

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARPUZ BİTKİSİNDE *bZIP* (TEMEL LÖSİN FERMUARI)
TRANSKRİPSİYON FAKTÖR GENLERİNİN
BİYOİNFORMATİK ANALİZLERİ VE GEN İFADELERİNİN
KURAKLIK STRESİ ALTINDA İNCELENMESİ**

Yasin KARACA

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Seher KARAMAN ERKUL
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU – 2018

TEZ ONAYI

Yasin KARACA tarafından hazırlanan "**Karpuz Bitkisinde bZIP (Temel Lösın Fermuarı) Transkripsiyon Faktör Genlerinin Biyoinformatik Analizleri ve Gen İfadelerinin Kuraklık Stresi Altında İncelenmesi** " isimli tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliğı** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi Doç. Dr. Seher KARAMAN ERKUL
Aksaray Üniversitesi

Jüri Üyesi Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU
Kastamonu Üniversitesi

19/06/2018

Enstitü Müdür V. Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ

TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

İmza
Yasin KARACA



ÖZET

Yüksek Lisans

KARPUZ BİTKİSİNDE *bZIP* (TEMEL LÖSİN FERMUARI) TRANSKRİPSİYON FAKTÖR GENLERİNİN BİYOİNFORMATİK ANALİZLERİ VE GEN İFADELERİNİN KURAKLIK STRESİ ALTINDA İNCELENMESİ

Yasin KARACA
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

Transkripsiyon faktörü ailelerinden birisi olan Bazik Lösün Fermuar (*bZIP*) ailesi üyeleri, çok çeşitli morfolojik ve fizyolojik süreçlerde düzenleyici olarak rol oynarlar. Çeşitli bitkilerde yapılan çalışmalarda *bZIP* genlerinin tespiti yapılmış ancak bugüne kadar karpuz üzerinde kapsamlı bir çalışma yapılmamıştır. *Citrillus lanatus* kromozomları üzerinde 59 adet *ClabZIP* geninin yeri tespit edilmiştir. *Citrillus lanatus*'ta bulunan *bZIP* protein ailesi üyeleri, filogenetik olarak 7 alt aileye ayrılmıştır. Aynı alt aileyi oluşturan *bZIP* proteinlerinin çoğu, korunmuş motiflerden oluşur, benzer gen yapılarına sahiptir. Kromozom dağılımı ve genetik analizlere göre, 21 *ClabZIP* geninde duplikasyon gözlemlenmiştir. Ayrıca *bZIP* proteinlerinin üç boyutlu yapı ve işlevleri tahminlenmiştir. Farklı dokularda bulunan *ClabZIP* gen ifade profillerinin değerlendirilmesi için, farklı meyve gelişim aşamaları ve vasküler dokularda belirlenmiş olan RNA-seq verileri analiz edilmiştir. Buna ek olarak, kuraklık stresi uygulanan karpuz bitkisinin kök ve yaprak dokularında seçilen *ClabZIP* genlerinin ifade seviyeleri, Real time PZR kullanılarak incelenmiştir. Sonuç olarak, *ClabZIP-57* geninin kuraklık stresi uygulaması sonrasında kök ve yapraklarda en yüksek ifade düzeyine ulaştığı gözlemlenmiştir. Bu tür gen tanımlama çalışmaları, bitkilerde *bZIP* protein ailesinin işlevlerinin incelenmesinde yeni bakış açıları oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Karpuz, *bZIP* (temel lösün fermuarı) proteinleri, biyoinformatik analizler, genom seviyesinde gen belirleme, kuraklık stresi

2018, 135 sayfa
Bilim Kodu: 923

ABSTRACT

MSc. Thesis

BIOINFORMATICS ANALYSIS OF *bZIP* (BASIC LEUCINE ZIPPER) TRANSCRIPTION FACTOR GENES IN WATERMELON AND ANALYSIS OF GENE EXPRESSION PROFILES UNDER DROUGHT STRESS

Yasin KARACA

Kastamonu University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Genetics and Bioengineering

Supervisor: Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

The basic leucine zipper (bZIP) transcription factor family has diverse crucial roles in multiple morphological and physiological processes as regulator. Despite of the identification of *bZIP* genes in several plants, comprehensive investigation of bZIP members in watermelon has not been presented yet. 59 of *ClabZIP* genes were determined on *Citrillus lanatus* chromosomes. bZIP protein family members in *Citrillus lanatus* were phylogenetically grouped into 7 subfamilies. The majority of bZIP proteins in the same subfamily shared similar gene structures and conserved motifs. According to the chromosome distribution and the genetics analysis, 21 *ClabZIP* genes displayed duplication events. Further, three-dimensional structure and functional annotation of bZIP proteins were predicted. Publicly available RNA-seq data including various fruit development stages and vascular tissues were analyzed to elucidate gene expression profiles of *ClabZIP* genes in different tissues. In addition, the expression profiles of selected *ClabZIP* genes were evaluated in root and leaf tissues of watermelon under drought-stress using Real time PCR. As a result, *ClabZIP-57* gene exhibited the highest expression levels after drought stress treatment in leaf and root tissues. This kind of gene identification studies open new perspectives to analyze functions of bZIP protein family members in plants.

Key Words: Watermelon, bZIP (basic leucine zipper) proteins, bioinformatics analysis, genome wide identification, drought stress

2018, 135 pages

Science Code: 923

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanma aşamalarının tümünde bana yol gösteren, tavsiyelerde bulunan, desteklerini esirgemeyen ve beni idare eden danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU'na ve Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU'na, deney çalışmalarımın her basamağında hiç yardımını esirgemeyen Necdet Mehmet ÜNEL ve Fadime ÇETİN'e, ayrıca maddi ve manevi destekleriyle hep yanımda olan Hatice AKDENİZ ve KARACA ailesine sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Yasin KARACA
Kastamonu, Haziran, 2018



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ	xv
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Bitki Materyali	1
1.1.1. Karpuz Bitkisi (<i>Citrullus lanatus</i>) Hakkında Genel Bilgi	1
1.1.2. Karpuz Bitkisinin Sağlık ve Beslenme Açısından Önemi.....	3
1.1.3. Karpuz Üretiminde Karşılaşılan Biyotik ve Abiyotik Sorunlar	4
1.1.4. Karpuzun Ekonomideki Önemi	4
1.1.5. Karpuzun Yetiştirilme Koşulları.....	6
1.2. Bitkilere Etki Eden Stres Faktörleri ve Çeşitleri	6
1.2.1. Kuraklık Stresi	7
1.2.1.1. Bitkiler Üzerinde Kuraklık Stresinin Etkiler	9
1.2.1.2. Kuraklık Stresi ile Alakalı Genler.....	10
1.3. Transkripsiyon Faktörleri	11
1.3.1. Bazık Lösin Fermuar Domeni	12
1.3.2. bZIP Transkripsiyon Faktörlerinin Yeşil Bitkilerdeki Rolü.....	13
1.3.3. bZIP G-kutusu ve C-kutusu	13
1.4. Bitkilerde Stres Koşullarında Gen İfadesinin Düzenlenmesi.....	13
1.5. Gen İfadesinde Kullanılan Analizler	17
1.5.1. Gerçek Zamanlı – PZR	18
2. KURAMSAL TEMELLER	23
3.MATERYAL METOD	26
3.1. Materyal.....	26

3.1.1. Deneyde Kullanılan Kimyasallar ve Kitler.....	26
3.1.2. Deneyde Yararlanılan Cihaz ve Aletler.....	26
3.1.3. Bitki Materyali.....	27
3.2. Yönetim	28
3.2.1. Karpuz bitkisinde bZIP Genlerinin Biyoinformatik Analizle.....	28
3.2.2. Karpuzdaki bZIP genlerinin Lokasyon Tespiti, Genetik Morfolojisinin Tahmini Ve Kromozom Üzerindeki Dağılımlarının Hesaplanması.....	29
3.2.3. Filogenetik Analizler, Dizi Hizalanması ve Mevcut Korunmuş Motiflerin Tespiti.....	30
3.2.4. bZIP Genlerine Ait Gen Ontoloji Analizlerinin Yapılması.....	30
3.2.5. Karpuz Bitkisinde Yer Alan bZIP Proteinlerinin Farklı Türler İle Karşılaştırmasının Yapılarak Fiziksel Haritalamanın Oluşturulması..	30
3.2.6. Karpuz bZIP Genlerinin Homolog ve Homolog Olmayan Farklılaşma Oranlarının Belirlenmesi	31
3.2.7. bZIP Genlerini Hedef Alan miRNA'ların Tanımlanması	31
3.2.8. bZIP Proteinlerine ait Homoloji Modellemelerinin Yapılması	32
3.2.9. bZIP Genlerine Ait Ekspresyon Profiline Transkriptom Verilerinden Yararlanılarak Yapılması	33
3.2.10. Karpuz Bitkisinin, Yetiştirilme Şartları ve Stres Verilmesi	34
3.2.11. Kullanılan Moleküler Genetik Metodları	36
3.2.11.1. RNA izolasyonu.....	36
3.2.11.2. DNaz uygulaması.....	38
3.2.11.3. Komplementer DNA(cDNA) sentezi.....	39
3.2.11.4. Primer tasarlama	41
3.2.11.5. Agaroz jel elektroforezi	42
3.2.11.6. PZR analizler	44
3.2.12. Gerçek Zamanlı PZR Analizleri	46
3.2.13. İstatistiksel Analizler	48
4.BULGULAR.....	49
4.1. bZIP Genlerinin Karpuzda Genomunda Belirlenmesi ve Filogenetik Olarak Sınıflandırılması	49
4.2. bZIP Genlerinin Duplikasyon ve Evrimsel Analizleri	55

4.3.Karpuz bZIP Proteinlerinin Fonksiyon Analizleri ve 3 Boyutlu Yapıları .	56
4.4. Karpuz bZIP Transkriptlerini Hedef Alan miRNA'ların Belirlenmesi...	59
4.5.bZIP Genlerinin İfade Analizleri.....	60
5.SONUÇ VE TARTIŞMA	65
KAYNAKLAR	70
EKLER.....	92
EK 1- Karpuzda (<i>Citrullus lanatus</i>) tanımlanan bZIP genleri	93
EK 2- ClabZIP aminoasitlerinin motif özellikleri	96
EK 3- ClabZIP aminoasitlerinin motif bileşenler.....	97
EK 4- ClabZIP genlerinin tandem duplikasyonları ile homolog ve homolog olmayan değişim sonuçları.....	98
EK 5- ClabZIP genlerinin segmental duplikasyonları ile homolog ve homolog olmayan değişim sonuçları.....	98
EK 6- ClabZIP genlerinin diğer türlerle ortolog duplikasyonlarının protein kodlama ve birbirlerinden ayrılma oranları.....	100
EK 7- ClabZIP genlerinin duplikasyonları ve birbirinden ayrılma oranlarının ortalaması	117
EK 8- Karpuz bitkisine ait psRNA Target veri tabanından elde edilen miRNA hedefleri.....	118
EK 9- Karpuz kromozomlarında yer alan bZIP genlerinin diğer türlerle arasındaki ortolog ilişkiler.....	122
EK 10- bZIP protein dizilerinin Blast2Go analiz detayları	125
ÖZGEÇMİŞ	135

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
aa	Aminoasit
ABA	Absisik Asit
AFPs	Anti-Freezeing Proteins
ATP	Adenozin Tri Fosfat
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı)
bç	Baz Çifti
bZIP	Temel Lösin Fermuarı
C	Sitozin
CCD	Charge Coupled Device (Yüklenme iliştilirilmiş araç)
cDNA	Komplementer DNA
<i>ClabZIP</i>	<i>Citrullus lanatus</i> genomunda tanımlanan <i>bZIP</i> genleri
cm	Santimetre
<i>CmLEA</i>	<i>Cucumis melo</i> genomunda tanımlanan <i>LEA</i> genleri
<i>CmbZIP</i>	<i>Cucumis melo</i> genomunda tanımlanan genleri
CO ₂	Karbondioksit
Ct	Cycle Threshold (Döngü Eşiği)
Da	Dalton- Atomik kütle birimi
DEPC	Dietil pirokarbonat
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
dTMP	Deoksitimidin Monofosfat
dTTP	Deoksitimidin Trifosfat
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
E-value	Beklenti Değeri
FAO	Food and Agriculture Organization
G	Guanin
Ka	Homolog Olmayan Değişim Oranı
kDa	Kilodalton
Krm	Kromozom
Ks	Homolog Değişim Oranı
Ks/Ka	Homolog Değişimlerin Homolog Olmayan Değişimlere Oranı
L	Litre
LEA	Late Embriogenesis Abundant (Geç Embriyogenez Proteinleri)
m	Metre
M	Molar
Mbç	Bir Milyon Baz Çifti
MEME	Multiple EM for Motif Elicitation
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
miRNA	Mikro RNA

ml	Mililitre
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
M.Ö	Milattan Önce
MYÖ	Milyonlarca Yıl Önce
ng	Nanogram
PDB	Protein Data Bank
PEG	Polietilen Glikol 6000
PZR	Polimer Zincir Reaksiyonu
pl	İzoelektronik Etki Değeri
Ppi	Pirofosfat
RNA	Ribo Nükleik Asit
RNAze	RiboNükleaz
rpm	Revolution Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
RT-PZR	Real Time PZR (Gerçek zamanlı PZR)
SMP	Seed Maturation Protein (Tohum Olgunlaşma Proteini)
sn	Saniye
SRA	Sequence Read Archive
T	Timin
TAE	Tris-Asetat Tamponu
Tm	Erime Sıcaklığı-Hidrojen Bağlarının Oluştığı Sıcaklık
Tris	Tris (hidroksimetil) aminomethane
UTR	Untranslated Region (Çevrilmeyen Bölgeler)
°C	Santigrad
~	Yaklaşık olarak
μ	Mikro
μmol	Mikromol
μM	Mikromolar
μl	Mikrolitre
Ψs	Çözünen Potansiyeli

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Bitkilerde stres faktörlerinin sınıflandırılması	7
Şekil 1.2. <i>bZIP</i> proteininin bazik domain dimeri ve lösin fermuarı.....	12
Şekil 1.3. Bitki stres algı basamakları ve hücrese seviye stres tepki şeması	14
Şekil 1.4. Bitkilerde strese yanıtının oluşum basamakları	15
Şekil 1.5. RNA düzeyindeki gen ifade analiz metodları	18
Şekil 1.6. Gerçek Zamanlı PZR'nin çalışma prensibi	19
Şekil 1.7. Syber green yönteminin safhaları	20
Şekil 1.8. Örnek bir erime eğrisi grafiği (Melting curve)	21
Şekil 1.9. Erime eğrisinin (Melting curve) zamana karşı türevinin alındığı örnek..	22
Şekil 3.1. RNA izolasyonu sonrası oluşan faz ayrımı.....	37
Şekil 3.2. mRNA'dan cDNA sentezlenme basamakları	40
Şekil 4.1. Karpuz bitkisinde <i>bZIP</i> genlerinin kromozomdaki dağılım yüzdesi	49
Şekil 4.2. Karpuz'da tanımlanan <i>bZIP</i> genlerinin kromozomal yerleşimi	50
Şekil 4.3. <i>ClabZIP</i> proteinlerinin filogenetik ağacı	51
Şekil 4.4. <i>ClabZIP</i> genlerinin ekzon ve intron yapısı	54
Şekil 4.5. <i>ClabZIP</i> genlerinin ortologlarıyla birbirlerinden ayrılma oranları	56
Şekil 4.6. <i>ClabZIP</i> genlerinin Blast2GO yardımıyla elde edilen fonksiyonel analizleri	57
Şekil 4.7. <i>ClabZIP</i> proteinlerinin üç boyutlu yapısı	58
Şekil 4.8. Kök ve yaprak dokusunda <i>ClabZIP</i> genlerinin ifade profil koşulları.....	60
Şekil 4.9. <i>ClabZIP</i> genlerinin floem ile vasküler dokularda ve dölleme sonrası transkriptom analizlerinin karşılaştırılması.....	62
Şekil 4.10. <i>ClabZIP</i> genlerinin meyve gelişimi transkriptom analizlerinin karşılaştırılması.....	64

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1.1. Karpuz (<i>Citrullus lanatus</i>) biyolojik sınıflandırılması	2
Tablo 1.2. En çok karpuz üretimi yapan ilk 5 dünya ülkesine ait üretim miktarları dünya üretim yüzdeleri	5
Tablo 1.3. Türkiye’de 2001-2017 yılları arasında en çok üretilen sebzeler	5
Tablo 1.4. Çeşitli stres faktörlerinden dünya üzerindeki tarım alanlarının etkilenme yüzdeleri	8
Tablo 3.1. Hoagland çözeltilisinin kimyasal içeriği.....	28
Tablo 3.2. <i>bZIP</i> genleri üzerine yapılan transkriptom analizi için yararlanılacak okumaların giriş numaraları.....	33
Tablo 3.3. RNA örneklerine DNaz enzimi ile muamelesinde reaksiyon bileşenleri .	38
Tablo 3.4. cDNA sentezinde I. basamakta kullanılan reaksiyon bileşenleri.....	40
Tablo 3.5. cDNA sentezinde II. basamakta kullanılan reaksiyon bileşenleri	41
Tablo 3.6. Gerçek zamanlı PZR çalışmasında kullanılan primer dizileri	41
Tablo 3.7. 10X TAE buffer tamponun yapılışı	43
Tablo 3.8. Marker protokolü	44
Tablo 3.9. Optimizasyonda kullanılan PZR protokolü	44
Tablo 3.10. Optimizasyonda kullanılan PZR döngüsü basamakları	45
Tablo 3.11. Gerçek zamanlı PZR Programı	46

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. Karpuzların Hoagland çözeltisi ile sulanmasının 7. günü.....	35
Fotoğraf 3.2. Karpuzların Hoagland çözeltisi ile sulanmasının 22. günü.....	35
Fotoğraf 3.3. Thermal Cycler Isı bloğu	45
Fotoğraf 3.4. Jel Görüntüleme Sistemi Quantum ST5	46
Fotoğraf 3.5. Gerçek zamanlı PZR cihazı.....	47



1. GİRİŞ

Cucurbitaceae familyasına ait kavun ve karpuz bitkileri, dünya çapında yüksek ekonomik değere sahip bitkilerdir. Dünya da toplam 4,7 milyon hektar ekili alana sahip olan bu bitkilerden 111 milyon ton karpuz ve 29 milyon ton kavun üretimi yapılmaktadır (Doğancı, 2018). Türkiye 2015 yılı Gıda Tarım Örgütü (FAO) raporlarına göre Çin'den sonra 3,9 milyon ton karpuz ve 1,7 milyon ton kavun üretimi ile dünya sıralamasında ikinci sırada bulunmaktadır (FAO, 2015).

Transkripsiyon faktörleri (TFs), hedef genleri ihtiyaca göre indüklemek veya baskılamak süreti ile denetleyici ve düzenleyici olarak görev alır. Genomda bulunan diziler, özel DNA bağlanma bölgeleri ve aktifleştirici bölgeler olarak iki farklı yapıdan oluşur. Bitki genomlarında yer alan transkripsiyon faktörleri üç boyutlu yapılarına ve DNA'ya bağlanış sıralarına göre 40 ile 60 arasında kısımda incelenebilir (Wingender vd., 2001). Bitki genomlarında yer alan transkripsiyon faktör ailelerinden en çeşitli olanlarından biri, bZIP transkripsiyon faktörüdür (Wang vd., 2015). Son derece korunmuş lösün femuar dimerizasyon motifi bulunan ve 60-80 amino asit uzunluğunda olan bu bölgeler, nükleer lokalizasyon ve DNA bağlanmasından sorumludur (Wang vd., 2011). Bağlanma bölgesi nükleer lokalizasyon ve DNA'ya bağlanmasından sorumluyken, aktifleştirici bölge olan Lösün fermuarı yapısı, bZIP proteinlerinin gen faaliyetlerinin düzenlenmesinde heterodimerizasyon veya homodimerizasyon faaliyetlerini düzenler (Jakoby vd., 2002; Nijhawan vd., 2008).

1.1. Bitki Materyali

1.1.1. Karpuz Bitkisi (*Citrullus lanatus*) Hakkında Genel Bilgi

Karpuz bitkisi Cucurbitaceae ailesi içinde *Citrullus* cinsine bağlı bir sebzedir. Dört adet alt türü olmasına karşın ekonomik olarak en sık *Citrullus lanatus* (syn. *C. vulgaris*) ve *C. colocynthis* türlerinin üretimi yapılmaktadır. Cucurbitaceae ailesi üyeleri içinde karpuzun [*Citrillus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai] sistematik sınıflandırması Tablo 1.1' de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Karpuz (*Citrullus lanatus*) biyolojik sınıflandırılması (URL-7, 2017)

Domain	Eukarya (Ökaryotlar)
Alem	Plantae
Alt alem	Tracheobionta
Bölüm	Angiospermae (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Kotiledon (İki çenekliler)
Takım	Cucurbitales
Familiya	Cucurbitaceae (Kabakgiller)
Cins	<i>Citrullus</i>
Tür	<i>Citrullus lanatus</i>

Karpuzun anayurdunun Orta Afrika olduğu varsayılmakta olup kimi araştırmacılar karpuzun anayurdunun İran, Anadolu Orta Asya ve Amerika olduğunu belirtmektedirler. David Livingstone'un 1854 yılında yapmış olduğu araştırmalar neticesinde Afrika'da birçok yabani karpuz türünü tespit etmesi ile karpuzun kökeninin Afrika olduğu ve gen merkezinin de burası olduğu kesinlik kazanmıştır (Livingstone, 1854).

Karpuz, dünya coğrafyasına Orta Afrika bölgesinde yayılış göstermektedir. Afrika bölgesinin coğrafi konumu gereği Anadolu'ya yakın olması nedeniyle yabani karpuz türlerinin çeşitli biyotik ve abiyotik faktörler vasıtasıyla yayılış gösterdiği varsayımında bulunulabilir. Karpuz, Orta Afrika'dan sonra Anadolu ve İran'a, buradan da Asya kıtasına yayılış göstermiştir. Karpuz tarımı ile ilgili olarak yapılan literatür çalışmaları sonucu Çin'de M.Ö. 1000 yıllarına ait deliller tespit edilmiştir. Avrupalı botanikçilerin 16. ve 17. yy'da yapmış oldukları çalışmalarda karpuzla ilgili bilgilere rastlanmış olup göçerler vasıtasıyla yayılış gösterdiği varsayılmaktadır (Vural ve ark. 2000).

Karpuz bitkisi genom büyüklüğü olarak 424 milyon baz çifti bulunduran, 11 kromozomlu, tek çenekli ve tek yıllık bir bitki çeşitidir (Güner ve Wehner, 2004). Yaprakları kısa veya uzun olan bir sapla gövdeye bağlanmış oymalı, loplu bir şekildedir. Çoğunlukla yapraklar beş parçalı yapı gösterir. Yapraklar diğer Cucurbitaceae ailesi üyelerine göre daha tüysüz bir yapıdadır (URL-6, 2009). Karpuz sürünücü gövde yapısına sahip olması nedeni ile toprak zemin üzerinde yayılarak

gelişmektedir. Karpuzlarda biyolojik olarak sapları daha uzun erkek çiçekler yoğunlukta iken, dişi çiçekler erkek çiçeklere oranla biraz daha büyük, sapları daha kısa, kalın ve yüzeyleri hafifçe tüylü yapıdadır. Az miktarda da olsa hermafrodit çiçek yapısı gözlemlenebilmektedir. Karpuz tohumlarının renkleri ve büyüklüğü türlere göre çeşitlilik göstermektedir (MEB, 2008).

1.1.2. Karpuz bitkisinin sağlık ve beslenme açısından önemi

Yazlık bir sebze sınıfında yer alan karpuz (*Citrullus spp.*) bitkisinin, muhteviyatında yer alan likopen maddesinin etkili bir antioksidan olarak görev yapması nedeni ile insanlarda kalp krizi, pankreas kanseri, prostat kanseri ve mide kanseri gibi rahatsızlıkların önlenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda deriyi UV ışınlarının zararlı etkilerinden koruduğu, ayrıca mide rahatsızlıklarına, göz ağrılarına ve baş ağrılarına karşı da etkili olduğu bilinmektedir (Fraser ve Bramley 2004; Guner ve Wehner, 2004).

Besin değerleri açısından çok zengin olan karpuzun içeriği araştırıldığında %8-14 oranında şeker bulunmasına rağmen, A, B, C vitaminleri açısından ve tohumlarının da yağ ve proteince zengin bir içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Garster, 1997; Perkins, 2005; Sarı, 2006).

Olgunlaşmış karpuz bitkisinin meyvelerinin taze olarak tüketilmesinin yanında, reçel (albedo kısmı), pasta, dondurma, meyve suyu, şurup, içki, çorba, meyveli yoğurt, turşu yapımında, kabukları hayvanlarda besi yemi olarak, tohumları ise ilaç sanayinde, sos yapımında ve çerez gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

Karpuz kolesterol içermemesi, ayrıca yağ oranı ve kalori miktarının çok düşük olması nedeni ile sıcak havalarda yapılan diyet uygulamalarında da önemli bir yere sahiptir. Karpuz, muhteviyatında bulunan yüksek su oranı (%92) ile insanlarda serinletici ve aynı zamanda iştah artırıcı etkisi nedeni ile yaz aylarında zevkle tüketilmektedir (Yamaç, 2017).

1.1.3. Karpuz üretiminde karşılaşılan biyotik ve abiyotik sorunlar

Türkiye ekonomisinde diğer tarım ürünleri gibi önemli bir potansiyele sahip olan karpuz bitkisi de biyotik ve abiyotik kaynaklı etmenler nedeni ile strese maruz kalarak ürün veriminde ve kalitesinde olumsuz etkiler meydana gelmektedir. Bitkiler bu olumsuzlukları belli seviyeye kadar tolere ederek olumsuz etkiyi en aza indirseler de olumsuz koşullar, bitki tolerans seviyesini aştığı zaman yaşamsal hayati şartları olumsuz etkilenerek bitki ölümüne kadar yol açmaktadır. Bitkilere olumsuz etki eden bu etmenler biyotik; zararlı diğer bitkiler, hayvanlar, mikroorganizmalar ve antropogenetik etkiler vb. olabileceği gibi abiyotik; kuraklık, tuz, toprakta bulunan besin miktarı, ağır metal birikimi, hava kirliliği, aşırı sıcak ve soğuk hava ile radyasyon gibi biyolojik olmayan etmenler olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Yapılan çalışmalarla bir taraftan bitkilerin maruz kalabileceği bu stres faktörleri azaltılmaya çalışılırken, diğer taraftan da bitkilerin tolerans seviyeleri artırılarak stresten hiç etkilenmeden veya en az etki ile atlatması amaçlanmıştır (Doğancı, 2018)

1.1.4. Karpuzun ekonomideki önemi

Dünya ülkelerinde olduğu gibi bizde de hem seralarda hem de açık tarla koşullarında karpuz yetiştiriciliği tarımı bol miktarda yapılmaktadır.

FAO istatistiklerine göre tüm dünyadaki üretimi yapılan yaş sebzeler arasında karpuz ikinci sıradadır. Dünya ülkeleri arasında karpuz tarımı yapılan ilk beş ülkenin üretim rekolteleri ve dünya üzerindeki yüzdeleri Tablo 1.2' te paylaşılmıştır. 2013 yılı verilerine göre yaklaşık karpuz üretim miktarlarında Çin 72 943 838 tonla ilk sırada, sonrasında İran 3 947 057 tonla ikinci sırada ve yurdumuz ise 3 887 324 ton karpuz üretimi ile üçüncü sırada bulunmaktadır. Karpuz bitkisine ait 2003 yılı ile 2013 yılları arasındaki dünyadaki karpuz üretim ortalamasına bakıldığında, 3 903 506 tonla Türkiye ikinci sırada yer bulmaktadır. Ancak ülkemizin 2013 yılına ait karpuz üretimi ülkemiz ortalamasının üstünde olmasına rağmen, dünya karpuz üretimi ortalamasına göre üçüncü sıraya gerilemiştir. FAO, 2015 verilerine göre de tekrar 3 918 558 ton karpuz üretimi ile Çin'den sonra (yaklaşık 100 milyon ton) ikinci sırada yer almıştır.

Tablo 1.2. En çok karpuz üretimi yapan ilk 5 dünya ülkesine ait üretim miktarları ve dünya üretim yüzdeleri (FAOSTAT)

	Ülkeler	Üretim miktarı (ton)	Üretim oranı (yüzde)
1	Çin	72 943 838	%66,7
2	İran	3 947 057	%3,6
3	Türkiye	3 887 324	%3,6
4	Brezilya	2 163 501	%1,9
5	Mısır	1 894 738	%1,7
Toplam üretim hacmi		109 278 714	100

Ülkemizin çoğu bölgesi, hem iklim koşulları hem de toprak tipi olarak karpuz yetiştiriciliğine uygun olması nedeniyle oldukça iyi üretim potansiyeline sahiptir. Yurdumuzda yapılan sebze üretim miktarları incelendiğinde; 2001 yılından itibaren 16 yıl boyunca birinci sırada domates üretimi yer alırken, ikinci sırada karpuz üretimi, üçüncü sırada 1 811 681 ton ile salatalık ve dördüncü sırada 1 854 356 ton ile kavun üretimi alır. Türkiye İstatistik Kurumunun 2016 yılı verilerine göre Tablo 1.3’ e bakıldığında Cucurbitaceae ailesinde bulunan sebze üretimleri kıyaslamasında 3 928 892 ton karpuz miktarı ile birinci sırada bulunur (URL-4, 2018).

Tablo 1.3. Türkiyede 2001-2017 yılları arasında en çok üretilen sebzeler (URL-4, 2018)

YIL	Domates (Ton)	Karpuz (Ton)	Salatalık (Ton)	Kavun (Ton)
2001	8 425 000	4 020 000	1 740 000	1 775 000
2002	9 450 000	4 575 000	1 670 000	1 820 000
2003	9 820 000	4 215 000	1 783 120	1 735 000
2004	9 440 000	3 825 000	1 725 000	1 750 000
2005	10 050 000	3 970 000	1 745 000	1 825 000
2006	9 854 877	3 805 306	1 799 613	1 765 605
2007	9 936 552	3 796 680	1 670 459	1 661 130
2008	10 985 355	4 002 285	1 682 776	1 749 935
2009	10 745 572	3 810 205	1 735 010	1 679 191
2010	10 052 000	3 683 103	1 739 191	1 611 695
2011	11 003 433	3 864 489	1 749 174	1 647 988
2012	11 350 000	4 022 296	1 741 878	1 688 687
2013	11 820 000	3 887 324	1 754 613	1 699 550
2014	11 850 000	3 885 617	1 780 472	1 707 302
2015	12 615 000	3 918 558	1 822 636	1 719 620
2016	12 600 000	3 928 892	1 811 681	1 854 356
2017	12.750.000	4 011 313	1 827 782	1 813 422

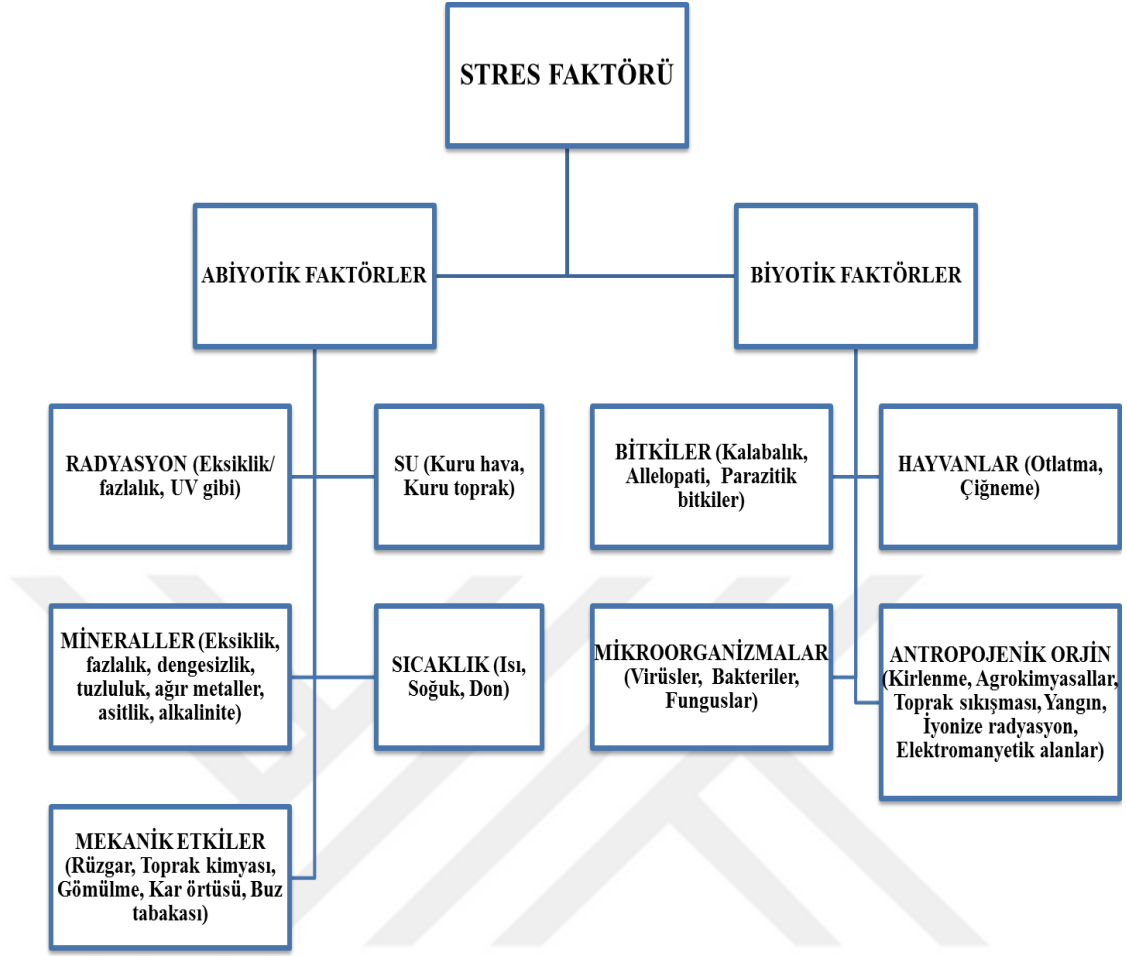
1.1.5. Karpuzun yetiştirilme koşulları

Karpuz bitkisinin gelişimi için optimum sıcaklık 20-25 °C olup gelişim süresi oldukça zaman almaktadır (Şeniz vd., 1995). Karpuz yetiştiriciliği için en uygun toprak tipi, su tutma kapasitesi ve geçirgenliği fazla, kumlu-tınlı yapıda ve pH'ı 5,0-6,5 olan hafif asitlik yapıdaki toprak tipidir. Bilhassa akarsu kıyılarındaki topraklar, tipleri karpuz yetiştiriciliğinde çok uygun olup kimi bölgelerde akarsu kenarlarındaki milli topraklar da susuz olarak yetiştirilme olanağı sunar (Vural vd., 2000; Tuna ve Özer 2005).

