	1,30
Zm00001d028751	3,95	-5,31	1,82
Zm00001d039507	3,42	-5,11	3,73
Zm00001d028092	3,27	-5,05	1,84
Zm00001d042359	3,16	-4,99	1,72
Zm00001d051855	2,79	-4,82	1,77
Zm00001d039094	2,65	-4,74	2,11
Zm00001d024340	2,44	-4,62	1,80
Zm00001d010440	25,10	-4,59	0,85
Zm00001d015874	1,50	-3,91	2,32
Zm00001d048710	13,89	-3,75	1,80
Zm00001d028574	129,13	-3,67	0,72
Zm00001d036051	1,19	-3,59	3,94
Zm00001d009248	1,93	-3,40	1,91
Zm00001d013707	0,79	-3,00	3,56

Zm00001d017480	0,79	-2,99	3,56
Zm00001d027581	102,42	-2,84	0,73
Zm00001d029038	1,58	-2,78	2,40
Zm00001d049161	1,40	-2,60	2,49
Zm00001d033394	2,18	-2,40	2,33
Zm00001d033878	1,16	-2,22	2,07
Zm00001d024677	66,80	-2,08	0,48

Çizelge 4.10. DESeq2 programı ifadesi artan yönde olan genler

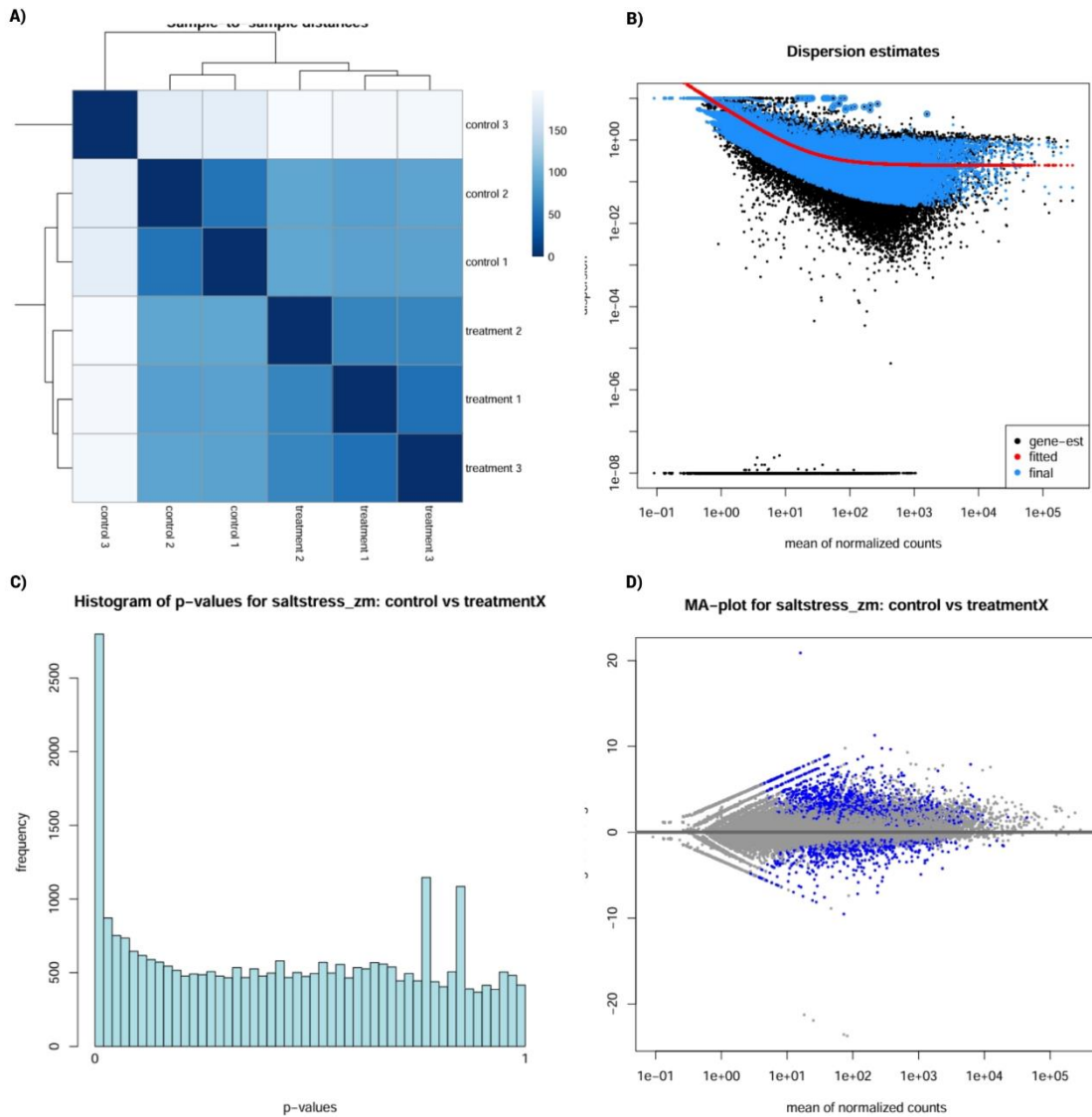
Gene ID	Base mean	log2(FC)	StdErr
Zm00001d012259	375,22	9,65	1,04
Zm00001d003365	676,13	9,29	1,34
Zm00001d023768	42,87	8,96	1,27
Zm00001d018738	6175,37	7,90	1,01
Zm00001d018700	912,16	7,89	1,16
Zm00001d027947	22,18	7,05	1,63
Zm00001d040071	21,33	6,97	1,47
Zm00001d049704	16,47	6,60	2,08
Zm00001d006531	8,08	6,57	1,56
Zm00001d008449	453,91	6,00	1,05
Zm00001d029341	5,40	5,97	1,51
Zm00001d016637	4,38	5,65	2,32
Zm00001d027890	3,40	5,29	2,76
Zm00001d007168	45,87	4,96	1,46
Zm00001d011639	46,24	4,69	0,94
Zm00001d021497	2,00	4,58	1,99
Zm00001d048417	307,86	4,20	0,82
Zm00001d043011	6,88	3,92	1,86
Zm00001d045395	641,48	3,84	1,01
Zm00001d016415	199,05	3,56	1,03
Zm00001d041672	0,85	3,29	3,44
Zm00001d020915	99,14	3,17	0,81
Zm00001d023248	16,01	3,00	1,14
Zm00001d015616	27,05	2,99	0,69
Zm00001d036767	183,99	2,82	1,01
Zm00001d045935	966,37	2,67	0,96
Zm00001d013638	20,18	2,49	0,96
Zm00001d035383	467,90	2,36	0,97
Zm00001d022032	470,53	2,29	0,67
Zm00001d042964	3,32	2,13	1,49

DESeq2 analizi sonucunda 34.498 genin diferansiyel olarak ekspresyonun değiştiği tespit edilmiştir. Ekspresyonu değişen ifade tespiti aşamasından sonra elde edilen sonuçlar GO analizine tabii tutulmuştur.



Şekil 4.9. DESeq2 sonucunda elde edilen iki boyutlu PCA analizi gösterilmektedir. Mısır verilerinde, gen ekspresyon varyansının yüksek olduğu iki grup boyunca konumlandırılma yapılmıştır.

Şekil 4.9.'da elde edilen örneklerin benzerlikleri ve farklılıkları görselleştirilmiştir. PC1, varyansın %77'sini, PC2, varyansın %13'ünü açıklamaktadır. İki bileşen göz önüne alındığında veri setindeki varyansın toplam olarak %90'ını açıklamaktadır. Grafikte görülen mavi noktalar kontrol gruplarını (C), kırmızı noktalar ise deney gruplarını (T) ifade etmektedir. Kontrol grubunun (C) kendi içerisinde grafikte yakın olması ve deney grubu (T) ile ayrışması tuzluluk stresi altında deney ve kontrol grupları arasında dikkat çekici farklılıklar olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.10. DESeq2 sonuçları gösterilmektedir. Grafikte, gen ekspresyonu profillemesine dayalı olarak örnekler arasındaki mesafeler görselleştirilmiştir (A). Grafikte, her bir gen için bir nokta belirtilmiş ve belirli bir ifade gücüne sahip genler için dağılım değeri gösterilmektedir (B). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında yapılan diferansiyel ekspresyon genlerinin p-değerlerinin dağılımı gösterilmektedir (C). Grafikte, deney ve kontrol grupları arasında diferansiyel ekspresyon genleri gösterilmektedir. Her bir nokta bir geni temsil eder ve logaritmik kat değişimi ile normalize edilen ortalama gen sayıları karşılaştırılmıştır (D).

Şekil 4.10'da örneklerin belirli özelliklerine göre grafikleri verilmiştir. Şekil 4.10 -A'da gen ekspresyonlarına göre örnekler arası mesafe görselleştirilmiştir. Belirtilen grafikteki renk skalası incelenen örnekler kapsamında benzerlikleri ve farklılıkları belirtmektedir. Koyu mavi tonlar örnekler arasındaki büyük farkları, açık mavi tonlar ise benzerlikleri ifade etmektedir. Kontrol ve deney gruplarının yakın konumlanması biyolojik açıdan tekrarlanabilirliğin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Şekil 4.10- B’de her bir gen için dağılımlarına uygun bir eğri oluşturulmuştur. Bir gen için belirli ifadeye sahip olması durumunda beklenen dağılım grafiğidir. Her bir siyah nokta bir geni ifade etmektedir. Dağılımın ortalama ifade seviyesi ve maksimum olasılık tahmini ile ilişkisini ortaya koymaktadır.

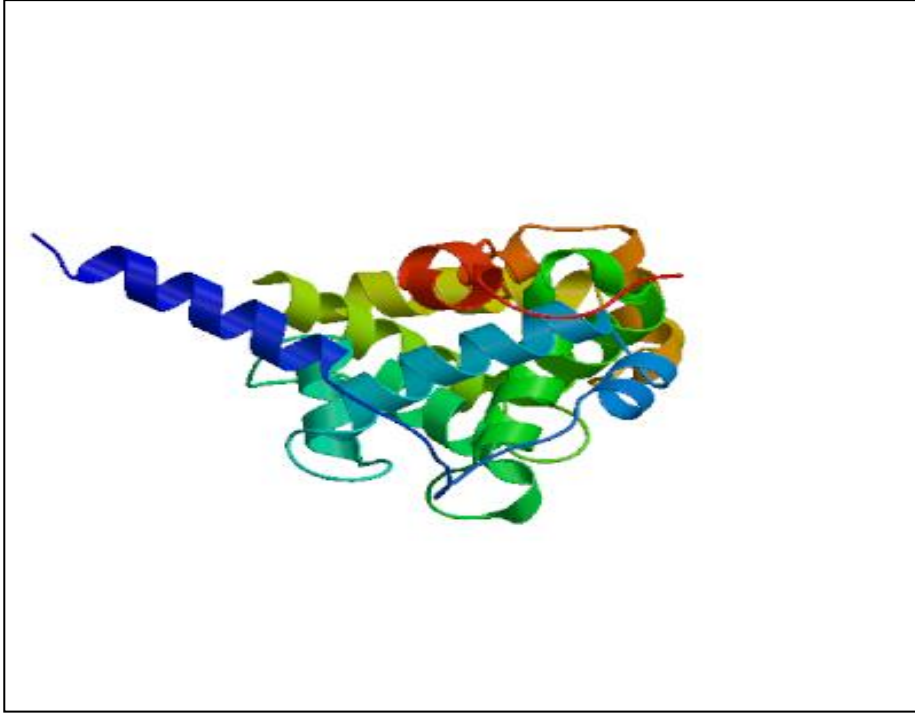
Şekil 4.10- C’de gösterilen histogram grafiği, deney ve kontrol grupları arasında ekspresyonunda farklılık olan genlerin sayısının p-değerine göre dağılımı belirtmektedir. P-değeri düşük olan (0’a yakın) genler, uygulanan stres türü altında ekspresyonlarının farklılaştığını göstermektedir.

Şekil 4.10-D’de belirtilen X eksenini normalize edilmiş gen sayılarının ortalamasını göstermektedir. Y eksenini ise Log2FC deney ve kontrol grupları arasındaki ekspresyon farklılıklarını logaritmik ölçekte belirtmektedir. Grafik, alt kısmında kalan genler için tuzluluk stresi altında aşağı regüle edildiğini, grafiğin üst kısmında olan genler için ise tuzluluk stresi altında yukarı regüle edildiğini belirtmektedir.

4.2. Bitki Türlerinde Tuzluluk Stresi Altında Tespit Edilen Ortak Genler

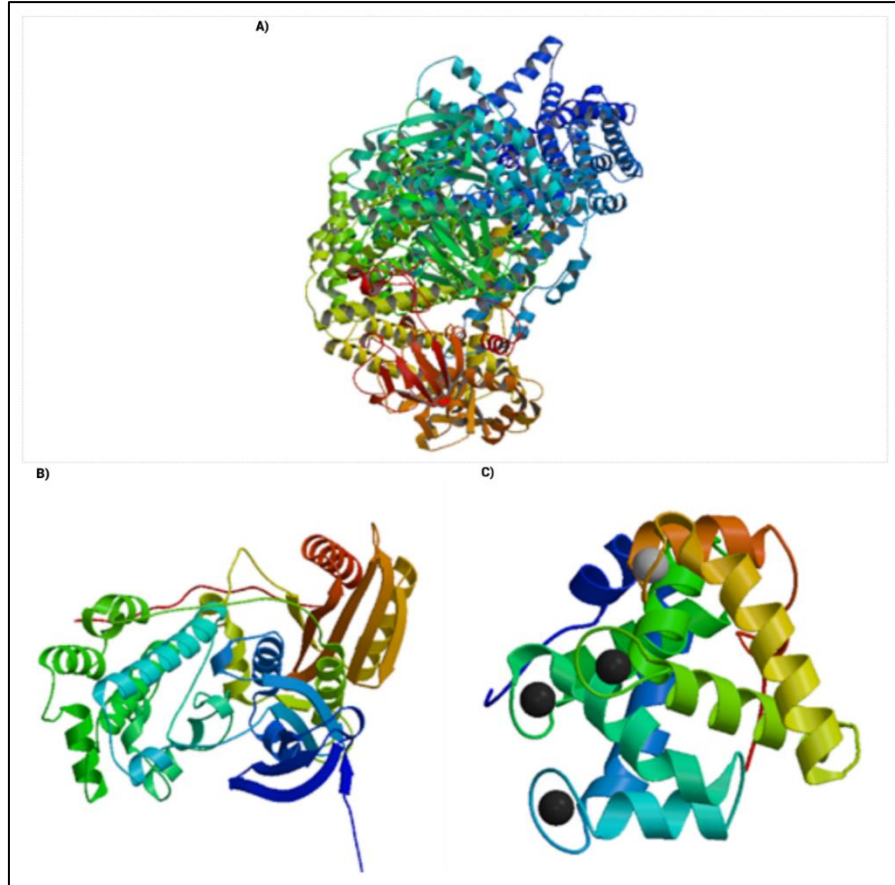
DEG’lerin analizi sonucu elde edilen veriler, yürütülen tez kapsamında bitki türlerinde ortak genlerin bulunması amacıyla karşılaştırılmıştır. Bu bölümde bulunan genler incelenen bitki türlerinde tuzluluk stresi altında elde edilen verileri bir dizi transkriptomik analizlere tabii tutarak elde edilmiştir.

“Kalsinörin B-benzeri 2 (CBL2)” proteini bitkilerde kalsiyum sensörleri olarak görev almaktadırlar (Hashemipetroudi vd., 2022). CBL2 proteinleri bitkilerin abiyotik stres türlerine karşı cevabında “CBL ile etkileşime giren protein kinazlar (CIPK)” ile birlikte büyüme ve gelişmede rol oynamaktadırlar (Hashemipetroudi vd., 2022). CBL gen ailesi ilk olarak *Arabidopsis thaliana*’da tanımlanmıştır (Su vd., 2020). *Arabidopsis thaliana*’da yapılan bir çalışmada CBL2 geni hedef CIPK’larla birleştirilmiş birkaç CBL’nin düşük potasyum (K^+) ve yüksek sodyum (Na^+) da dahil iyonik stres koşullarına karşın bir yanıt işlevi sürdürdüğü gösterilmektedir. CBL Ca^{2+} sensörü SOS3/CBL4 ve CIPK tipi kinaz SOS2/CIPK24, plazma membranındaki Na^+ / H^+ antiporteri SOS1’i düzenleyerek tuz stresi adaptasyonunda Ca^{2+} sinyal yolundaki temel bileşenler olarak tanımlanmıştır (R.-J. Tang vd., 2012).



Şekil 4.11. CBL2 geni Swiss-Prot modellemesi.

“Tuza aşırı duyarlı 2 (SOS2)” ve “tuza aşırı duyarlı 3 (SOS3)” genleri bitkilerin tuzluluk stresi altında iyon homeostazisinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. SOS2 serin/treonin protein kinaz ve SOS3 kalsiyum bağlayıcı bir proteindir (Ali vd., 2023). Tuzluluk stresinde sitozoldeki serbest kalsiyum (Ca^{2+}) seviyesindeki değişiklikler SOS2 kinaza bağlanan ve aktive eden SOS3 tarafından algılanmaktadır. Bu kompleks (SOS2-SOS3) daha sonra SOS1 ile etkileşime girerek onu aktive etmektedir. Böylece hücrede sodyum dışarı atılarak hücre içerisinde birikimi engellenmektedir. Böylelikle tuz stresine karşı tolerans sağlanmış olmaktadır (Huang vd., 2024). Domateste yapılan bir çalışmada, 200 mmol NaCl uygulanmasından sonra SOS3’ün güçlendirici olan LeENH1’in transkripsiyon seviyesinin artarak 24 saat sonunda en üst seviyede olduğu tespit edilmiştir (D. Li vd., 2013).

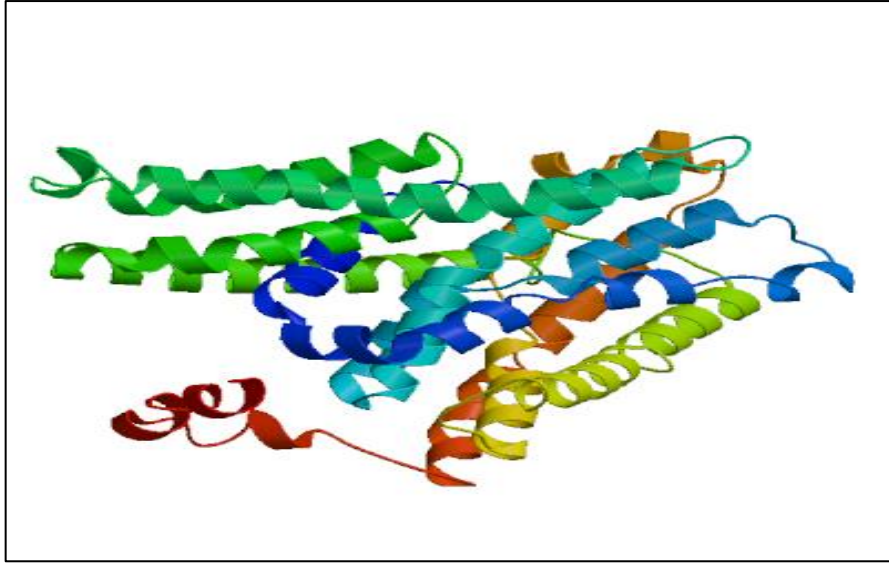


Şekil 4.12. SOS2 geni (A), SOS3 geni (B) ve SOS1 geni (C) Swiss-Prot modellemesi.

“Sodyum-potasyum taşıyıcı (NHX1)” geni bitkilerde Na^+ / H^+ antiporterlerini kodlamaktadır. Hücrede, membranda bulunmaktadırlar. Bitkilerde genellikle üç sınıfta açıklanmaktadır. Lokalizasyon yerleri sınıf I vakuol membranında, sınıf II endozom’da ve sınıf III plazma membranında olmak üzere açıklanmaktadır (Fukuda vd., 2011; Yokoi vd., 2002).

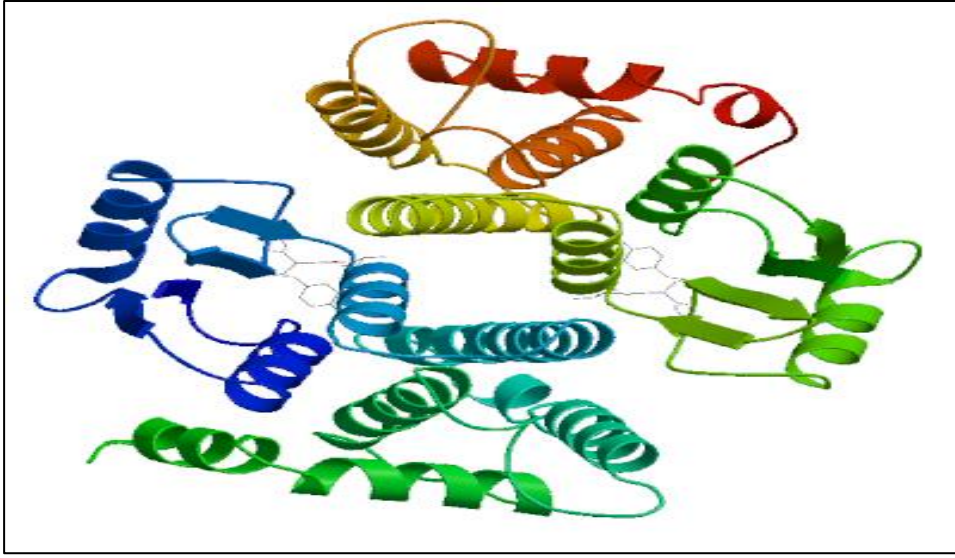
Kabak (*Cucurbita L.*)’ ta yapılan bir çalışmada NHX1’in yaprak mezofili ve yaprak damarlarında tuzluluğu karşı yanıt oluşturduğu gösterilmektedir (Shen vd., 2023).

Kavak (*Populus trichocarpa*)’ta yapılan çalışmada sıcaklık, kuraklık, soğuk ve tuz stresine karşı yanıtta rol oynayan yedi NHX geni tanımlanmıştır (Tian vd., 2017).



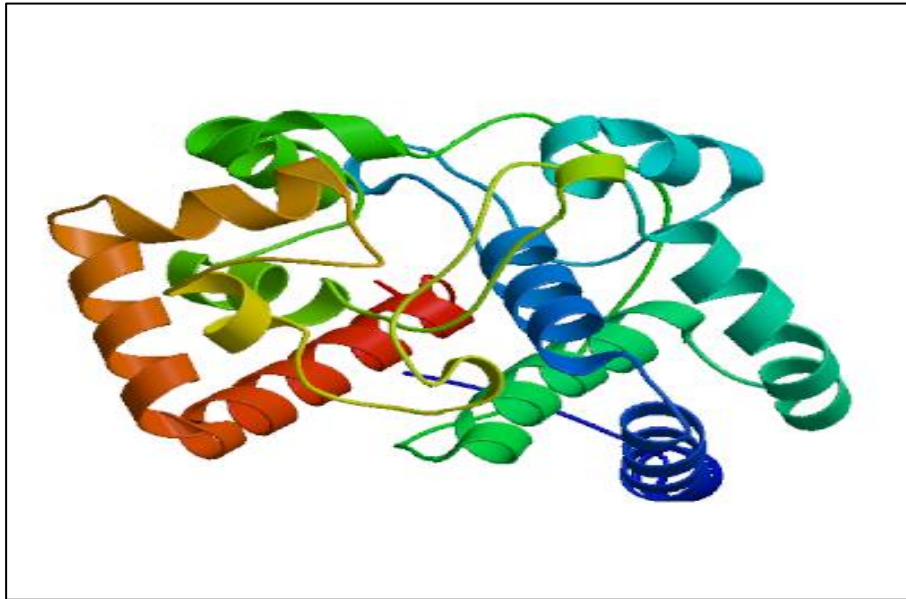
Şekil 4.13. NHX1 geni Swiss-Prot modellemesi.

“Glutasyon S-transferaz (GST)” geni çoğunlukla sitozolde ifade edilmektedir. Ko-substrat veya ko-enzim olarak kullanılabilen korunmuş bir protein ailesidir (Dixon vd., 2002). Stres türleri dışında sinyal iletimi ve herbisit detoksifikasyonu gibi düzenleyici rolleri de bulunmaktadır (Holmberg ve Bülow, 1998). Dolaylı olarak reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasına katkıda bulunmaktadır (Hernández Estévez ve Rodríguez Hernández, 2020). Dizi kimliklerine göre beş sınıfta ifade edilmekte ve bunlardan tau ve phi olarak adlandırılan sınıfları bitkilere özgüdür (Dixon vd., 2002). Soya fasulyesine yapılan bir çalışmada 150 mM NaCl uygulaması altında prolin ve trehaloz gibi koruyucu metabolitlerin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ve oksidatif pentoz fosfat yolağının uyarılmasıyla karakterize olduğu gösterilmektedir (Kissoudis vd., 2015).