1.2. Bitkilere Etki Eden Stres Faktörleri ve Çeşitleri

Bitkilerin normal yaşam şartları haricindeki tüm olumsuz ve bitkiye zarar veren faktörlerin her birine stres, bu olumsuz ve zararlı etkenlere karşı bitkinin dayanabilme kabiliyetine de stres direnci adı verilir (Levitt, 1980; Çırak ve Esenal, 2003). Hayvanlar âlemindeki gibi bitkilerin hareket kabiliyetleri olmaması ve bulundukları yere bağımlı şekilde hayatlarını sürdürmeleri nedeni ile stres faktörlerinden uzaklaşamazlar, dolayısıyla stres faktörleri diğer canlılardan daha çok etki eder. Stres, bitkide önemli fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olup bitkinin büyüme ve gelişmesini negatif yönde etkileyerek ürünlerin de kalitesini yitirmesine sebep olmaktadır (Küçükkömürcü, 2011).

Oluşumlarına göre stres faktörleri biyotik ve abiyotik stres faktörleri olmak üzere iki gruba ayrılır (Şekil 1.1). Biyotik stres faktörleri; zararlı bitkiler, mikroorganizmalar etkisiyle oluşan enfeksiyonlar ve zararlı hayvan saldırıları gibi biyolojik etmenlerin neden olduğu zararlı etkileri kapsar. Abiyotik stres faktörleri ise susuzluk ve yüksek ya da düşük sıcaklık miktarı, radyasyon, kimyasal maddeler, manyetik ve elektriksel alanlar, besin değeri biyolojik etmenler dışındaki çevresel etmenleri kapsar (Lichtenhaler, 1996; Büyük vd., 2012).



Şekil 1.1. Bitkilerde stres faktörlerinin sınıflandırılması (Larcher, 1995)

Bitkiler, oluşabilen bu biyotik ve abiyotik stres faktörlerinden zarar görmemek için veya etkiyi azaltarak en az zararlar atlatmak için metabolizmalarında çeşitli savunma mekanizmaları oluştururlar. Hatta uzun süre stres faktörü etkisinde bulunan bitkiler, ortama uyum sağlayarak strese karşı dirençlerini arttırabilirler (Dolfeus 2014; Öztürk, 2015).

1.2.1. Kuraklık stresi

Tüm dünyayı tehdit eden küresel ısınmanın etkisinin günden güne arttığı son yıllarda suyun atmosfer üzerindeki yer değişikliğinden kaynaklanan kuraklık sorunu, abiyotik faktörler içerisinde en çok karşılaşılan sorunlar sıralamasında (Tablo 1.4) %26 ile birinci sırada yer alır (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005; Kuşvuran vd., 2011).

Tablo 1.4. Çeşitli stres faktörlerinden dünya üzerindeki tarım alanlarının etkilenme yüzdeleri (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005; Kuşvuran vd., 2011)

Stres faktörleri	Etkilenme yüzdesi
Kuraklık etkisi	%26
Mineral madde miktarı	%20
Aşırı sıcak ve soğuk hava	%15
Diğer stres faktörleri	%29
%10'unun stressiz olduğu kabul edilir.	

Toprakta bulunan su potansiyelindeki azalış, bitkinin kuraklık stresine girmesine neden olan en önemli etkidir. Terleme ile meydana gelen su kaybı, toprakta yeteri kadar su bulunduğu durumda tolere edilebilir. Şayet toprakta yeteri kadar su bulunmazsa ve bitki böyle bir durumda strese karşı direnç mekanizmalarını harekete geçirmezse bitki strese maruz kalır. Toprağın su potansiyeli her zaman aynı zamanda solma noktası olan (-1,5 Megapaskal) değerinin altına düştüğünde bitki yapraklarının su potansiyeli kök ve toprakta bulunan su yüzdesinin altında olmasına rağmen bitki su alamaz ve solmaya başlar, eğer bu süreç aynı şekilde devam ederse sonrasında bitki kuruyarak ölür. Topraktaki su miktarı çok düştüğü zaman, toprak kolloidlerince su daha fazla çekildiğinden, köklerin emme gücü kolloidlerin emme gücünü geçemediği için su emilemez. Su Emilimi gerçekleşemediği için yaprak ve köklerde solma gerçekleşerek bitki ölüm sürecine girer (Kocaçalıkan, 2003).

Kuraklık stresi bitkilerde kuruma ve su eksikliği şeklinde sınıflandırılabilir (Smirnoff, 1993; Örs ve Ekinci, 2015). Su eksikliği, bitkinin su potansiyelinin yaklaşık % 70'in altına düştüğü kısmi su eksikliği durumunda bitkinin stomalarını kapayarak CO₂ alımını kısıtlaması halidir. Kuruma ise bitkinin aşırı miktarda su kaybına bağlı olarak hücre morfolojisinin ve metabolizmasının tamamen bozularak enzimle katalizlenen reaksiyonların gerçekleşememe durumudur (Smirnoff, 1993; Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005; Örs ve Ekinci, 2015). Susuzluğa karşı hassas olan vasküler bitkilerin genelinde vejetatif dokularında bulunan su miktarı oransal olarak % 30'dan aşağı düşerse bitki ölüm sürecine girer (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005; Örs ve Ekinci, 2015).

1.2.1.1. Bitkiler üzerinde kuraklık stresinin etkileri

Bitkilerin kuraklık karşısındaki tepkisi, bitkilerin türlerine ve kuraklık şiddetine göre farklılık gösterir. Bu farklılık; vejetasyonun farklı basamaklarında kuru madde birikiminde, karbon değişiminde ve gen yapısında olabilir. Su sıkıntısı olan yerlerde o bölgeye en uygun genotip seçilerek üründen alınan verim arttırılmaktadır. Kuraklık, bitkilerin yaşam döngüsüne, su gereksinimine, kurumaya, su geçirgenlik miktarına, stoma yapısı ve işlevine, bitkinin diğer parçalarına zararlı etki oluşturur. Strese karşı direnci yüksek genotiplerde, homeostazi ve kuraklığa tolerans seviyesi daha yüksektir (Karipçin, 2009).

Su, hücre muhteviyatının büyük bölümünü kaplaması, taşıyıcı görevinde olması, hücresel reaksiyon ve işlevlerde çözücü olarak görev alması nedeni ile hücrede azalması durumunda, bitki metabolizmasındaki işleyişlerde bozukluklar meydana gelir. Su kaybıyla bağlantılı olarak iyon birikimi meydana gelir. İyon birikimi sonucu, hücrelerde membran ve protein yapısı bozularak hücreye zarar verir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Bitkiler üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde de, kuraklık stresi sonucu bitkilerin büyüme ve gelişim sürecinde yavaşlama, bitki kök ve yaprak ağırlıklarında, yaprak boyutlarında azalma olduğu sonuçlarına varılmıştır (Anyia ve Herzog, 2004; Clavel ve ark., 2005; Mnasri ve ark., 2007).

Kuraklık stresinin bitkiler üzerindeki etkisi mekanik, metabolik ve oksidatif etkiler olarak 3 sınıfa ayrılır:

Mekanik Etki: Kuraklık stresine maruz kalan bitkide su kaybı neticesinde turgor basıncının düşerek membran yapısının bozulmasına yol açar (Eriş, 1990; Kutlu, 2010). Bozulan membran yapısı neticesinde membran lipidleri sıvı-katı fazdakine oranla daha az kinetik enerji ile lateral ve rotasyonel hareket ederek yaprak buruşur. Su kaybı sonucu hücrede hacim küçülerek plazma membranı hücre duvarından ayrılır. Plazma membranı plazmodezmler aracılığıyla bağına devam ederek plazmoliz olur. Gerilen plazma membranında yırtılmalar oluşarak hücre metabolizmasına kalıcı hasarlar verebilir (McKersie ve Leshem, 1994; Kutlu, 2010).

Metabolik Etki: Su hücre muhteviyatının büyük bölümünü kaplar, hücrede taşıyıcı olarak görev alır, hücresel reaksiyon ve işlevlerde çözücü olarak görev yapar. Hücrenin su kaybetmesi sonucu oluşan iyon birikmesi, membran yapısının bozulması ve enzim aktivitesinin durması gibi homeostasiyi bozan olaylar hücre yapısını bozarak bitkiye zarar verir. Topraktaki su seviyesinin azalması, bitki yapısındaki potasyum emilimini de azaltır. Yapılan çalışmalar neticesinde, potasyum gübresi verilen bitkilerin kuraklık stresine karşı direnç kazandıkları gözlemlenmiştir (Sangakkara ve ark., 2001). Potasyum elementi bitkilerde stomaların düzenlenmesini, osmoregülasyonu, homeostasi ve protein sentezini artırır (Beringer ve Trollenier, 1978; Marscher, 1995). Potasyum elementi aynı zamanda terlemeyi azaltarak kuraklığa karşı bitkiyi olumsuzluklara karşı korur (Andersen ve ark., 1992). Bunun beraberinde hücrede DNA, RNA'nın yapısında bozunma da görülebilmektedir (Kutlu, 2010; Ebrahime, 2013).

Oksidatif Etki: Su miktarının ihtiyaçtan az olduğu durumlarda vejetatif bitki dokularında oksidatif stresin meydana geliş nedeni, kloroplastta gerçekleşen klorofille ışık arasındaki etkileşim olduğu düşünülmektedir. Bitki kuraklık stresi etkisine girdiğinde, terlemeyle su kaybını azaltmak için stomaları kapatıp, yaprak yüzey alanını küçültür. Bu durum topraktan suyla beraber iyon emilimini de önler. Yaprak yüzey alanındaki azalmayla birim alandaki CO₂ fiksasyonu da azalır. Solunum hızı artış gösterir. Bitki hücrelerini canlı tutabilmek için enerji sarfiyatında da artış meydana gelir, ancak harcanan enerji fotosentez ile karşılanamadığı için büyüme ve gelişme gerilemeye başlar (Costa Franço ve ark., 2000; Türkan ve ark., 2005).

1.2.1.2. Kuraklık stresi ile alakalı genler

Kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde, maruz kalınan strese karşı yanıt verilirken farklı gen ifadeleri oluşur. İfade edilen genler, ifade zamanlarına göre erken ve geç yanıt veren genler olarak 2'ye ayrılır (Sairam, 2004; Ebrahime, 2013).

Erken yanıt veren genler, bitki strese maruz kaldığı anda aktifleşerek en kısa sürede indüklenbilir. Erken yanıt veren genlerin ekspresyonu, geç yanıt veren genleri

aktifleştirerek transkripsiyon faktörlerinin sentezlenmesini sağlar (Sairam, 2004; Ebrahime, 2013).

Geç yanıt veren genler ise kuraklık stresi altında iken bitkide ekspresyonu artan genlerin genelini kapsar. Bu genler adından da anlaşılacağı gibi indüklenme süreleri yavaş ancak sürekli olan genleri kapsar. Bu gen proteinleri arasında önemli bir transkripsiyon faktörü olan bZIP transkripsiyon faktörü de bulunur (Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki, 1997; Sairam, 2004; Ebrahime, 2013).

Transkripsiyon faktörleri arasında yer alan hidrofilik bZIP proteinlerinin, bitki strese maruz kaldığında suyu tutma özelliğini artırıcı etkisi vardır. Bundan dolayı bitkinin kuraklık stresine karşı direncini artırıcı etkisi olduğu ve hücre bütünlüğünün korunmasında rol aldığı savunulmaktadır (Sairam ve Tyagi 2004).

1.3. Transkripsiyon Faktörleri

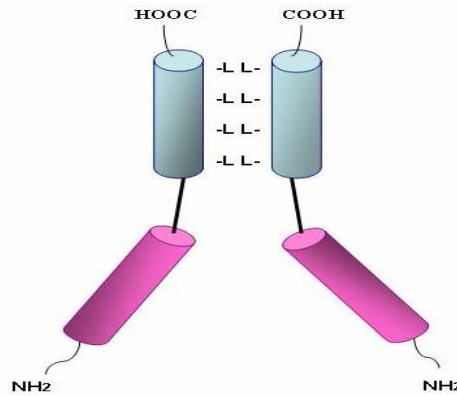
DNA'daki genetik kodların belirlenip işlevsel hale gelmesinde rol alan protein gruplarından biri de transkripsiyon faktörleri, diğer adıyla DNA bağlanma proteinleridir (Latchman 1997; Karin 1990). Bağlanma proteinleri yalnız olarak yada diğer proteinlerle kompleks oluşturarak, RNA polimeraz tarafından bir genin transkripsiyonunu aktive edebileceği gibi transkripsiyonunun durdurulmasında da rol alabilirler (Roeder 1996; Lee 2000).

Gen ifadelerinin düzenlenmesinde görev alan proteinlerin aktivitesi, allosterik değişimler ve tersinir kovalent bağlanmalarla kontrol edilmektedir. Transkripsiyon faktörleri büyük ölçüde DNA'yı tanımaktadır. Bu proteinler ilk olarak bağlanacakları yüzey ile uyum sağlayacak şekilde üçüncül bir yapı meydana getirirler ve sonrasında geniş bir alanda bol miktarda atomik etkileşimi gerçekleştirecek yakınlıkta bir aralık oluştururlar (Holde vd., 1990; Pabo 1984). Protein ile DNA'nın birbirini tanınması, proteinlerin birbirini tanınması şeklinde hidrofobik ve iyonik etkileşimler ile hidrojen bağları vasıtasıyla gerçekleşir (Von Hippel 1984). DNA ile proteinin etkileşim özgüllüğü ile ilgili sorunlar, genellikle X ışını kırınımı çalışmaları ile aydınlatılmıştır. Yapılan çalışmalarda, proteinlerin DNA'yı benzer yapısal motifler vasıtasıyla tanımanın gerçekleştiği ve simetrik bir uyumun olduğu görülmüştür.

Prokaryot ve ökaryot genomlarında gerçekleşen transkripsiyonu düzenleyici proteinlerde tespit edilen ortak yapısal motifler; çinko parmağı, heliks-dönüş-heliks ve lösün fermuarı olmak üzere üç sınıfa ayrılabilir (Ptashne 1986, Coleman 1992). Transkripsiyon faktörleri, yalnız başına veya başka proteinlerle kompleks oluşturarak, RNA polimeraz tarafından bir genin ekspresyonunun nerede, ne kadar süre ve miktarda ifade edileceğini belirleyerek gen ekspresyonlarını denetleyip düzenlemekle görevlidirler. Bu proteinlerin minimum iki işlevsel kısmı vardır ve bunlar gerçek aktivatör bağlanma proteini adını alır. Bağlanma enhansır bölgedeki spesifik DNA dizisine yapılır. Diğer kısım ise RNA polimeraza veya promotorda bulunan diğer bağlanma proteinine bağlanır (Yener 2011).

1.3.1. Bazik Lösün Fermuar Domaini

Bazik Lösün Bağlanma Domaini, protein-protein dimerinin meydana gelişine olanak sağlayan ikinci bir domain olan lösün fermuarı ile bitişik vaziyettedir. Lösün fermuarı yapısı ilk olarak sıçan karaciğer hücresinin bir çekirdek proteininde otuz beş amino asitlik bir dizi olarak tespit edilmiştir (Klug 2003). Mevcut dizide bulunan dört adet lösün amino asiti arasındaki yedi amino asitle farklılaşır ve bu bölgenin her iki tarafında bazik yapıdaki amino asitler yer alır. Lösün amino asitinin olduğu yer sarmal yapıdadır ve her dönüşünde fermuar çıkıntıları olur. Böylece iki molekül birleşerek lösün fermuarı ile beraber tutulur (Şekil 1.2). Dimer yapısında, fermuar kısma komşu olan bazik yapıyı iki α -sarmal bölgesi yer alır. Burası, DNA'daki fosfat gruplarına ve spesifik özellikteki bazlara bağlanarak dimerin DNA üzerinde bir kısaç şeklini almasına yol açar.



Şekil 1.2. bZIP proteinlerinin bazik domain dimeri ve lösün fermuarı (Turner, vd. 2004)

1.3.2. bZIP Transkripsiyon Faktörlerinin Yeşil Bitkilerdeki Rolü

bZIP transkripsiyon faktörleri, bütün ökaryotlarda hayati süreçlerin denetiminde rol alır. Bitkilerin gelişimi, enerji dengelerinin düzenlenmesi, biyotik (patojen, diğer organizmalarla rekabet vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, radyasyon, yüksek sıcaklık veya don vb.) streslere karşı tepkileri başta olmak üzere birçok morfolojik ve fizyolojik süreçte denetleyici ve düzenleyici olarak görev alır (Meshi 1995).

1.3.3. bZIP G-kutusu ve C-kutusu

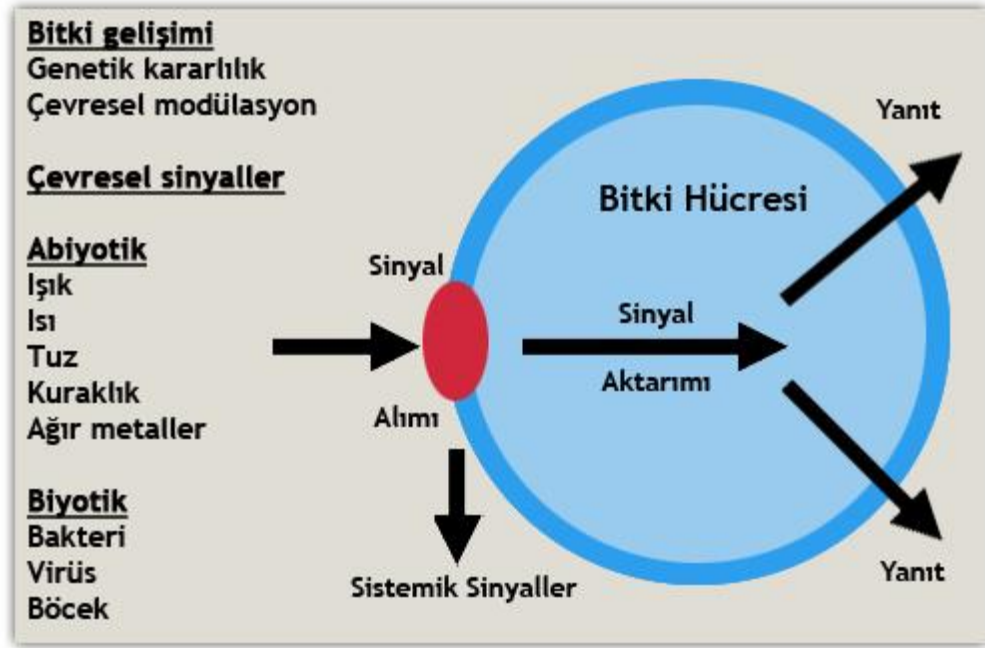
Bitkide bulunan bZIP proteinleri üzerindeki özgül DNA bağlanma bölgeleri arasında iki önemli bağlayıcı protein olan G-kutusu (CCACGTGG) veya C-kutusu (TGACGTCA) amino asit dizileri belirlenmiştir. Bitki genomunda yer alan bZIP proteinleri içerisinde yer alan ACGT dizisine ait motifler kolay ve özgül bir DNA bağlayıcı bölge konumunda görev yapar (Izawa 1993). Bu motifler sayesinde DNA domaini, DNA üzerine rahatlıkla bağlanabilmektedir. G-kutusunun, *in vivo* geçici ve transgenik bitki çalışmalarında foton, absisik asit (ABA), abiyotik strese cevap ve gen ifadesinin ayarlanmasında görev aldığı ispatlanmıştır (Siberil 2001).

1.4. Bitkilerde Stres Koşullarında Gen İfadesinin Düzenlenmesi

En ideal hücresel yanıtları oluşturabilmek için reseptörler, protein olmayan mesajcılar, enzimler ve transkripsiyon faktörlerini kapsayan elementlerden oluşan sinyal iletim ağları çeşitlenmiştir. Reseptörler, fizyolojik uyarıcılar için oldukça spesifik ve bu nedenle birbirlerinden ayrı özellik taşırlar. Aynı şekilde enzimler ve transkripsiyon faktörleri de spesifik ve genom seviyesindeki miktarları stresin çeşidi ve miktarına göre değişiklik gösterir (Keskin, 2012).

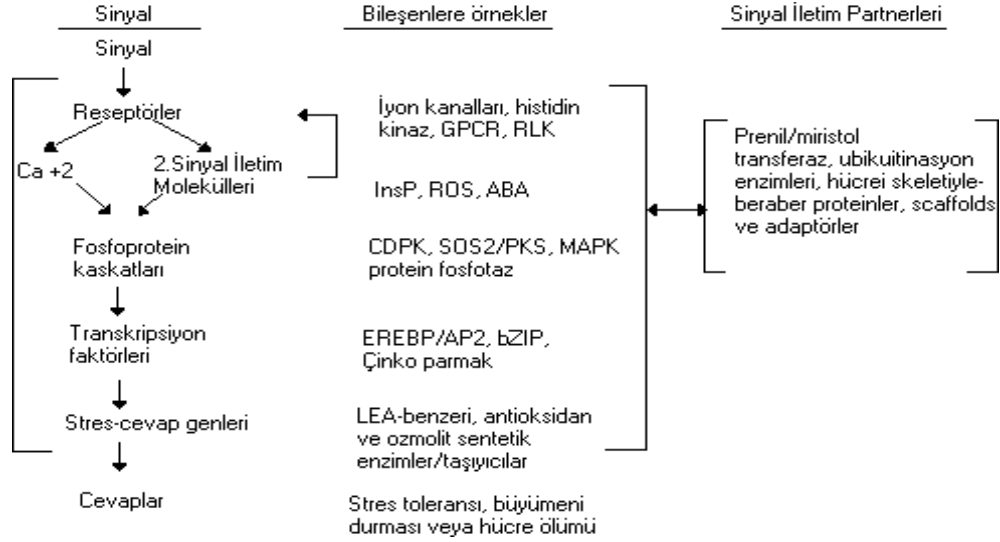
Bitkiler, farklı canlı gruplarındaki gibi homeostasiyi sabit tutmaya çalışırlar. Çevre koşullarındaki değişiklikler altında bitki, stresten korunmak için yeni bir denge kurmaya çalışır. Bitkiler bulundukları ortamdaki farklılıkları algılayarak oluşabilecek stres faktörlerine karşı yanıt mekanizmaları geliştirirler. Bitkinin uyarana karşı birinci yanıtı stresin algılandığı ve genellikle kısa süreli olan alarm fazıdır (Şekil 1.3). Sonrasında, strese karşı direnç için yanıt mekanizmalarının geliştirildiği,

fenotipte değişikliklere neden olan ve günlerce süren alışma fazı yer alır. Son olarak bitkinin yanıt mekanizmasını oluşturarak strese karşı direnç kazandığı haftalar alabilen direnç fazı gelir (Kosova vd, 2015). Bu kompleks yanıt mekanizmalarında genlerin ekspresyon seviyelerinde farklılıklar bulunması, değişik stres faktörlerince indüklenmesinden meydana gelmektedir (Duque vd., 2013).



Şekil 1.3. Bitki stres algı basamakları ve hücresel seviyede stres tepki şeması (Keskin, 2012)

Stres faktörleri etkisinde kalan bir bitkide sinyal iletimi sinyalin ilk algılanması ile başlar. Bunu sekonder mesajcılar (örneğin; inozitol fosfatazlar ve reaktif oksijen türleri) oluşturulması takip eder. İkinci mesajcılar, hücre içi Ca^{+2} düzeyini dengeleyebilir. Son basamakta protein fosforilasyon kaskatı stres algı mekanizmasına dahil olur. Protein fosforilasyon kaskatı çoğunlukla, strese bağlı olarak faaliyet gösteren özgül gen gruplarının denetlenmesinde, transkripsiyon faktörleri ya da hücrenin korunmasından sorumlu proteinlerin hedeflenmesinde rol alır (Şekil 1.4). Bahse konu bu genlerin ürünleri absisik asit (ABA), etilen ve salisilik asit gibi bitki hormonları gibi düzenleyici moleküller meydana getirir. Sekonder sinyal molekülleri, reseptör kontrolünde Ca^{+2} salınımına olanak tanır. Sinyal iletiminde rol alan kısımları ana yol aracılığı ile düzenlenebilir. Sinyal iletiminin erken evrelerinde, Ca^{+2} sekonder sinyal iletim moleküllerini hücre içerisinde dolaştırır (Keskin, 2012).



Şekil 1.4. Bitkilerde strese yanıtının oluşum basamakları (Keskin, 2012)

Çevresel stres faktörleri ile aktiveleştirilen (indüklenen) genler, temelde protein ürünleri olarak iki ana sınıfta incelenir. Birinci grup genler; direkt olarak bitki hücrelerini çevreden gelebilecek stres faktörlerine karşı muhafaza etmeyi amaçlayan bZIP proteinleri, AFPs proteinleri, ozmotik düzenleyici proteinler, betain sentezleyen enzimler, pirolin ve diğer osmoregülatörlerdir. İkinci grup genler ise örneğin transkripsiyonda rol alan genler olarak, gen ifade seviyesini ve sinyal transdükyonunu ayarlamakla görevli genlerdir (Ciarmiello vd., 2011).

Abiyotik stres faktörlerine maruz kalmış bitkide transkriptom düzeyinde oluşturulan cevap mekanizmalarının tekrar tasarlanması, mitojen ile aktiveleşen protein kinaz (MAP kinaz) yolağı ile başlar. Protein kinazlar, hücre dışı uyarıların hücre genomuna sinyal olarak iletiminde önemli görev alan korunmuş enzim grubudur. MAP kinaz yolağı kullanılarak genoma aktarılan iletiler, birçok transkripsiyon faktörü aracılığı ile metabolizmanın tekrar düzeltilmesinde rol oynarlar (Bhargava ve Sawant, 2013; Dolferus, 2014; Öztürk, 2015).

Abiyotik ve biyotik stres şartlarında gen ifadesinin tekrar düzenlenmesinde görev alan bir başka faktör de miRNA'lardır. Besin yetersizliği (Fujii vd., 2005), susuzluk (Liu vd., 2008; Zhou vd., 2010), soğuk hava (Zhou vd., 2008), tuzluluk (Liu vd., 2008; Sunkar vd., 2008), bakteriyel enfeksiyonlar (Navarro vd., 2006), UV-B radyasyonu (Zhou vd., 2007) ve mekanik stres (Lu vd., 2005) benzeri değişik stres

faktörlerine maruz kalmış birçok bitkide miRNA varlığı tespit edilmiştir (Khraiwesh vd., 2012). miRNA varlığı ve işleyişi ilk defa, Park vd., (2002) aracılığı ile *Arabidopsis* üzerinde yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Bu genlerin fonksiyonlarının belirlenmesi için *HEN1-1* ve *CAF-1* mutant *Arabidopsis* ile mutasyona uğramamış *Arabidopsis* bitkisinden miRNA izole edilmiştir. Ayrıca *Nicotiana tobacco*, *Oryza sativa* ve *Zea mays* bitkilerinden de homolog olabileceği düşünülen genlerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde miRNA'ların bitki gelişiminin denetlenmesinde önemli rol oynadığı anlaşılmıştır. *HEN1-1* ve *CAF-1* mutant bitkilerde miRNA yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir (Park vd., 2002; Aras vd., 2015).

Dışsal (çevresel) stres şartları, bitkilerde miRNA'ların etkinliğinin artması veya azalmasına ya da yeni miRNA'ların sentezlenmesine yol açabilir (Khraiwesh vd., 2012). miRNA'lar, kuraklık stresinden etkilenmiş olan bitkilerde gen ifadesinin tekrar düzenlenmesinde görev alırlar (Öztürk, 2015). Kuraklık stresi altında *Arabidopsis*, *Oryza sativa* ve *Populus trichocarpa* miRNA profilleri çıkartılmıştır. *Arabidopsis* üzerine uygulanan analizlerde miR396, miR168, miR167, miR165, miR319, miR159, miR394, miR156, miR393, miR171, miR158 ve miR169 kuraklığa karşı transkripsiyon faktörlerinin ifadesini düzenleyerek bitki gelişiminde ve stres yanıtında önemli rol oynadığı saptanmıştır. Kuraklığa karşı dehidrasyondan sorumlu olan miR393, miR319 ve miR397'nin ekspresyonu da artış göstermektedir (Sunkar ve Zhu, 2004; Liu vd., 2008; Khraiwesh vd., 2012). Çeltikte ise miR393, kısa süreli kuraklıkta da aktifleşirken, miR169 geninin yüksek seviyedeki kuraklıkta ekspresyon seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Zhao vd., 2007; Khraiwesh vd., 2012). Kavakta da miR1711-N, miR1445, miR1446a-e ve miR1447 gibi kuraklığa cevap veren miRNA'lar belirlenmiştir (Lu vd., 2008; Khraiwesh vd., 2012). Yakın zamanda yapılmış olan bazı analizlerde, örneğin *Phaseolus vulgaris*, *Medicago truncatula*, *Triticum vulgare*, *Zea mays* benzeri çoğu bitkide bulunan miRNA'ların kuraklık stresi ile alakadar olduğu belirtilmiştir. Mısırdaki zma-miR169 gen ifadesinin, kuraklık (ABA ve PEG uygulaması ile) esnasında azalırken, tuzluluk (NaCl uygulaması) ile önce artıp sonra azaldığı belirlenmiştir (Luan ve ark., 2015). Transkripsiyon faktörleri, kuraklık süresince gen ifade seviyesini düzenleyen etmenlerden biridir. Kuraklık stresi altında gen ifadesini belirleyen transkripsiyon

faktörleri arasında bZIP, AP2/ERF, HD-ZIP, MYB, bHLH, NAC, NF-Y, EAR ve ZPT2 ailelerine dâhil yüksek miktarda özgün fonksiyonda rol alan proteinlerden oluşan geniş gen aileleri bulunmaktadır. Fakat günümüzde birçoğunun hücre içi fonksiyonu tam olarak henüz tespit edilememiştir (Bhargava ve Sawant, 2013; Dolferus, 2014; Öztürk, 2015).

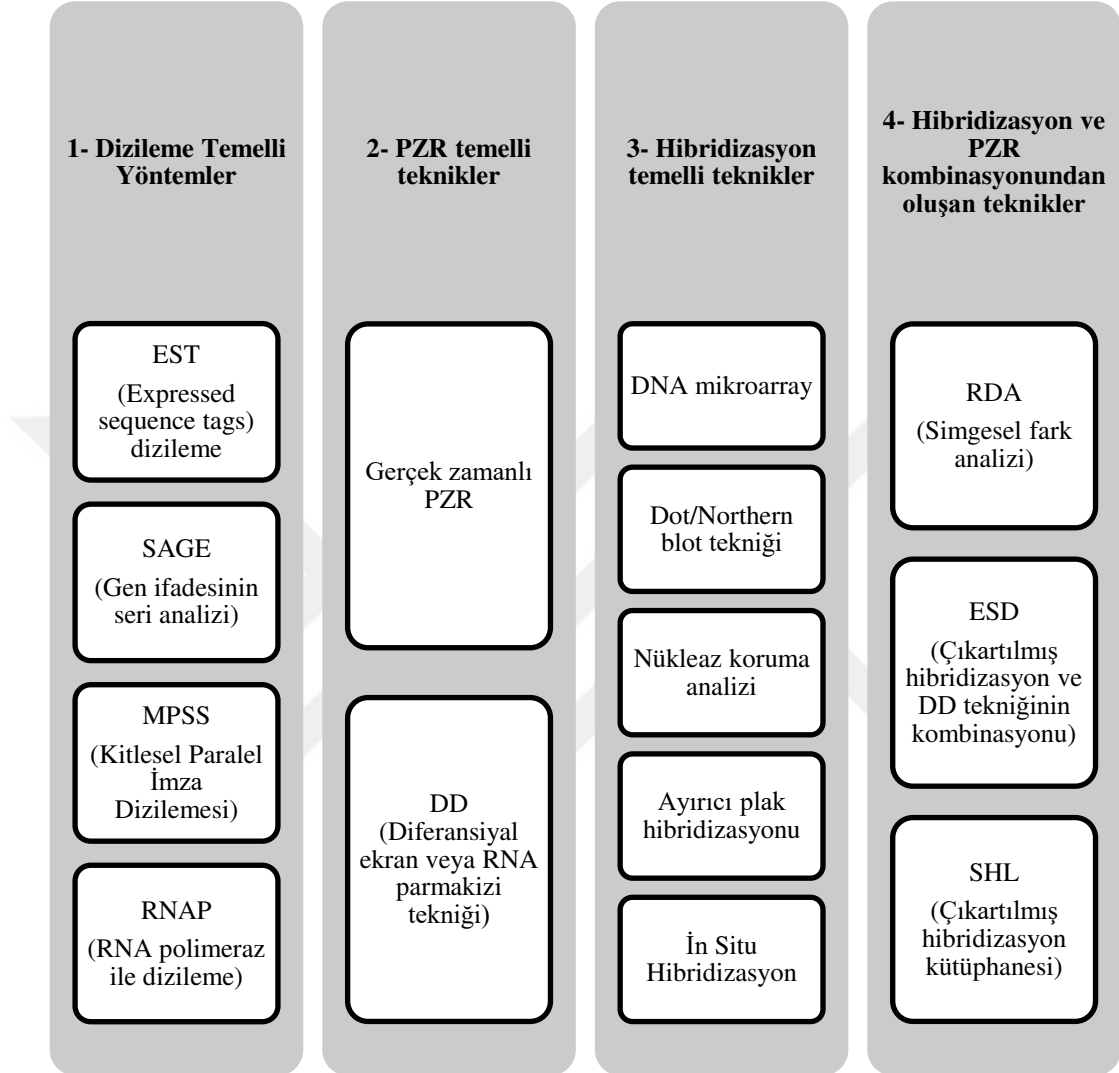
miRNA'lar türler arasında hedef dizilerdeki bağlanma bölgeleri bakımından filogenetik dağılımda yüksek oranda benzerlik sergilemektedir. Korunmuş miRNA'ların pekçoğu, farklı bitki türlerinde homolog genler aracılığı ile düzenlenmektedir. Pekçok bitkide miRNA'lar ve onların hedef genlerinin korunmuş olduğunun gözlenmesi (Jones-Rhoades, 2012), miRNA'lar ve hedefledikleri genlerin evrimsel süreçte etkileştikleri fikrini doğurmuştur (Zhang ve ark., 2009; Koptekin ve Aktaş, 2013).

Bitkiler stresle alakalı çok farklı proteinler, transkripsiyon faktörleri ve metabolitler vasıtası ile cevap oluşturabileceği gibi epigenetik ekspresyonlar yoluyla da strese karşı cevap oluşturabilirler. Epigenetik farklılaşmalar; bilhassa bitki abiyotik bir stres faktörü etkisinde kaldığında, gen ifadesi değişikliklerinde önemli görev alan RNA'lar aracılığı ile yönlendirilmiş DNA metilasyonu, histon veya DNA modifikasyonlarını bünyesinde barındırır (Cushman ve Bohnert 2000; Chinnusamy, 2009; Aras vd., 2015).

1.5. Gen İfadesinde Kullanılan Analizler

Teknolojinin her geçen gün yenilenerek geliştiği günümüzde, transkripsiyonel yanıtların oluşturulmasında görevli binlerce gen çok kısa sürede değerlendirilebilmektedir (Stanton, 2001; Kömürcü-Bayrak ve Erginel-Ünaltuna, 2011). Fonksiyonel genomik üzerine yapılan araştırmaları genel olarak iki gruba ayırırsak; bunlardan birincisi olan RNA seviyesindeki araştırmalarda, gen ifadesi araştırma yöntemlerinden yararlanılır, diğeri ise proteom çalışmalarında kullanılan kütle spektrometri dizilemesi, iki boyutlu jel elektroforezi ve protein mikroarray gibi yöntemleri kullanarak yapılır. Gen ifade analizinde RNA seviyesinde yapılan metodlar genel olarak dört gruba ayrılabilir (Hess vd., 1998; Kömürcü - Bayrak ve

Erginel - Ünaltuna, 2011). Şekil 1.5'te RNA seviyesindeki gen ifadesi analiz metodlarının gruplandırması yapılmıştır.



Şekil 1.5. RNA düzeyindeki gen ifade analiz metodları (Hess vd., 1998; Kömürcü-Bayrak ve Erginel - Ünaltuna, 2011)

1.5.1. Gerçek Zamanlı PZR

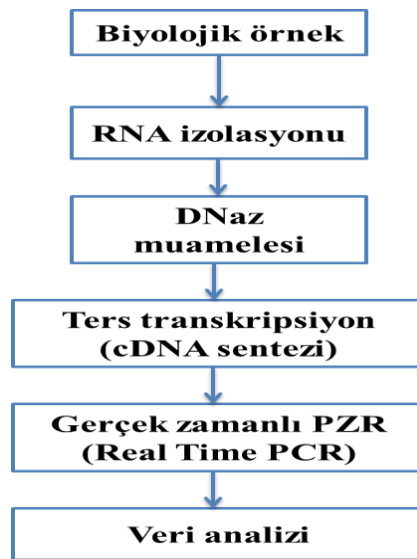
Gerçek zamanlı PZR sisteminde, PZR verilerine kısa sürede ulaşılabilir. Ayrıca, PZR ürünlerinin çoğaltılması gerçek zamanlı olarak gözlemlenebilmekte olup tek bir tepkime sonrasında daha fazla bilgiye ulaşılabilmesi amacıyla geliştirilmiş bir sistemdir. PZR metodu çalışmalarında en fazla verimin alınabilmesi için yapılan araştırma çalışmaları sonucu bu analiz metodu geliştirilmiştir (Chou vd.,

1992; Kellog vd., 1994; Roche, 2015). Geliştirilen gerçek zamanlı PZR metodu ile hata oranı yaklaşık olarak %1'den daha düşüktür (Şanlıdilek, 2009).

Gerçek zamanlı PZR cihazları; PZR reaksiyon analizi sırasındaki sıcaklık döngülerini gerçekleştirebilmek için kullanılan cihazların (Thermal cycler ısı bloğu) hassas ölçüm yapabilen cihazlar ile birleştirilmesi sonucu oluşmuştur (Higuchi vd., 1993; Şanlıdilek, 2009).

Gerçek zamanlı PZR, floresans boyalarla gerçekleştirilen reaksiyonlar esnasında her bir PZR döngüsünde elde edilen ürünün floresans okumalar sayesinde verileri kaydeden ve reaksiyonun her basamağında sonuna kadar oluşan ürünün miktarını kontrol eden bir analiz yöntemidir. Gerçek zamanlı PZR sisteminde diziye has problemler ve genel olarak kullanılan floresan boyalar yardımıyla boyanarak ışımaya sonuçları, bir kamera eşliğinde bilgisayar sistemine kaydedilir (Higuchi vd., 1993; Lay ve Wittwer 1997; Şanlıdilek, 2009).

Gerçek zamanlı PZR analizi başlatılmadan kullanılan numuneye birkaç işlem uygulanması gerekmektedir. Yapılan bu işlemlerden sonra optimizasyon ve yoğunluk gibi veriler yardımıyla gerçek zamanlı PZR analizi yapılabilmektedir. Numunenin gerçek zamanlı PZR analizi öncesi yapılması gereken işlemler Şekil 1.6'da gösterilmiştir.

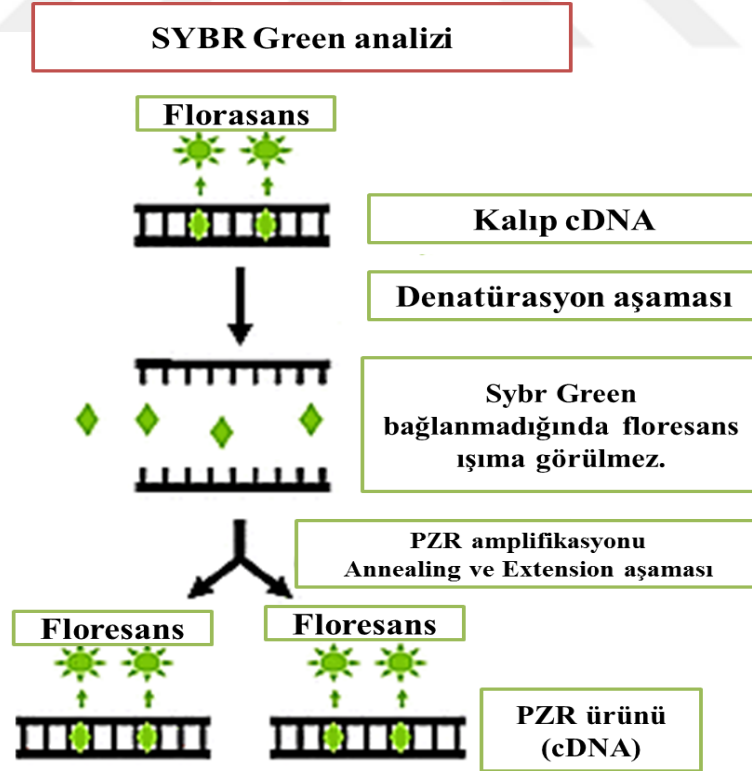


Şekil 1.6. Gerçek zamanlı PZR'nin çalışma prensibi (Günel ve Aydın, 2009)

Gerçek zamanlı PZR yönteminde, çeşitli şekillerde floresans ışına yapılabilen yöntemler kullanılabilmektedir. Bunlar SYBR Green, hibridizasyon probu, hidroliz probu, simple prob vb. gibi yöntemlerdir (Dilek, 2013).

SYBR green yöntemi

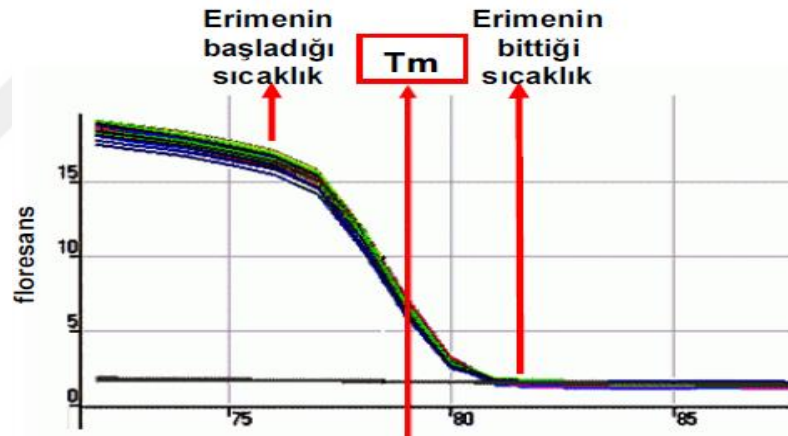
SYBR green yönteminde; yalnız floresans ışımının çift zincirli DNA'ya bağlandığı esnada meydana geldiği SYBR green isimli boyadan yararlanılmaktadır. Çoğalma miktarına bağlı olarak SYBR green içeren tepkimelerdeki DNA artışına göre floresans ışım miktarı ölçülmektedir. Reaksiyon tüpünde SYBR green, primerler ve denatüre olmuş kalıp DNA ayrı ayrı bulunduğu için çoğalmanın başlama aşamasında olduğu zaman floresans ışım neredeyse görülmeyecek kadar az seviyededir. Primerler bağlandıktan sonra oluşan uzama kısmında kalıp DNA'nın çift zincirli yapıyı meydana getirmesi ile DNA'ya bağlanarak oluşan ışım seviyesi artmaktadır (Şekil 1.7). Bununla alakalı olarak ışım yapan floresans seviyesinde zamana bağlı olarak bir artış oluşmamaktadır (Williams 1996; Grove 1999; Şanlıdilek, 2009).



Şekil 1.7. SYBR green yönteminin safhaları (Smith ve Osborn, 2009)

Gerçek zamanlı PZR sonucu, relatif ve standart-eğri kantitasyonu olarak iki analitik metod kullanılarak çözümlenmektedir (Ginzinger, 2002; Kubista vd., 2006; Kömürcü vd., 2011)

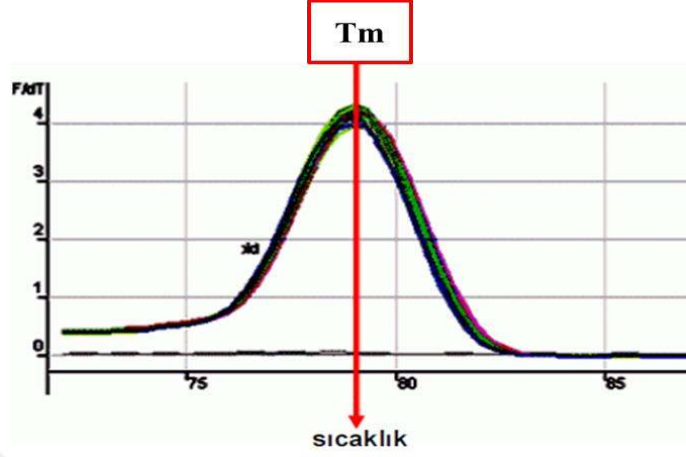
SYBR green boyası, yer almasını istemediğimiz çift zincirli DNA moleküllerine yani primer dimerlere veya spesifik olmayan PZR ürünlerine de bağlanma yapabilmektedir (Bustin and Mueller 2005; Yüzbaşıoğlu, 2008). Bu nedenle floresans ışık miktarının artışı her zaman istediğimiz amplifikasyonun (çoğalmanın) oluştuğu anlamına gelmez. Amplifikasyon ürününün spesifikliği, SYBR green metodu uygulanmadan PZR verilerinin agaroz jel elektroforezi ile analizi neticesinde tespit edilir. Bunun haricinde Real Time-PZR cihazlarında primer dimerinin meydana gelişi ve spesifik olmayan amplifikasyon ürünlerinin belirlenmesi amacı ile kullanılan diğer bir yöntem ise şekil 1.8’de “melting curve” (erime eğrisi) analizidir (Yüzbaşıoğlu, 2008).



Şekil 1.8. Örnek bir erime eğrisi grafiği (Melting curve) (Yüzbaşıoğlu, 2008)

Çift zincire sahip DNA moleküllerinin her birinin kendine özgü T_m sıcaklığı diğer adıyla “melting temperatures” değeri vardır. Yani çift zincirli DNA’ların yaklaşık yarısının denatüre olarak tek zincirli hale dönüşebileceği ideal bir sıcaklık vardır (Şekil 1.8). Çoğalma bittiğinde sıcaklık artırılarak belirli periyotlarla floresans ışık seviyesi belirlenir. Çift zincirli DNA’nın denatürasyonu ile SYBR green serbest kaldığı için ölçülen floresans ışık seviyesinde düşüş gözlemlenir. Böylece oluşturulan erime eğrisi grafiği yorumlanarak amplifikasyonun özgüllüğü belirlenebilmektedir. T_m değerinin tam olarak elde bulunması için erime eğrisinin

zamana karşı türevinin çizilmesi genellikle tercih edilen bir metoddur (Şekil 1.9) (Yüzbaşıoğlu, 2008).



Şekil 1.9. Erime eğrisinin (Melting curve) zamana karşı türevinin alındığı örnek (Yüzbaşıoğlu, 2008)

Gerçek zamanlı PZR analizleri yapılırken değerlendirilen en önemli değişken, eşik döngü değeri olan Ct değeri yani “Threshold cycle” değeridir. Bu değer ilk anlamlı artışın gerçekleştiği veya PZR tepkimesinin gerçekleştiği ilk yeri ifade eder. Bu sayede planlaması yapılmış bir deneyin referans başka bir genle karşılaştırması yapılarak, değişik PZR tepkimlerinde bulunan kalıp olarak kullanılacak örneklerin miktarı daha önceden bilinen Ct değeri kullanılarak tahmin edilebilmektedir (Wong ve Medrano, 2005).

2. KURAMSAL TEMELLER

Doğu Asya karpuzunun genom dizisi ($2n = 2x = 22$) 2013 yılında çıkarılmıştır (Guo vd., 2013). Yapılan bu tarz çalışmalar sonucu, ürünlerin ıslahı ve oluşan farklılıkların belirlenmesi için özgün bakış açıları ile yeniliklerin oluşturulması açısından oldukça kıymetli veriler elde edilir. Karpuz genom dizilerinin çıkarılmasıyla mahsuldeki verim ve kalite arttırılabilecek ve gıda güvenliğinin sağlanması yönünde yapısal ve işlevsel çalışmaları yapmaya teşvik edecektir (Muthamilarasan vd., 2013).

Bitkiler doğada farklı stres şartları ile karşılaştığı zaman gen ifadelerini çeşitlendirerek strese karşı yanıt oluşturup kendilerini korumaya alırlar (Boyer, 1982; Ahuja vd., 2010; Kim vd., 2015). bZIP transkripsiyon faktörleri de diğer transkripsiyon faktörleri gibi bitkilerin gelişim ve farklılaşma süreçlerinde önemli rol oynar. Transkripsiyon faktörleri, organ ve doku farklılaşmalarında “Shen, Cao ve Wang, (2007); Silveira vd., (2007)”, hücre uzaması “Fukazawa vd., (2000)”, nitrojen/karbon ve enerji metabolizma döngülerinde “Baena-Gonzalez vd., (2007); Weltmeier vd., (2006)”, katlanmamış proteinlere tepkide “Liu vd., (2007); Iwata ve Koizumi, (2005)”, protein gen ifadesinin düzenlenmesinde “Lara vd., (2003)” ve somatik embriyogeneizde “Guan vd., (2009)” rol alır. Ayrıca bZIP transkripsiyon faktörleri biyotik ve abiyotik strese karşı cevap oluşturup sinyalizasyon süreçlerini düzenler. Daha önce yapılan çalışmalarda, strese maruz kalmış bitkilerdeki sinyalizasyon sonrası bZIP transkripsiyon faktörüne ait ekspresyon analizinin farklı bitki türlerinde, absisik asit (ABA), kuraklık, hipoksi, tuzluluk ve soğuk stres koşullarına karşı ifade düzeylerinde meydana gelen farklılıklar tespit edilmiştir (Wang vd., 2015; Rodriguez-Urbe ve O'Connell, 2006; Lee, Choi, Hwang, Choi, ve Hwang, 2006; Hsieh vd., 2010; Kobayashi vd., 2008; Lu, Gao, Zheng ve Han, 2009; Yun vd., 2010; Yoshida vd., 2010; Yang vd., 2009). Hormonlar ve şeker sinyalizasyonu, ışık tepkileri, patojen savunma ve ozmotik etkiler gibi biyolojik süreçlerde stres mekanizmalarını düzenlemesi nedeniyle bZIP gen ailesi birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Bu nedenle *Arabidopsis*'de 75 bZIP transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Jakoby vd., (2002)”, çeltikte 89 bZIP transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Nijhawan vd., (2008)”, soya'da 131 bZIP transkripsiyon faktörü

kodlayan gen “Liao vd., (2008)”, havuç’da A grubu 10 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Guan vd., (2009)”, Sorgum’da en az 92 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Wang vd., (2011)”, mısır bitkisinde 170 farklı *bZIP* proteinini kodlayan mısır genomunda bulunan 125 *bZIP* geni “Wei vd., (2012)”, salatalık bitkisinde 64 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Baloglu vd., (2014)”, hint yağı bitkisinde 49 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen”, Jin, Xu ve Liu vd., (2014)”, asma bitkisinde 55 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Liu vd., (2014), *Brachypodium*’da 96 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Liu ve chu, (2015)”, domates bitkisinde 69 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Li, Fu, Zhang, ve Song, (2015)”, arpa bitkisinde 89 gen tarafından kodlanan 141 *bZIP* proteini “Pourabed vd., (2015)”, baklagiller grubundan karayonca bitkisinde 65 *bZIP*, fasulye bitkisinde 72 *bZIP*, nohut bitkisinde 59 *bZIP*, güvercin bezelyesi bitkisinde 61 *bZIP*, ayrıca *Lotus japonicus* bitkisinde 33 *bZIP* “Wang vd., (2015)”, çiçek elması “Li vd., (2016)”, *Brassica*’da 136 *bZIP* “Bai vd., (2016)” ve manyok bitkisinde 77 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen “Hu vd., (2016)” bitki genomlarında tanımlanarak bitki türlerinde *bZIP* ailesinin çoğu üyesinin analizi yapılmıştır.

Son yıllarda, Cucurbitaceae familyasındaki salatalık “Huang vd., 2009”, kavun “Garcia-Mas vd., 2012”, karpuz “Guo vd., 2013” bitkilerine ait genom dizileri tamamlanmıştır. Ayrıca Cucurbitaceae familyası, cinsiyet tayini ve bitki vasküler biyoloji çalışmaları için önemli bir modeldir (Lucas, 2006). Bu familya üyelerinin genom dizilerinin tamamlanması, aynı zamanda önemli gen ailelerinin gizemini de çözer. Buna rağmen bazı transkripsiyon faktörü ailelerinin tanımlanması ve karakterizasyonu hakkında yeterli bilgiye ulaşılamamıştır. Salatalıkla ilgili yapılmış olan *bZIP* genom tanımlama çalışmasında salatalıkta *bZIP* ailesinin ekspresyon analizi çıkarılmıştır (Baloglu vd., 2014).

Salatalık genomunda ise 64 *bZIP* transkripsiyon faktörü kodlayan gen tespit edilmiştir. Kodlanmış proteinlerinin yapısal özellikleri baz alınarak, salatalık *bZIP* proteinleri 6 gruba ayrılmıştır. Salatalık *bZIP* genleri (*CsbZIP*) temel olarak, tandem duplikasyon yerine segmental duplikasyon ile çoğaltılmıştır. *CsbZIP* genlerinin segmental çoğalma oranı, *Arabidopsis*, pirinç ve sorgum bitkilerinden daha düşük

olmasına rağmen, ortak bir duplikasyon mekanizması olduğu gözlenmiştir. Diğer türlerle karşılaştırıldığında bazı ortolog ve kromozomal ilişkilerde yeniden yapılanmalar gözlenmiştir. *bZIP* genlerinin genom seviyesindeki ekspresyon analizi incelendiğinde, belirlenen 64 adet *CsbZIP* geninin on dokudan en az birinde farklı şekilde ifade edildiği tespit edilmiştir. Toplam 4 *CsbZIP* geni yaprak, çiçek ve kök dokularında diğerlerine oranla ekspresyon seviyesinde daha yüksek artış göstermiştir. Mikro-RNA (miRNA) ve hedef transkript analizlerinde toplam 21 *CsbZIP* geninin 38 bitki miRNA'sı tarafından hedef alındığı belirlenmiştir. *CsbZIP20* ve *CsbZIP22* geni, sırasıyla miR165 ve miR166 aile üyeleri tarafından en çok hedeflenen genlerdir (Baloğlu vd., 2014).

Glycine max, *Medicago truncatula*, *Phaseolus vulgaris*, *Cicer arietinum*, *Cajanus cajan* ve *Lotus japonicus* baklagil grubunda 585 farklı proteini kodlayan 428 *bZIP* geni tanımlanmıştır. Baklagil grubuna ait *bZIP* genleri, *Arabidopsis*'e ait genlerle kıyaslandığında filogenetik ilişkilerine göre 11 farklı gruba ayrılmıştır. Baklagil grubuna ait sırasıyla 138 *GmbZIP*, 65 *MtbZIP*, 72 *PvbZIP*, 59 *CabZIP*, 61 *CcbZIP* ve 33 *LjbZIP* genini kodlayan 241, 99, 92, 59, 61 ve 33 ayrı protein baklagil gruplarına ait genomlarda tanımlanmıştır (Li vd., 2016).

Cucurbitaceae familyasına ait türlerin genomlarında yer alan *bZIP* gen ailesinin belirlenebilmesi için karpuzda yapılan çalışmalar ile *bZIP* genlerinin tanımlanması büyük önem arz etmektedir. Çalışmamızda ise bu amaçla, karpuz genomunda *bZIP* transkripsiyon faktörüne ait genler araştırıldıktan sonra yapılan analizlerle genomda yer alan *bZIP* genlerinin yerleri belirlenmiştir. Sonrasında bu genler, motif tanımlama, filogenetik sınıflandırma, duplikasyon, hedef miRNA tahmini ve farklı bitki türlerinde ortologların belirlenmesi için analiz edilmiştir. Ayrıca farklı doku ve durumlardaki ekspresyon analizi hem RNA sekans verileriyle hem de gerçek zamanlı PZR ile incelenmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Deneyde Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

Asetik Asit (Glasiyal Asit, Merck)

Agaroz (Applchem, Almanya)

EDTA (Applchem, Almanya)

Etanol (Kimetsan, Türkiye)

Hoagland (Phyto Technology Laboratories, ABD)

İzopropanol (Applchem, Almanya)

Kloroform (Applchem, Almanya)

Light cycler 480 SYBR Green I kiti (Roche, ABD)

Nükleik Asit Boyama Solüsyonu-Jel Boyası (Intron Biotechnology)

Polietilen Glikol 6000 (Applchem, Almanya)

Revertaid first strand cDNA synthesis kit (Thermo Scientific, Litvanya)

RNase zap (Ambion, ABD)

Sıvı azot

Trizol Reagent (Ambion, ABD)

PZR reaksiyon tüpü (Greiner bio-one, ABD)

Tris (Applchem, Almanya)

3.1.2. Deneyde Yararlanılan Cihaz ve Aletler

Buz makinesi (Hoshizaki, Europe Limited)

Derin Dondurucu -82 °C (Glacier Nuaire Nu-9668E, Meksika)

Derin Dondurucu -20 °C, Buzdolabı +4 °C (Arçelik 4252N, Türkiye)

Distile Su Cihazı (Protek Lab, Türkiye)

Elektroforez (Thermo Scientific EC1000XL2 ve EC300XL2, ABD)

Hassas Terazı (Presica 350-8519, İsviçre)

Jel görüntüleme sistemi ECX-F20.M (Vilber lourmat, Fransa)

Jel görüntüleme sistemi Quantum ST5 (Vilber Lourmat, Fransa)
Light cyclers 480 II (Roche, ABD)
Manyetik Karıştırıcı (Wisd Laboratory MSH-20A, Kore)
Mikrodalga Fırın (Arçelik, Türkiye)
Mikropipet (Thermo, ABD)
Mikrosantrifüj (N2631-0007 Star Lab, Kore)
Multipurpose Vorteks (Wisd Laboratory Instruments, Kore)
Phmetre (Jenco Quality Instruments, Çin)
Realtime PCR (Roche Light Cycler 480 II, Almanya)
Spektrofotometre Nano Drop (Thermo Sci. Multiskan go, Finlandiya)
Soğutmalı Santrifüj (Hetrich Micro 220/220R, Almanya)
Steril kabin Class II (Tezsan)
Test kabini TK252 (Nüve, Türkiye)
Thermal Cycler Isı bloğu (Thermo, ABD)
Thermo-Shaker (Biosan Ts-100, Letonya)
UV Table Manuel (Prizma, Fransa)
UV Fırın (LG Solar Dom, Kore)

3.1.3. Bitki Materyali

Yapılan analizler için, Crisby karpuz tohumları Monsanto Gıda ve Tarım Tic. Ltd. Şti. (Antalya)'den temin edilmiştir. Kastamonu Üniversitesi bünyesindeki Genetik ve Biyomühendislik Laboratuvarı'nda mevcut çimlendirme kabininde karpuz tohumlarının çimlenmesi sağlanarak, bitkilerin gerekli zamanda gelişmeleri ve sonrasında gelişen bitkilere stres uygulaması yapılmıştır.

Kuraklık stresi durumunu taklit etmek için %10 polietilen glikol 6000 (PEG-6000) hazırlanarak Hoagland çözeltisine (Tablo 3.1) eklenmiştir (Hoagland ve Arnon, 1950). Sonrasında, sıfır, üçüncü, on ikinci ve yirmi dördüncü saatlerde dokulara özgü *bZIP* gen ekspresyonlarını tespit etmek için yetiştirilen bitkilerin kök ve yapraklarından üçer adet numune alınıp, sıvı nitrojen içerisinde dondurularak deneyde kullanılmak üzere saklanmıştır.

Tablo 3.1. Hoagland çözeltisinin kimyasal içeriği

Kimyasal içerik	mg/L
Amonyum fosfat	115,03
Borik asit	2,86
Kalsiyum nitrat	656,4
Bakır Sulfat, Pentahidrat	0,08
EDTA, Disodyum Salt	3,35
Demir Sulfat, Heptahidrat	2,50
Magnezyum Sulfat, Anhydrous	240,76
Manganez klorür, Tetrahidrat	1,81
Molibden trioksit	0,016
Potasyum nitrat	606,6
Çinko Sülfat, Heptahidrat	0,22

3.2. Yöntem

3.2.1. Karpuz bitkisinde *bZIP* Genlerinin Biyoinformatik Analizleri

Her geçen gün gelişerek yenilenen teknoloji ile beraber biyoloji alanında çalışanlar için oldukça kolaylık sağlayan ve daha genç bir bilim dalı olan biyoinformatik alanındaki bilgiler de son dönemlerde oldukça hızlı bir şekilde zenginleşmeye devam etmektedir. Biyoinformatik metodlar ile canlıların sahip oldukları gen dizilimlerinin oluşturulması, verilerin analizlerinin yapılması, depolanması, konformasyon yapılarının planlanması ve tüm bu bilgilerin bilgisayar bağlantıları aracılığı ile ortak kullanıma sunulması sağlanmaktadır (Luscombe, vd., 2001).

Biyoinformatik araştırma ve incelemelerin yapılabilmesi için ilk başta *Citrillus lanatus* genomunda bulunan *bZIP* genlerinin tespiti yapılarak protein ve mRNA dizileri belirlenmelidir.

Citrillus lanatus'da *bZIP* genlerinin tespiti 3 aşamada yapılmıştır.

1. Plant Transcription Factor Database kullanılarak (*Arabidopsis thaliana*, *Gossypium hirsutum*, *Oryza sativa*, *Glycine max*, *Sorghum bicolor*, *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Pisum sativum*, *Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Brassica napus*, *Medicago truncatula*, *Nicotiana tabacum*, *Vitis vinifera*) bZIP protein dizileri elde edilmiştir.
2. Protein dizileri tespit edilen bitkiler Cucurbit Genomics veri tabanı (URL-11, 2013) yardımıyla bu bitkilerdeki benzer dizilerle kıyaslanıp, oluşturulan dizilerin korunmuş olan kısımlarına göre analizlere katılmıştır.
3. Araştırmaya katılan her dizinin korunmuş bölgelerinin Pfam (URL-9, 2014) veri tabanı yardımı ile sağlaması yapılmıştır.

Belirlenen karpuzda ait *bZIP* proteinlerinin ProtParam Tool (URL-13, 2012) veri tabanı yardımı ile izoelektronik tesir değeri (pI), moleküler ağırlıkları ve değişkenlik özellikleri hesaplanarak Ek 1'de verilmiştir (Çelik Altunoğlu vd., 2017; Çelik Altunoğlu vd., 2016; Kavas vd., 2016; Yer vd., 2015; Baloglu vd., 2014; Jin vd., 2014).

3.2.2. Karpuzdaki *bZIP* Genlerinin Lokasyon Tespiti, Genetik Morfolojisinin Tahmini Ve Kromozom Üzerindeki Dağılımlarının Hesaplanması

Karpuzda bulunan *bZIP* proteinlerinin üretiminden sorumlu genlerin kromozom üzerindeki lokasyonlarının tespiti ile tandem ve segmental duplikasyonlarının belirlenmesinde Cucurbit Genomics veri tabanından (URL-11, 2013) yararlanılmıştır. Genler sırasıyla artan onbir karpuz kromozomu üzerinde eşlenmiştir ve MapChart ile gösterilmiştir (Voorrips, 2002). Gen yapı analizleri, Gene Structure Display Server v2.0 (gsds.cbi.pku.edu.cn) kullanılarak yapılmıştır (Hu vd., 2008). Plant Genome Duplication Database kullanılarak *bZIP* genlerinin genom içerisinde ve genomlar arasındaki ilişkileri keşfedilmiştir (Tang vd., 2008).

3.2.3. Filogenetik Analizler, Dizi Hizalanması ve Mevcut Korunmuş Motiflerin Tespiti

Karpuz genomunda bulunan *bZIP* genlerinin aminoasit dizileri, MEGA7 programına (Tamura vd., 2011) yüklenmiştir. Sırasıyla ClustalW programında çoklu dizi hizalaması yapılmıştır (Kumar vd., 2016). Belirlenen dizi hizalama dosyaları Maximum Likelihood (ML) yöntemi kullanılarak filogenetik ağaç (Saitou ve Nei, 1987) oluşturulmuştur (Bailey vd., 2009). Protein dizileri içerisinde muhafaza edilmiş kısa bölgelere motif denir (Tanyolaç vd., 2012). Protein dizi motiflerinin çıkarılmasında ise MEME (URL-14, 2017) DNA motif arama aracından (Bailey ve Elkan, 1994) yararlanılmıştır. Arama sırasında maksimum motif genişliği ≤ 10 ve $\geq 0,1$ olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan MEME motifleri, InterProScan ile InterPro veri tabanına yüklenerek taratılmıştır (Quevillon vd., 2005). Bu sayede korunmuş motifler tespit edilmiştir.

3.2.4. *bZIP* Genlerine Ait Gen Ontoloji Analizlerinin Yapılması

Citrillus lanatus’da yer alan *bZIP* gen ailelerinin işlevselliklerini incelenebilmesi için Blast2GO (URL-15, 2015) bilgisayar uygulamasına belirlenen proteinlere ait aminoasit dizileri (Conesa ve Götz, 2008) aktarılmıştır. Blast2GO uygulaması vasıtasıyla GO sınıflandırmasının üç kategorisi olan tahmini biyolojik fonksiyonlar, hücresel yerleşim ve moleküler işlevler belirlenmiştir.