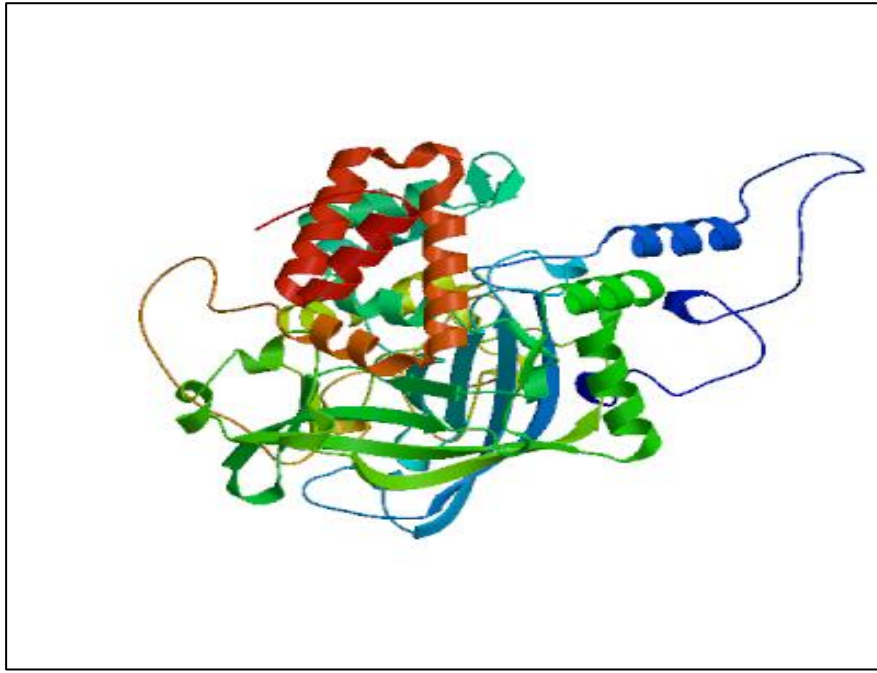
Şekil 4.14. GST geni Swiss-Prot modellemesi.

“Askorbat peroksidaz (APX)” geni bitki büyüme ve gelişiminde rol oynamaktadır (Najami vd., 2008). Reaktif oksijenlerden H_2O_2 'nin temizlenmesinde görev almaktadır. *Arabidopsis thaliana*'da kuraklık stresi altında APX'in kloroplastları oksidatif hasarlardan koruduğu tespit edilmiştir (Lu vd., 2007). Kloroplast veya mitokondrilerde bulunan APX, yapraktaki yüksek tuz konsantrasyonuna karşı indüklendiği görülmüştür (Leng vd., 2021). Sorgum (*Sorghum bicolor L.*)'da kuraklık stresi uygulaması yapılmış ve dokuz APX üyesi tanımlanmıştır (Akbudak vd., 2018).



Şekil 4.15. APX geni Swiss-Prot modellemesi.

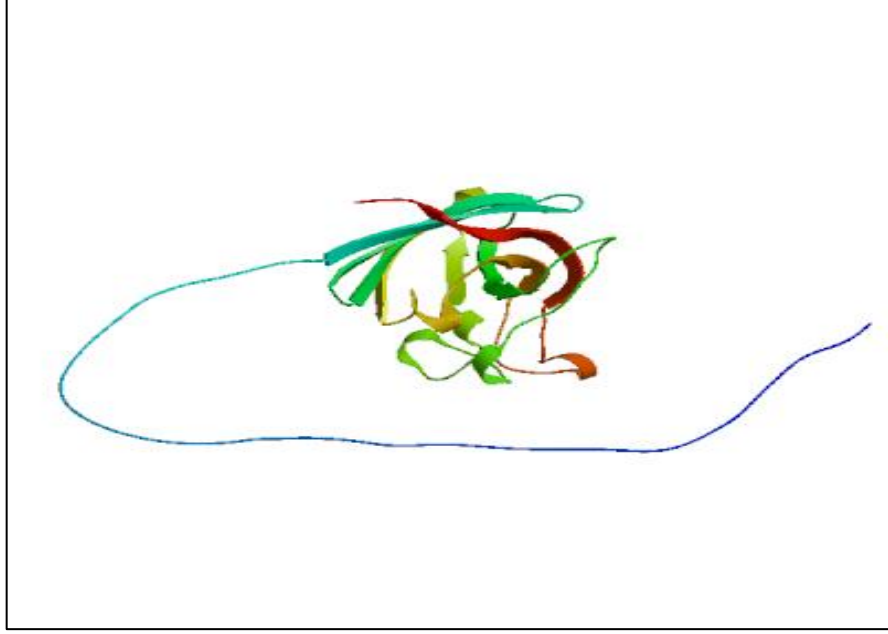
“Katalaz (CAT)” geni bitkilerde elektron transferini sağlayarak hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalamaktadır. Bitki savunmasında ve strese karşı yanıtta önemli bir rol üstlenmektedir. Pirinç (*Orzya sativa*)’da yapılan bir çalışmada CAT gen ifadesinin farklı abiyotik stres türlerine karşı ve hastalık direncine karşı arttığı görülmüştür (Yu vd., 2016). Patates’te CAT geninin aşırı ekspresyonu bitki boyunu ve yaprak miktarını arttırdığı görülmüştür (H.-J. Chen vd., 2012). Mısır (*Zea mays*)’da CAT2’nin ekspresyonu CAT aktivitesini arttırarak patojen direnci sağladığı görülmüştür (Polidoros vd., 2001).



Şekil 4.16. CAT geni Swiss-Prot modellemesi.

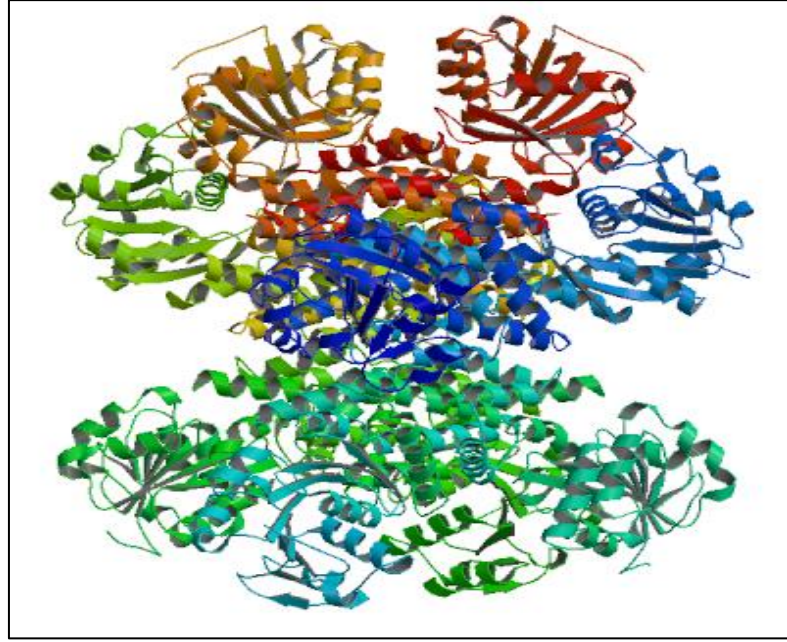
“Süperosik dismutaz (SOD)” geni bitki büyüme, gelişme ve abiyotik strese karşı yanıtta önemli bir rol üstlenmektedir. Bitkileri ROS toksisitesinin zararlı etkilerde korumakla görevli anitoksidan enzimlerdir (W. Wang vd., 2016). “SOD proteinleri metal kofaktörlerine göre bakır/çinko SOD (Cu/Zn-SOD), demir SOD (Fe-SOD) ve mangan SOD (Mn-SOD) olmak üzere üçe ayrılmaktadır” (Zelko vd., 2002). Pamuk (*Gossypium hirsutum*)’da yapılan bir çalışmada tuz stresi altında SOD’un bitkinin yapraklarında indüklendiğini gösterilmiştir (W. Wang vd., 2017). Bezelye (*Pisum sativum*)’da yapılan bir çalışmada tuz stresi altında SOD aktivitesinin arttığı görülmüştür (Hernández vd., 2000).

Buğday (*Triticum aestivum*)’da yapılan çalışmada, bitkilere 150 mM NaCl uygulaması yapılmış ve elde edilen verilerle GO zenginleştirme analizi yapılmıştır. Analiz sonucu elde edilen bilgiler TaSOD’un GO terimlerinin “süperoksit dismutaz aktivitesi”, “oksidasyon-redüksiyon süreci” ve “süperoksit radikallerinin uzaklaştırılması” başlıkları altında ifade edildiği görülmüştür (Jiang vd., 2019).



Şekil 4.17. SOD geni Swiss-Prot modellemesi.

“Prolin-5-karboksilat redüktaz (P5CR)” geni bitkilerde prolin biyosentezinde rol oynamaktadır. Prolin hücre zarının korunmasında ve hücre içi serbest radikallerin temizlenmesinde rol alan bir amino asit olma özelliği taşımaktadır (C. Chen vd., 2021). Abiyotik stres türleri altında prolin biyosentezi; ilki glutamat yolağı ve ikincisi de ornitin yolağı olmak üzere iki şekilde meydana gelmektedir. “Glutamat yolağı, glutamik asit (Glu), glutamil semialdehit (GSA) üretmek için pirolin-5-karboksilik sentaz (P5CS) tarafından katalize edilir ve GSA otomatik olarak pirolin-5-karboksilik aside (P5C) siklize olur ve ardından P5C, P5C redüktazın (P5CR) etkisi altında prolin üretmektedir”(C. Chen vd., 2021). “Ornitin yolağı, Ornitin aminotransferaz (OAT), Orn’un GSA/P5C’ye transaminasyonunu sağlamaktadır” (Verslues ve Sharma, 2010). Soya, bezelye ve buğday’da tuz uygulaması yapılmasından sonra P5CR’nin mRNA seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir (Delauney ve Verma, 1993).



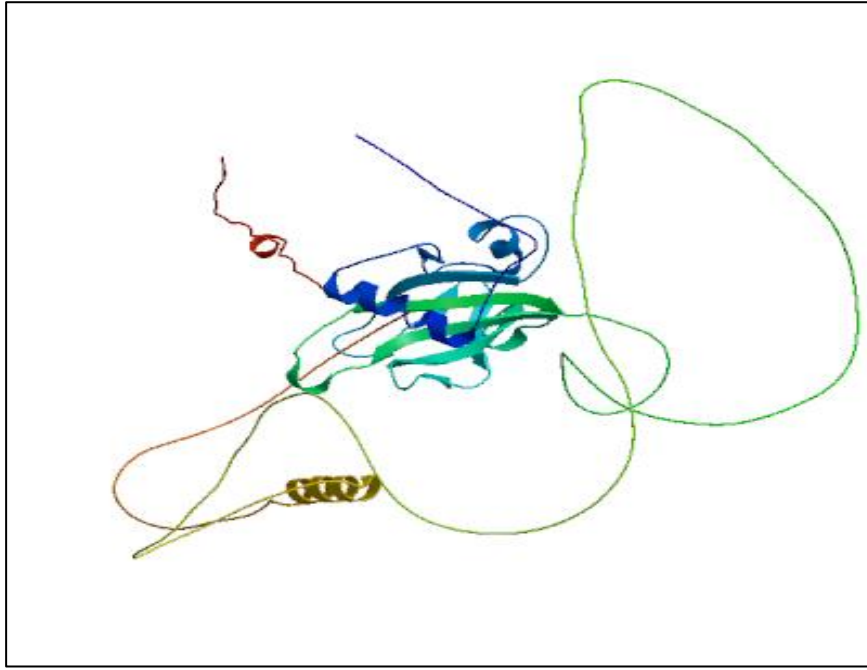
Şekil 4.18. P5CR geni Swiss-Prot modellemesi.