3.2.5. Karpuz Bitkisinde Yer Alan *bZIP* Proteinlerinin Farklı Türler İle Karşılaştırmasının Yapılarak Fiziksel Haritaların Oluşturulması

Karpuz bitkisi ile diğer türlere ait *bZIP* proteinleri arasındaki ortolog ilişkilerin belirlenmesinde BlastP programı vasıtasıyla karpuz *bZIP* proteinlerinin aminoasit dizileri ile *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Glycine max*, *Populus trichocarpa*, *Cucumis sativus*, *Vitis vinifera*, *Zea mays* ve *Cucumis melo* peptid dizileri karşılaştırılmıştır. Phytozome veri tabanından (URL-16, 2015) ulaşılan veriler arasından E-değeri $\leq 1e-5$ ve minimum %50 benzerlik sağlayanlar anlamlı olarak kabul edilmiştir. Karpuz bitkisi ile *Oryza sativa*, *Glycine max*, *Populus trichocarpa*, *Cucumis sativus*, *Vitis vinifera*, *Zea mays* ve *Cucumis melo* bitkilerinin

kromozomlarında yer alan *bZIP* genleri arasındaki ortolog ilişkiler, MapChart programı ile hazırlanarak görselleri Ek 9’da verilmiştir.

3.2.6. Karpuz *bZIP* Genlerinin Homolog ve Homolog Olmayan Farklılaşma Oranlarının Belirlenmesi

Karpuz bitkisine ait *bZIP* gen ailelerinde duplikasyon yapmış proteinlerin kodlanmasından sorumlu aminoasit dizileri ile *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Glycine max*, *Populus trichocarpa*, *Cucumis sativus*, *Vitis vinifera*, *Zea mays* ve *Cucumis melo* bitkileri arasındaki ortolog gen çiftleri CLUSTALW (URL-17, 2015) veri tabanlı çoklu dizi hizalama programından faydalanılarak hizalanmıştır.

bZIP genlerine ait aminoasit dizileri ile orjinal komplementer DNA dizilerinin hizalanması metoduyla homolog (Ks) ve homolog olmayan (Ka) değişim oranlarının hesaplanmasında CODEML (URL-18, 2006) sunucusundan (Suyama vd., 2006) yararlanılmıştır.

Karpuz genomunda bulunan *bZIP* genlerine ait duplikasyonlar ile ayrılma zamanları Ek 6’da (MYÖ: Milyonlarca Yıl Önce), λ farklılaşmalarının her homolog bölge ve her yıla karşılık homolog mutasyon oranı denklemi (3.1) aracılığı ile bulunmuştur (Lynch ve Conery, 2000; Yang vd., 2008).

$$T = \frac{Ks}{2\lambda} \quad (\lambda = 6,5 \times 10^{-9}) \quad (3.1)$$

3.2.7. *bZIP* Genlerini Hedef Alan miRNA’ ların Tanımlanması

MIR denilen endojen genler aracılığı ile kodlanan birçok miRNA, farklı bitki türlerine ait genomda yer alan korunmuş genlerden oluşur (Nozawa et al. 2012; Çoruh et al. 2014; Pekmezci, 2015). *bZIP* genlerinde miRNA denetlemesi, işlevi ve hedef alınan genlerin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla daha önce tespit edilmiş olan bitki türlerine ait miRNA öncülleri, miRBase v21 (URL-19, 2014) veri tabanı yardımıyla elde edilmiştir.

İnternet veri tabanlı psRNA Target Server (URL-21, 2011) vasıtasıyla daha önce tespiti yapılmış bütün bitki miRNA'ları ile *Citrillus lanatus bZIP* gen transkriptleri hizalanıp, olabilecek bütün bitki türleri ile *Citrillus lanatus* ait miRNA'larının tespiti sağlanmıştır.

2005 senesinde Zhang'ın yapmış olduğu çalışmada belirlenen değerler kullanılarak tespiti yapılmış bütün bitki miRNA'ları ile bu miRNA'ların olası hedefleri değerlendirilmiştir. Bu miRNA hedeflerinin sağlamasını yapmak amacı ile olası gen homologlarını tespit etmek için çalışmalar BLASTX taraması ile gerçekleştirilmiştir. BLASTX taraması, nükleotid dizisini dönüştürerek bir protein veri tabanına karşı karşılaştırma yapmaktadır (Tanyolaç vd., 2012).

3.2.8. bZIP Proteinlerine ait Homoloji Modellemelerinin Yapılması

Bir biyoinformatik çalışma yöntemi olan homoloji modellemesinde, modellemesi yapılacak protein dizi benzerliğine sahip şablon bir yapı oluşturarak modellenir (Hansen, 2004; Çatık 2008). Homoloji modellemesinde temel prensip, çözünmüş yapılar arasında yeterli farklılık sağlayarak diğer yapıların modellemesi yapılır. Proteinlerin şablonla ilişkilendirilemediği zaman araştırmacılar daha kesin sonuçlara ulaşabilmek için dizin hizalamasının olabildiğince doğru biçimde uygulanması gerektiği sonucuna ulaşmıştır (Zhang ve Skolnick, 2005; Çatık 2008). Homoloji modellemesi, bir proteinin üç boyutlu (3D) şeklinin, yapısal çözümlemesi yapılmış olan bir ya da birkaç protein yapısı üzerinden analiz edilmesi işlemidir. Bu yöntemle oluşturulan modeller, dizilerin birbirlerine benzerliğiyle alakalıdır (Baxevanis, 1998; Çatık, 2008).

BLASTP programından yararlanılarak karpuzda bulunan *bZIP* genlerindeki benzer gen dizilerine sahip ve üç boyutlu şekli bilinen en iyi örneğin teşhisinde Protein Data Bank'da (PDB) (Berman vd., 2000) tarama yapılmıştır. BlastP taramasında aminoasit dizisinin bir protein veri tabanına göre karşılaştırması gerçekleştirilmiştir (Tanyolaç vd., 2012).

Phyre2 (URL-22, 2009) programı kullanılarak homoloji modellemesi aracılığı ile proteinlerin üç boyutlu yapı tahminleri gerçekleştirilmiştir (Kelley ve Sternberg, 2009).

3.2.9. *bZIP* Genlerine Ait Ekspresyon Profilinin Transkriptom Verilerinden Yararlanılarak Yapılması

RNA-Seq çalışmalarının yapıldığı sırada Illumina HiSeq okumalarının tamamı, açık bir veri bankası arşivinden (SRA, Sequence Read Archive) çıkarılmıştır. *Citrillus lanatus* için yararlanılacak olan okumaların erişim kodları Tablo 3.2 'de verilmiştir.

Tablo 3.2. *bZIP* genleri üzerine yapılan transkriptom analizi için yararlanılacak okumaların giriş numaraları

Giriş numarası	Açıklaması
SRR1724899	(Döllenmeden sonra 10. günde toplanmış meyve)
SRR1724900	(Döllenmeden sonra 18. günde toplanmış meyve)
SRR1724901	(Döllenmeden sonra 26. günde toplanmış meyve)
SRR1724902	(Döllenmeden sonra 34. günde toplanmış meyve)
SRR1724903	(Döllenmeden sonra 42. günde toplanmış meyve)
SRR1724943	(Döllenmeden sonra 50. günde toplanmış meyve)
WM-UR-1/SRR1001435	(10 günlük beyaz meyve)
WM-UR-2/SRR1001436	(10 günlük beyaz meyve)
WM-IM-1/SRR1001437	(18 günlük açık pembe meyve)
WM-IM-2/SRR1001438	(18 günlük açık pembe meyve)
WM-PM-1/SRR1001439	(28 günlük Pembe meyve)
WM-PM-2/SRR1001440	(28 günlük Pembe meyve)
WM-MA-1/SRR1001441	(34 günlük Olgun Kırmızı meyve)
WM-MA-2/SRR1001442	(34 günlük Olgun Kırmızı meyve)
SRR494474	(WMN- Floem1)
SRR518988	(WMN- Floem 2)
SRR518988	(WMN- Floem 3)

Tablo 3.2. 'nin devamı

SRR494479	(WMN- Vasküler doku)
SRR518992	(WMN- Vasküler doku 2)
SRR518993	(WMN- Vasküler doku 3)

Tüm okumalar, “fastq” formatına dönüştürülen ham veriler “.sra” formatında NCBI SRA Toolkit's fastq-dump komutu ile yüklenmiştir. CLC Genomics Workbench 7.5 programı kullanılarak skor değeri 20’den düşük kalitesiz okumalar (Phred quality Q) ayrıldıktan sonra düzgün bütün okumalara her baz için dizi kalitesi, kalite skoru, baz nükleotid içeriği ve dizi duplikasyon seviyeleri açısından okuma kalitelerinin denetlenebilmesi için FastQC analizi yapılmıştır. Veri tabanlarının sürekli olarak yenilenmesi nedeniyle araştırma sırasında karpuz ile alakalı RNA-seq verilerinden yeni yüklenenler denetlenerek analizlere katılmıştır (Çelik Altunoğlu vd., 2017).

RNA-Seq analizi için, CLC Genomics Workbench 7.5 programı kullanılmıştır. Benzersiz harita okumaları normalleştirilerek, standart hale getirilmiştir ve kilobaz başına eşleşen ekson modelinin saniyede bir milyon okuma (RPKM) ile gen ifade profili hesaplanmıştır. Farklı ifade edilen *bZIP* genlerinin tanımlanması için, bir FDR-değer ≤ 0.001 , kıvrım değişimi (RPKM-tr/RPKM-cont) ≥ 2 ve LOG2 (rpkm-TR/rpkm-cont) ≥ 1 mutlak oranı eşik değerleri olarak kullanılmıştır (Kavas vd., 2016). Son olarak, hiyerarşik kümelendirmenin ısı haritaları PermutMatrix programı yardımıyla görsel hale getirilmiştir (Caraux, Pinloche, 2005).

3.2.10. Karpuz Bitkisinin Yetiştirilme Şartları ve Stres Verilmesi

Analizlerde kullanılmak üzere Crisby karpuz tohumları Monsanto Gıda ve Tarım Tic. Ltd. Şti. (Antalya) aracılığı ile sağlanmıştır. Elde edilen karpuz tohumları üçer defa distile sudan geçirildikten sonra vermikülitlerle doldurulan plastik saksılara dikilmiştir. Hazırlanan saksılar, üniversite bünyesindeki Genetik ve Biyomühendislik Laboratuvarı’nda yer alan çimlendirme kabini içerisinde çimlendirilerek, gerekli zamanda gelişmeleri sağlanmıştır. Hazırlanan saksılar bitki büyütme kabini içerisinde Hoagland solüsyonu (Hoagland ve Arnon, 1950) içeren kültür ortamında 24 ± 2 °C sıcaklık, 16 saat ışıklı ve 8 saat karanlık fotoperiyotta $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

ışık şiddetinde 1 ay süresince büyütülmüştür. Büyüyen karpuz numuneleri Fotoğraf 3.1 ve 3.2’te resmedilmiştir.



Fotoğraf 3.1. Karpuzların Hoagland çözeltisi ile sulanmasının 7. günü



Fotoğraf 3.2. Karpuzların Hoagland çözeltisi ile sulanmasının 22. günü

Citrillus lanatus’da kuraklık stresi oluşturulabilmek amacıyla Hoagland solüsyonu ile %10’luk polietilen glikol 6000 (PEG-6000) çözeltisi hazırlanarak bitkilere verilmiştir.

PEG 6000 solüsyonu, bitkilerde kuraklık stresi etkisine yol açmaktadır. PEG 6000 bitkilerin çözünen potansiyelini (Ψ_s) arttırarak, suyun bitki kökleri aracılığıyla absorpsiyonuna mani olan, nüfuz etmeyen ozmatik bir ajan gibi davranarak bitkilerde kuraklık stresi etkisine yol açmaktadır. *In vitro* şartlarda büyütülen bitkilerde kuraklığa dayanıklı genotiplerin tespiti için oldukça sık kullanılan güvenilir bir içeriiktir (Chezen vd., 1995; Jiang vd., 1995).

Gen ifade analizinde kullanılacak olan bitkiler 4 ile 5 hafta gibi bir sürede büyütölmüştür. Yetiştirilen kontrol bitkisinden RNA izolasyonu için kök ve yapraklardan numuneler alınmış, diğör saksılardaki bitkiler için stres uygulamasında 1., 3., 6. ve 12. saatlerinde bitkilere PEG 6000 verilerek örnekleme yapılmıştır. Sonrasında morfolojik yapıları göz önüne alınarak Baloğlu vd. (2014)'nin salatalık bitkisi ile yapılmış deney parametreleri uygulanmıştır.

Kontrol bitkileri ve strese maruz kalmış bitkiler, bitki büyütme kabininde eş şartlar altında beraber büyütölmüştür. 0'ıncı saat örneklerinden kontrol olarak yararlanılmıştır. Büyüyen bitkilerin kök ve yapraklarından örnekler ayrı ayrı alınarak doku spesifik ifade analizinde kullanılmıştır.

Yetiştirilen bitki doku örneklerinden ayrı ayrı üçer adet numune alınarak sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Dondurulan numuneler -80°C'de muhafaza edilerek spesifik gen ifade analizleri için saklanmıştır.

3.2.11. Kullanılan Moleküler Genetik Metodları

3.2.11.1 RNA izolasyonu

Total RNA izolasyonu Trizol solüsyonu kullanılarak hazırlanmıştır. İzolasyonlarda Ünver'in 2009'da belirtmiş olduğı parametrelerden yararlanılmıştır (Ünver ve Budak, 2009).

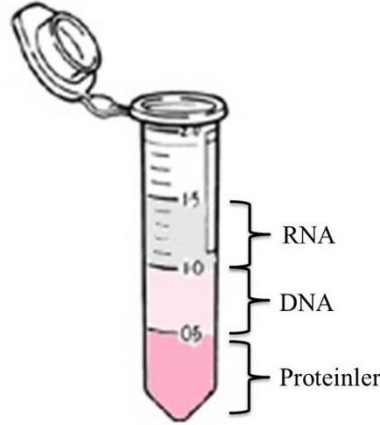
Saflaştırma işlemi

Çimlendirme kabinde yetiştirilen karpuz bitkisinin yaprak ve kökleri toplanmıştır. Toplanan numuneler sıvı azot içerisinde ayrı ayrı ezilerek parçalanmıştır. Parçalanmış örnekler 100 mg'lık olarak 2 ml'lik steril tüplere doldurulmuştur. Daha sonra 1 ml Trizol reaktifi ilave edilerek homojenizasyonu sağlanmıştır.

Faz ayırımının gerçekleştirilmesi

Homojenize olmuş numunelerin nükleoprotein komplekslerinin iyice ayrıştırılması için oda sıcaklığında 5 dk bekletilerek üstüne her 1 ml Trizol reaktifine karşılık 0,2 ml kloroform denk gelecek şekilde ilave edilmiştir.

Tüplerin kapakları dikkatli bir şekilde kapatılarak 15-20 sn boyunca sert şekilde çalkalanmıştır. Daha sonra 2-3 dk boyunca oda sıcaklığında tutulup 20 dk boyunca 4°C'de 15.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrasında tüp içerisinde üç fazlı bir yapı gözlemlenmektedir (Şekil 3.1). Tüp içerisindeki en üst fazda RNA, ortada DNA ve en alt fazda da proteinler yer almaktadır.



Şekil 3.1. RNA izolasyonu sonrası oluşan faz ayrımı (URL-23, 2016)

RNA'nın çöktürülmesi işlemi

Yeni tüpe yerleştirilen RNA'yı çöktürmek için izopropil alkol ilave edilmiştir. Kullanılan izopropil alkol miktarı homojenizasyon işleminde eklenen Trizol reaktif miktarının yarısı kadardır. Daha sonra numuneler oda sıcaklığında 10 dk tutulduktan sonra +4°C' de 15 000 rpm' de 10 dk kadar santrifuj edilmiştir. Oluşan RNA

çökeltisi %75'lik etanol ile yıkanmıştır. Her tüpe ilave edilen Trizol reaktifi miktarı kadar etanol tüplere ilave edilerek vortekslenmiştir. Vorteksleme işlemi bitiminde tüpler +4°C'de 5 dk süre ile 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Oluşan RNA çökeltisi oda sıcaklığında bırakılarak yaklaşık 8-10 dk'lık bir sürede kuruması sağlanmıştır. Kurutulan RNA'nın 30 µl steril su ile çözünmesini sağlamak için 10 dk süresince 55-60°C' de tutulmuştur. Çözünen RNA'lar deneylerde kullanılmak amacıyla -80°C' de muhafaza edilmiştir.

Saflaştırılan RNA'nın, agaroz jel elektroforezi ve spektrofotometre (Thermo Sci. Multi Scan Go, ABD) cihazı yardımıyla kalite ve dayanıklılığı denetlenmiştir. Elde edilen RNA'nın saflığının A260/A280 oranının 1,9 – 2,1 değerleri arasında olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.2.11.2. DNaz uygulaması

Oluşan RNA örneklerinin kalitesi tespit edilip yoğunluk ölçümü yapıldıktan sonra, numuneler içerisindeki tek ve çift zincirli DNA fragmentlerini ayrıştırmak için DNazI enziminden yararlanılmıştır. Tablo 3.3'te bulunan veriler baz alınarak reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

Tablo 3.3. RNA örneklerinin DNaz enzimi ile muamelesinde reaksiyon bileşenleri

Bileşenler	Miktar
RNA örnekleri	1 µg
10X Reaksiyon tampon	1 µl
MgCl ₂	1 µl
DNaz I enzimi	1 µl (1u)
DEPC ile muamele edilmiş su	10 µl tamamlanır.
37°C'de 30 dk inkübasyona bırakılır.	
50 mM EDTA	1 µl eklenir
65°C'de 10 dk inkübasyona bırakılır.	

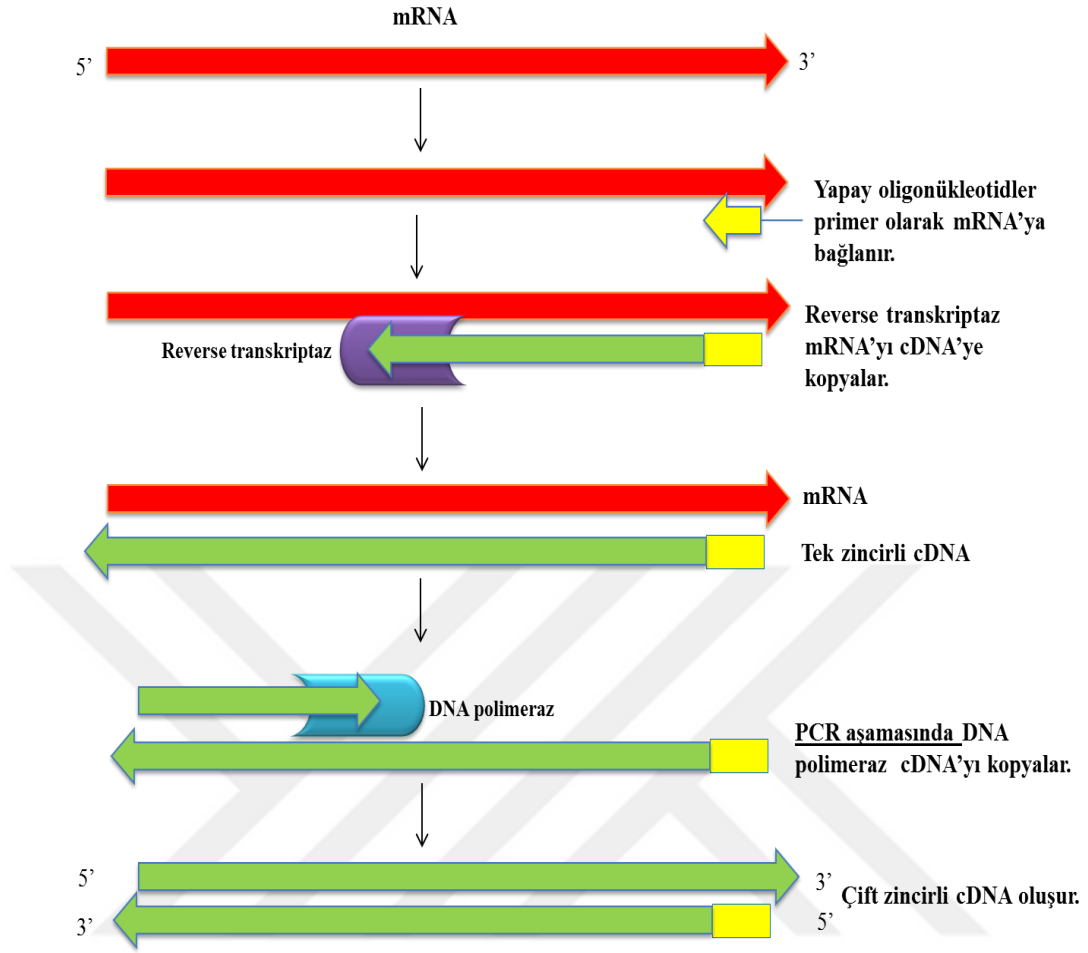
Reaksiyonlar tamamlandıktan sonra oluşan RNA'nın konsantrasyonu belirlenerek elde edilen değerlerle cDNA sentezi aşamasına geçilmiştir.

% 0,1'lik DEPC su hazırlama

1 ml DEPC 1000 ml distile suda çözüldükten sonra oda sıcaklığında 12 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonrasında 121°C 'da 20 dk otoklavlanmıştır. Hazırlanan DEPC'li su reaksiyondan bir gün önce sterilize edilmiştir. Hazırlanan DEPC'li su RNaz enzimi içerisinde bulunan özgül amino asitlerin R gruplarında karboksiasetilasyona yol açarak bu proteini etkisiz hale getirir, bu sayede reaksiyon sırasında kullanılan DEPC'li su ile kullanılacak su ve solüsyonlar RNaz'dan temizlenmiş olur (URL-27, 2018).

3.2.11.3.Komplementer DNA (cDNA) sentezi

mRNA'nın reverse transkriptaz enzimiyle etkileşimi neticesinde DNA kopyasının oluşturulması işlemi sonucu cDNA'nın sentezlenmesi gerçekleştirilir. mRNA'ya primer olarak bağlanan sentetik oligonükleotitler tek zincirli cDNA'yı meydana getirirler. PZR aşamasında ortama katılan DNA polimeraz ile cDNA'yı kopyalayarak, çift zincirli forma geçiş yapılır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. mRNA'dan cDNA sentezlenme basamakları (Tobin ve Dusheck, 2001)

cDNA sentezinin birinci adımında Tablo 3.4 'de yer alan değerlerden yararlanılarak nükleaz içermeyen steril tüplerde reaksiyon her numune için ayrı hazırlanmıştır.

Tablo 3.4. cDNA sentezinde I. basamakta kullanılan reaksiyon bileşenleri

Bileşenler	Miktar
Total RNA	1 ile 5 µg arasında
Oligo dT primer	1 µl 50 pmol/µl
RNAze içermeyen su	Toplam hacim 12 µl olacak şekilde ayarlandı.

Reaksiyon hazırlıklarının tamamı buz ve soğuk blok üzerinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımının hazırlanması sonrası 65°C'da 5 dk bekletilerek RNA'nın sekonder yapısının denatüre olması sağlanmıştır. Daha sonra RNA örneği buz

içerisine alınarak primerlerin bağlanması sağlanmıştır. cDNA sentezinin 2 adımında Tablo 3.5’de yer alan reaksiyon bileşenleri daha önce hazırlanan 12 µl’lik karışımımıza eklenmiştir. Real time (gerçek zamanlı, RT) PZR reaksiyonunda numuneler 42°C’da 1 saat tutularak uzama gerçekleştirilmiş ve 70°C’da 5dk tutularak da enzimlerin aktivasyonları bloke edilerek inkübasyona bırakılmıştır.

Tablo 3.5. *cDNA sentezinde II. basamakta kullanılan reaksiyon bileşenleri*

Bileşenler	Miktar
5X Reaksiyon tamponu	4 µl
RiboLock RNase inhibitör	1 µl
10 mM dNTP karışımı	2 µl
Revertaid M-MuLV RT	1 µl
Toplam karışım 20 µl olacak şekilde hazırlandı.	

Tek zincirli cDNA’ya ait primerlerin PZR’de uygun sıcaklıkta DNA polimeraz aracılığı ile çoğaltılmasıyla çift zincir oluşur. Agaroz jelde yürütülerek ve Multi Scan Go cihazından yararlanılarak meydana gelen çift zincirli cDNA’ların kalite ve miktarları tespit edilmiştir. Elde edilen cDNA’ların muhafazası, gerçek zamanlı PZR reaksiyonu yapılana kadar -20°C’de gerçekleştirilmiştir.

3.2.11.4. Primer tasarlama

PZR ve gerçek zamanlı PZR (RT-PZR) çalışmasında transkriptom veri değerlerine göre karpuz bitkisine ait, beş adet *bZIP* geni saptanarak, bu genlere spesifik primerler Primer5 programı kullanılarak tasarlanmıştır. Tasarlanan primerlerin dizileri, bağlanma sıcaklıkları ve PZR reaksiyonu sonucu oluşacak ampikonların boyutları Tablo 3.6’da gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada internal kontrol geni olarak 18S rRNA geninden yararlanılmıştır (GenBank ID:X51542.1) (Baloğlu vd., 2014).

Tablo 3.6. Gerçek Zamanlı PZR çalışmasında kullanılan primer dizileri

Primer (5'→3')	Sekans	Bağlanma sıcaklığı (Tm)	Primer uzunluğu
<i>ClabZIP 11</i> İleri Primer	GAAGAAAAAGGCGAGGGCTG	59,48°C	225 bç
<i>ClabZIP 11</i> Geri Primer	CCCGGCACATTTTGATTGGG	60,11°C	
<i>ClabZIP 15</i> İleri Primer	ATTCGGTGCGGACTACTGTC	59,83°C	214 bç
<i>ClabZIP 15</i> Geri Primer	ATCTGCTCGGGATTTCTGCC	60,18°C	
<i>ClabZIP 50</i> İleri Primer	AGGACTTCCCTCTGGCTTCT	59,88°C	223 bç
<i>ClabZIP 50</i> Geri Primer	GAACACGTCCGACTTAGCCA	60,04°C	
<i>ClabZIP 55</i> İleri Primer	CGGCAGAAGGGATGGATTGG	60,82°C	199 bç
<i>ClabZIP 55</i> Geri Primer	AGCTGTCTTCGTTTCCGTCC	60,32°C	
<i>ClabZIP 57</i> İleri Primer	TTTGGTTAGTGGGCACCGTT	60,11°C	193 bç
<i>ClabZIP 57</i> Geri Primer	ATCCTTGTTCTCGCCGCTTT	60,32°C	
18SrRNA geni primer dizileri (GenBank ID:X51542.1)			
5'-GTGACGGGTGACGGAGAATT-3'			
5'-GACACTAATGCGCCCGGTAT-3'			

3.2.11.5. Agaroz jel elektroforezi

Deneyde kullanılacak numunelerin yoğunlukları ve üretilen DNA boyutları baz alınarak %1'lik agaroz jel yapılmıştır.

Agaroz jel hazırlanışı

- Bir beher içerisine hassas terazide 2 gr olarak tartılan agaroz eklenmiştir.
- İçerisine 100 ml 1X TAE tampon ölçülerek konulmuştur.
- Hazırlanan karışım mikrodalga fırın içerisinde 1,5-2 dk kadar ısıtılmıştır.
- Hafif sallanarak karışım homojenize edilmiştir.
- Hazırlanan jel içerisinde boyanın homojen olarak yayılabilmesi için elimizin dayanabileceği sıcaklığa kadar soğutularak 5 µL jel boyası (İntron Biotechnology) ilave edilmiştir.
- Boyanın homojen olarak dağılması için hafifçe karıştırılarak elektroforez tankına doldurulmuş ve hemen taraklar yerleştirilmiştir.
- Jelin katılaşması beklenmiş ve sonrasında taraklar çıkarılarak jel yükleme yapmak için hazır hale gelmiştir.

1X TAE tamponun hazırlanışı

10X TAE tamponu hazırlamak için Tablo 3.7' de verilen değerler kullanılmıştır. Daha sonrasında 1/10 oranında seyreltilerek jel kullanıma sunulmuştur (100 ml 10X TAE buffer karışımı 1000 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır).

Tablo 3.7. 10X TAE buffer tamponun yapılışı

Bileşenler	Miktar
TRİS	48,5 gr
Glasiyal asetik asit	11,4 ml
EDTA	0,5M 20 ml (pH:8)
Toplam karışım 800 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcıda çözündürüldü ve 1000 ml'ye tamamlandı.	

EDTA hazırlanışı

100 ml distile su içerisinde 14,61 gr EDTA'nın manyetik karıştırıcıda ısıtılarak çözünmesi sağlanmıştır. Çözeltinin homojen olarak dağılması ve ph seviyesinin ayarlamasında NaOH peletlerinden yararlanılmıştır. Çözeltiye ilave edilen peletler vasıtasıyla pH'ın 8'e ayarlanması ve çözeltinin berraklaştırılması sağlanmıştır.

Marker hazırlanışı

Numunelerdeki *bZIP* genlerinin tahmin edilen aralıkta çoğaltılıp çoğaltılmadığını tespit etmek için Tablo 3.8’de verilen değerler kullanılarak hazırlanan markerlerden yararlanılmıştır.

Tablo 3.8. *Marker protokolü*

Bileşenler	Miktar
DNA marker	1 µl
6X loading	1 µl
Deiyonize su	4 µl
Toplamda 6 µl karışım elde edildi.	

3.2.11.6. PZR analizleri

Citrillus lanatus’dan çıkarılan cDNA örnekleri için Tablo 3.9’ daki protokol kullanılarak PZR optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.9. *Optimizasyonda kullanılan PZR protokolü*

Reaksiyon Bileşenleri	Miktar
10X reaksiyon tamponu	2 µl
dNTP	2 µl
MgCl ₂	3 µl
İleri Primer	1 µl
Geri Primer	1 µl
Taq DNA Polimeraz	0,5 µl
cDNA örneği	(100ng-500ng/1000ul olacak şekilde ayarlandı.)
Toplam reaksiyon 20 µl olacak şekilde steril distile su eklendi.	

Optimizasyon esnasında kullanılan PZR döngüsü aşamaları Tablo 3.10’da verilmiştir.

Tablo 3.10. Optimizasyonda kullanılan PZR döngüsü basamakları

Basamaklar	Uygulanan Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
İlk denatürasyon aşaması	95°C	5 dk	1 döngü
Denatürasyon	95°C	1 dk	35 döngü
Annealing (bağlanma)	<i>bZIP</i> genleri için optimize edilen sıcaklıklar	1 dk	
Extension (uzama)	72°C	1 dk	
Son uzama	72°C	7 dk	1 döngü

bZIP genlerinin optimizasyonu basamağında Thermal Cycler Isı bloğu (Fotoğraf 3.3) yardımı ile PZR analizleri yapılmıştır.



Fotoğraf 3.3. Thermal Cycler Isı bloğu (URL-24, 2016)

Çıkarılan PZR ürününün, %1'lik agaroz jelde 110 Volt hızla 30-40 dk yürütülerek UV ışığında Quantum ST5 cihazı (Vilber Lourmat, France) aracılığı ile görüntülemesi yapılmıştır (Fotoğraf 3.4).



Fotoğraf 3.4. Jel Görüntüleme Sistemi Quantum ST5 (URL-25, 2016)

3.2.12. Gerçek Zamanlı PZR Analizleri

Primerlerin Tm verilerine göre uygun RT-PZR şartları tespit edilerek optimizasyonu sağlanmıştır. Her basamakta örneklemeler üç kere yinelenmiştir. Gerçek zamanlı PZR’de kullanılan çalışma programı Tablo 3.11’de gösterilmiştir.

Tablo 3.11. Gerçek zamanlı PZR Programı

Program						
Program		Döngü		Analiz modu		
Program Adı	Sıcaklık	Edinim modu	Döngü sayısı	Bekleme süresi (hh:mm:ss)	Sürme Oranı	
Denatürasyon	95°C	Yok	1	00:05:00	4,8	-
Amplifikasyon I	95°C	Yok	45	00:00:10	4,8	-
Amp. II (Tm)	60°C	Yok		00:00:20	2,5	Miktar tayini
Amplifikasyon III	72°C	Tek		00:00:10	4,8	-
Erime I	95°C	Yok	1	00:00:05	-	Erime
Erime II	65°C	Yok		00:60:00	-	-
Erime III	97°C	Devamlı		-	-	-
Soğutma	40°C	Yok	1	00:00:10	0,11	Yok

Light Cycler 480 II (Fotoğraf 3.5) cihazı ile SYBR Green master mix kiti (Roche Applied Science, Almanya) kullanılarak RT-PZR analizleri sürdürülmüştür.



Fotoğraf 3.5. Gerçek zamanlı PZR cihazı (URL-26, 2015)

Gerçek zamanlı PZR analizi verilerine göre analizi yapılan her bir gen için, kuraklık stresi verilen örnekler ve kontrol örneklerine ait pik profilleri tespit edilmiştir. Bu pik profillerinden yararlanarak Ct (Cycle Threshold) değerlerine ulaşılmıştır. Gerçek zamanlı PZR analizinde normalizasyon için değişik şartlarda gen ifade seviyesinin sabit kaldığı bilinen ya da en az değişen bir gen kontrol grubu olarak kullanılmıştır (Bustin, 2002; Yüzbaşıoğlu, 2008). Kontrol grubu olarak 18SrRNA'nın gen ekspresyon seviyesi baz alınıp bağıl gen ifadesi hesaplanmıştır.

ΔCT (3.2), $\Delta\Delta CT$ (3.3) değerleri hesaplanıp, gen ekspresyon seviyesindeki farklılık $2^{\Delta\Delta CT}$ formülü kullanılarak bulunmuştur. $\Delta\Delta CT$ (3.3) değeri, strese maruz kalan örnekten referans olarak kullanılan örneğin çıkarılması ile elde edilmiştir. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve ifade seviyelerindeki farklılıkların belirlenmesi ise Livak ve Schmittgen (2001)'in $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülüne göre yapılmıştır.

$$\Delta CT = CT_{\text{ÖRNEK}} - CT_{\text{REFERANS}}, \quad (\text{Baloğlu vd, 2014}) \quad (3.2)$$

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{STRES}} - \Delta CT_{\text{KONTROL(0.SAAT)}}, \quad (\text{Baloğlu vd, 2014}) \quad (3.3)$$

3.2.13. İstatistiksel Analizler

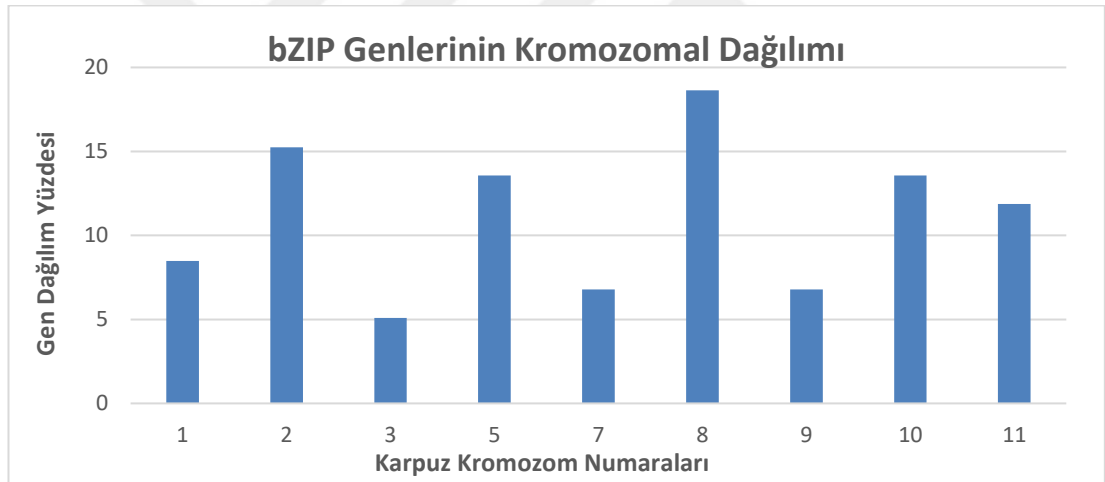
Genlerin ekspresyon seviyesindeki farklılıkları belirlemek için, süreklilik şartı için 3 tekrara ait Ct değerleri ile bu tekrarlar için referansların Ct değerlerine süre faktörü dikkate alınarak uygulanan tek yönlü ANOVA (One Way ANOVA (Dunnett)) analizine göre istatistiksel olarak incelemesi yapılmıştır.

Strese maruz bırakılmış örnekler ile referansa ait örnekler arasındaki değişikliklerin istatistiksel olarak incelenmesinde ise 'Minitab 17' istatistik programı kullanılmıştır. P değeri $< 0,01$ ise ilgili *bZIP* genindeki ifade seviyesindeki farklılık anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *bZIP* Genlerinin Karpuz Genomunda Belirlenmesi ve Filogenetik Olarak Sınıflandırılması

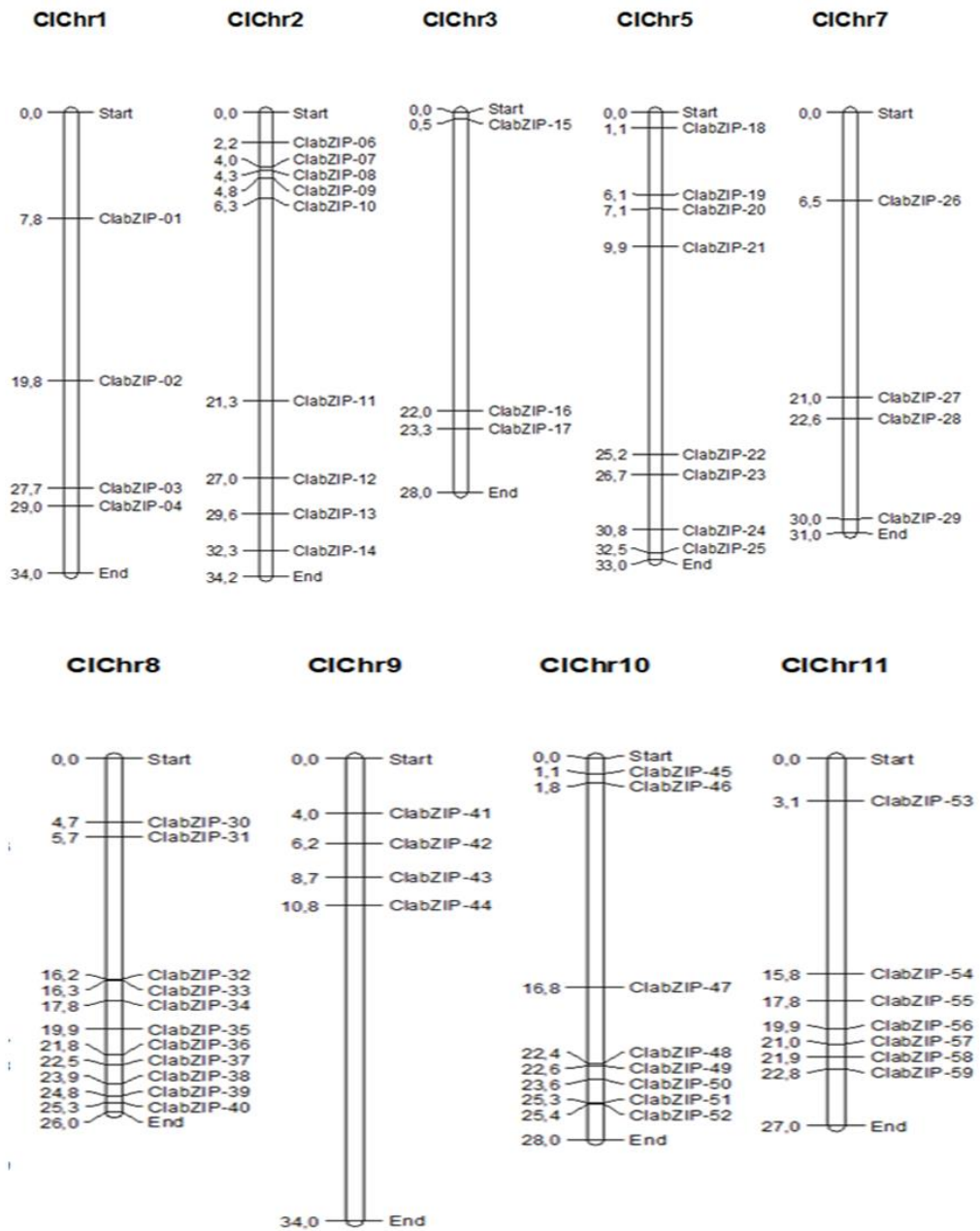
Citrullus lanatus için tanımlanan *bZIP* genlerinin (*ClabZIP*) genomik dağılımlarını bulmak için öncelikle 11 adet karpuz kromozomu üzerinde düzenlenmiş ve kromozomlar üzerindeki sırasına göre *ClabZIP*-01'den *ClabZIP*-59'a kadar isimlendirilmiştir. Kromozomlarda yer alan *ClabZIP* gen yoğunlukları da incelenmiştir. Yapılan incelemeler neticesinde 8. kromozom %19'la en yüksek yoğunluğa sahip iken, 3. kromozomun %5 ile en düşük yoğunluğa sahip olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



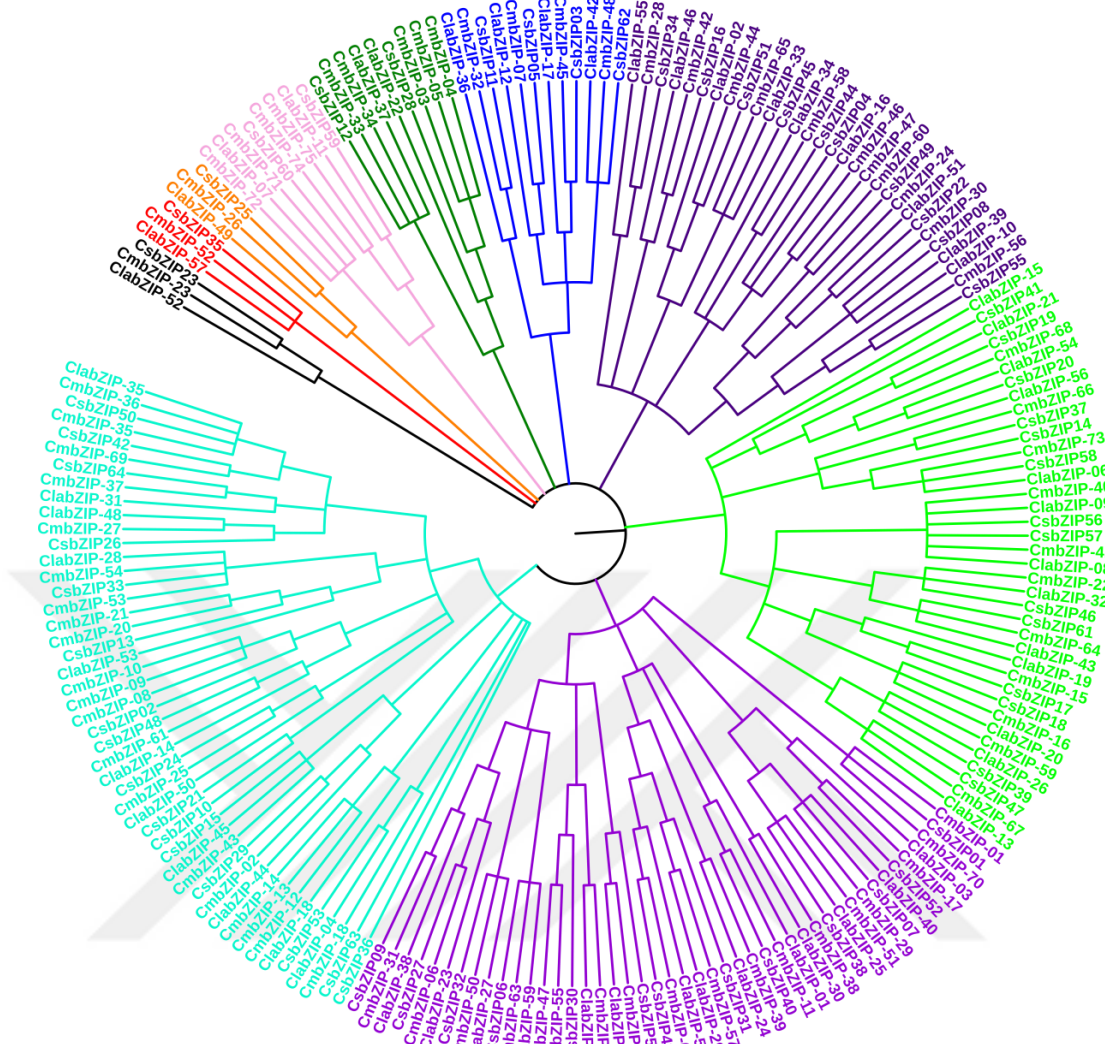
Şekil 4.1. Karpuz bitkisinde *bZIP* genlerinin kromozomdaki dağılım yüzdesi

Karpuzda yer alan bazı *ClabZIP* genlerinin dağılımının salatalık bitkisinde yer alan *CsbZIP* gen dağılımı ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda karpuz genomunda birinci kromozom üzerinde 5 adet *bZIP* geni, ikinci kromozom üzerinde 9 adet *bZIP* geni, üçüncü kromozom üzerinde 3 adet *bZIP* geni, beşinci kromozom üzerinde 8 adet *bZIP* geni, yedinci kromozom üzerinde 4 adet *bZIP* geni, sekizinci kromozom üzerinde 11 adet *bZIP* geni, dokuzuncu kromozom üzerinde 4 adet *bZIP* geni, onuncu kromozom üzerinde 8 adet *bZIP* geni ve son olarak on birinci kromozom üzerinde 7 adet *bZIP* geni tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Yapmış olduğumuz karpuz genom çalışmasında Cucurbitaceae familyasında bulunan

kavun, karpuz ve salatalık türlerindeki kromozom-kromozom ilişkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada tüm karpuz genomunun yaklaşık %60'ını kapsayan 3.543 ortolog ilişki tespit edilmiş ve kromozomlar üzerinde karmaşık ve aynı gen üzerinde olmayan yapıların olduğu öne sürülmüştür. Bunun neticesinde Cucurbitaceae ailesinin bu üç üyesi arasında genlerin yeniden düzenlenmesi ve kromozomal evrimi gözlemlenmiştir (Guo vd., 2013). Karpuz ve salatalık bitki türleri arasındaki yüksek ortolog gen oranı nedeniyle *bZIP* genleri her kromozomda benzer diziliş modeli gösterir.



Şekil 4.2. Karpuz (*Citrullus lanatus*)’da tanımlanan *bZIP* genlerinin kromozomal yerleşimi

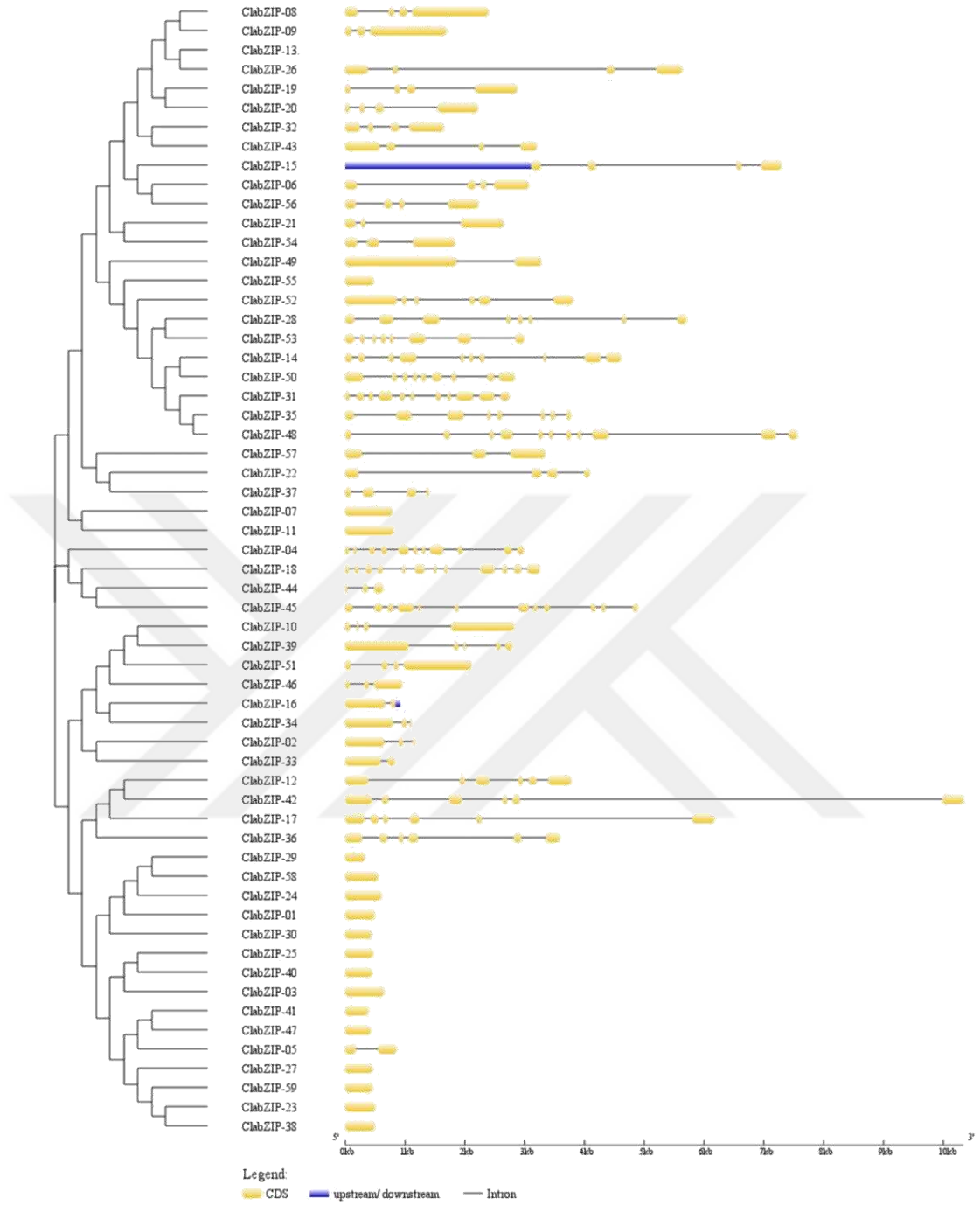


Şekil 4.3.'ün devamı

Oluşturulan gruplarda ClabZIP ve CsbZIP'ler arasında bariz bir farklılık gözlenmemiştir. Salatalık “Baloglu, vd. 2014”, karpuz (bu çalışmada), sorgum “Wang vd., 2011” ve Arabidopsis “Jakoby vd., 2002”de bZIP proteinleri genel olarak sırasıyla 6, 7, 7 ve 10 farklı bZIP transkripsiyon faktör grupları olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca pirinç “Nijhawan vd., 2008”, altı baklagil bitkisi (*Glycine max*, *Medicago truncatula*, *Phaseolus vulgaris*, *Cicer arietinum*, *Cajanus cajan* ve *Lotus japonicus*) “Wang vd., 2015), elma “Li vd., 2016” ve manyok “Hu vd., 2016” dâhil olmak üzere farklı bitki türlerinde 10 farklı bZIP protein grubu vardır. Bu sonuçlar bZIP proteinlerinden elde ettiğimiz verilerle uyushmaktadır. Genel olarak gen yapıları ve motiflerin bileşimlerine göre filogenetik olarak on gruba

sınıflandırılabilceği görülmektedir. Bu nedenle türler arası gruplaşmanın, farklı bitki türleri arasında bZIP transkripsiyon faktörleriyle paralel gelişim gösterdiği varsayılabilir.

Yapılan çalışmada filogenetik analizin güvenilirliğini tetkik etmek için hem gen yapı profilleri hem de *ClabZIP*’lerin gen motifleri incelenmiştir (Ek 2). Karpuz gen yapılarını karşılaştırmak için *bZIP* genlerinin ekzon-intron profili belirlenmiştir. Toplam *ClabZIP* genlerinin %28,8’ini oluşturan, çoğunun IV ve V gruplarda yer aldığı 17 *ClabZIP* geninde intron bölgesi gözlenmemiştir. Intron sayısının en yüksek olduğu I. grup ve VIIa. grupta kodlama bölgeleri (CDS) 1’den 12’ye kadar değişiklik göstermektedir (şekil 4.4). Ayrıca filogenetik ağaç ve *ClabZIP* genlerinin ekzon-intron organizasyon bölgeleri arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Aynı grupta yer alan tüm ClabZIP proteinleri aynı ekzon-intron gruplarına ayrılmıştır. ClabZIP proteinlerinin ekzon-intron yapısı bu ilişkiyi göstermek için tekrar çizilmiştir (Tablo 4.4). Benzer çalışmalarda farklı türdeki bitkilerden; keneotunda 11 adet “Jin vd., 2014”, Arabidopsisde 12 adet “Jakoby vd., 2002”, *Oryza sativa*’da 12 adet “Nijhawan vd., 2008”, salatalık bitkisine ait 12 adet “Baloglu vd., 2014” ve sorgumda 14 adet “Wang vd., 2011” olmak üzere farklı bitki türlerinde değişik sayılarda intron bölgesi tanımlanmıştır. Tespit edilen bütün bZIP’lerin (585 adet) gen yapıları incelendiğinde altı baklagil türü ile benzer yapısal düzen oluşturduğu g r lm ştir (Wang vd., 2015). Elde ettiğimiz bu sonuçlar, ekzon-intron profillerinin genel motiflerinin *bZIP* gen ailelerinde bitkilerin sınıflandırılması ve filogenetik ilişkileri için bir dizin oluşturabileceği fikrini destekler niteliktedir.



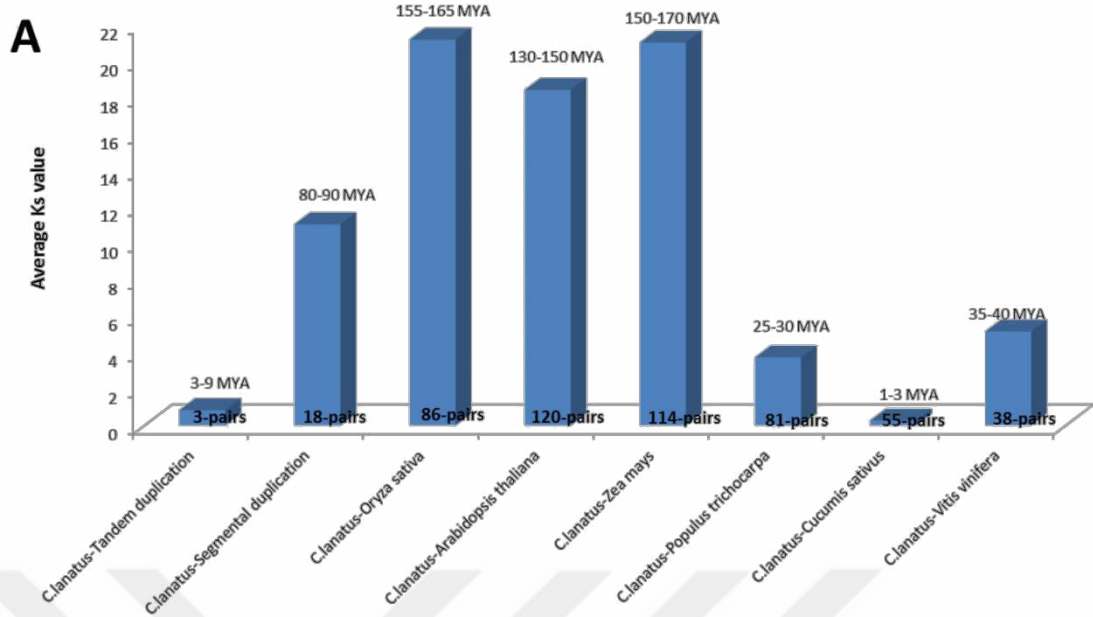
Şekil 4.4. *ClabZIP* genlerinin ekzon ve intron yapısı

Bu çalışmada, motifler ve ClabZIP proteinlerinin bZIP etki alanları gibi ek yapısal özellikler de belirlenmiştir. MEME analizi ile 20 motif belirlenmiştir (Ek 3) ve karpuz için ClabZIP proteinlerini motif 1-5 olarak numaralandırılan temel lösün fermuarı alanlarını içerir (Pfam numarası: PF00170). bZIP lösün fermuar alanlarına ilave olarak tohumun uyku (dinlenme) kontrolü (Pfam numarası PF14144, DOG1) ve

ClabZIP protein sekanslarında CAMP-yanıt elementi bağlanma alanı tespit edilmiştir (karpuz için 6. motif). Bazı karakterizasyonu yapılamamış korunmuş motiflerde bulunmuştur. Aynı filogenetik grup içerisinde yer alan karpuz bZIP proteinlerinin benzer yapı profili ve motif bileşimine sahip olması, motif bileşenlerinin de grup sınıflandırmasını ve motif kompozisyonlarını destekler niteliktedir. Bu sonuçlar altı baklagil grubundaki türlerin motif analiz sonuçlarıyla da örtüşmektedir. Altı baklagil grubu üzerine yapılan motif analizinde, bZIP proteinlerinde 50 korunmuş motif ve korunmuş alan tespit edilmiştir. Ayrıca motif gruplarının her bir baklagil türüne özgü olduğu öne sürülmüştür. Aynı zamanda gruba özgü motiflerin, bZIP üyelerinin özgün işlev ve gruplarının belirlenmesinde faydalı olabileceği düşünülmüştür (Wang vd., 2015).

4.2. bZIP Genlerinin Duplikasyon ve Evrimsel Analizleri

Tandem veya segmental gen duplikasyonları gen ailelerinin evrimleşmesi ile sonuçlanabilecek birçok gen kopyasının oluşmasına neden olur. *ClabZIP* genlerinin ayrılma ve duplikasyon olaylarının analizi gerçekleştirilmiştir. Homolog (Ks) ve homolog olmayan (Ka) genlerin oranları (Ka/Ks) Darwin'in Pozitif Seçim ilişkilerini belirlemek amacıyla hesaplanarak *ClabZIP* genleri için değerlendirilmiştir (Ek 4, Ek 5). *ClabZIP* genleri arasında toplam 18 çift segmental ve 3 çift tandem duplikasyona uğramış gen belirlenmiştir. Ortalama olarak Ka/Ks oranları duplikasyona uğramış segmental genler için 0,12 ve tandem genler için 0,16'dır. Duplikasyona uğramış segmental *ClabZIP* genlerinin tahmini ayrılma süreleri 7 ile 413 milyon yıl arasında (MYA) değişmekte olup ortalama 85 MYA'dır, duplikasyona uğramış tandem *ClabZIP* genlerinin de tahmini ayrılma süreleri ise 3 ile 12 MYA arasında değişmekte olup ortalama 6 MYA'dır. Ayrıca karpuz ile Arabidopsis (120 çift gen), mısır (114 çift gen), çeltik (86 çift gen), kavak (81 çift gen), salatalık (55 çift gen), asma (38 çift gen) arasında ortolog bZIP gen çiftleri gösterilmiştir (Ek 6). En erken ayrılma zamanı, ortalama 150-170 MYA olan karpuz ile mısır bZIP genleri arasındadır. Bunu 155-165 MYA ile çeltik, 130-150 MYA ile Arabidopsis, 35-40 MYA ile asma, 25-30 MYA ile kavak ve 1-3 MYA ile salatalık takip etmektedir (Şekil 4.5).

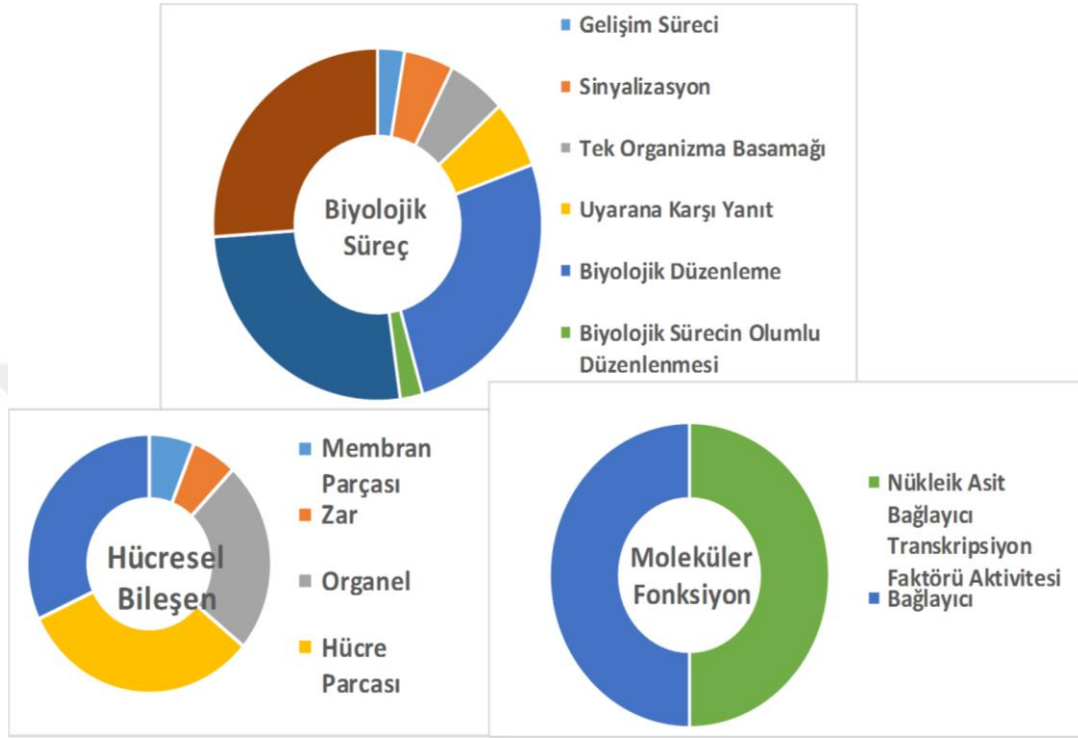


Şekil 4.5. *ClabZIP* genlerinin ortologlarıyla birbirinden ayrılma oranları

4.3. Karpuz bZIP Proteinlerinin Fonksiyon Analizleri ve Üç Boyutlu Yapıları

bZIP proteinlerinin gen ontolojileri ve işlevsel özelliklerinin açıklanması, Blast2Go analizi ile yapılmıştır. ClabZIP proteinleri biyolojik süreçlerden metabolik, hücresel ve gelişim süreçlerinde rol oynamıştır. Ayrıca biyolojik süreçlerin düzenlenmesi ve hücresel uyarılara karşı uyarılara yanıt oluşturulması gibi durumlarda da bZIP proteinlerinin rol aldığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular (Ek 10) bZIP proteinlerinin, azot-karbon döngüsü, enerji metabolizması, patojen savunması, organ ve dokuların farklılaşması çiçeklerin büyümesi, tohumun olgunlaşması gibi biyolojik süreçlerdeki rolleri ve ışık, stres sinyalizasyonu gibi uyarılara karşı yanıt oluşturmaları gibi düzenleyici görevleriyle de tutarlılık gösterir (Jakoby vd., 2002; Silveira vd., 2007; Ciceri vd.,1999; Walsh vd.,1998). Elde edilen sonuçlar, normal ve stres altındaki büyüme koşullarında bZIP proteinlerinin katılımını gösteren bu tarz çalışmalarla desteklenebilir (Şekil 4.6). Moleküler fonksiyon tayinine dayanarak ClabZIP transkripsiyon faktörleri grubunun bağlanma ve düzenleyici rolünün olduğu söylenebilir. Son olarak karpuzda yer alan bZIP proteinleri hücre, organel ve zarlarda yer alır. Salatalık bZIP proteinleri de karpuz bZIP proteinlerine benzer hücre kısımları ve organellerde bulunmuştur (Baloglu,vd., 2014). Ayrıca domatesteki bazı bZIP proteinlerinin hücre içi yerleşimlerine göre 5 proteinin tümü hücreye yerleşmiş transkripsiyon aktivatörü rolündedir (Li vd., 2015). Karpuz bZIP proteinlerinin

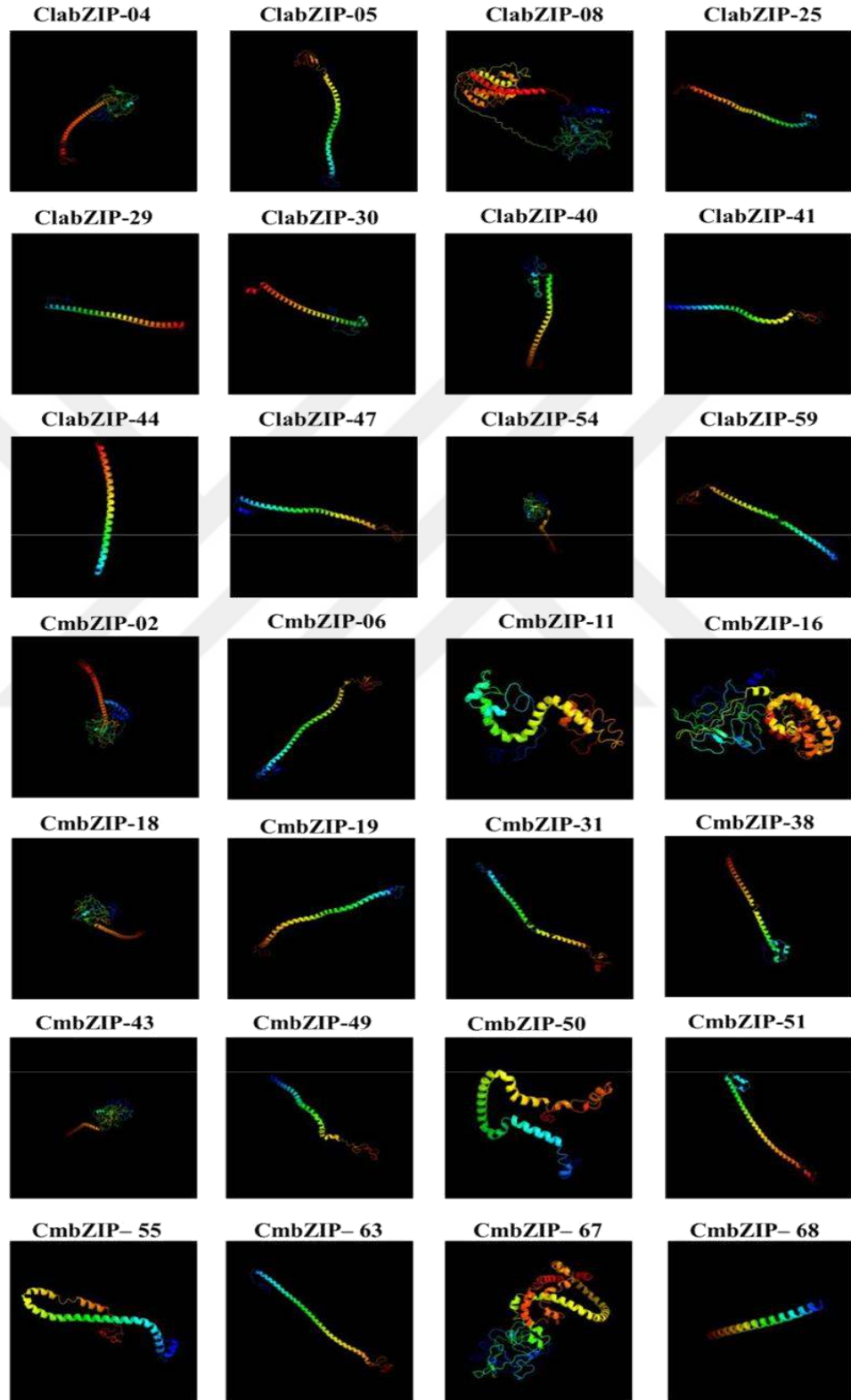
detaylı lokalizasyon analizi, hücre kısımlarından membran ve çekirdeğe uygun transkripsiyon faktörü rolünde olduğunu gösterir (Huang vd., 2010; Takahashi vd., 2012; Yang vd., 2013).