“NAC” geni kodladıkları transkripsiyon faktörleriyle birlikte bitkide hormon sinyal yolağı ve senesens gibi oldukça önemli hücrenel süreçlerde rol üstlenmektedirler. Abiyotik ve biyotik streslerde TF ailesinin birçok üyesinin aşırı ifadesi stres türlerine karşın toleransın artmasına sebep olmaktadır (B. Wang vd., 2015). Abisik asit (ABA) ile indüklenen NAC genlerinin yanı sıra NAC genleri tarafından kodlanan bazı proteinlerin de ABA biyosentezinde rol aldığı görülmüştür (Mao vd., 2016). Yang ve arkadaşları (2011), tuz stresine tepki ve yaprak yaşlanmasıyla arasındaki sinyal iletimini düzenleyen NAC TF’ü olan “VND INTERACTING2’yi (VNI2)” tanımlamışlardır (Yang vd., 2011).



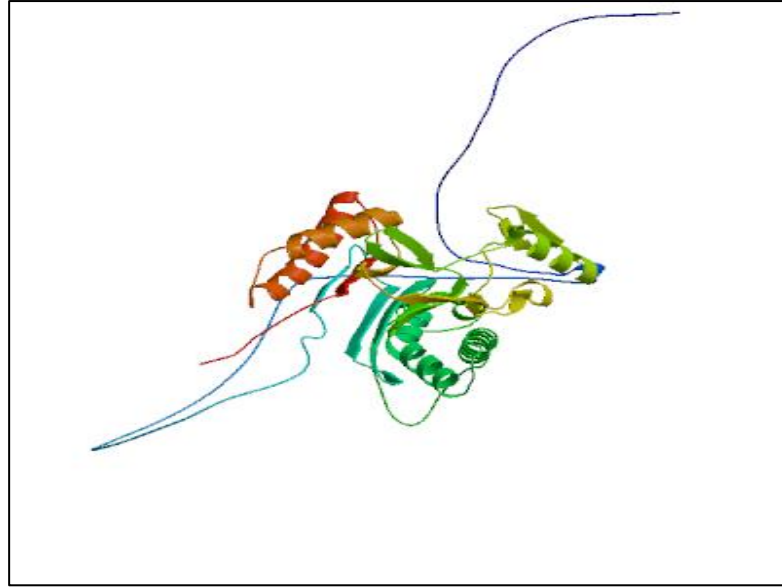
Şekil 4.19. NAC geni Swiss-Prot modellemesi.

“Glutamat dehidrojenaz (GDH)” geni azot ve karbon metabolizmasında rol almakta ve Glutamat’ın deaminasyonunu katalizlemektedir (Eprintsev ve Anokhina, 2023) . Hıyar yapraklarında yapılan bir çalışmada uzun süreli tuza maruziyetinden sonra *GDH* aktivitesinin değiştiği gözlemlenmiştir (Naliwajski ve Skłodowska, 2018). Mısır (*Zea mays*)’da yapılan bir çalışmada tuzluluğun GDH’ı indüklediği ve zaman geçtikçe kontrol grubuna göre üç kat arttığı ifade edilmektedir (Eprintsev ve Anokhina, 2023).



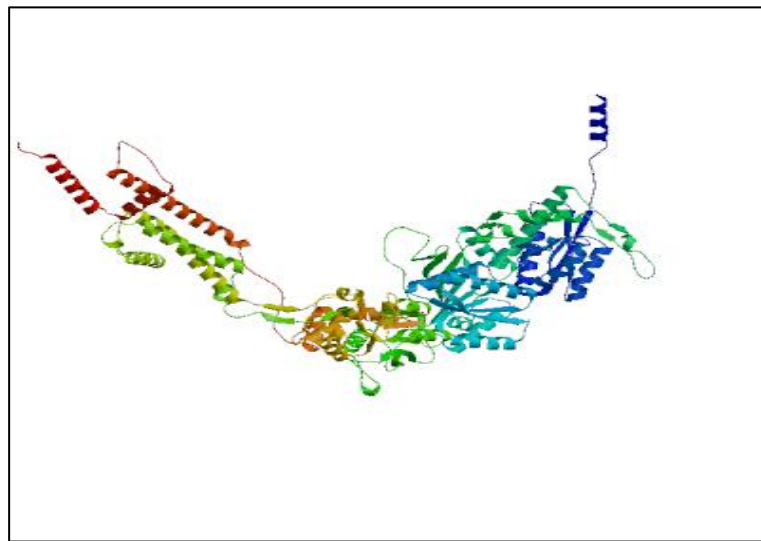
Şekil 4.20. GDH geni Swiss-Prot modellemesi.

“Protein fosfataz (PP2C)” geni prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunmaktadır. Bitkilerde sinyal iletiminde rol aldığı bilinmektedir (Schweighofer vd., 2004). ABA ve “mitogende aktive olan proteinaz kinaz (MAPK)” kaskad yolağını negatif yönde düzenlemektedirler. *Brachypodium distachyon*’da yapılan bir çalışmada kuraklık, tuz ve soğuk stresi altında PP2C geninin arttığı gösterilmiştir (Cao vd., 2016).



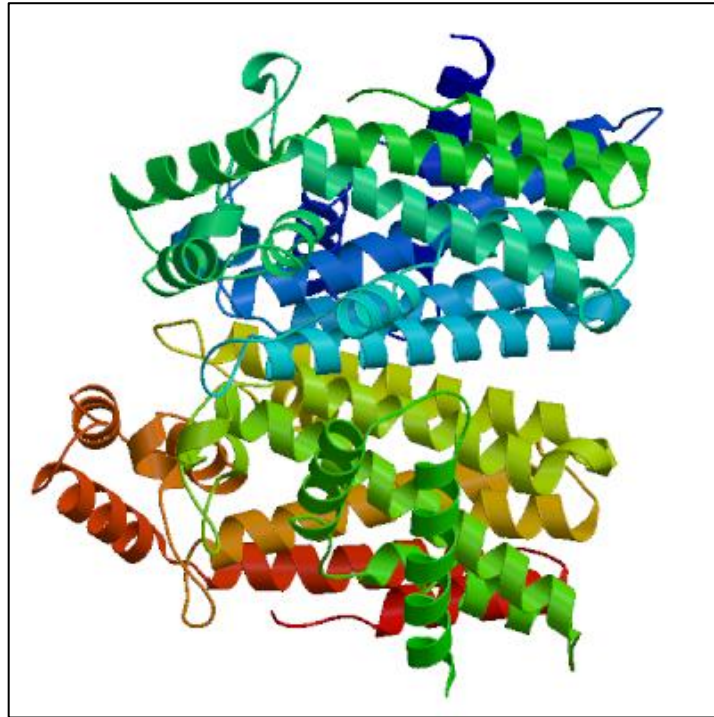
Şekil 4.21. PP2C geni Swiss-Prot modellemesi.

“Glutamat reseptör-benzeri 3 (GLR3)” geni Ca^{2+} plazma membranından girişi ile ilişkilidir ve farklı fizyolojik süreçlerde bulunmaktadır (Manzoor vd., 2013). “Sinyal iletim mekanizmasında ligand kaplı iyon kanalı” olarak görev almaktadırlar (D. R. Madden, 2002). Çevresel uyaranlara ROS ve hormon sinyal ağı aracılığıyla cevap vermektedir. Buğday’da yapılan çalışmada mutant atglr3.4’ün yabancı tipe kıyasla duyarlılığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Cheng vd., 2018). GLR’lerin tuz stresine adaptasyonda gerekli olduğu anlaşılmaktadır .



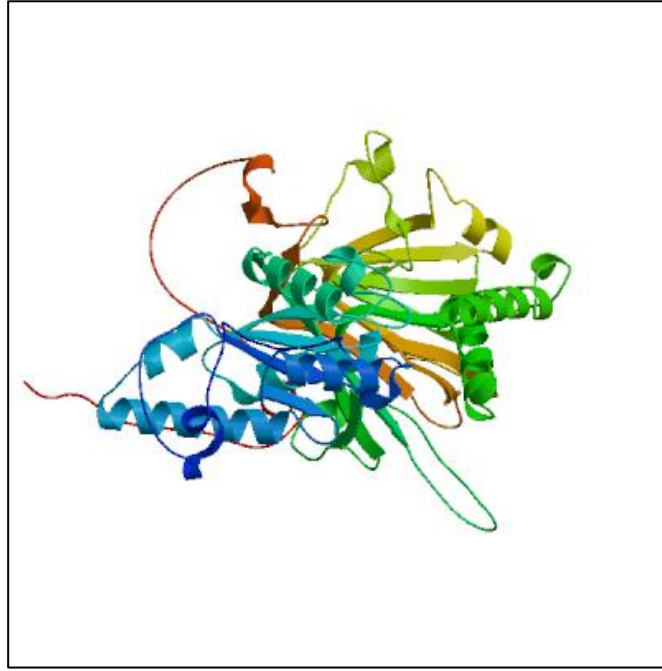
Şekil 4.22. GLR3 geni Swiss-Prot modellemesi.

“Farnesil pirofosfat sentaz (FPS)” geni terpen metabolik yolağının önemli bir parçasıdır. Farnesil difosfat (FPP) oluşumunu katalizlemektedir. *Artemisia annua L.*'de FPS geninin aşırı ifade edilmesi seskiterpen biyosentezini artırabileceğini göstermiştir (D.-H. Chen vd., 2000). Bitkilerde FPS'nin aşağı regülasyonu mevalonik asit (MVA) türevi izoprenoid yolağı boyunca bir azalma ve bununla birlikte sterol seviyesinde düşüş ile birlikte abiyotik ve biyotik stresle ilişki genlerin yanlış düzenlenmesine sebebiyet veren bir stres sinyali olarak algılandığı belirtilmektedir (Manzano vd., 2016).



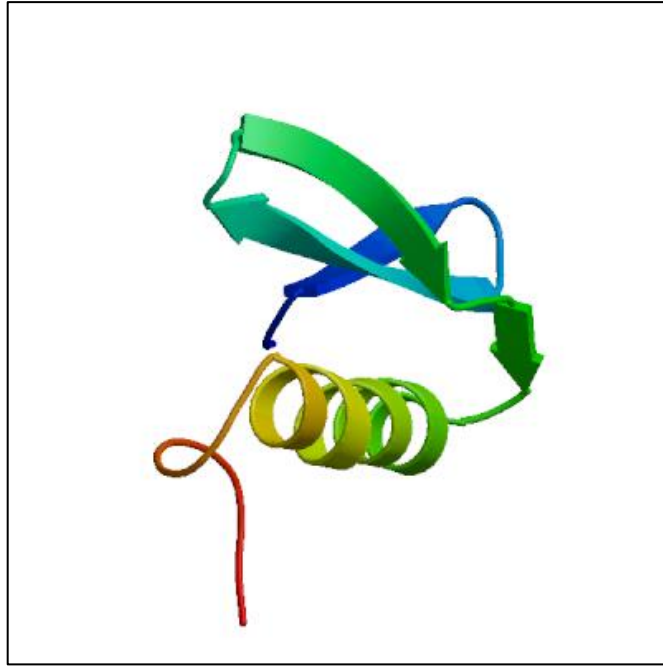
Şekil 4.23. FPS geni Swiss-Prot modellemesi.

“Diasilgliserol kinaz (DGK)” geni diasilgliserolü (DAG) fosforile ederek fosfatidik asit (PA) üretmektedir. “Fosfolipaz C (PLC) / DGK yolu biyotik ve abiyotik strese karşı yanıt olarak fosfatidik asit'in bir sinyal süreci olmaktadır” (Escobar-Sepúlveda vd., 2017). Lipid sinyal yolağının önemli bir enzimidir (Kue Foka vd., 2020). Pirinç yapraklarında, tuz stresi uygulanması sırasında fosfatidik asit (PA) oluşmasının asıl sebebini DGK aktiviteleri tarafından indüklenmesi olduğu ifade edilmektedir (Darwish vd., 2009). Tek hücreli yeşil alg (*Chlamydomonas*)'de yapılan bir çalışmada tuz maruziyetine cevap olarak DGK aktivitesinden doğan PA üretiminin gerçekleştiği ve PLA'nın aktivitesiyle lizofosfatidik asit (LPA) oluştuğu öne sürülmektedir (Arisz ve Munnik, 2011).



Şekil 4.24. DGK geni Swiss-Prot modellemesi.

“Etilen duyarlı element bağlama faktörü (ERF)” genleri ERF transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır. Bitkilerde kuraklık, tuzluluk ve sıcaklık gibi çeşitli abiyotik stres türlerine karşı tepkide görev almaktadırlar (Liu vd., 2023). Kurkas (*Jatropha curcas L.*)’da yapılan bir çalışmada tuzluluk stresi altında elde edilen verilerin analiz edilmesi sonucunda 98 olası ERF tanımlandır. Bunlardan “*JcERF066*” tuzluluk stresi altında ifadesinin arttığı bildirilmiştir (Y. Tang vd., 2016). “*JcERF066*” ifadesinin artması sonucu bitki fenotipinde kısalığa neden olmaktadır.



Şekil 4.25. ERF geni Swiss-Prot modellemesi.

Elde edilen sonuçlar ve yürütülen çalışmamız literatürde çeşitli abiyotik stres faktörleriyle ilişkili ve tuzluluk stresiyle doğrudan veya dolaylı olarak ilişkili olduğu görülmektedir.

4.3. Bitki Türlerinde Tuzluluk Stresi Altında Tespit Edilen Ortak TF'ler

“APETALA 2 / etilen duyarlı elementi bağlayıcı proteini (AP2/EREBP)” transkripsiyon faktörleri ailesi bitkileri çevresel büyüme koşullarına uyumlarını düzenlemek için bitki sinyallerini düzenlemektedirler. Bilinen en büyük korunmuş gen ailelerinden meydana gelmektedir. ERF ve DREB gibi transkripsiyon faktörlerini düzenlemektedirler.

Buğday’da yapılan bir çalışmada TaER1’in tuzluluk stresine karşı toleransı arttırmada görev aldığı görülmektedir (Xu vd., 2007). Karnabahar (*Brassica oleracea L. var. botrytis*)’da yapılan bir çalışmada, kullanılan fideler tuz ve kuraklık stresi uygulanarak elde edilen veriler analiz edilmiştir. “*Bra-botrytis-ERF054a*”, “*Bra-botrytis-ERF056*”, “*Bra-botrytis-ERF003a*” ve “*Bra-botrytis-CRF2*” gibi transkripsiyon faktörlerinin tuzluluk stresi altında ifadelerinin arttığı belirtilmektedir (H. Li vd., 2017).

“Oksin-tepki faktörleri (ARF)” oksinle bağımlı sinyal yolları ile soğuk, sıcaklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres türlerine karşı olarak bitki tepkilerinde rol almaktadır. “DBD, Aux/IAA proteinleri ve ARF proteinleri arasında aracı olan bir C-terminal dimerizasyon alanı olan CTD ve genin baskılanması veya aktivasyonundan sorumlu olan MR düzenleyici bölge şeklinde üç kısım içermektedir” (Swaminathan vd., 2008; Ulmasov vd., 1999). Yer fıstığı (*Arachis hypogaea L.*)’nda yapılan bir çalışmada 300 mmol NaCl uygulanmasında sonra “*AraduW24J0*” ve “*Aradu.PZ2UH*” adlı aşağı düzenlemiş iki gen bulunmuştur (Y. Tang vd., 2022). Kabak (*Cucurbita pepo L.*)’ta yapılan bir çalışmada 200 mmol NaCl uygulanmasından sonra qRT-PCR analizi yapılarak 33 CpARF gen ifadesi incelenmiştir. İncelenen genlerin 31 tanesinin ifadesi tuz uygulamasının saatlerine göre ifadelerinin değiştiği tespit edilmiştir. “*CpARF04*”, “*CpARF23*” ve “*CpARF26*” gibi genlerin ifadelerinin 3. saatin sonunda arttığı gösterilmiştir (M. Zhang vd., 2024).

“Heliks-ilmek-heliks (bHLH)” bitkilerde geniş transkripsiyon faktörü ailelerinden biridir. Promotörlerinde belirli olan yerlere bağlanarak bitki için önemli mekanizmalarda rol almaktadır. İlk olarak mısırdaki bHLH geni tanımlanmıştır (Bailey vd., 2003). Tuzluluk stresi altında ilk olarak rol aldığı gösterilen bHLH transkripsiyon faktörü , kalsiyum bağlayıcı NaCl-indüklenebilir gen 1 (*AtNIG1*) ilk olarak *Arabidopsis thaliana*’da tanımlanmıştır (J. Kim ve Kim, 2006). Benzer şekilde farklı bir bHLH geninin ekspresyonunun artmasıyla beraber “mitogenle aktive olan protein kinaz” ve prolin seviyesindeki artışla ilişkili bir başka genin ekspresyonunun artmasıyla ilişkisi olduğu bulunmuştur (D. Verma vd., 2020).

“Temel lösün bölgesi fermuarı (bZIP)” bitkilerde stres tepkilerinde düzenleyici olarak rol almaktadır. Bir bazik bölge ve lösün fermuar alanından oluşmuştur. bZIP transkripsiyon faktörlerinin ifadesi salisilik asit (SA), absisik asit (ABA), etilen (ET) ve metil jasmonik asit (MeJA) gibi bitki hormonları tarafından indüklenmektedir (Schlöggl vd., 2008). Bitkide tuz toleransı ile ilgili ABA tepki elemanı olan ABRE proteinine bağlanmaktadır. Yüksek tuzluluk stres seviyesi bZIP geninin ifadesinin artmasına sebep olmaktadır. ABRE’ye bağlanan bZIP transkripsiyon faktörü, dirençle ilgili genlerin aktive olmasını sağlamaktadır (Jakoby vd., 2002; L. Zhang vd., 2020).

“Isı-şoku transkripsiyon faktörleri (HSF)” çeşitli stres türleri altında, bitkide strese karşı verilen yanıtlarda gen ifadelerinin düzenlenmesi açısından önemli rollere

sahiptirler. A sınıfı HSF'ler bitkilerde farklı abiyotik streslere karşı tepkilerde rol almaktadırlar (Q. Wang vd., 2023).

“Miyeloblastozis (MYB)” transkripsiyon faktörü ailesi bitkilerde biyotik ve abiyot stres türlerinde meydana gelen tepkilerin düzenleyicileri olarak rol almaktadır.

Buğday (*Triticum aestivum*)’da yapılan bir çalışmada tuzluluk stresi altında ifadesi değişen dört MYB geni tespit edilmiştir. “MYB3”, “MYB4”, “MYB13” ve “MYB59” genlerinin ekspresyon ifadeleri tuza maruziyetten sonra sürgünlerde yüksek olduğu görülmüştür (Sukumaran vd., 2023).

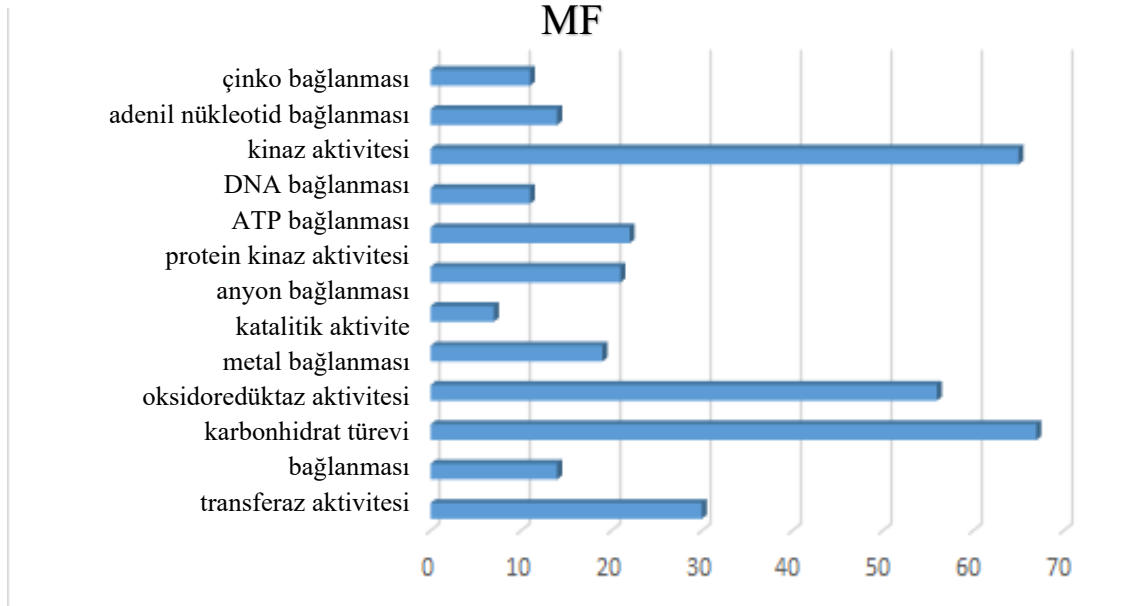
“NAC (NAM, ATAF1/2 ve CUC2)” transkripsiyon faktörü ailesi bitkiye özgü olan TF’lerdir. Yapısal olarak N-terminusunda bağlanmayı sağlayan yaklaşık 150 aminoasitten meydana gelen oldukça korunmuş bir bölgeye sahiptir (Z. Wang vd., 2023).

Darı (*Pennisetum glaucum L.*)’da yapılan bir çalışmada, tespit edilen 72 PgNAC geninin güçlü bir şekilde ifade edildiği ortaya konulmuştur (Dudhate vd., 2021).

“WRKY” transkripsiyon faktörleri ailesi bitkilerde büyüme , gelişme, biyotik ve abiyotik stres türlerine karşı cevapta rol oynayan oldukça büyük bir grup olma özelliği taşımaktadır. “WRKY” proteini çinko-parmak benzeri, yaklaşık olarak 60 nükleotid bulunan bir kısma ve değişmeyen “WRKYGQK” dizisine sahiptir (*Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PR1 genes. | The EMBO Journal*, t.y.). İsimlendirilmesi de bu değişiklik göstermeyen alandan gelmektedir (Khosro vd., 2022). Kuraklık stresi uygulanan *Arabidopsis thaliana*’da “AtWRKY25” ve “AtWRKY26” ekspresyonu artarak sıcaklık stresine karşı toleransın artmasını sağlamaktadır (*Arabidopsis thaliana WRKY25, WRKY26, and WRKY33 coordinate induction of plant thermotolerance | Planta*, t.y.). Soya fasulyesi (*Glycine max*)’nde kuraklık ve tuz stresi uygulaması yapıldıktan sonra “GmWRKY12” nin yüksek seviyede ifadelendiği tespit edilmiştir. 237 aminoasit kodladığı ve 714 bp uzunluğunda olduğu belirlenen “GmWRKY12”, promotör bölgesinde bu stres türlerinde rol oynayan “MYB”, “MYC” ve “GT-1” gibi cis-elementlerini içerdiği tahmininde bulunulmuştur (Shi vd., 2018).

4.4. Gen Ontoloji (GO) Sonuçları

İncelen tüm bitki türlerinde, en az üçünde ortak olarak elde edilen GO moleküler fonksiyon (MF) kategorisinde sonuçlar şu şekildedir:



Şekil 4.1. Gen ontoloji analizinin moleküler fonksiyon (MF) sonuçları

“Çinko bağlanması” başlığında 11 gen, “adenil nükleotid bağlanması” başlığında 14 gen, “kinaz aktivitesi” başlığında 65 gen, “DNA bağlanması” başlığında 11 gen, “ATP bağlanması” başlığında 22 gen, “protein kinaz aktivitesi” başlığında 21 gen, “anyon bağlanması” başlığında 7 gen, “katalitik aktivite” başlığında 19 gen, “metal bağlanması” başlığında 56 gen, “oksidoredüktaz aktivitesi” başlığında 67 gen, “karbonhidrat türevi” başlığında 14 gen ve “transferaz aktivitesi” başlığında 30 genin gruplandığı bulunmuştur (Şekil 4.1.).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Yürütülen çalışmada domates, buğday, kanola, mısır ve soya’da tuzluluk stresi altında genlerdeki ifade değişiklikleri transkriptomik analizler kullanılarak araştırılmıştır. İfadesinde farklılık olan genler arasında, incelenen türler kapsamında karşılaştırma yapılarak ortak olan genler araştırılmıştır. Araştırma süresince gerekli analizlerin yapılması amacıyla Galaxy platformu içerisinde bulunan birçok program kullanılmıştır. DEG’lerin tespiti sonrası Homoloji tabanlı çalışan BLAST programı ile genler anlamlandırılmıştır. Devamında GO analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar bitki türlerinde karşılaştırıldığında 17 ortak gen tespit edilmiştir. Literatür araştırması yapılmış ve benzer diğer çalışmalarla karşılaştırma yapılmasının sonucunda bulunan genlerin tuzluluk stresi altında bitkide meydana gelen yanıtta rol oynadığı belirlenmiştir. Bunun dışında yürütülen çalışmada, bitkilerde oldukça geniş ailelere sahip 8 TF ailesi tespit edilmiştir. Araştırmalar sonucunda bitkilerde tuzluluk stresi sonucunda enerjinin büyüme ve gelişmeden ziyade savunma mekanizması ve hayatta kalmaya yönlendirildiği görülmüştür. GO analizi sonucunda MF başlığı altında “oksidoredüktoz aktivitesi”, “kinaz aktivitesi” ve “metal bağlanması” başlıkları altında genlerin toplandığı görülmektedir. Bu sonuçlar bitkide hücrel savunma mekanizmalarının işlevlerinin arttığını göstermektedir.