Şekil 4.6. *ClabZIP* genlerinin Blast2GO yardımıyla elde edilen fonksiyonel analizleri

BlastP araştırması, protein ve nükleik asitler gibi büyük biyolojik moleküllerin 3D yapılarının bilgi bankası olan Protein Databank'dan (PDB) karpuz türlerine ait bZIP proteinlerinin tahmini üç boyutlu yapılarının bulunması için kullanılmıştır. Phyre2 veritabanında, saklı Markov modeli (HMM) ile protein saptama oranlarını kullanarak HMM homoloji modellemesi yapılmıştır (Söding vd., 2009). Bu tahminlere göre, *ClabZIP* 04-05-08-25-29-30-40-41-44-47-54-59 proteinleri homoloji oranları hesaba katılarak seçilmiştir. Seçilen bu proteinler, veri tabanındaki tanımlanmış proteinlerle %17 ile %44 arasında değişen oranlarda yüksek benzerlik göstermekte ve modellenme oranı %95'in üzerinde güvenilirliktedir (Şekil 4.7). Karpuz homoloji modellemesi için seçilen proteinler, salatalık bZIP proteinleri gibi alfa sarmal ve benzer yapıdadır (Baloglu vd., 2014). bZIP alanı, DNA'nın etkileşiminden sorumlu 16 amino asitlik iki alt birimden oluşur. Bu iki alt birim, helezonların hidrofobik tarafları arasındaki etkileşimleri yoluyla DNA'ya bağlanmak için yapışır (Jakoby

vd., 2002). Bu etkileşimler protein grubunun fermuar adı verilen spiral yapısını oluşturur.



Şekil 4.7. ClabZIP proteinlerinin üç boyutlu yapısı

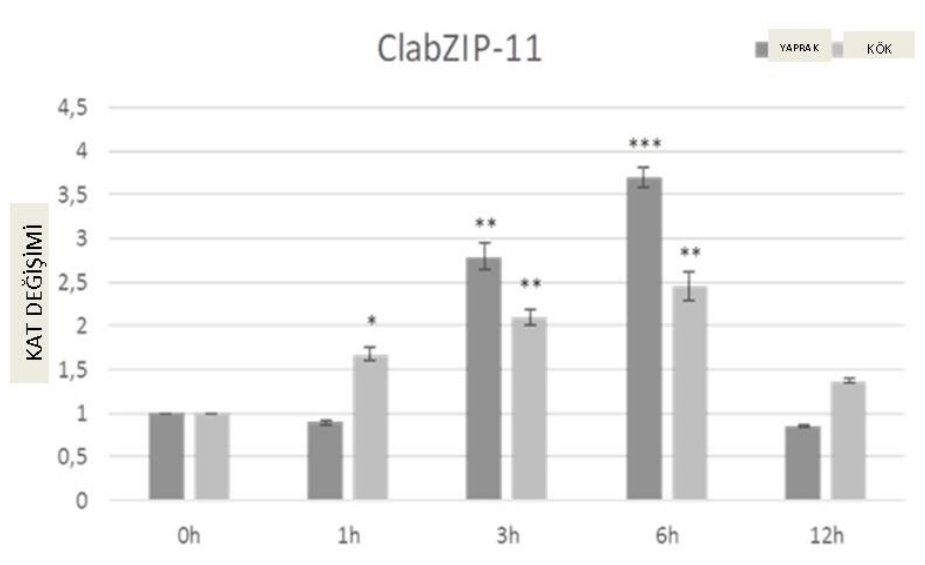
4.4. Karpuz bZIP Transkriptlerini hedef alan miRNA'ların Belirlenmesi

miRNA'lar, transkripsiyon seviyesinde ve transkripsiyon sonrası hedef genin susturulmasına neden olan küçük ve düzenleyici elementlerdir (Voinnet, 2009). Biyotik ve abiyotik stres koşullarında, bitkilerde hedef gen transkriptlerini yok ederek genlerin düzenlenmesine aracılık ederler (Ambros ve Chen, 2007; Bartel, 2004). PsRNA sunucusu kullanılarak, miRU'nun skor şeması çıkarılarak *ClabZIP* genlerinin miRNA hedefleri belirlenmiştir (Dai ve Zhao, 2011). MiRNA analizine göre farklı bitkilere ait miRNA'lar tarafından hedeflenen 22 farklı *ClabZIP* geni (*ClabZIP* -04-06-07-08-14-15-17-25-27-28-31-32-33-34-36-45-46-50-51-52-57-59) vardır. Bu miRNA'lar arasında *ClabZIP* genleri tarafından en çok hedeflenen miRNA166 (mir166)'dır. Ayrıca mir414, mir1888 ve mir6151 tarafından en çok hedeflenen karpuz bZIP geni *ClabZIP-17*'dir (Ek 8).

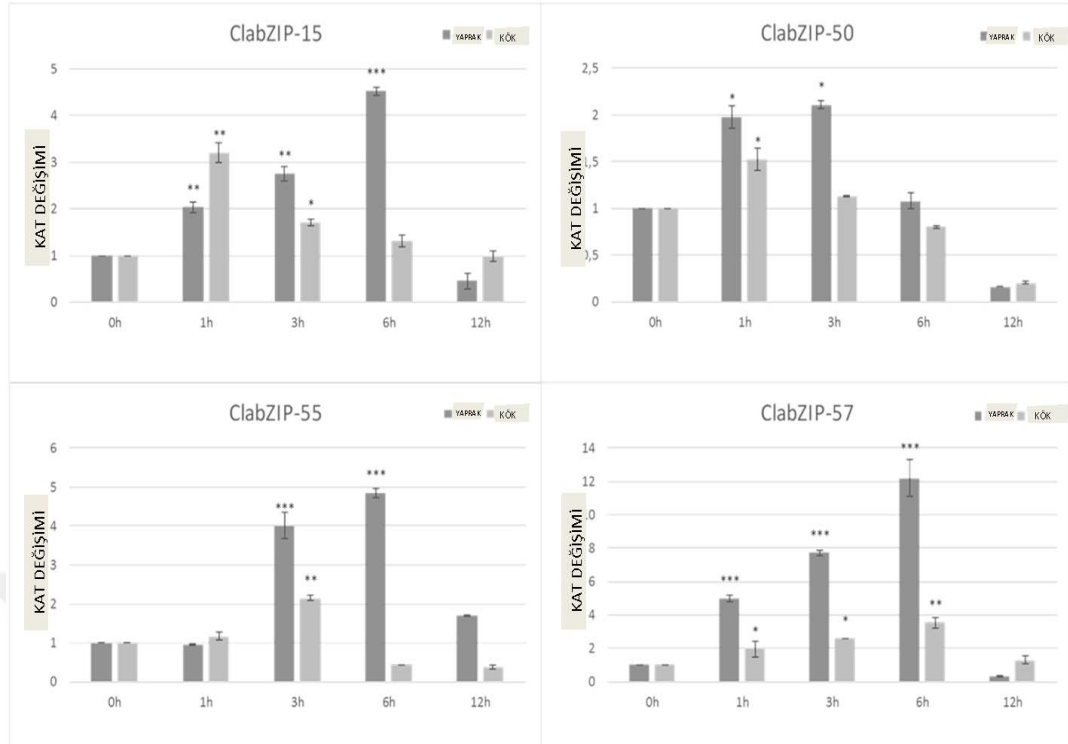
Hedeflenen miRNA'lar arasında bitkilerde vasküler büyümeyi, yaprak polaritesini ve meristem doku oluşumunu yöneten mir165 ve mir166 hedefli genlerde mevcuttur (Jung ve Park, 2007). Ayrıca, bu miRNA'lar, Arabidopsis'te bulunan 3. sınıf eş domain-lösin femuarı (HD-ZIP III) transkripsiyon faktörlerinden olan REVOLUTA (REV), PHABULOSA (PHB), PHAVO LUTA (PHV), CORONA (CNA veya athb 15 olarak da bilinir) ve ATHB18 genlerini hedef alırlar (Jung, 2007; Juarez vd., 2004; Byrne vd., 2006; Williams vd., 2005; Kim vd., 2005; Mallory vd., 2004; Kidner vd., 2004). İlave olarak mir166, Arabidopsis'e ait bitki gelişimi ve yoğun absisik asit (AB15) stresine yanıt olarak hedeflenen genlerden biridir (Tang, vd.2012). Bu sonuç, mir165 ve mir166 genleri tarafından hedeflenen *ClabZIP* genlerinin fonksiyonlarıyla birbirini tutar. Ayrıca, Arabidopsis ile yapılan analizlere göre mir169, kuraklık stresine karşı yanıt oluşturan genlerin düzenlenmesini sağlayan NF-Y transkripsiyon faktörünün A5 alt-ünitesini inhibe eder. Nfy5 ve mir169'un aşırı ifadesinde, mutant bitkiler kuraklık stresine (su kısıtlaması) daha hassas bir karakteristik yapı göstermiştir (Pant vd., 2009; Li vd., 2008) . miRNA analizi ile *ClabZIP* genlerinin hedefledikleri miRNA'lara göre genler hakkında daha geniş bilgi elde edilebilecektir.

4.5. *bZIP* Genlerinin İfade Analizleri

Karpuz gibi farklı bitki dokularına ait *bZIP* genlerinin ifade profillerini araştırmak için SRA (Okunmuş Dizi Arşivi) veri setleri ile beraber RNA-Seq tekniği kullanılmıştır. Isı haritaları, floem ve vasküler dokularda *bZIP* genlerinin ekspresyon modellerini ve karpuzun tozlaşma sonrası meyve gelişiminin farklı aşamalarını belirtmek için yapılandırılmıştır. Isı haritasına göre vasküler dokularda *ClabZIP-11* ifadesi görülürken, *ClabZIP-15* ve *ClabZIP-57* ifadesi yalnız floem dokularda gözlemlenmiştir. Diğer taraftan *ClabZIP-50* ve *ClabZIP-55* genlerinin ifadesi, hem vasküler hem de floem dokularda görülmüştür. İfade modeli, tozlaşmadan sonraki 18. günden sonra ifadesi artan *ClabZIP-11* ve *ClabZIP-57* genleriyle benzerlik gösterir. Buna ilave olarak, *ClabZIP-11* ve *ClabZIP-57* genleri de 34. gün meyve gelişim aşamasında ifade modelinde gözlemlenmiştir. Tozlaşma sonrası ve meyve gelişimi olmak üzere iki aşama göz önüne alındığında, *ClabZIP-11* ve *ClabZIP-57* genlerinin ifade seviyelerinde 18. günden 50. güne kadar yukarı yönlü bir artış gözlemlenmiştir. Bu verilere göre karpuz *bZIP* genlerinin, kuraklık stresi koşullarında ifade modellerini incelemek amacıyla, ısı haritalarında yüksek ifade seviyesine sahip *ClabZIP-11*, *ClabZIP-15*, *ClabZIP-50*, *ClabZIP-55* ve *ClabZIP-57* genleri seçilerek gerçek zamanlı PZR ile ifade analizleri yapılmıştır (Şekil 4.9, 4.10).



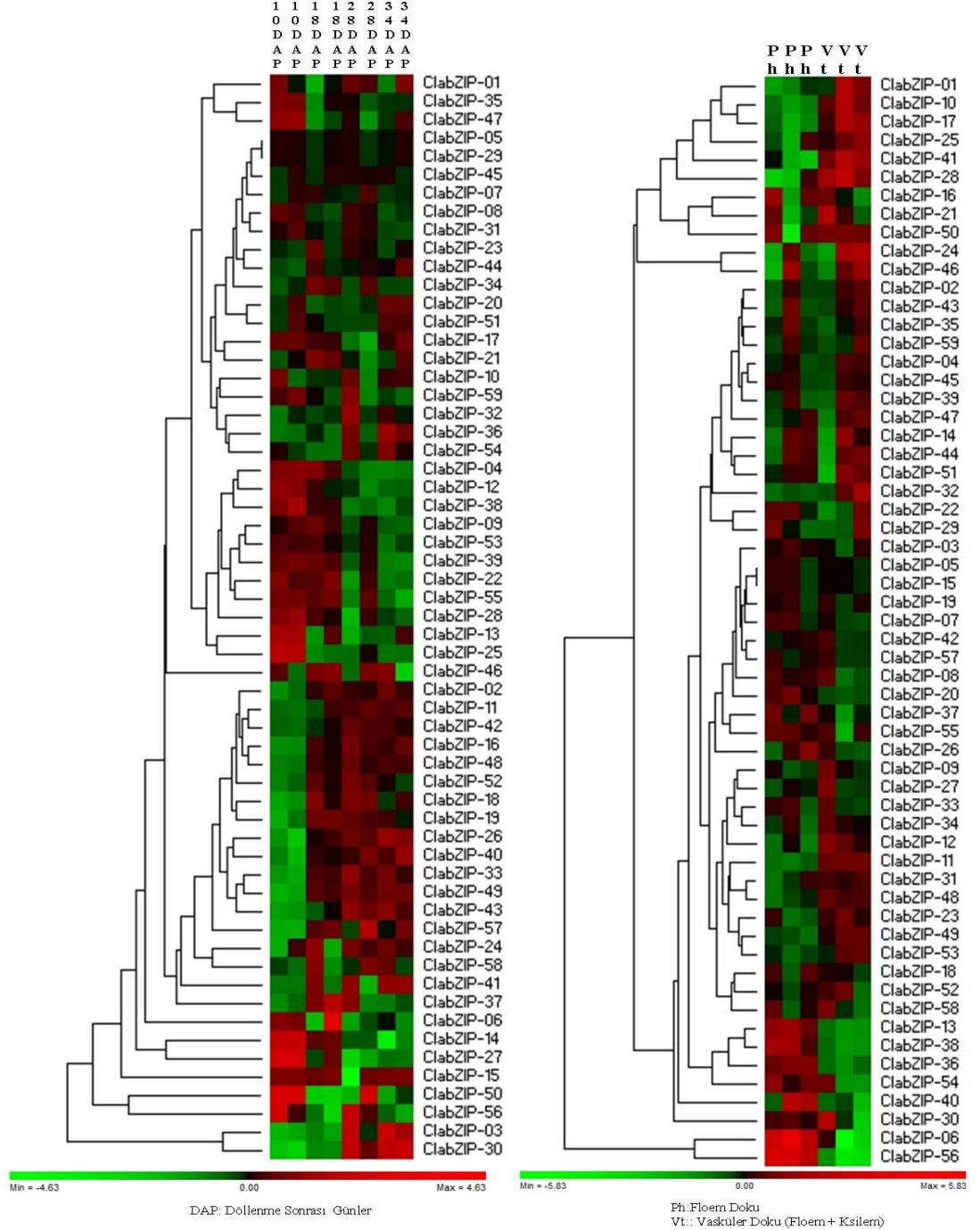
Şekil 4.8. Kök ve yaprak dokusunda *ClabZIP* genlerinin ifade profil koşulları



Şekil 4.8. 'in devamı

Strese maruz kalmış karpuz kök ve yapraklarından elde edilen gerçek zamanlı PZR verilerine göre, *ClabZIP-55* dışındaki tüm genler, yaprak ve kök dokularında strese karşı oluşturulan yanıt olarak ilk 1. saate kadar artış sergileyen bir ifade profili göstermiştir (Şekil 4.8). Bununla birlikte, *ClabZIP-11* ve *ClabZIP-55* genlerinin ifade seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, strese maruz kalan karpuz bitkisinin oluşturduğu yanıtın 12. saati sonrası ifade seviyesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bitkinin strese maruziyetinin 6. saatinde, kök ve yaprak dokularında diğer zamanlara göre *ClabZIP-57* geninin en yüksek ekspresyon seviyesine ulaştığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda çalışılan diğer karpuz *bZIP* genleri ile de kıyaslama yapıldığında strese maruziyetin 6. saatinde *ClabZIP-57* geni için en yüksek ekspresyon seviyesi gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada *ClabZIP-50* geni dışındaki genlerin, yaprak dokularında maksimum ekspresyon seviyesine ulaştığı belirlenmiştir. Genel olarak yaprak dokusu üzerine yapılan incelemelerde, strese maruziyetin 1., 3. ve 6. saatinde genlerin ekspresyon seviyelerinde bir artış eğilimi görülmüştür. *ClabZip-15* ve *ClabZIP-50* genleri haricindeki diğer karpuz kök dokusundaki *bZIP* genlerinde, 1., 3. ve 6. saatler sonrası ekspresyon seviyelerinde

tekrar bir artış profili çizdikleri görülmüştür. Stresin 1. saatinde *ClabZIP-15* ve *ClabZIP-50* genlerinin ekspresyon seviyelerinde de artış gözlemlenmiştir.



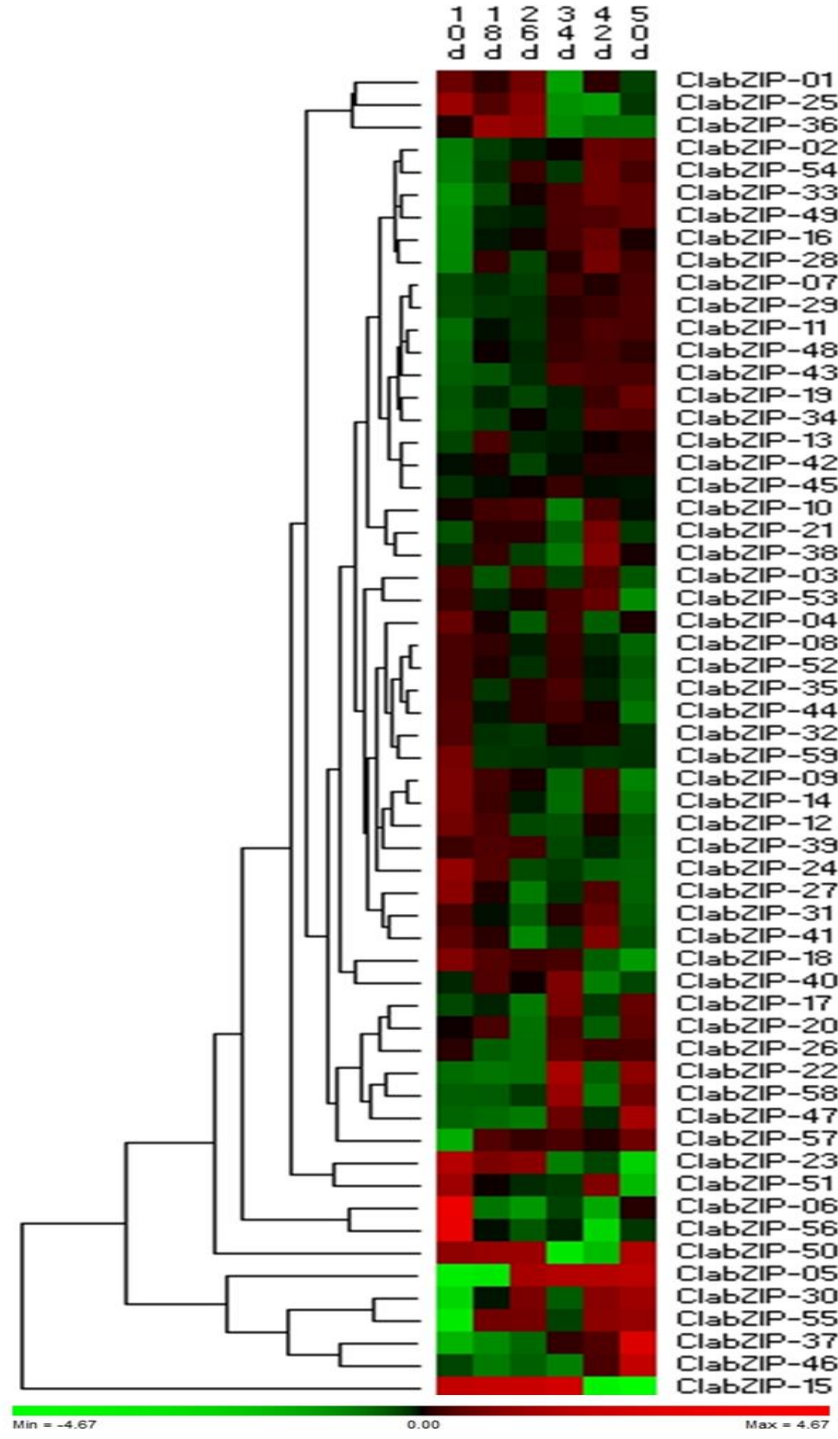
a.

b.

Şekil 4.9. *ClabZIP* genlerinin (a) döllenme sonrası ve (b) floem ile vasküler dokularda transkriptom analizlerinin karşılaştırılması

Karpuz *bZIP* genleri ile diğer bitki türlerindeki ortolog genler arasındaki ilişkilerden yola çıkarak, *Colletotrichum graminicola* ile enfekte olmuş bitkilerde *ClabZIP-11*'in

ortoloğu olan mısırdaki (bZIP-62, GRMZM2G00017) *bZIP* genlerinden birinin ekspresyon profilinde önemli düzeyde azalma gözlemlenmiştir. Bunun aksi olarak da *Fusarium moniliforme* ile enfekte olmuş kuraklığa dirençli mısırın (Bt-1) *bZIP-62* geninde yukarı yönlü bir ekspresyon profili gözlemlenmiştir (Wei vd., 2012). Yapılan bu çalışmada, biyotik ve abiyotik stres koşullarında ifadesine atfen *ClabZIP-11* geninin meyve gelişimi ve farklı vasküler dokularda olduğu kadar kuraklık stresine yanıt oluşturulurken de ekspresyon seviyesinde artış gözlemlenmiştir. Tohum gelişimi ile ısı stresine (45°C) yanıt oluşturulurken mikroarray ve real time verileri ile *ClabZIP-50* geni ve ortoloğu asma *VvbZIP-25* (GSVIVT01033531001) genleri ekspresyonu ise yukarı yönlü olarak artış sergilemiştir. Buradan *ClabZIP-50* geninin, normal doku gelişiminde ve ısı ve kuraklık stresine karşı yanıt oluşturulmasında rol oynayabileceği sonucuna varılabilir. Salatalık bitkisinde kuraklık stresi altında gerçek zamanlı PZR çalışmaları sonucunda, strese cevap oluşturmak için *CsbZIP-06*, *CsbZIP-08*, *CsbZIP-12*, *CsbZIP-15*, *CsbZIP-29*, *CsbZIP-30*, *CsbZIP-44*, *CsbZIP-53*, *CsbZIP55* ve *CsbZIP59* *bZIP* genlerinin kök dokularında biriktiği görülmüştür (Baloglu vd., 2014). Karpuz bitkisinde de stresin 1., 3. ve 6. saatlerinde ekspresyon seviyesinde artış gösteren *ClabZIP-11* geninin salatalık bitkisine ait *CsbZIP-59* geninin ortoloğu olduğu tespit edilmiştir. Bu genlerin bitkinin kuraklık stresine maruziyetinde köklerde toplanması da salatalık *bZIP* genleri ile benzerdir ve bu benzerlik salatalık, kavun ve karpuz bitkilerinin aynı kabakgiller ailesi üyesi olmalarıyla açıklanabilir. Bununla birlikte salatalık bitkisine ait 1. saat *bZIP* ekspresyon verilerine ulaşamaması, karpuz bitkisine ait yanıt mekanizması ile karşılaştırma yapılmasını imkânsız hale getirmiştir. Yapılan çalışmada, kuraklık stresinde *ClabZIP* genlerinin bitki üzerindeki tepkileri özellikle takip edilmiştir.



Şekil 4.10. *ClabZIP* genlerinin meyve gelişimi transkriptom analizlerinin karşılaştırılması

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Tüm dünyayı tehdit eden küresel ısınmanın olumsuz etkileri, gün geçtikçe artarak etkisini göstermektedir. Virüs, bakteri, mantar, yabancı otlar ve zararlılar vb. gibi biyotik stres ile tuzluluk, kuraklık, sıcaklık farklılıkları, besin maddelerindeki eksiklikler, ağır metaller, radyasyon, zehirli atıklar, hava ve su kirliliği vb. gibi abiyotik stres faktörleri nedeni ile tarım ürünleri zarar görmekte, kalite ve ürün veriminde düşüşler yaşanmaktadır.

Her geçen gün daha da kalabalıklaşan dünya nüfusuna karşılık, su rezervlerinin azalması, mevcut sularımızın süratle kirletilmesi, tarımsal faaliyetlerde yapılan yanlışlıklar gibi abiyotik ve diğer biyotik etmenler nedeni ile gelecekte gıda kaynaklarının mevcut nüfusun ihtiyaçlarını karşılayamayacağına dair senaryolar gittikçe artmaktadır. Yapılan istatistiklere göre, günümüzde tarım alanlarının en çok zarar gördüğü abiyotik stres faktörü kuraklıktır. Kuraklığı takiben tuzluluk, sıcaklık gibi abiyotik stres faktörleri bitkinin gelişimini durdurmakta ileri safhalarda ürün kayıplarına neden olmaktadır. Tespit edilen tüm bu olumsuzluklara rağmen gıda güvenliğinin sağlanabilmesi ve öngörülen kötü senaryoların gerçekleşmemesi için bitki moleküler genetiği ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmesinin ne kadar elzem olduğu yadsınamaz bir gerçektir. Yapılan moleküler çalışmalarla bitkilerin stres faktörlerine karşı direnç kazanmaları amaçlanmaktadır.

Bitkiler üzerindeki biyolojik stres faktörleri üzerinde birçok çalışma yapılmasına rağmen *Citrullus lanatus* ve *Cucumis melo*'da abiyotik stresle alakalı genlerin işlevlerini konu alan pek çalışma yapılmamıştır (Carnicer vd., 2011; Peng vd., 2011; Williams vd., 2013; Vicente - Serrano vd., 2014; Kim vd., 2015). Abiyotik stres faktörlerinin karpuz bitkisi üzerindeki etkisi, diğer türlerden biraz daha farklılık göstermektedir. Karpuz bitkisinin, kuraklık şartlarında, muhteviyatındaki suyu kullanarak yapraklarında solma bile olmadan su stresine karşı geliştirmiş olduğu direnç mekanizması sonucu, etkiyi bertaraf etme özelliği vardır. Cucurbitaceae familyasına ait olan karpuz, susuzluk stresine karşı göstermiş olduğu tepkileri bakımından C3 bitkileri için elverişli bir model olmaktadır (Yokota vd., 2002;

Karipçin, 2009; Örs ve Ekinci, 2015). Karpuz ekonomik değerinin çok olması, dışsal stres faktörlerine karşı yanıt mekanizmaları oluşturmasıyla beraber ufak bir genomla sahip olması nedeni ile çalışılabilir bir sebze haline gelmektedir (Güner ve Wehner, 2004; Kim vd., 2015).

bZIP transkripsiyon faktörü ailesi, bitki gelişimi fizyolojik süreçlerinde ve biyotik/abiyotik strese karşı yanıt oluşturulmasında önemli rol oynar. Karpuz genomunda 59 adet *ClabZIP* transkripsiyon faktörünü kodlayan 11 kromozom üzerine yerleşmiş halde gen tespit edilmiştir. Cucurbitaceae ailesinde *bZIP* genleri arasındaki evrimsel ilişkileri araştırmak için karpuz ve salatalık bitkilerine ait bZIP protein dizileri birleştirilerek filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Cucurbitaceae ailesine ait toplam 198 adet bZIP proteini 10 kümeye ayrılarak filogenetik ağaçta yerini almıştır. Ortolog gen analiz sonuçlarına bakıldığında, en yüksek ortolog *bZIP* gen sayısının karpuz-Arabidopsis arasında (120 çift) olduğu görülmektedir. Ayrılma zamanlarına göre salatalık ve karpuz *bZIP* genlerinin, kavak *bZIP* genlerine daha yakın olduğu gözlemlenmiştir. Mikro-RNA ve hedef gen analizlerine göre, 22 farklı *ClabZIP*'in miR166 ve 43 farklı *ClabZIP* geninin de miR169 aile üyeleri tarafından hedeflendiği tespit edilmiştir. Ayrıca qRT-PZR ve RNA-seq verileri ile kuraklık stresi altındaki karpuz bitkilerine ait kök ve yaprak dokularında yanıt oluşturabileceği öngörülen *ClabZIP* gen ekspresyon modelleri incelenmiştir. Yapılan bu tip gen tanımlama çalışmaları, bitkilerde bZIP protein ailesine ait üyelerin fonksiyonlarını analiz etmek için yeni bakış açıları oluşturabilecektir.

Karpuz genomunda kapsamlı *bZIP* genlerinin tanımlaması için, BLAST ve Hidden Markov model aramaları kullanılmıştır. Toplamda karpuzda 59 bZIP üyesi gen tespit edilmiştir. Bulunan genlerin tüm tanımlanmış ve korunmuş bZIP aileleri ile doğrulaması yapılarak, Latince adlarına göre karpuz için *ClabZIP* şeklinde kısaltılarak isimlendirme yapılmıştır. *ClabZIP* proteinleri, 85 (*ClabZIP*-44) ile 767 amino asit (*ClabZIP*-49) içermekte ve moleküler ağırlıkları ise 10 ile 82,8 kDA arasında değişmektedir. *ClabZIP* protein dizileri, izoelektrik noktaları, kararsızlık endeksi, filogenetik grupları ve fiziksel konumları EK 1'de belirtilmiştir. Tablo incelendiğinde *ClabZIP* proteinlerinin izoelektrik noktalarının 4,49 ile 11,20 arasında değiştiği, yaklaşık %54'ünün asidik karakter gösterdiği görülmektedir. Yine aynı

tabloda *ClabZIP* proteinlerinin yalnızca 2 tanesinin kararlı yapıda olduğu görülmektedir. Çeşitli raporlarda, *bZIP* gen numaralarının genom büyüklüğü ve kromozom sayılarına göre bitki türleri arasında farklılık gösterdiği görülür. Salatalık genomu üzerinde 64 *CsbZIP* geninin tanımlandığı çalışmada, tahmin edilen karpuz *bZIP* gen sayıları tutarlılık göstermiştir (Baloglu vd., 2014). Monokotil bitkilerde dikotil bitki genomlarına oranla *bZIP* gen sayılarının daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin 170 tane mısırdaki “Wei vd., 2012”, 131 tane soya fasulyesinde “Liao vd., 2008”, 141 tane arpa “Pourabed vd., 2015”, 96 tane brachypodium “Liu vd., 2015”, 92 tane sorgum “Wang vd.,2011”, 89 tane çeltik “Nijhawan vd., 2008” genomunda *bZIP* geni bulunurken; dikotil bitki genomlarında bu sayı 55 ile 75 arası *bZIP* geni arasındadır (Jakoby vd., 2002; Liu vd., 2014). Bu durum monokotil bitkilerdeki genom büyüklüğü, yüksek kromozom sayısı, poliploidi ve duplikasyonlarla açıklanabilir.

Karpuzda yer alan bazı *ClabZIP* genlerinin dağılımının salatalık bitkisinde yer alan *CsbZIP* genlerinin dağılımı ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Örneğin *ClabZIP* genleri 2. kromozom üzerinde dağılmış, 8, 10 ve 11. kromozomların ise alt ve üst uçları üzerinde toplandığı görülmektedir. Salatalık genomunda da *CsbZIP* genlerinin farklı kromozomlar üzerinde (2,3 ve 7. kromozom) bulunmasına rağmen benzer gen dizilimi gösterdikleri tespit edilmiştir (Nijhawan vd., 2008).