Yürütülen çalışma sonucunda elde edilen veriler ve verilerin anlamlandırılması sonucunda elde ettiğimiz bilgiler, tarımsal açıdan büyük önem taşıyan incelediğimiz bitki türleri kapsamında tuzluluk stresine yanıt mekanizmasının anlamlandırılması yönünde yapılacak başka çalışmalara yol haritası oluşturacaktır.

5.2 Öneriler

Yürütülen çalışmada elde edilen sonuçların daha kapsamlı hale getirilmesi için, proteomik ve metabolomik analizlerle zenginleştirilmesi yararlı olacaktır. Gen seviyesindeki değişikliklerin bitkilerin biyolojisindeki etkisini anlamak için fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Tuzluluk stresiyle birlikte diğer abiyotik stres türlerinin de incelenmesi ve transkriptomik analizlerinin yapılması önerilerek, elde edilen sonuçların karşılaştırılması, bitkilerde abiyotik stres türlerinde ortak genlerin ve transkripsiyon

faktörlerinin araştırılması genel stres mekanizmalarının ortaya konulmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Sunulan sonuçlar bitkilerin tuzluluk stresine dayanıklılık sağlaması yönünde yapılan uygulamalara yardımcı olacağı düşünülmektedir. Ekonomik olarak dünyada ve ülkemizde önem taşıyan bu bitkilerin üretimleri artabilir ve çevresel stres koşullarına dayanıklı çeşitler elde edilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Akbudak, M. A., Filiz, E., Vatansever, R., Kontbay, K. (2018). Genome-Wide Identification and Expression Profiling of Ascorbate Peroxidase (APX) and Glutathione Peroxidase (GPX) Genes Under Drought Stress in Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(3), 925-936. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9788-9>
- Ali, A., Petrov, V., Yun, D.-J., Gechev, T. (2023). Revisiting plant salt tolerance: Novel components of the SOS pathway. *Trends in Plant Science*, 28(9), 1060-1069. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2023.04.003>
- Anders, S., Huber, W. (2010a). Differential expression analysis for sequence count data. *Nature Precedings*, 1-1. <https://doi.org/10.1038/npre.2010.4282.1>
- Anders, S., Huber, W. (2010b). Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biology*, 11(10), R106. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-10-r106>
- Arabidopsis thaliana* WRKY25, WRKY26, and WRKY33 coordinate induction of plant thermotolerance | *Planta*. (t.y.). Geliş tarihi 07 Temmuz 2025, gönderen <https://link.springer.com/article/10.1007/s00425-011-1375-2>
- Arisz, S. A., Munnik, T. (2011). *Chlamydomonas*'ta tuz stresi kaynaklı LPA tepkisi, DGK tarafından üretilen fosfatidik asidin PLA 2 hidrolizi yoluyla üretilir [S]. *Journal of Lipid Research*, 52(11), 2012-2020. <https://doi.org/10.1194/jlr.M016873>
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M., Sherlock, G. (2000). Gene Ontology: Tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1), 25-29. <https://doi.org/10.1038/75556>
- Bai, Y., Lindhout, P. (2007). Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future? *Annals of Botany*, 100(5), 1085-1094. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm150>

- Bailey, P. C., Martin, C., Toledo-Ortiz, G., Quail, P. H., Huq, E., Heim, M. A., Jakoby, M., Werber, M., Weisshaar, B. (2003). Update on the Basic Helix-Loop-Helix Transcription Factor Gene Family in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, *15*(11), 2497-2502. <https://doi.org/10.1105/tpc.151140>
- Bentley, D. R. (2000). The Human Genome Project—An Overview. *Medicinal Research Reviews*, *20*(3), 189-196. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1128\(200005\)20:3<189::AID-MED2>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1128(200005)20:3<189::AID-MED2>3.0.CO;2-#)
- Beukers, M., Allmer, J. (2023). Challenges for the development of automated RNA-seq analyses pipelines: 68. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie e.V., GMDS 2023 - 68th Annual Conference of the German Association for Medical Informatics, Biometry and Epidemiology, GMDS 2023. *GMS Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie*, *19*(Doc06). <https://doi.org/10.3205/mibe000245>
- Bolger, A. M., Lohse, M., Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, *30*(15), 2114-2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Borsani, O., Valpuesta, V., Botella, M. (2003). Developing salt tolerant plants in a new century: A molecular biology approach. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, *73*, 101-115. <https://doi.org/10.1023/A:1022849200433>
- Brambilla, S., Stritzler, M., Soto, G., Ayub, N. (2022). A synthesis of functional contributions of rhizobacteria to growth promotion in diverse crops. *Rhizosphere*, *24*, 100611. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100611>
- Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P., Pachter, L. (2016). Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology*, *34*(5), 525-527. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519>
- Caliskan, M. (2012). *Genetic Diversity in Plants*. BoD – Books on Demand.
- Cao, J., Jiang, M., Li, P., Chu, Z. (2016). Genome-wide identification and evolutionary analyses of the PP2C gene family with their expression profiling in response to multiple stresses

- in *Brachypodium distachyon*. *BMC Genomics*, 17(1), 175. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2526-4>
- Chalhoub, B., Denoeud, F., Liu, S., Parkin, I. A. P., Tang, H., Wang, X., Chiquet, J., Belcram, H., Tong, C., Samans, B., Corr ea, M., Da Silva, C., Just, J., Falentin, C., Koh, C. S., Le Clainche, I., Bernard, M., Bento, P., Noel, B., ... Wincker, P. (2014). Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napus* oilseed genome. *Science*, 345(6199), 950-953. <https://doi.org/10.1126/science.1253435>
- Chen, C., Cui, X., Zhang, P., Wang, Z., Zhang, J. (2021). Yabani asma *Vitis yeshanensis*'ten *pirolin—5—Karboksilat red ktaz* (*P5CR*) geninin ifadesi, transgenik *Arabidopsis*'te kuraklığa dayanıklılığı teşvik eder. *Plant Physiology and Biochemistry*, 168, 188-201. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.10.004>
- Chen, D.-H., Ye, H.-C., Li, G.-F. (2000). *Artemisia annua* L. transgenik bitkilerinde *Agrobacterium tumefaciens* aracılı transformasyon yoluyla bir kimerik farnesil difosfat sentaz geninin ifadesi. *Plant Science*, 155(2), 179-185. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00217-X](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00217-X)
- Chen, H.-J., Wu, S.-D., Huang, G.-J., Shen, C.-Y., Afiyanti, M., Li, W.-J., Lin, Y.-H. (2012). Klonlanmış bir tatlı patates katalazının *SPCAT1* ekspresyonu , ethephon aracılı yaprak yaşlanmasını ve H₂O₂ yükselmesini hafifletir. *Journal of Plant Physiology*, 169(1), 86-97. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.08.002>
- Chen, L., Zhang, Y.-H., Wang, S., Zhang, Y., Huang, T., Cai, Y.-D. (2017). Prediction and analysis of essential genes using the enrichments of gene ontology and KEGG pathways. *PLOS ONE*, 12(9), e0184129. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184129>
- Cheng, Y., Zhang, X., Sun, T., Tian, Q., Zhang, W.-H. (2018). Glutamate Receptor Homolog3.4 is Involved in Regulation of Seed Germination Under Salt Stress in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology*, 59(5), 978-988. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy034>
- Costa-Silva, J., Domingues, D., Lopes, F. M. (2017). RNA-Seq differential expression analysis: An extended review and a software tool. *PLOS ONE*, 12(12), e0190152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190152>

- Darwish, E., Testerink, C., Khalil, M., El-Shihy, O., Munnik, T. (2009). Phospholipid Signaling Responses in Salt-Stressed Rice Leaves. *Plant and Cell Physiology*, 50(5), 986-997. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp051>
- Delauney, A. J., Verma, D. P. S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, 4(2), 215-223. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1993.04020215.x>
- Dixon, D. P., Laphorn, A., Edwards, R. (2002). Plant glutathione transferases. *Genome Biology*, 3(3), reviews3004.1. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-3-reviews3004>
- Dobin, A., Davis, C. A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., Gingeras, T. R. (2013). STAR: Ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*, 29(1), 15-21. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>
- Du, Y., Huang, Q., Arisdakessian, C., Garmire, L. X. (2020). Evaluation of STAR and Kallisto on Single Cell RNA-Seq Data Alignment. *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 10(5), 1775-1783. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401160>
- Dudhate, A., Shinde, H., Yu, P., Tsugama, D., Gupta, S. K., Liu, S., Takano, T. (2021). Comprehensive analysis of NAC transcription factor family uncovers drought and salinity stress response in pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *BMC Genomics*, 22(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07382-y>
- Dutta Gupta, S. (2007). Plasma membrane ultrastructure in embryogenic cultures of orchardgrass during NaCl stress. *Biologia Plantarum*, 51(4), 759-763. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0155-0>
- Eprintsev, A. T., Anokhina, G. B. (2023). The Role of Methylation of Glutamate Dehydrogenase Gene Promoters (GDH1 and GDH2) in the Regulation of Their Expression in Corn Leaves under Hypoxia. *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(2), 19. <https://doi.org/10.1134/S1021443722602695>
- Eric, S. D., Nicholas, T. K. D. D., Theophilus, K. A. (2014). Bioinformatics with basic local alignment search tool (BLAST) and fast alignment (FASTA). *Journal of Bioinformatics and Sequence Analysis*, 6(1), 1-6. <https://doi.org/10.5897/IJBC2013.0086>

- Escobar-Sepúlveda, H. F., Trejo-Téllez, L. I., Pérez-Rodríguez, P., Hidalgo-Contreras, J. V., Gómez-Merino, F. C. (2017). Diacylglycerol Kinases Are Widespread in Higher Plants and Display Inducible Gene Expression in Response to Beneficial Elements, Metal, and Metalloid Ions. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00129>
- Fukuda, A., Nakamura, A., Hara, N., Toki, S., Tanaka, Y. (2011). Molecular and functional analyses of rice NHX-type Na⁺/H⁺ antiporter genes. *Planta*, 233(1), 175-188. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1289-4>
- Gene Ontology Consortium. (2004). The Gene Ontology (GO) database and informatics resource. *Nucleic Acids Research*, 32(suppl_1), D258-D261. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh036>
- Genome Mapping and Molecular Breeding of Tomato—Foolad—2007—International Journal of Plant Genomics—Wiley Online Library*. (t.y.). Geliş tarihi 22 Mayıs 2025, gönderen <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2007/64358>
- Glenn, T. (2011). Field guide to next-generation DNA sequencers. *Molecular ecology resources*, 11, 759-769. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03024.x>
- González-Bodí, S., Huerta-Cepas, J. (2025). Reference-Based Gene Expression Analysis Using Galaxy Server. İçinde F. Ortega (Ed.), *Neural Stem Cells: Methods and Protocols* (ss. 309-338). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4386-0_21
- Grüning, B. A., Fallmann, J., Yusuf, D., Will, S., Erxleben, A., Eggenhofer, F., Houwaart, T., Batut, B., Videm, P., Bagnacani, A., Wolfien, M., Lott, S. C., Hoogstrate, Y., Hess, W. R., Wolkenhauer, O., Hoffmann, S., Akalin, A., Ohler, U., Stadler, P. F., Backofen, R. (2017). The RNA workbench: Best practices for RNA and high-throughput sequencing bioinformatics in Galaxy. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W560-W566. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx409>
- Haberer, G., Young, S., Bharti, A. K., Gundlach, H., Raymond, C., Fuks, G., Butler, E., Wing, R. A., Rounsley, S., Birren, B., Nusbaum, C., Mayer, K. F. X., Messing, J. (2005). Structure and Architecture of the Maize Genome. *Plant Physiology*, 139(4), 1612-1624. <https://doi.org/10.1104/pp.105.068718>

- Han, X., Wu, Z., Liu, F., Wang, Y., Wei, X., Tian, P., Ling, F. (2023). Transcriptomic Analysis and Salt-Tolerance Gene Mining during Rice Germination. *Genes*, 14(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/genes14081556>
- Hashemipetroudi, S., Ghorbani, H., Sohrevardi, F., Arab, M. (2022). Identification and comprehensive analyses of the CBL gene families in sweet orange (*Citrus sinensis*L.). *Journal of Plant Molecular Breeding*, 10(2), 76-91. <https://doi.org/10.22058/jpmb.2024.555361.1257>
- Hernández Estévez, I., Rodríguez Hernández, M. (2020). “Plant Glutathione S-transferases: An overview”. *Plant Gene*, 23, 100233. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2020.100233>
- Hernández, J. A., Jiménez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F. (2000). Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant, Cell Environment*, 23(8), 853-862. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00602.x>
- Holmberg, N., Bülow, L. (1998). Improving stress tolerance in plants by gene transfer. *Trends in Plant Science*, 3(2), 61-66. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01163-1](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01163-1)
- Hrdlickova, R., Toloue, M., Tian, B. (2017). RNA-Seq methods for transcriptome analysis. *WIREs RNA*, 8(1), e1364. <https://doi.org/10.1002/wrna.1364>
- Huang, J., Liu, J., Jiang, F., Liu, M., Chen, Z., Zhou, R., Wu, Z. (2024). Identification and Expression Pattern Analysis of the SOS Gene Family in Tomatoes. *Agronomy*, 14(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/agronomy14040773>
- Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PRI genes.* | *The EMBO Journal*. (t.y.). Geliş tarihi 07 Temmuz 2025, gönderen <https://www.embopress.org/doi/abs/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00953.x>
- Jakoby, M., Weisshaar, B., Dröge-Laser, W., Vicente-Carbajosa, J., Tiedemann, J., Kroj, T., Parcy, F. (2002). bZIP transcription factors in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 7(3), 106-111. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02223-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02223-3)

- Jiang, W., Yang, L., He, Y., Zhang, H., Li, W., Chen, H., Ma, D., Yin, J. (2019). Genome-wide identification and transcriptional expression analysis of superoxide dismutase (SOD) family in wheat (*Triticum aestivum*). *PeerJ*, 7, e8062. <https://doi.org/10.7717/peerj.8062>
- KEGG: *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* | *Nucleic Acids Research* | *Oxford Academic*. (t.y.). Geliş tarihi 22 Nisan 2025, gönderen <https://academic.oup.com/nar/article/28/1/27/2384332?login=false>
- Khoso, M. A., Hussain, A., Ritonga, F. N., Ali, Q., Channa, M. M., Alshagaihi, R. M., Meng, Q., Ali, M., Zaman, W., Brohi, R. D., Liu, F., Manghwar, H. (2022). WRKY transcription factors (TFs): Molecular switches to regulate drought, temperature, and salinity stresses in plants. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1039329>
- Kim, D., Langmead, B., Salzberg, S. L. (2015). HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods*, 12(4), 357-360. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3317>
- Kim, D., Salzberg, S. L. (2011). TopHat-Fusion: An algorithm for discovery of novel fusion transcripts. *Genome Biology*, 12(8), R72. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-8-r72>
- Kim, J., Kim, H.-Y. (2006). Functional analysis of a calcium-binding transcription factor involved in plant salt stress signaling. *FEBS Letters*, 580(22), 5251-5256. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.08.050>
- Kissoudis, C., Kalloniati, C., Flemetakis, E., Madesis, P., Labrou, N. E., Tsaftaris, A., Nianiou-Obeidat, I. (2015). Stress-inducible GmGSTU4 shapes transgenic tobacco plants metabolome towards increased salinity tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(5), 102. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1852-5>
- Kue Foka, I. C., Keteouli, T., Zhou, Y., Li, X.-W., Wang, F.-W., Li, H. (2020). The Emerging Roles of Diacylglycerol Kinase (DGK) in Plant Stress Tolerance, Growth, and Development. *Agronomy*, 10(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091375>
- Kukurba, K. R., Montgomery, S. B. (2015). RNA Sequencing and Analysis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2015(11), pdb.top084970. <https://doi.org/10.1101/pdb.top084970>
- Laver, T., Harrison, J., O'Neill, P. A., Moore, K., Farbos, A., Paszkiewicz, K., Studholme, D. J. (2015). Assessing the performance of the Oxford Nanopore Technologies MinION.

Biomolecular Detection and Quantification, 3, 1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.bdq.2015.02.001>

- Leinonen, R., Sugawara, H., Shumway, M., on behalf of the International Nucleotide Sequence Database Collaboration. (2011). The Sequence Read Archive. *Nucleic Acids Research*, 39(suppl_1), D19-D21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1019>
- Leng, X., Wang, H., Zhang, S., Qu, C., Yang, C., Xu, Z., Liu, G. (2021). Identification and Characterization of the APX Gene Family and Its Expression Pattern under Phytohormone Treatment and Abiotic Stress in *Populus trichocarpa*. *Genes*, 12(3), 334. <https://doi.org/10.3390/genes12030334>
- Levin, J. Z., Yassour, M., Adiconis, X., Nusbaum, C., Thompson, D. A., Friedman, N., Gnirke, A., Regev, A. (2010). Comprehensive comparative analysis of strand-specific RNA sequencing methods. *Nature Methods*, 7(9), 709-715. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1491>
- Li, D., Ma, N.-N., Wang, J.-R., Yang, D.-Y., Zhao, S.-J., Meng, Q.-W. (2013). Tütünde domates güçlendirici SOS3-1'in (*LeENHI*) aşırı ekspresyonu , sitozolden Na⁺ 'yı dışlayarak tuzluluk toleransını artırdı. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 150-158. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.014>
- Li, H., Wang, Y., Wu, M., Li, L., Li, C., Han, Z., Yuan, J., Chen, C., Song, W., Wang, C. (2017). Genome-Wide Identification of AP2/ERF Transcription Factors in Cauliflower and Expression Profiling of the ERF Family under Salt and Drought Stresses. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00946>
- Liu, X., Zhou, G., Chen, S., Jia, Z., Zhang, S., Ren, M., He, F. (2023). Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Triticum aestivum* and the response of TtERF_B2-50 in salt-tolerance. *BMC Genomics*, 24(1), 541. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09585-x>
- Lockhart, D. J., Dong, H., Byrne, M. C., Follettie, M. T., Gallo, M. V., Chee, M. S., Mittmann, M., Wang, C., Kobayashi, M., Horton, H., Brown, E. L. (1996). Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nature Biotechnology*, 14(13), 1675-1680. <https://doi.org/10.1038/nbt1296-1675>

- Love, M. I., Huber, W., Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15(12), 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Loving, R. K., Sullivan, D. K., Boeshagi, A. S., Reese, F., Rebboah, E., Sakr, J., Rezaie, N., Liang, H. Y., Filimban, G., Kawauchi, S., Oakes, C., Trout, D., Williams, B. A., MacGregor, G., Wold, B. J., Mortazavi, A., Pachter, L. (2025). Long-read sequencing transcriptome quantification with lr-kallisto. *bioRxiv*, 2024.07.19.604364. <https://doi.org/10.1101/2024.07.19.604364>
- Lu, Z., Liu, D., Liu, S. (2007). Two rice cytosolic ascorbate peroxidases differentially improve salt tolerance in transgenic Arabidopsis. *Plant Cell Reports*, 26(10), 1909-1917. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0395-7>
- Madden, D. R. (2002). The structure and function of glutamate receptor ion channels. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(2), 91-101. <https://doi.org/10.1038/nrn725>
- Madden, T. (t.y.). *The BLAST Sequence Analysis Tool*.
- Manzano, D., Andrade, P., Caudepón, D., Altabella, T., Arró, M., Ferrer, A. (2016). Suppressing Farnesyl Diphosphate Synthase Alters Chloroplast Development and Triggers Sterol-Dependent Induction of Jasmonate- and Fe-Related Responses. *Plant Physiology*, 172(1), 93-117. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00431>
- Manzoor, H., Kelloniemi, J., Chiltz, A., Wendehenne, D., Pugin, A., Poinssot, B., Garcia-Brugger, A. (2013). Involvement of the glutamate receptor AtGLR3.3 in plant defense signaling and resistance to *Hyaloperonospora arabidopsidis*. *The Plant Journal*, 76(3), 466-480. <https://doi.org/10.1111/tpj.12311>
- Mao, H., Yu, L., Han, R., Li, Z., Liu, H. (2016). Mısır stresine duyarlı bir NAC transkripsiyon faktörü olan ZmNAC55, transgenik *Arabidopsis* 'te kuraklığa dayanıklılık sağlıyor. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105, 55-66. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.018>
- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.Journal*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>

- Maxam, A. M., Gilbert, W. (1980). [57] Sequencing end-labeled DNA with base-specific chemical cleavages. İçinde *Methods in Enzymology* (C. 65, ss. 499-560). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(80\)65059-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(80)65059-9)
- Mikheyev, A. S., Tin, M. M. Y. (2014). A first look at the Oxford Nanopore MinION sequencer. *Molecular Ecology Resources*, 14(6), 1097-1102. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12324>
- Najami, N., Janda, T., Barriah, W., Kayam, G., Tal, M., Guy, M., Volokita, M. (2008). Ascorbate peroxidase gene family in tomato: Its identification and characterization. *Molecular Genetics and Genomics*, 279(2), 171-182. <https://doi.org/10.1007/s00438-007-0305-2>
- Naliwajski, M. R., Skłodowska, M. (2018). The relationship between carbon and nitrogen metabolism in cucumber leaves acclimated to salt stress. *PeerJ*, 6, e6043. <https://doi.org/10.7717/peerj.6043>
- Parida, A. K., Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324-349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Peng, Z., He, S., Gong, W., Sun, J., Pan, Z., Xu, F., Lu, Y., Du, X. (2014). Comprehensive analysis of differentially expressed genes and transcriptional regulation induced by salt stress in two contrasting cotton genotypes. *BMC Genomics*, 15(1), 760. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-760>
- Pertea, M., Kim, D., Pertea, G. M., Leek, J. T., Salzberg, S. L. (2016). Transcript-level expression analysis of RNA-seq experiments with HISAT, StringTie and Ballgown. *Nature Protocols*, 11(9), 1650-1667. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.095>
- Pertea, M., Pertea, G. M., Antonescu, C. M., Chang, T.-C., Mendell, J. T., Salzberg, S. L. (2015). StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. *Nature Biotechnology*, 33(3), 290-295. <https://doi.org/10.1038/nbt.3122>
- Polidoros, A. N., Mylona, P. V., Scandalios, J. G. (2001). Transgenic tobacco plants expressing the maize Cat2 gene have altered catalase levels that affect plant-pathogen interactions

- and resistance to oxidative stress. *Transgenic Research*, 10(6), 555-569. <https://doi.org/10.1023/A:1013027920444>
- Rao, X. (2024). Plant Transcriptome Analysis with HISAT–StringTie–Ballgown and TopHat–Cufflinks Pipelines. İçinde R. K. Azad (Ed.), *Transcriptome Data Analysis* (ss. 203-213). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3886-6_11
- Rhoads, A., Au, K. F. (2015). PacBio Sequencing and its Applications. *Genomics, Proteomics Bioinformatics*, 13(5), 278-289. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.08.002>
- Robertson, G., Schein, J., Chiu, R., Corbett, R., Field, M., Jackman, S. D., Mungall, K., Lee, S., Okada, H. M., Qian, J. Q., Griffith, M., Raymond, A., Thiessen, N., Cezard, T., Butterfield, Y. S., Newsome, R., Chan, S. K., She, R., Varhol, R., ... Birol, I. (2010). De novo assembly and analysis of RNA-seq data. *Nature Methods*, 7(11), 909-912. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1517>
- Sairam, R. K., Tyagi, A. (2004). Physiology and Molecular Biology of Salinity Stress Tolerance in Plants. İçinde *Current Science* (C. 86). <https://doi.org/10.1007/1-4020-4225-6>
- Sanger, F., Coulson, A. R. (1975). A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*, 94(3), 441-448. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(75\)90213-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(75)90213-2)
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Sato, S., Tabata, S., Hirakawa, H., Asamizu, E., Shirasawa, K., Isobe, S., Kaneko, T., Nakamura, Y., Shibata, D., Aoki, K., Egholm, M., Knight, J., Bogden, R., Li, C., Shuang, Y., Xu, X., Pan, S., Cheng, S., Liu, X., ... Universitat Pompeu Fabra. (2012). The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 485(7400), 635-641. <https://doi.org/10.1038/nature11119>
- Schena, M., Shalon, D., Davis, R. W., Brown, P. O. (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science (New York, N.Y.)*, 270(5235), 467-470. <https://doi.org/10.1126/science.270.5235.467>