Farklı türlere ait bitki genomlarında *bZIP* genlerinin tayini için önceki çalışmalara bakıldığında 4 çift duplikasyona uğramış tandem ve 12 çift duplikasyona uğramış segmental *bZIP* geninin salatalık bitkisinde bulunduğu görülmüştür (Baloglu vd., 2014). Ayrıca Arabidopsis, sorgum ve çeltikte ortalama 3 çift duplikasyona uğramış tandem gen görülmüştür, bu sonuç karpuz üzerine yapılmış diğer çalışmaların bulgularıyla örtüşmektedir. Duplikasyona uğramış Arabidopsis’e ait 39 çift, sorgum’a ait 49 çift ve çeltik’e ait 52 çift *bZIP* geni vardır (Wang vd., 2011; Nijhawan vd., 2008). Elde edilen bulgulara dayanarak segmental duplikasyon olayları *bZIP* gen ailesinin gelişmesine neden olabilir. *bZIP* genlerinin ayrılma zamanı analizine dayanarak en geç ayrılmanın 10-15 MYA arası ortalama ile salatalık ve kavak *bZIP* genlerine ait olduğu görülmüştür (Baloglu vd., 2014). Karpuz *bZIP* genlerinin ise salatalık *bZIP* genlerinden sonra, kavak *bZIP* genlerinden

farklılaştığı benzer sonucuna ulaşılmıştır. Bunlara ilave olarak, salatalık genomundaki *bZIP* genleri, 26-38 MYA ile çeltik *bZIP* genlerinden ayrılırken “Baloglu vd., 2014”, karpuz genomundaki *bZIP* genleri ise 150-170 MYA mısır ve 155-165 MYA arasında çeltik genomundan ayrılmıştır.

Domates genomundaki *SlbZIP1* geninin tuz ve kuraklık stres toleransında ekspresyon artışı ile görev aldığı gözlenmiştir. Benzer şekilde, daha önce domates *SlAREB1*'in, transgenik domateste yüksek ekspresyon ve gen baskılanması gösterdiği, tuz ve kuraklık toleransının geliştirilmesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Orellana, vd.,2010). Ayrıca, *SlbZIP1* protein, *Arabidopsis* bZIP-53, *Arabidopsis* bZIP-53 heterodimerleri ve düşük enerji stresi altında bZIP1 reprogram amino asit metabolizması ile yakın bir homoloğu paylaşır (Dietrich, vd., 2011).

Yapmış olduğumuz karpuz genom çalışmasında Cucurbitaceae familyasında bulunan kavun, karpuz ve salatalık türlerindeki kromozom-kromozom ilişkileri incelenmiştir. Daha önce yapmış çalışmada tüm karpuz genomunun yaklaşık %60'ını kapsayan 3.543 ortolog ilişki tespit edilmiş ve kromozomlar üzerinde karmaşık ve aynı gen üzerinde olmayan yapıların olduğu öne sürülmüştür. Bunun neticesinde, Cucurbitaceae ailesinin bu üç üyesi arasında genlerin yeniden düzenlenmesi ve kromozomal evrim gözlemlenmiştir (Guo vd., 2013). Karpuz ve salatalık bitki türleri arasındaki yüksek ortolog gen oranı nedeniyle *bZIP* genleri her kromozomda benzer diziliş modeli gösterir.

Yapılan çalışma ve biyoinformatik analizler neticesinde ulaşılan bilgilerin, kuraklık stresine karşı oluşturulan yanıtta rol oynayan genetik faktörlerin tanımlanmasında etkili olabileceği varsayılmaktadır.

Karpuz bitkisinde yapılan bu çalışmada, bZIP protein ailesi üyelerinin genom üzerindeki yayılışları, farklı bitki türleri arasındaki ortolog ilişkileri, üç boyutlu yapı tahminleri, soy ağacı incelemeleri, korunmuş motifleri ve biyolojik fonksiyonları tanımlanmıştır. Ayrıca veri tabanlarında yer alan gen ekspresyon analizleri incelenmiş, sonrasında *Citrullus lanatus*'ta kuraklık stresi altında bazı *bZIP* genlerinin ekspresyon profilleri analiz edilerek, bu genlerin kuraklık stresi ile alaka

düzeyleri incelenmiştir. Yapılan analizler neticesinde, *bZIP* gen ailesinin karakterizasyonu yapılmış olup elde edilen veriler, kuraklık stresi altındaki *bZIP* proteinlerinin *Citrullus lanatus*'taki işlevlerinin açıklanmasına katkı sağlayabilir. Ayrıca moleküler ıslah çalışmaları için, bulunan *bZIP* genlerinden kuraklık stresine karşı dirençli ve duyarlı uygun gen kombinasyonuna sahip klonların tespitinde yararlanılabilir. Bu çalışmanın, kuraklık stresi altında gen ifadesi artan *bZIP* genlerinin tespiti ile gelecekte yapılabilecek işlevsel klonlama çalışmalarında yani strese karşı daha dirençli bitkilerin elde edilmesinde de yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Ahuja, I., Vos, R.C., Bones, A.M., Hall, R.D. (2010). Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Science*, 15, 664-674.
- Akgün, M (2017): <http://www.haberturk.com/saglik/haber/1544004-karpuz-kanse-ri-onluyor>. (Erişim tarihi:16 Şubat 2018).
- Ambros, V., Chen, X.M. (2007).The Regulation of Genes And Genomes by Small RNAs. *Development*, 134, 1635-1641. doi:10.1242/dev.002006
- Andersen, M. N., Jensen, C. R., Lösch, R., 1992. The interaction effects of potassium and drought in field-grown barley. 1. Yield, water-use efficiency and growth. *Acta Agric. Scand. Sect. B Soil Plant Sci.* 42, 34–44.
- Anyia, A.O., Herzog, H., (2004). Genotypic variation in drought performance and recovery in cowpea under controlled environment. *J. Agro.& Crop Sci.* 190; 151-159.
- Ansorge, W.J. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques. *New Biotechnology*, 25(4), 195-203.
- Aras, S., Soydam-Aydın, S., Fazlıoğlu, A., Cansaran-Duman, D., Büyük, İ., Derici., K. (2015). Bitkilerde RNA interferans. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72(3), 255 – 262. DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.13285
- Baena-Gonzalez, E., Rolland, F., Thevelein, J. M. & Sheen, J. (2007). A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signalling. *Nature* 448, 938-42, doi:http://www.nature.com/nature/journal/v448/n7156/supinfo/nature06069_S1.html
- Bai Y., Zhu W., Hu X., Sun C., Li Y., Wang D., Wang Q., Pei G., Zhang Y., Guo A., Zhao H., Lu H., Mu X., Hu J., Zhou X., Xie C.G. (2016). Genome-Wide Analysis of the bZIP Gene Family Identifies Two ABI5- Like bZIP Transcription Factors, BrABI5a and BrABI5b, as Positive Modulators of ABA Signalling in Chinese Cabbage. *PloS one* 11, e0158966, doi:10.1371/journal.pone.0158966
- Bailey, T. L., Elkan, C. (1994). Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers. *Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology*, AAAI Press, Menlo Park, California, 28–36.
- Bailey, T. L. , Boden M., Buske F.A., Frith M., Grant C.E., Clementi L., Ren J., Li W.W., Noble W.S. (2009). MEME Suite: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Research* 37, W202-W208, doi:10.1093/nar/gkp335

- Baloglu, M. C. (2014). Genome-wide in silico identification and comparison of Growth Regulating Factor (GRF) genes in Cucurbitaceae family. *Plant Omics* 7, 260-270
- Baloğlu, M. C., Eldem, V., Hajyzadeh, M., Unver, T. (2014). Genome-wide Analysis of the bZIP Transcription 1 Factors in Cucumber. *PLoS ONE*, 9(4), e96014 DOI:10.1371/journal.pone.0096014
- Bartel, D.P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell Press*, Cell vol. 116(2), 281 – 297.
- Beringer H, Trolldenier G., 1978. Influence of K nutrition on response to environmental stres. Proc.int workshop “Role of K in crop production” Cairo, 20-22 Nov 1979, pp.115-124, Eds. A. Saurat and M. M. El Fouly.
- Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Res.*, 28, 235-242.
- Bhargava, S., Sawant, K. (2013). Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. *Plant Breed.*, 132, 21-32.
- Boyacıgil, Ş. (2012). Miyeloproliferatif Neoplazilerde (Mpn) Jak2 ve Mpl Gen Mutasyonlarının Patoloji Arşiv Materyalleri Kullanılarak Saptanmasında Yeni Nesil Dizileme Teknolojilerinin Yeri Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü*. Ankara.
- Boyer, J.S. (1982). Plant productivity and environment. *Science*, 218, 443-448.
- Bustin, S. A. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of Molecular Endocrinology*, 29, 23–39.
- Bustin, S.A., Mueller, R. (2005). Review: Real-time reverse transcription PCR (qrt-pcr) and its potential use in clinical diagnosis. *Clinical Science*, 109, 365-379.
- Büyük, İ., Aydın, S. ve Aras, S. (2012). Bitkilerin Stres Koşullarına Verdiği Moleküler Cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 69(2), 97-110.
- Byrne, M. E. (2006). Shoot Meristem Function and Leaf Polarity: The Role of Class III HD– ZIP Genes. *PLOS Genetics* 2, e89, doi:10.1371/journal.pgen.0020089
- Caraux, G. & Pinloche, S. (2005). PermutMatrix: a graphical environment to arrange gene expression profiles in optimal linear order. *Bioinformatics (Oxford, England)* 21, 1280-1281, doi:10.1093/bioinformatics/bti141

- Carnicer, J., Coll, M., Ninyerola, M., Pons, X., Sánchez, G., Peñuelas, J. (2011). Widespread crown condition decline, food web disruption, and amplified tree mortality with increased climate change-type drought. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 108, 1474–1478.
- Chen, X., Guo, R., Huang, L. and Hong, R., (2002). Evolutionary conservation and DNA binding properties of the Ssh7 proteins from *Sulfolobus shibatae*, *Science China C. Life Sci.*, 45(6), 583-592.
- Chen, Y., Cao, J. (2014). Comparative genomic analysis of the Sm gene family in rice and maize. *Gene*, 539, 238–249.
- Chezen, O., Hartwig, W., Newman, P. M. (1995). The Different Effects of PEG-6000 and NaCl on Leaf Development Are Associated with Differential Inhibition of Root Water Transport, *Plant Cell*, Vol. 18, No. 7, 727-735. doi:10.1111/j.1365-3040.1995.tb00575.x
- Chinnusamy, V., Zhu, J.K. (2009). Epigenetic regulation of stress responses in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 1-7.
- Chou, Q., Russell, M., Birch, D.E., Raymond, J., Bloch, W. (1992). Prevention of pre-PCR mis-priming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications, *Nucleic Acids Research*, 7, 1717-1723.
- Clavel, D., Drame, N.K., Roy-Macauley, H., Braconnier, S., Laffray, D., (2005). Analysis of Early Responses to Drought Associated with Field Drought Adaptation in four Sahelian Groundnut (*Arachis hypoganea* L.) Cultivars. *Environmental and Experimental Botany*. 54: 219-230.
- Ciarmiello, L. F., Woodrow, P., Fuggi, A., Pontecorvo, G., Carillo, P. (2011). Abiotic Stress in Plants- Mechanisms and Adaptations. Prof. Arun Shanker (Eds.), *Plant Genes for Abiotic Stress* (pp. 283- 308). Croatia: InTech.
- Ciceri, P., Locatelli, F., Genga, A., Viotti, A. & Schmidt, R. J. (1999). The Activity of the Maize Opaque2 Transcriptional Activator Is Regulated Diurnally. *Plant physiology* 121, 1321-1327
- Conesa, A. & Götz, S. (2008). Blast2GO: A Comprehensive Suite for Functional Analysis in Plant Genomics. *International Journal of Plant Genomics* 2008, 12, doi:10.1155/2008/619832
- Costa-França, M. G., Pham-Thi, C. A. T., Pimentel, R. O. P., Rossiello, Y., Fodil, Z., Laffray, D., (2000). Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress, *Environ. Exp. Bot.* 43: 227–237.
- Cushman, J.C. Bohnert, H.J. (2000). Genomic approaches to plant stress tolerance. *Current Opinion in Plant Biology*, 3, 117-24.

- Çakar, A. (2013). Kefir Florasındaki Mikrobiyal Çeşitliliğin Yeni Nesil Dizileme Yöntemi İle Metagenomik Olarak İncelenmesi Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. İstanbul.
- Çelik-Altunoğlu, Y., Baloğlu, P., Yer, E.N., Pekol, S., Baloğlu, C.M. (2016). Identification and expression analysis of LEA gene family members in cucumber genome. *Journal of Plant Growth Regulation*. DOI: 10.1007/s10725-016-0160-4
- Çelik-Altunoğlu, Y., Baloğlu, M. C., Baloglu, P., Yer, E. N. & Kara, S. (2017). Genome-wide identification and comparative expression analysis of LEA genes in watermelon and melon genomes. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, doi:10.1007/s12298-016-0405-8
- Çırak, C., Esendal E. (2006). Soyada kuraklık stresi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2), 231-237.
- Çoruh, C., Shahid, S. and Axtell, M.J. (2014). Seeing the forest for the trees: annotating small RNA producing genes in plants. *Current opinion in plant biology*, 18, 87-95.
- Dai, X. & Zhao, P. X. (2011). psRNATarget: a plant small RNA target analysis server. *Nucleic Acids Research* 39, W155-W159, doi:10.1093/nar/gkr319
- Dietrich K, Weltmeier F, Ehlert A, Weiste C, Stahl M, Harter K, Dröge-Laser W. (2011). Heterodimers of the Arabidopsis transcription factors bZIP1 and bZIP53 reprogram amino acid metabolism during low energy stress. *Plant Cell*. 2011;23(1):381. doi: 10.1105/tpc.110.075390
- Doğancı, E. (2018). Farklı Su Kabağı (*Lagenaria Siceraria*) Genotiplerinin Azot Etkinlik Bakımından Agronomik, Fizyolojik Ve Morfolojik Karakterizasyonu Ve Karpuz Anaçlık Potansiyellerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 158 S. Kayseri
- Dolferus, R. (2014). To grow or not to grow: A stressful decision for plants. *Plant Science*, 2229, 247-261.
- Dönmez, D., Şimşek Ö., Aka Kaçar, Y. (2015). Yeni Nesil DNA Dizileme Teknolojileri ve Bitkilerde Kullanımı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8 (1), 30-37.
- Duque, A.S., Almeida, A.M., Silva, A.B., Silva, J.M., Farinha, A.P., Santos, D., Fevereiro P., de Sousa Araújo S. (2013). Abiotic Stress Responses in Plants: Unraveling the Complexity of Genes and Networks to Survive. Kourosh Vahdati and Charles Leslie (Eds.), *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture* (49-101). Croatia: InTech.

- Ebrahime, M. (2013). Abiotik Stres Aday Genlerinin Üzüm Çeşit Ve Anacında İfade Profillerinin Araştırılması Yüksek lisans tezi, *Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü*. Ankara.
- Egan, A.N., Schlueter, J., David, M., S. (2012). Applications of next-generation sequencing in plant biology, *American Journal of Botany*, 99(2), 175–185.
- Eren, H.A., İlhan, E., Erdoğan, C., Erayman, M. (2014). MikroRNA’lar ve Stres Şartlarındaki İşlevleri. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (1),25-35, ISSN 1300-9362
- Eriş, A. (1990). Bahçe Bitkileri Fizyolojisi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay. Ders Notları* No: 11, Bursa.
- Fraser, P. D., Bramley P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* 43:228–265.
- Fujii, H., Chiou, T.-J., Lin, S.-I., Aung, K., Zhu, J.-K. (2005). A miRNA involved in phosphate starvation response in Arabidopsis, *Current Biology*, 15, 2038–2043.
- Fukazawa, J., Sakai T., Ishida S., Yamaguchi I., Kamiya Y., Takahashi Y. (2000). REPRESSION OF SHOOT GROWTH, a bZIP Transcriptional Activator, Regulates Cell Elongation by Controlling the Level of Gibberellins. *The Plant cell* 12, 901-915, doi:10.2307/3871218
- Garcia-Mas, J., Benjak, A., Sanseverino, W., Bourgeois, M., Mir, G., González, V. M., Hénaff E., Câmara F., Cozzuto L., Lowy E., Alioto T., Capella-Gutiérrez S., Blanca J., Cañizares J., Ziarsolo P., Gonzalez-Ibeas D., Rodríguez-Moreno L., Droege M., Du L., Alvarez-Tejado M., Lorente-Galdos B., Melé M., Yang L., Weng Y., Navarro A., Marques-Bonet T., Aranda M.A., Nuez F., Picó B., Gabaldón T., Roma G., Guigó R., Casacuberta J.M., Arús P., Puigdomènech P. (2012) The genome of melon (*Cucumis melo* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109(29), 11872–11877. doi: 10.1073/pnas.1205415109
- Garster, H., (1997). The potential role of lycopene for human health. *Journal of the American College of Nutrition* 16: 109-126.
- Gıda ve Tarım Örgütü (FAO 2015). <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. (Erişim tarihi: 10 Ekim 2016)
- Ginzinger, D.G. (2002). Gene quantification using real-time quantitative PCR: An emerging technology hits the mainstream. *Experimental Hematology*, 30, 503-512.
- Guan, Y., Ren, H., Xie, H., Ma, Z. & Chen, F. (2009). Identification and characterization of bZIP-type transcription factors involved in carrot (*Daucus carota* L.) somatic embryogenesis. *The Plant Journal* 60, 207-217, doi:10.1111/j.1365- 313X.2009.03948.x

- Guner, N., Wehner., T. C. (2004). The Genes of Watermelon. *HortScience* 39 (6): 1175-1182.
- Guo, A.Y., Zhu, Q. H., Chen, X., Luo, J. C. (2007). GSDS: a 1 gene structure display server. *Yi Chuan* 29, 1023–1026.
- Guo, S., Zhang, J., Sun, H., Salse, J., Lucas, W.J., Zhang, H., Zheng Y., Mao L., Ren Y., Wang Z., Min J., Guo X., Murat F., Ham B.K., Zhang Z., Gao S., Huang M., Xu Y., Zhong S., Bombarely A., Mueller L.A., Zhao H., He H., Zhang Y., Zhang Z., Huang S., Tan T., Pang E., Lin K., Hu Q., Kuang H., Ni P., Wang B., Liu J., Kou Q., Hou W., Zou X., Jiang J., Gong G., Klee K., Schoof H., Huang Y., Hu X., Dong S., Liang D., Wang J., Wu K., Xia Y., Zhao X., Zheng Z., Xing M., Liang X., Huang B., Lv T., Wang J., Yin Y., Yi H., Li R., Wu M., Levi A., Zhang X., Giovannoni J.J., Wang J., Li Y., Fei Z., Xu Y. (2013). The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions. *Nature Genetics*. 45(1), 51-58.
- Günay, A. (1992). *Özel Sebze Yetiştiriciliği*. Cilt 5. Ankara.
- Günel, T., Aydın K. (2009). Real-Time PCR ve Uygulama Alanları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2(2), 43-45, ISSN:1308-0040.
- Güner, N., Wehner, T.C. (2004). The genes of watermelon. *Hortscience*, 39(6), 1175-1182.
- Güneş, R., Aşkın, B. (2016). Karpuz çekirdeği yağının kimyasal özellikleri ve besin içeriği. *GIDA*, 41 (1), 37-44.
- Güzelsoy, F., Aksoy, K (2015). Bir Gen İfade Düzenleyicisi miRNA. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 24(4), 472-493.
- Hansen, A. (2004). Bioinformatik Ein Leitfaden für Naturwissenschaftler, *Birkhauser Verlag*, 9, Basel-Boston-Berlin.
- Higuchi, R., Fockler C., Dollinger G., Watson R. (1993). Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (NY)*, 11(9), 1026-30.
- Hsieh, T.-H., Li C.W., Su R.C., Cheng C.P., Sanjaya, Tsai Y.C., Chan M.T. (2010). A tomato bZIP transcription factor, SlAREB, is involved in water deficit and salt stress response. *Planta* 231, 1459-1473, doi:10.1007/s00425-010- 1147-4
- Hoagland, D. R., Arnon, D.I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Stn. Circ.*, 347, 1–32.
- Hu, B., Jin J., Guo A.Y., Zhang H., Luo J., Gao G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics (Oxford, England)* 31, 1296-1297, doi:10.1093/bioinformatics/btu817

- Hu, W., Yang H., Yan Y., Wei Y., Tie W., Ding Z., Zuo J., Peng M., Li K. (2016). Genome-wide characterization and analysis of bZIP transcription factor gene family related to abiotic stress in cassava. *Scientific reports* 6, 22783, doi:10.1038/srep22783
- Huang, S., Li R., Zhang Z., Li L., Gu X., Fan W., Lucas W.J., Wang X., Xie B., Ni P., Ren Y., Zhu H., Li J., Lin K., Jin W., Fei Z., Li G., Staub J., Kilian A., van der Vossen E.A., Wu Y., Guo J., He J., Jia Z., Ren Y., Tian G., Lu Y., Ruan J., Qian W., Wang M., Huang Q., Li B., Xuan Z., Cao J., Asan, Wu Z., Zhang J., Cai Q., Bai Y., Zhao B., Han Y., Li Y., Li X., Wang S., Shi Q., Liu S., Cho W.K., Kim J.Y., Xu Y., Heller-Uszynska K., Miao H., Cheng Z., Zhang S., Wu J., Yang Y., Kang H., Li M., Liang H., Ren X., Shi Z., Wen M., Jian M., Yang H., Zhang G., Yang Z., Chen R., Liu S., Li J., Ma L., Liu H., Zhou Y., Zhao J., Fang X., Li G., Fang L., Li Y., Liu D., Zheng H., Zhang Y., Qin N., Li Z., Yang G., Yang S., Bolund L., Kristiansen K., Zheng H., Li S., Zhang X., Yang H., Wang J., Sun R., Zhang B., Jiang S., Wang J., Du Y., Li S. (2009). The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nat Genet* 41, 1275 - 1281, doi: http://www.nature.com/ng/journal/v41/n12/supinfo/ng.475_S1.html
- Huang, X.-S., Liu, J.-H. & Chen, X.-J. (2010). Overexpression of PtrABF gene, a bZIP transcription factor isolated from *Poncirus trifoliata*, enhances dehydration and drought tolerance in tobacco via scavenging ROS and modulating expression of stressresponsive genes. *BMC Plant Biology* 10, 230-230, doi:10.1186/1471-2229-10-230
- Hyman, E.D. (1988). A new method of sequencing DNA. *Analytical Biochemistry*, 174, 423–436.
- Iwata, Y. & Koizumi, N. (2005). An Arabidopsis transcription factor, AtbZIP60, regulates the endoplasmic reticulum stress response in a manner unique to plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 5280-5285, doi:10.1073/pnas.0408941102
- İnal, B. (2011). Bitki Moleküler Filogenisinde Kullanılan Bazı Gen Ve Yöntemlerin Karşılaştırılması Yüksek Lisans Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Antalya.
- 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.
- Jeffrey, C. (1975). Further Notes on Cucurbitaceae: III Some African taxa. *Kew Bulletin*, 30, 475-493. doi: 10.2307/4103075
- Jeffrey, C. (2005). A New System of Cucurbitaceae. *Bot. Zhur*, 90, 332-335.

- Jiang, Y., Macdonald S. E., and Zwiazak, J. J. (1995). Effects of Cold Storage and Water Stress on Water Relations and Gas Exchange of White Spruce (*Picea glauca*) Seed-lings. *Tree Physiology*, Vol. 15, No. 4, 267- 273.
- Jin, J., Zhang, H., Kong, L., Gao, G. & Luo, J. (2014). PlantTFDB 3.0: a portal for the functional and evolutionary study of plant transcription factors. *Nucleic Acids Res* 42, D1182-1187, doi:10.1093/nar/gkt1016
- Jin, Z., Xu, W. & Liu, A. (2014). Genomic surveys and expression analysis of *bZIP* gene family in castor bean (*Ricinus communis* L.). *Planta* 239, 299-312, doi:10.1007/s00425-013-1979-9
- Jones, J.D.G., Dangl, J.L., 2006. The plant immune system. *Nature*, 444(7117): 323-329.
- Juarez, M. T., Kui, J. S., Thomas, J., Heller, B. A. & Timmermans, M. C. P. (2004). microRNA-mediated repression of rolled leaf1 specifies maize leaf polarity. *Nature* 428, 84-88
- Jung, J.-H. & Park, C.-M. (2007). MIR166/165 genes exhibit dynamic expression patterns in regulating shoot apical meristem and floral development in *Arabidopsis*. *Planta* 225, 1327-1338, doi:10.1007/s00425-006-0439-1
- Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y. (2005). The effect of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi University Journal of Science*, 18 (4), 723- 740.
- Kapluhan, E. (2013). Türkiye’ de Kuraklık ve Kuraklığın Tarıma Etkisi. *Marmara Coğrafya Dergisi*, Sayı 27, 487-510.
- Karipçin, Z.M. (2009). Yerli ve yabancı karpuz genotiplerinde kuraklığa toleransın belirlenmesi Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Kavas, M., Kizildogan, A., Gokdemir, G. & Baloglu, M. C. (2015). Genome-wide investigation and expression analysis of AP2-ERF gene family in salt tolerant common bean. *EXCLI journal* 14, 1187-1206, doi:10.17179/excli2015-600
- Kavas, M., Baloglu M.C., Atabay E.S., Ziplar U.T., Daşgan H.Y., Ünver T. (2016). Genome-wide characterization and expression analysis of common bean bHLH transcription factors in response to excess salt concentration. *Molecular genetics and genomics* : MGG 291, 129-143, doi:10.1007/s00438-015-1095-6
- Kelley, L.A., Sternberg, M. J. E. (2009). Protein structure prediction on the Web: a case study using the Phyre server. *Nature Protocols*, 4, 363-371.
- Keskin, B. C., (2012) Bitkilerde Sinyal İletimi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5 (1): 53-73

- Khraiwesh, B., Zhu, J. K., Zuh, J. (2012). Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1819, 137 – 148.
- Kim, J., Jung J.H., Reyes J.L., Kim Y.S., Kim S.Y., Chung K.S., Kim J.A., Lee M., Lee Y., Narry Kim V., Chua N.H., Park C.M. (2005). microRNA-directed cleavage of ATHB15 mRNA regulates vascular development in Arabidopsis inflorescence stems. *The Plant journal : for cell and molecular biology* 42, 84-94, doi:10.1111/j.1365-313X.2005.02354.x
- Kim, S. J., Huh, Y.C., Ahn, Y. K., Kim, J., Kim D.S., Lee, H.E. (2015). Watermelon (*Citrullus lanatus*) Late-Embryogenesis Abundant group 3 protein, CLEA3-1, Responds to Diverse Abiotic Stresses. *Horticulture Environment Biotechnology*, 56(4), 555-560.
- Kidner, C. A. & Martienssen, R. A. (2004). Spatially restricted microRNA directs leaf polarity through ARGONAUTE1. *Nature* 428, 81-84, doi:http://www.nature.com/nature/journal/v428/n6978/supinfo/nature02366_S1.html
- Kobayashi, F., Maeta, E., Terashima, A. & Takumi, S. (2008).. Positive role of a wheat HvABI5 ortholog in abiotic stress response of seedlings. *Physiologia Plantarum* 134, 74-86, doi:10.1111/j.1399-3054.2008.01107.x
- Kocaçaliskan D., (2003). Bitki Fizyolojisi. DPÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Yayını, 420.
- Koptekin, D., Aktaş, L.Y., 2013. Bitki mikroRNA'ları: Biyogenezi, köken ve evrimi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2): 140-148.
- Kömürcü-Bayrak, E., Erginel-Ünaltuna, N. (2011). Gen Anlatımı Analiz Yöntemlerine Genel Bakış. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*. Yıl 1, Cilt 1, Sayı 2, 28-35.
- Kubilay, Z. (2014). Karpuz (*Citrullus Vulgaris*) ve Kavun (*Cucumis Melo*) Meyve Sularının Kombucha Mantarı İle Fermantasyon Ürünlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Gaziantep.
- Kubista, M., Andrade, J.M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonâk, J., Lind, K., Sindelka R., Sjöback R., Sjögreen B., Strömbom L., Ståhlberg A., Zoric N. (2006). The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects Medicine*, 27, 95-125.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33, 1870-1874, doi:10.1093/molbev/msw054

- Kuşvuran, Ş., Daşgan H.Y., Abak, K. (2008). Farklı bamya genotiplerinin kuraklık stresine tepkileri. VII. Sebze Tarımı Sempozyumu, 26-29 Ağustos, 329-333. Yalova.
- Kuşvuran, Ş. (2010). Kavunlarda kuraklık ve tuzluluğa toleransın fizyolojik mekanizmaları arasındaki bağlantılar. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kuşvuran, Ş., Daşgan H.Y., Abak, K. (2011). Farklı Kavun Genotiplerinin Kuraklık Stresine Tepkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 21(3), 209-219.
- Kutlu, İ. (2010). Tahıllarda Kuraklık Stresi. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 3(1), 35-41.
- Küçükkömürcü, S., (2011). Tuzluluk ve Kuraklık Streslerine Tolerans Bakımından Bamya Genotiplerinin Taranması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. (yüksek lisans tezi, basılmamış), Adana, 164 s.
- Lara, P., Oñate-Sánchez L., Abraham Z., Ferrándiz C., Díaz I., Carbonero P., Vicente-Carbajosa J. (2003). Synergistic Activation of Seed Storage Protein Gene Expression in Arabidopsis by ABI3 and Two bZIPs Related to OPAQUE2. Journal of Biological Chemistry 278, 21003-21011, doi:10.1074/jbc.M210538200
- Larcher, W. (1995). Gas exchange in plants. Physiological Plant Ecology. Berlin: Springer, 506.
- Lay, M.J., Wittwer, C.T. (1997). Real-time fluorescence genotyping of factor V Leiden during rapid- cycle PCR. Clinical Chemistry, Dec;43(12):2262-7.
- Lee, S. C., Choi, H. W., Hwang, I. S., Choi, D. S. & Hwang, B. K. (2006). Functional roles of the pepper pathogen-induced bZIP transcription factor, CABZIP1, in enhanced 15 resistance to pathogen infection and environmental stresses. Planta 224, 1209-1225, doi:10.1007/s00425-006-0302-4
- Levitt, J., (1980). Responses of Plants to environmental Stresses. Academic Press, Inc. London.
- Li, D., Galau, G.A. (1981). Developmental biochemistry of cottonseed embryogenesis and germination XIII. Regulation of biosynthesis of principal storage proteins. Plant Physiol., 68(1), 187-194.
- Li, D., He, X. (2009). Desiccation induced structural alterations in a 66-amino acid fragment of an anhydrobiotic nematode late embryogenesis abundant (LEA) protein. Biomacromolecules, 10, 1469-1477.

- Li, D., Fu, F., Zhang, H. & Song, F. (2015). Genome-wide systematic characterization of the bZIP transcriptional factor family in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *BMCgenomics* 16, 771, doi:10.1186/s12864-015-1990-6
- Li, W.-X. Oono Y., Zhu J., He X.J., Wu J.M., Iida K., Lu X.Y., Cui X., Jin H., Zhu J.K. (2008). The Arabidopsis NFYA5 Transcription Factor Is Regulated Transcriptionally and Posttranscriptionally to Promote Drought Resistance. *The Plant cell* 20, 2238-2251, doi:10.1105/tpc.108.059444
- Li, X. and Cao, J. (2015). Late Embryogenesis Abundant (LEA) Gene Family in Maize: Identification, Evolution, and Expression Profiles. *Plant Molecular Biology Rep.* Volume 34, Issue 1, 15-28. doi:10.1007/s11105-015-0901-y
- Li, Y.-Y., Meng, D., Li, M. & Cheng, L. (2016). Genome-wide identification and expression analysis of the *bZIP* gene family in apple (*Malus domestica*). *Tree Genetics & Genomes* 12, doi:10.1007/s11295-016-1043-6
- Liao Y., Zou H.F., Wei W., Hao Y.J., Tian A.G., Huang J., Liu Y.F., Zhang J.S., Chen S.Y. (2008). Soybean GmbZIP44, GmbZIP62 and GmbZIP78 genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic Arabidopsis. *The Planta* doi: 10.1007/s00425-008-0731-3
- Lichtenhaler, H. K. (1996). Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of Plant Physiology*, 148, 4-14.
- Liu, J., Chen N., Chen F., Cai B., Dal Santo S., Tornielli G.B., Pezzotti M., Cheng Z.M. (2014). Genome-wide analysis and expression profile of the bZIP transcription factor gene family in grapevine (*Vitis vinifera*). *BMC genomics* 15, 281, doi:10.1186/1471-2164-15-281
- Liu, Y.L., Schiff, M., Dinesh-Kumar, S.P. (2002). Virus-induced gene silencing in tomato. *Plant Journal*, 31, 777–786.
- Liu, J.-X., Srivastava, R., Che, P. & Howell, S. H. (2007). Salt stress responses in Arabidopsis utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling. *The Plant Journal* 51, 897-909, doi:10.1111/j.1365-3113X.2007.03195.x
- Liu, X. & Chu, Z. (2015). Genome-wide evolutionary characterization and analysis of bZIP transcription factors and their expression profiles in response to multiple abiotic stresses in *Brachypodium distachyon*. *BMC genomics* 16, 227, doi:10.1186/s12864-015-1457-9
- Livingstone, D., (1854). *Livingstone's, African Journal*, 1, 1853-1856.
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402-8.