- Schlögl, P. S., Nogueira, F. T. S., Drummond, R., Felix, J. M., De Rosa, V. E., Vicentini, R., Leite, A., Ulian, E. C., Menossi, M. (2008). Identification of new ABA- and MEJA-activated sugarcane bZIP genes by data mining in the SUCEST database. *Plant Cell Reports*, 27(2), 335-345. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0468-7>
- Schmutz, J., Cannon, S. B., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W., Hyten, D. L., Song, Q., Thelen, J. J., Cheng, J., Xu, D., Hellsten, U., May, G. D., Yu, Y., Sakurai, T., Umezawa, T., Bhattacharyya, M. K., Sandhu, D., Valliyodan, B., ... Jackson, S. A. (2010). Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463(7278), 178-183. <https://doi.org/10.1038/nature08670>
- Schnable, P. S., Ware, D., Fulton, R. S., Stein, J. C., Wei, F., Pasternak, S., Liang, C., Zhang, J., Fulton, L., Graves, T. A., Minx, P., Reily, A. D., Courtney, L., Kruchowski, S. S., Tomlinson, C., Strong, C., Delehaunty, K., Fronick, C., Courtney, B., ... Wilson, R. K. (2009). The B73 maize genome: Complexity, diversity, and dynamics. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5956), 1112-1115. <https://doi.org/10.1126/science.1178534>
- Schuster, S. C. (2008). Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nature Methods*, 5(1), 16-18. <https://doi.org/10.1038/nmeth1156>
- Schweighofer, A., Hirt, H., Meskiene, I. (2004). Plant PP2C phosphatases: Emerging functions in stress signaling. *Trends in Plant Science*, 9(5), 236-243. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.007>
- Shen, C., Yuan, J., Li, X., Chen, R., Li, D., Wang, F., Liu, X., Li, X. (2023). Genome-wide identification of NHX (Na⁺/H⁺ antiporter) gene family in Cucurbita L. and functional analysis of CmoNHX1 under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1136810>
- Shi, W.-Y., Du, Y.-T., Ma, J., Min, D.-H., Jin, L.-G., Chen, J., Chen, M., Zhou, Y.-B., Ma, Y.-Z., Xu, Z.-S., Zhang, X.-H. (2018). The WRKY Transcription Factor GmWRKY12 Confers Drought and Salt Tolerance in Soybean. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/ijms19124087>
- Su, W., Huang, L., Ling, H., Mao, H., Huang, N., Su, Y., Ren, Y., Wang, D., Xu, L., Muhammad, K., Que, Y. (2020). Sugarcane calcineurin B-like (CBL) genes play important but

- versatile roles in regulation of responses to biotic and abiotic stresses. *Scientific Reports*, *10*(1), 167. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57058-7>
- Sukumaran, S., Lethin, J., Liu, X., Pelc, J., Zeng, P., Hassan, S., Aronsson, H. (2023). Genome-Wide Analysis of MYB Transcription Factors in the Wheat Genome and Their Roles in Salt Stress Response. *Cells*, *12*(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/cells12101431>
- Sullivan, D. K., Min, K. H., Hjörleifsson, K. E., Luebbert, L., Holley, G., Moses, L., Gustafsson, J., Bray, N. L., Pimentel, H., Boeshaghi, A. S., Melsted, P., Pachter, L. (2025). Kallisto, bustools and kb-python for quantifying bulk, single-cell and single-nucleus RNA-seq. *Nature Protocols*, *20*(3), 587-607. <https://doi.org/10.1038/s41596-024-01057-0>
- Swaminathan, K., Peterson, K., Jack, T. (2008). The plant B3 superfamily. *Trends in Plant Science*, *13*(12), 647-655. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.09.006>
- Tang, R.-J., Liu, H., Yang, Y., Yang, L., Gao, X.-S., Garcia, V. J., Luan, S., Zhang, H.-X. (2012). Tonoplast calcium sensors CBL2 and CBL3 control plant growth and ion homeostasis through regulating V-ATPase activity in Arabidopsis. *Cell Research*, *22*(12), 1650-1665. <https://doi.org/10.1038/cr.2012.161>
- Tang, Y., Du, G., Xiang, J., Hu, C., Li, X., Wang, W., Zhu, H., Qiao, L., Zhao, C., Wang, J., Yu, S., Sui, J. (2022). *Yer fistiğında (Arachis hypogaea L.)* oksin yanıt faktörü (ARF) gen ailesinin ve miR160-ARF18 aracılı tuz stresine yanıtın genom çapında tanımlanması. *Genomics*, *114*(1), 171-184. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.12.015>
- Tang, Y., Qin, S., Guo, Y., Chen, Y., Wu, P., Chen, Y., Li, M., Jiang, H., Wu, G. (2016). Genome-Wide Analysis of the AP2/ERF Gene Family in Physic Nut and Overexpression of the JcERF011 Gene in Rice Increased Its Sensitivity to Salinity Stress. *PLOS ONE*, *11*(3), e0150879. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150879>
- Thakur, V. (2024). RNA-Seq Data Analysis for Differential Gene Expression Using HISAT2–StringTie–Ballgown Pipeline. İçinde R. K. Azad (Ed.), *Transcriptome Data Analysis* (ss. 101-113). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3886-6_5
- The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC), Appels, R., Eversole, K., Stein, N., Feuillet, C., Keller, B., Rogers, J., Pozniak, C. J., Choulet, F., Distelfeld, A.,

- Poland, J., Ronen, G., Sharpe, A. G., Barad, O., Baruch, K., Keeble-Gagnère, G., Mascher, M., Ben-Zvi, G., Josselin, A.-A., ... Wang, L. (2018). Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. *Science*, 361(6403), eaar7191. <https://doi.org/10.1126/science.aar7191>
- Tian, F., Chang, E., Li, Y., Sun, P., Hu, J., Zhang, J. (2017). Expression and integrated network analyses revealed functional divergence of NHX-type Na⁺/H⁺ exchanger genes in poplar. *Scientific Reports*, 7(1), 2607. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02894-8>
- Trapnell, C., Roberts, A., Goff, L., Pertea, G., Kim, D., Kelley, D. R., Pimentel, H., Salzberg, S. L., Rinn, J. L., Pachter, L. (2012). Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. *Nature Protocols*, 7(3), 562-578. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.016>
- Ulmasov, T., Hagen, G., Guilfoyle, T. J. (1999). Activation and repression of transcription by auxin-response factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(10), 5844-5849. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.10.5844>
- Velculescu, V., Zhang, L., Vogelstein, B., Kinzler, K. (1995). Serial Analysis of Gene Expression. *Science (New York, N.Y.)*, 270, 484-487. <https://doi.org/10.1126/science.270.5235.484>
- Verma, D., Jalmi, S. K., Bhagat, P. K., Verma, N., Sinha, A. K. (2020). A bHLH transcription factor, MYC2, imparts salt intolerance by regulating proline biosynthesis in Arabidopsis. *The FEBS Journal*, 287(12), 2560-2576. <https://doi.org/10.1111/febs.15157>
- Verma, S., Nizam, S., Verma, P. K. (2013). Biotic and Abiotic Stress Signaling in Plants. İçinde M. Sarwat, A. Ahmad, M. Abdin (Ed.), *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective, Volume 1* (ss. 25-49). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6372-6_2
- Verslues, P. E., Sharma, S. (2010). Proline Metabolism and Its Implications for Plant-Environment Interaction. *The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists*, 8, e0140. <https://doi.org/10.1199/tab.0140>

- Voelkerding, K. V., Dames, S. A., Durtschi, J. D. (2009). Next-Generation Sequencing: From Basic Research to Diagnostics. *Clinical Chemistry*, 55(4), 641-658. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112789>
- Walia, H., Wilson, C., Wahid, A., Condamine, P., Cui, X., Close, T. J. (2006). Expression analysis of barley (*Hordeum vulgare* L.) during salinity stress. *Functional Integrative Genomics*, 6(2), 143-156. <https://doi.org/10.1007/s10142-005-0013-0>
- Wang, B., Guo, X., Wang, C., Ma, J., Niu, F., Zhang, H., Yang, B., Liang, W., Han, F., Jiang, Y.-Q. (2015). Identification and characterization of plant-specific NAC gene family in canola (*Brassica napus* L.) reveal novel members involved in cell death. *Plant Molecular Biology*, 87(4), 395-411. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0286-1>
- Wang, Q., Zhang, Z., Guo, C., Zhao, X., Li, Z., Mou, Y., Sun, Q., Wang, J., Yuan, C., Li, C., Cong, P., Shan, S. (2023). Hsf transcription factor gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.): Genome-wide characterization and expression analysis under drought and salt stresses. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1214732>
- Wang, W., Xia, M. X., Chen, J., Yuan, R., Deng, F. N., Shen, F. F. (2016). Gene expression characteristics and regulation mechanisms of superoxide dismutase and its physiological roles in plants under stress. *Biochemistry (Moscow)*, 81(5), 465-480. <https://doi.org/10.1134/S0006297916050047>
- Wang, W., Zhang, X., Deng, F., Yuan, R., Shen, F. (2017). Genome-wide characterization and expression analyses of superoxide dismutase (SOD) genes in *Gossypium hirsutum*. *BMC Genomics*, 18(1), 376. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3768-5>
- Wang, Z., Zhang, Z., Wang, P., Qin, C., He, L., Kong, L., Ren, W., Liu, X., Ma, W. (2023). *Isatis indigotica*'da NAC transkripsiyon faktörleri ailesinin genom çapında tanımlanması ve tuz stresi altında metabolitlerin düzenlenmesi. *International Journal of Biological Macromolecules*, 240, 124436. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124436>
- Xu, Z.-S., Xia, L.-Q., Chen, M., Cheng, X.-G., Zhang, R.-Y., Li, L.-C., Zhao, Y.-X., Lu, Y., Ni, Z.-Y., Liu, L., Qiu, Z.-G., Ma, Y.-Z. (2007). Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive factor 1 (TaERF1) that increases multiple

- stress tolerance. *Plant Molecular Biology*, 65(6), 719-732.
<https://doi.org/10.1007/s11103-007-9237-9>
- Yang, S.-D., Seo, P. J., Yoon, H.-K., Park, C.-M. (2011). The Arabidopsis NAC Transcription Factor VNI2 Integrates Abscisic Acid Signals into Leaf Senescence via the COR/RD Genes. *The Plant Cell*, 23(6), 2155-2168. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.084913>
- Yılmaz, E., Tuna, A. L., Bürün, B. (2011). BİTKİLERİN TUZ STRESİ ETKİLERİNE KARŞI GELİSTİRDİKLERİ TOLERANS STRATEJİLERİ - TOLERANCE STRATEGIES DEVELOPED BY PLANTS TO THE EFFECTS OF SALT STRESS. *Celal Bayar University Journal of Science*, 7(1), Article 1.
- Yokoi, S., Quintero, F. J., Cubero, B., Ruiz, M. T., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., Pardo, J. M. (2002). Differential expression and function of Arabidopsis thaliana NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response. *The Plant Journal*, 30(5), 529-539. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2002.01309.x>
- Yu, C., Wang, N., Wu, M., Tian, F., Chen, H., Yang, F., Yuan, X., Yang, C.-H., He, C. (2016). OxyR-regulated catalase CatB promotes the virulence in rice via detoxifying hydrogen peroxide in *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *BMC Microbiology*, 16(1), 269. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0887-0>
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: A comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337-349. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00905-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00905-X)
- Zeng, A., Chen, P., Korth, K. L., Ping, J., Thomas, J., Wu, C., Srivastava, S., Pereira, A., Hancock, F., Brye, K., Ma, J. (2019). *Soya fasulyesinde (Glisin max) tuz toleransının RNA dizileme analizi. Genomics*, 111(4), 629-635. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.03.020>
- Zhang, L., Xie, J., Wang, L., Si, L., Zheng, S., Yang, Y., Yang, H., Tian, S. (2020). Wheat TabZIP8, 9, 13 participate in ABA biosynthesis in NaCl-stressed roots regulated by TaCDPK9-1. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 650-658. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.03.039>

Zhang, M., Xue, Y., Xu, S., Jin, X., Man, X. (2024). Identification of ARF genes in *Cucurbita pepo* L and analysis of expression patterns, and functional analysis of CpARF22 under drought, salt stress. *BMC Genomics*, 25(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-09992-8>