- Lu, S., Sun, Y.H., Chiang, V.L., (2008). Stress-responsive microRNAs in *Populus*. *Plant Journal*, 55, 131–151.
- Lu, G., Gao, C., Zheng, X. & Han, B. (2009). Identification of OsbZIP72 as a positive regulator of ABA response and drought tolerance in rice. *Planta* 229, 605-615, doi:10.1007/s00425-008-0857-3
- Lu, Y.B., Qi, Y.P., Yang, L.T., Guo, P., Li, Y., Chen, L.S. (2015) Boron-deficiency-responsive microRNAs and their targets in *Citrus sinensis* leaves. *BMC Plant Biol.*, 15, 271. doi: 10.1186/s12870-015-0642-y
- Luan, M., Xu, M., Lu, Y., Zhang, L., Fan, Y., Wang, L., (2015). Expression of zma-miR169 miRNAs and their target ZmNF-YA genes in response to abiotic stress in maize leaves. *Gene*, 555(2): 178-185.
- Lucas, T. J. L. a. W. J. (2006). INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY: Role of Phloem Long- Distance Macromolecular Trafficking. *Annual Review of Plant Biology* 57, 203-232, doi:10.1146/annurev.arplant.56.032604.144145
- Lynch, M., Conery, J. S. (2000). The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. *Science*, 290, 1151–1155.
- Mallory, A. C., Reinhart B.J., Jones-Rhoades M.W., Tang G., Zamore P.D., Barton M.K., Bartel D.P. (2004). MicroRNA control of PHABULOSA in leaf development: importance of pairing to the microRNA 5' region. *The EMBO Journal* 23, 3356-3364, doi:10.1038/sj.emboj.7600340
- Marschner, H., (1995). Mineral nutrition of Higher Plants. 2nd ed. London: Academic Press, 657-680.
- McKersie, B.D., Leshem, Y. (1994). Stress and Stress Coping in Cultivated Plants, Kluwer Academic Publishers, Netherlands: Springer.
- Mnasri, B., Aouani, M.E., Mhamdi, R., (2007). Nodulation and Growth of Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) Under Water Deficiency. *Soil Biology & Biochemistry* 39.: 1744- 1750.
- Milli Eğitim Bakanlığı (2008). Karpuz yetiştiriciliği. Bahçecilik, MEGEP. Ankara
- Muthamilarasan, M., Theriappan, P., Prasad, M. (2013). Recent advances in crop genomics for ensuring food security. *Curr. Sci.*, 105, 155-158
- Navarro, L., Dunoyer, P., Jay, F., Arnold, B., Dharmasiri, N., Estelle, M.. (2006). A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling, *Science*, 312, 436–439.
- Nijhawan, A., Jain, M., Tyagi, A. K. & Khurana, J. P. (2008). Genomic survey and gene expression analysis of the basic leucine zipper transcription factor family in rice. *Plant physiology* 146, 333-350, doi:10.1104/pp.107.112821

- Nozawa, M., Miura, S., Nei, M. (2012). Origins and evolution of microRNA genes in plant species. *Genome biology and evolution*, 4, 230-239.
- Nyren, P., Lundin, A. (1985). Enzymatic method for continuous monitoring of inorganic pyrophosphate synthesis. *Analytical Biochemistry*, 151, 504–509.
- O'meara, D., Wilbe, K., Leitner, T., Hejdeman, B., Albert, J., Lundeberg, J. (2001). Monitoring Resistance to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitors by Pyrosequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 39, No. 2, 464–473. DOI: 10.1128/JCM.39.2.464–473.2001
- Orellana S, Yanez M, Espinoza A, Verdugo I, Gonzalez E, RUIZ-LARA S, Casaretto JA. (2010) The transcription factor SIAREB1 confers drought, salt stress tolerance and regulates biotic and abiotic stress-related genes in tomato. *Plant Cell Environ.* 2010;33(12):2191–2208. doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02220.x
- Örs, S., Ekinci, M. (2015). Kuraklık stresi ve bitki fizyolojisi. *Derim*, 32 (2), 237-250. DOI: 10.16882/derim.2015.90060
- Özgür, M. (1995). Kavun ve karpuz yetiştiriciliği. G., Can, Sebzeçilik, Anadolu Üniversitesi.
- Öztürk, N.Z. (2015). Bitkilerin Kuraklık Stresine Tepkilerinde Bilinenler ve Yeni Yaklaşımlar, *Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology*, 3(5), 307-315.
- Quevillon, E., Silventoinen, V., Pillai, S., Harte, N., Mulder, N., Apweiler R., Lopez R. (2005). InterProScan: protein domains identifier. *Nucleic Acids Res.*, 33, W116–W120.
- Pant, B. D., Musialak-Lange M., Nuc P., May P., Buhtz A., Kehr J., Walther D., Scheible W.R. (2009). Identification of Nutrient-Responsive Arabidopsis and Rapeseed MicroRNAs by Comprehensive Real-Time Polymerase Chain Reaction Profiling and Small RNA Sequencing. *Plant physiology* 150, 1541-1555, doi:10.1104/pp.109.139139
- Park, W., Li, J., Song, R., Messing, J., Chen, X. (2002). Carpel factory, a Dicer homolog, and HEN1, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Current Biology*, 12(17), 1484-95.
- Pekmezci, M.Y. (2015). Yabani zeytinde (*olea europaea* l. Subsp. *Oleaster*) yüksek verimli rna dizilemesi ile yaprak ve pedisel dokularındaki korunmuş ve yeni miRNA ve hedef genlerinin karakterizasyonu Yüksek Lisans Tezi, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Çankırı.
- Peng, C., Ma., Z., Lei, X., Zhu, Q., Chen, H., Wang, W., Liu, S., Li, W., Fang, X., & Zhou, X., (2011). A drought-induced pervasive increase in tree mortality across Canada's boreal forests. *Nature Climate Change*, 1, 467–71.

- Perkins, V. P. (2005). Watermelon and human health. 3rd International Cucurbit Symposium, Townsville-Australia, 66.
- Robinson, R.W. and Decker- Walters, D.C. (1997). Cucurbits. CAB International: New York.
- Roche. (2015). LightCycler® 480 SYBR Green I Master. 0815.047349800011.
- Rodriguez-Urbe, L. & O'Connell, M. A. (2006). A root-specific bZIP transcription factor is responsive to water deficit stress in tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) and common bean (*P. vulgaris*). *Journal of Experimental Botany* 57, 1391-1398, doi:10.1093/jxb/erj118
- Ronaghi, M. (2001). Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. *Genome Res.* 11 (1), 3-11.
- Pourabed, E., Ghane Golmohamadi, F., Soleymani Monfared, P., Razavi, S. M. & Shobbar, Z.-S. (2015). Basic Leucine Zipper Family in Barley: Genome-Wide Characterization of Members and Expression Analysis. *Molecular Biotechnology* 57, 12-26, doi:10.1007/s12033-014-9797-2
- Sairam, R. K. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86(3).
- Sairam, R. K. & Tyagi, A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86, 407–421.
- Saitou, N., Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 4, 406–425
- Sangakkara, U. R., Frehner, M., Nösberger, J., (2001). Influence of soil moisture and fertilizer potassium on the vegetative growth of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *J. Agron. Crop Sci.* 186: 73–81.
- Sarı, N. (2006). Yazlık sebzeler ders notları, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana.
- Sarı, N., Kaçar, Y.A., Mendi, Y.Y., Solmaz, İ., Aktaş, H. (2007). Karpuz Genetik Kaynaklarının Morfolojik ve Genetik Karakterizasyonu. *Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu*. Proje numarası: 104O073.
- Sarıllu, E.M.T (2011). Kabak (*Cucurbita pepo*) Bitkisinde *Agrobacterium Rhizogenes* Aracılığıyla Rol Genlerin Aktarılması Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya.

- Shen, H., Cao, K. & Wang, X. (2007). A conserved proline residue in the leucine zipper region of AtbZIP34 and AtbZIP61 in *Arabidopsis thaliana* interferes with the formation of homodimer. *Biochemical and biophysical research communications* 362, 425-430, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.08.026
- Silveira, A. B., Gauera L., Tomaza J. P., Cardoso P. R., Carmello-Guerreiro S., Vincentz M., (2007). The *Arabidopsis* AtbZIP9 protein fused to the VP16 transcriptional activation domain alters leaf and vascular development. *Plant Science* 172, 1148-1156, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.03.003
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki K. (1997). Gene Expression and Signal Transduction in Water-Stress Response. *Plant Physiol.*, 115(2), 327-34.
- Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125, 27-58.
- Smith, J.C., Osborn, A. M. (2009). Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *Federation of European Microbiological Societies*, 67, 6–20. DOI:10.1111/j.1574-6941.2008.00629.x
- Söding, J. (2005). Protein homology detection by HMM–HMM comparison. *Bioinformatics* (Oxford, England) 21, 951-960, doi:10.1093/bioinformatics/bti125
- Stanton, L. W. (2001). Methods to profile gene expression. *Trends Cardiovascular Medicine*, 11, 49-54.
- Sunkar, R., Zhu, J. K. (2004) Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 16, 2001–2019.
- Sunkar, R., Zhou, X., Zheng, Y., Zhang, W., Zhu, J.-K. (2008). Identification of novel and candidate miRNAs in rice by high throughput sequencing. *BMC Plant Biology*, 8, 25.
- Suyama, M., Torrents, D., Bork, P. (2006). PAL2NAL: robust conversion of protein sequence alignments into the corresponding codon alignments. *Nucleic Acids Res.*, 34, W609–W612.
- Şanlıdilek, D. S. (2009). Light Cyclor Real Time PCR Teknolojisi ile Faktör V Geninde Yeni Mutasyon Taranması Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü. Ankara.
- Şeniz, V., Özgür M., Sivritepe Ö., Özer, M. H. 1995. *Sebzecilik*, Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir.
- Taiz, L, Zeiger, E. (2010). Responses and adaptations to abiotic stress. In: *Plant Physiology*, Fifth Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc., 755-778.

- Takahashi, H., Kawakatsu, T., Wakasa, Y., Hayashi, S. & Takaiwa, F. (2012). A Rice Transmembrane bZIP Transcription Factor, OsbZIP39, Regulates the Endoplasmic Reticulum Stress Response. *Plant and Cell Physiology* 53, 144-153, doi:10.1093/pcp/pcr157
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S.. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology Evolution*, 28, 2731–2739.
- Tang, H., Bowers J.E., Wang X., Ming R., Alam M., Paterson A.H. (2008). Synteny and Collinearity in Plant Genomes. *Science (New York, N.Y.)* 320, 486-488, doi:10.1126/science.1153917
- Tang, X., Bian S., Tang M., Lu Q., Li S., Liu X., Tian G., Nguyen V., Tsang E.W., Wang A., Rothstein S.J., Chen X., Cui Y. (2012). MicroRNA-Mediated Repression of the Seed Maturation Program during Vegetative Development in Arabidopsis. *PLOS Genetics* 8, e1003091, doi:10.1371/journal.pgen.1003091
- Tanyolaç, B., Kaya H.B., Soya, S., Akkale C. (2012). *Biyoteknoloji ve Biyoinformatik*, AUTHORS: H. B. Kaya, S. Soya, C. Akkale, B. Tanyolaç, *Moleküler Biyoloji*, Edition 2, Chapter 16.
- Taşkaya, B., Keskin, G. (2004). Kavun-Karpuz. *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü*. Sayı 6, Nüsha 9.
- Tobin, A. J., Dusheck J. (2001). Asking about Life kitabından 2/e figüre 13.7'den uyarlanılmıştır.
- Tuna, A. L., Özer, Ö. (2005). Farklı kalsiyum bileşiklerinin karpuz (*Citrullus lanatus*) bitkisinde verim, beslenme ve bazı kalite özellikleri üzerine etkisi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, 42(1):203-212.
- Tunnacliffe, A., Lapinski, J. and McGee, B. (2005). A Putative LEA Protein, but No Trehalose, Is Present in Anhydrobiotic Bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, 546, 315-321.
- Turner, P. C., McLennan A. G., Bates A. D., White M. R. H., *Moleküler Biyoloji*, ed. Konuk M., Nobel, 228 (2004)..
- Türkan, İ., Bor, M., Özdemir, F., Koca, H., 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and droughtsensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress, *Plant Sci.* 168: 223-231.
- Türktaş, M. (2011). DNA Dizi Analizi. Floresan Temelli Yeni nesil genetik analiz uygulamaları: DNA dizi analizi, moleküler markörler uygulamaları ve çoklu gen anlatım analizleri uygulamalı eğitimi kitapçığı, TÜBİTAK.

Türktaş, M., Kurtoğlu, K.Y., Dorado, G., Zhang, B., Hernandez, P., Unver, T. (2014). Sequencing of plant genomes—a review. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 1-39.

URL-1. FAOSTAT Web Sitesi, 04/01/2017 tarihinde <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. adresinden alınmıştır.

URL-2. Çetiner, S. Türkiye ve Dünyada Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvencesi: Sorunlar ve Öneriler, 11/01/2017 tarihinde <http://students.sabanciuniv.edu/~sedakaya/index.php> adresinden alınmıştır.

URL-3. Vegetable MD Online, Cucurbit, 01/01/2017 tarihinde <http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/DiagnosticKeys/CucurWlt/CucWltKey.htm> adresinden uyarlanarak alınmıştır.

URL-4. T.C. Gıda Tarım Ve Hayvancılık Bak. Bitkisel Üretim Verileri, 15/04/2018 tarihinde <https://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BUGEM.pdf> adresinden alınmıştır.

URL-5. Tarım Kütüphanesi, Kavun Tarımı, 01/01/2017 tarihinde http://www.tarimkutuphanesi.com/KAVUN_TARIMI_01734.html adresinden alınmıştır.

URL-6. Bahçesel, KARPUZ Botanik Özellikleri, 21/01/2017 tarihinde <http://www.bahcesel.net/forumsel/genel-ve-ozel-sebzecilik-profdratila-gunay/18817-karpuz-botanik-ozellikleri/> adresinden alınmıştır.

URL-7 United States Department of Agriculture Plant Data Base, *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai var. lanatus watermelon 21/02/2017. tarihinde <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CILAL> adresinden alınmıştır.

URL-8. Late Embryogenesis Abundant Proteins DataBase, <http://forge.info.univ-angers.fr/~gh/Leadb/index.php> 04/02/2017 tarihinde adresinden ulaşılmıştır.

URL-9. Pfam 29.0 Database, <http://pfam.sanger.ac.uk/> 02/02/2017 tarihinde adresinden ulaşılmıştır

URL-10. Late Embryogenesis Abundant Proteins DataBase , <http://forge.info.univ-angers.fr/~gh/Leadb/index.php?action=0&mode=0> 17/05/2017 tarihinde adresinden ulaşılmıştır.

URL-11. Cucurbit Genomics Database, 15/02/2017 tarihinde <http://www.icugi.org/cgi-bin/ICuGI/tool/blast.cgi> adresinden alınmıştır.

URL-13. ExPASy SIB Bioinformatics Resource Portal veri tabanı, 20/01/2017 tarihinde <http://web.expasy.org/protparam> adresinden alınmıştır.

- URL-14. Multiple Em for Motif Elicitation, 29/02/2017 tarihinde <http://meme.nbcr.net/meme3/meme.html> adresinden alınmıştır.
- URL-15. Blast2go programı, 27/02/2017 tarihinde <http://www.blast2go.com> adresinden alınmıştır.
- URL-16. Phytozome the plant genomics resource, 21/02/2017 tarihinde www.phytozome.net adresinden alınmıştır.
- URL-17. Clustal Omega multiple sequence alignment, 24/02/2017 tarihinde <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/> adresinden alınmıştır.
- URL-18. PAL2NAL, 24/02/2017 tarihinde <http://www.bork.embl.de/pal2nal/> adresinden alınmıştır.
- URL-19. The microRNA database, 15/03/2017 tarihinde <http://www.mirbase.org/> adresinden alınmıştır.
- URL-20. PMRD: plant microRNA database, 20/03/2017 tarihinde <http://bioinformatics.cau.edu.cn/PMRD/> adresinden alınmıştır.
- URL-21. A Plant Small RNA Target Analysis Server, 20/03/2017 tarihinde <http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/> adresinden alınmıştır.
- URL-22. Protein Homology/Analog/YRecognition Engine, 24/02/2017 tarihinde <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2> adresinden alınmıştır.
- URL-23. BM Laboratuvar sistemleri Web Sitesi, 24/03/2017 tarihinde [http://www.bmlabosis.com/Urunler/1292/Mikrosantrifuj-Tupu-20ml-olculundirme-cizgili#prettyPhoto\[product-gallery\]/0/](http://www.bmlabosis.com/Urunler/1292/Mikrosantrifuj-Tupu-20ml-olculundirme-cizgili#prettyPhoto[product-gallery]/0/) ependorf resminden uyarlanmıştır.
- URL-24. Techne, Prime Thermal Cyclers, 24/03/2017 tarihinde <http://www.techne.com/product.asp?dsl=925> adresinden alınmıştır.
- URL-25. Fisher biotec. Gel Documentation System - QUANTUM ST5. 04/04/2017 tarihinde http://www.fisherbiotec.com.au/shop/product/gel_documentation_system-quantum_st5/48 adresinden alınmıştır.
- URL-26. Biotechnology Center, qPCR Service at the Gene Expression Center 09/04/2016 tarihinde <https://www.biotech.wisc.edu/services/gec/productsservices/rochelightcyclerservices> adresinden alınmıştır.
- URL-27. SCRIBD web sitesi, 04/06/2018 tarihinde <https://tr.scribd.com/presentation/209660151/RNA-Izolasyonu> adresinden alınmıştır.

- Ünver, T., Bozkurt, O., Akkaya, M.S. (2008). Identification of differentially expressed genes of a boron tolerant plant, *Gypsophila perfoliata* L., under toxic boron levels., *Plant Cell Reports (ISI)* , 27 (8), 1411-1422.
- Ünver, T., Budak, H. (2009). Conserved microRNAs and their targets in model grass species *Brachypodium distachyon*, *Planta (ISI)* , 230 (4), 659-669.
- Üstek, D., Abacı, N., Sırma, S., Çakiris, A. (2011). Yeni Nesil DNA Dizileme. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, Cilt 1, Sayı 1, 11-18.
- Van Kappel, A. L., Steghens, J. P., Zeleniuch-Jacquotte, A., Chajes, V., Toniolo, P., Riboli, E. (2001). Serum carotenoids as biomarkers of fruit and vegetable consumption in the New York Women's health study. *Public Health Nutrition*, 4(3), 829-835.
- Vicente-Serrano S.M., Lopez-Moreno J., Beguería S., Lorenzo-Lacruz J., Sanchez-Lorenzo A., García-Ruiz J. M., Azorin-Molina C., Morán-Tejeda E., Revuelto J., Trigo R., Coelho F. ve Espejo F. (2014). Evidence of increasing drought severity caused by temperature rise in southern Europe. *Environmental Research Letters*, 9, 044001, doi:10.1088/1748-9326/9/4/044001
- Voorrips, R. E. (2002). MapChart: Software for the Graphical Presentation of Linkage Maps and QTLs. *Journal of Heredity* 93, 77-78, doi:10.1093/jhered/93.1.77
- Voinnet, O. (2009). Origin, Biogenesis, and Activity of Plant MicroRNAs. *Cell* 136, 669- 87, doi:10.1016/j.cell.2009.01.046
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., (2000). *Kültür Sebzeleri*, Ege Üniversitesi Basımevi, Pp: 440. Bornova, İZMİR.
- Walsh, J., Waters, C. A. & Freeling, M. (1998). The maize gene *liguleless2* encodes a basic leucine zipper protein involved in the establishment of the leaf blade-sheath boundary. *Genes & Development* 12, 208-218
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14.
- Wang, S., Zhu, Q.H., Guo, X., Gui, Y., Bao, J., Helliwell, C. Fan L. (2007). Molecular evolution and selection of a gene encoding two tandem microRNAs in rice. *FEBS Letters*, 581, 4789-4793.
- Wang, L., Li, X., Chen, S., Liu, G. (2009). Enhanced drought tolerance in transgenic *Leymus chinensis* plants with constitutively expressed wheat TaLEA (3). *Biotechnology Letters*, 31(2), 313-319. doi: 10.1007/s10529-008-9864-5

- Wang, J., Zhou J., Zhang B., Vanitha J., Ramachandran S., Jiang S.Y. (2011). Genome-wide Expansion and Expression Divergence of the Basic Leucine Zipper Transcription Factors in Higher Plants with an Emphasis on SorghumF. *Journal of Integrative Plant Biology* 53, 212-231, doi:10.1111/j.1744- 7909.2010.01017.x
- Wang, Z., Cheng K., Wan L., Yan L., Jiang H., Liu S., Lei Y., Liao B. (2015). Genome-wide analysis of the basic leucine zipper (bZIP) transcription factor gene family in six legume genomes. *BMC genomics* 16, 1053, doi:10.1186/s12864-015-2258-x
- Wei, K., Chen J., Wang Y., Chen Y., Chen S., Lin Y., Pan S., Zhong X., Xie D. (2012).Genome-wide analysis of bZIP-encoding genes in maize. *DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes* 19, 463-476, doi:10.1093/dnares/dss026
- Weltmeier, F., Ehler A., Mayer C.S., Dietrich K., Wang X., Schütze K., Alonso R., Harter K., Vicente-Carbajosa J., Dröge-Laser W. (2006). Combinatorial control of Arabidopsis proline dehydrogenase transcription by specific heterodimerisation of bZIP transcription factors. *The EMBO Journal* 25, 3133-3143, doi:10.1038/sj.emboj.7601206
- Whitaker, T.W. and Davis, G.N. (1962). *Cucurbits: Botany, Cultivation and Utilization*. London: Leonard Hill.
- Williams, L., Grigg, S. P., Xie, M., Christensen, S. & Fletcher, J. C. (2005). Regulation of Arabidopsis shoot apical meristem and lateral organ formation by microRNA miR166g and its AtHD-ZIP target genes. *Development* 132, 3657-3668, doi:10.1242/dev.01942
- Williams, A.P., Allen, C.D., Macalady, A. K., Griffin, D., Woodhouse, C.A., Meko, D.M., Swetnam T.W., Rauscher S.A., Seager R. J., Grissino-Mayer H. D., Dean J. S., Cook E. R., Gangodagamage C., Cai M. M. X., McDowell N. G. (2013). Temperature as a potent driver of regional forest drought stress and tree mortality. *Nature Climate Change*, 3, 292–297.
- Wingender, E., Chen X., Fricke E., Geffers R., Hehl R., Liebich I., Krull M., Matys V., Michael H., Ohnhäuser R., Prüss M., Schacherer F., Thiele S., Urbach S. (2001).The TRANSFAC system on gene expression regulation. *Nucleic Acids Research* 29, 281-283, doi:10.1093/nar/29.1.281
- Wong, M. L. and Medrano, J. F. (2005). Review: Real Time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques*, 39(1), 75-85.
- Xu, D., Duan, X., Wang, B., Hong, B., Ho, T., Wu, R. (1996). Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiol.* 110, 249–257

- Yamaç, M. (2017) Türkiye Su Kabağı (*Lagenaria Siceraria*) Genetik Kaynaklarından Seçilmiş Olan Su Kabağı Genotiplerinin Tuzlu Koşullar Altında Karpuz Anaçlık Potansiyellerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi) Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.95 S. Kayseri.
- Yang, Z., Gu, S., Wang, X., Li, W., Tang, Z., Xu C. (2008). Molecular evolution of the cyp2 like gene family in plants: insights from comparative genomics of Arabidopsis and rice. *Journal Molecular Evolution*, 67, 266–277.
- Yang, O., Popova O.V., Süthoff U., Lüking I., Dietz K.J., Gollack D. (2009). The Arabidopsis basic leucine zipper transcription factor AtbZIP24 regulates complex transcriptional networks involved in abiotic stress resistance. *Gene* 436, 45-55, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2009.02.010
- Yang, Y.-G., Lv W.T., Li M.J., Wang B., Sun D.M., Deng X. (2013). Maize Membrane-Bound Transcription Factor Zmbzip17 is a Key Regulator in the Cross-Talk of ER Quality Control and ABA Signaling. *Plant and Cell Physiology* 54, 2020-2033, doi:10.1093/pcp/pct142
- Yer, E. N., Baloglu, M. C., Ziplar, U. T., Ayan, S. & Unver, T. (2015). Drought-Responsive Hsp70 Gene Analysis in Populus at Genome-Wide Level. *Plant Molecular Biology Reporter* 34, 483-500, doi:10.1007/s11105-015-0933-3
- Yokota, A., Kawasaki, S., Iwano, M., Nakamura, C., Miyake, C., Akashi, K. (2002). Citrulline and DRIP-1 protein in drought tolerance of wild watermelon. *Annals of Botany*, 89, 825–832.
- Yoshida, T., Fujita Y., Sayama H., Kidokoro S., Maruyama K., Mizoi J., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (2010). AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation. *The Plant Journal* 61, 672-685, doi:10.1111/j.1365-3113.2009.04092.x
- Yun, K.-Y., Park M.R., Mohanty B., Herath V., Xu F., Mauleon R., Wijaya E., Bajic V.B., Bruskewich R., de Los Reyes B.G. (2010). Transcriptional regulatory network triggered by oxidative signals configures the early response mechanisms of japonica rice to chilling stress. *BMC Plant Biology* 10, 16, doi:10.1186/1471-2229-10-16
- Yüzbaşıoğlu A. (2008). Dejenerasyon Sürecindeki Kas Dokusunda Housekeeping Genlerin Ekspresyon Düzeyinin İncelenmesi Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü. Ankara.
- Zhang, Y., Skolnick, J. (2005). The protein structure prediction problem could be solved using the current PDB library. *Proc. Natl. Acad. Science*, 102(4), 1029-34.

- Zhang, Y. (2005). miRU: an automated plant miRNA target prediction server. *Nucleic Acids Research* 33, W701-W704, doi:10.1093/nar/gki383
- Zhang, L.F., Chia, J.M., Kumari, S., Stein, J.C., Liu, Z.J., Narechania, A., Maher, C.A., Guill, K., McMullen, M.D., Ware, D., (2009). A genome-wide characterization of microRNA genes in maize. *Plos Genetic* , 5(11): e1000716. (doi:10.1371/journal.pgen.1000716).
- Zhao, B., Liang, R., Ge, L., Li, W., Xiao, H., Lin, H., Ruan K, Jin Y. (2007). Identification of drought-induced microRNAs in rice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 354, Issue 2, 585–590. doi:10.1016/j.bbrc.2007.01.022
- Zhao, P., Liu, F., Ma, M., Gong, J., Wang, Q., Jia, P., Zheng G., Liu H. (2011). Overexpression of AtLEA3-3 confers resistance to cold stress in *Escherichia coli* and provides enhanced osmotic stress tolerance and ABA sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Biol*, 45(5), 785–796. doi:10.1134/s0026893311050165
- Zhou, X., Wang, G., Zhang, W. (2007). UV-B responsive microRNA genes in *Arabidopsis thaliana*, *Mol. Syst. Biol.*, 3, 103.
- Zhou, X., Wang, G., Sutoh, K., Zhu, J.-K., Zhang, W. (2008). Identification of cold-inducible microRNAs in plants by transcriptome analysis, *Biochim. Biophys. Acta*, 780–788.
- Zhou, L., Liu, Y., Liu, Z., Kong, D., Duan, M., Luo, L. (2010). Genome-wide identification and analysis of drought-responsive microRNAs in *Oryza sativa*. *Journal of experimental botany*, 61(15), 4157-4168.

EKLER

- EK 1 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan *bZIP* genleri
- EK 2 *ClabZIP* aminoasitlerinin motif özellikleri
- EK 3 *ClabZIP* aminoasitlerinin motif bileşenleri
- EK 4 *ClabZIP* genlerinin tandem duplikasyonları ile homolog ve homolog olmayan değişim sonuçları
- EK 5 *ClabZIP* genlerinin segmental duplikasyonları ile homolog ve homolog olmayan değişim sonuçları
- EK 6 *ClabZIP* genlerinin diğer türlerle ortolog duplikasyonlarının protein kodlama ve birbirlerinden ayrılma oranları
- EK 7 *ClabZIP* genlerinin segmental duplikasyonları ve birbirinden ayrılma oranlarının ortalaması
- EK 8 Karpuz türünde psrna target veritabanından elde edilen miRNA hedefleri
- EK 9 Karpuz kromozomlarında yer alan *bZIP* genlerinin diğer türlerle arasındaki ortolog ilişkiler
- EK 10 *bZIP* protein dizilerinin Blast2Go analiz detayları

EK 1 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan bZIP genleri

Gen Adları	Cucurbit Genomics Database adı	Citrullus lanatus genomundaki fiziksel pozisyonu			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlığı (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararsızlık durumu
		Kromozom	Başlangıç pozisyonu (bç)	Bitiş pozisyonu (bç)					
ClabZIP-01	Cla005880	1	7.793.841	7.794.329	162	5,76	18797,1	62.64	Kararsız
ClabZIP-02	Cla000383	1	19.836.169	19.837.334	253	5,02	28096,3	56.03	Kararsız
ClabZIP-03	Cla014048	1	27.650.081	27.650.734	217	7,07	25283,2	66,91	Kararsız
ClabZIP-04	Cla014195	1	29.016.333	29.019.320	367	6,4	38655,3	50.55	Kararsız
ClabZIP-05	Cla014247	1	29.387.340	29.388.194	159	7,96	18414,5	49.52	Kararsız
ClabZIP-06	Cla015627	2	2.166.640	2.169.711	331	5,67	36922,0	63,42	Kararsız
ClabZIP-07	Cla015828	2	3.957.079	3.957.867	262	5,7	28734,1	34.44	Stabil
ClabZIP-08	Cla015873	2	4.334.684	4.337.079	565	5,89	61717,1	63,78	Kararsız
ClabZIP-09	Cla015874	2	4.349.081	4.350.771	503	6,06	54888,4	58.53	Kararsız
ClabZIP-10	Cla016019	2	6.312.256	6.315.076	702	9,72	76315,4	53,64	Kararsız
ClabZIP-11	Cla020278	2	21.327.124	21.327.930	268	5,93	29485,9	38,62	Stabil
ClabZIP-12	Cla019809	2	27.036.736	27.040.518	428	6,34	46016,9	60.63	Kararsız
ClabZIP-13	Cla013418	2	29.584.144	29.587.415	377	6,51	40775,5	56.42	Kararsız
ClabZIP-14	Cla008649	2	32.283.077	32.287.688	441	6,5	49474,8	65.21	Kararsız
ClabZIP-15	Cla008141	3	459.693	466.986	240	8,81	27291,90	62,83	Kararsız
ClabZIP-16	Cla011083	3	24.987.780	24.988.700	247	9,26	27765,40	54.58	Kararsız
ClabZIP-17	Cla011295	3	27.299.476	27.305.648	379	8,92	41421,10	67,68	Kararsız
ClabZIP-18	Cla021184	5	1.074.406	1.077.661	417	9,05	44242,30	59,48	Kararsız
ClabZIP-19	Cla021868	5	7.090.844	7.093.725	334	5,62	36337,8	45.71	Kararsız

EK 1'in devamı

<i>ClabZIP-20</i>	Cla021871	5	7.127.123	7.129.344	319	5,63	34579,4	52.09	Kararsız
<i>ClabZIP-21</i>	Cla004308	5	9.852.472	9.855.123	321	7,17	36128,1	63,53	Kararsız
<i>ClabZIP-22</i>	Cla020959	5	25.151.735	25.155.826	210	9,77	23424,6	70,04	Kararsız
<i>ClabZIP-23</i>	Cla020795	5	26.708.231	26.708.728	165	6,29	19282,5	69,04	Kararsız
<i>ClabZIP-24</i>	Cla020334	5	30.756.326	30.756.928	200	6,25	22958,7	57,24	Kararsız
<i>ClabZIP-25</i>	Cla009958	5	33.239.540	33.240.007	155	9,75	18414,0	80,92	Kararsız
<i>ClabZIP-26</i>	Cla007293	7	6.480.013	6.485.650	343	5,97	38055,2	52,46	Kararsız
<i>ClabZIP-27</i>	Cla014572	7	20.980.055	20.980.510	151	5,41	17244,3	64,02	Kararsız
<i>ClabZIP-28</i>	Cla014501	7	22.549.936	22.555.645	362	7,07	41267,9	50,33	Kararsız
<i>ClabZIP-29</i>	Cla010797	7	29.964.541	29.964.870	109	6,42	13009,5	70,07	Kararsız
<i>ClabZIP-30</i>	Cla007950	8	4.657.793	4.658.233	146	7,82	17595,8	72,48	Kararsız
<i>ClabZIP-31</i>	Cla007982	8	5.660.154	5.662.898	467	5,83	51576,7	50,70	Kararsız
<i>ClabZIP-32</i>	Cla013824	8	16.165.681	16.167.329	346	9,07	38111,6	61,79	Kararsız
<i>ClabZIP-33</i>	Cla013813	8	16.285.403	16.286.232	236	5,1	25927	41,16	Kararsız
<i>ClabZIP-34</i>	Cla013666	8	17.840.811	17.841.924	300	7,82	33438,5	48,96	Kararsız
<i>ClabZIP-35</i>	Cla022056	8	19.924.170	19.927.941	333	9,18	37293,9	62,36	Kararsız
<i>ClabZIP-36</i>	Cla022235	8	21.838.678	21.842.264	327	5,52	35948,1	60,18	Kararsız
<i>ClabZIP-37</i>	Cla022315	8	22.548.321	22.549.723	158	9,83	17537,4	68,53	Kararsız
<i>ClabZIP-38</i>	Cla022469	8	23.907.592	23.908.080	162	5,21	18303,3	69,17	Kararsız
<i>ClabZIP-39</i>	Cla022580	8	24.791.660	24.794.455	448	9,74	48902,1	45,88	Kararsız
<i>ClabZIP-40</i>	Cla022644	8	25.304.548	25.304.997	149	6,44	17320,6	57,02	Kararsız
<i>ClabZIP-41</i>	Cla015138	9	4.029.884	4.030.267	127	11,17	15013,5	70,33	Kararsız
<i>ClabZIP-42</i>	Cla014803	9	6.155.944	6.166.277	435	6,06	47901,1	75,91	Kararsız
<i>ClabZIP-43</i>	Cla015019	9	8.712.068	8.715.272	352	7,19	38823,3	64,98	Kararsız

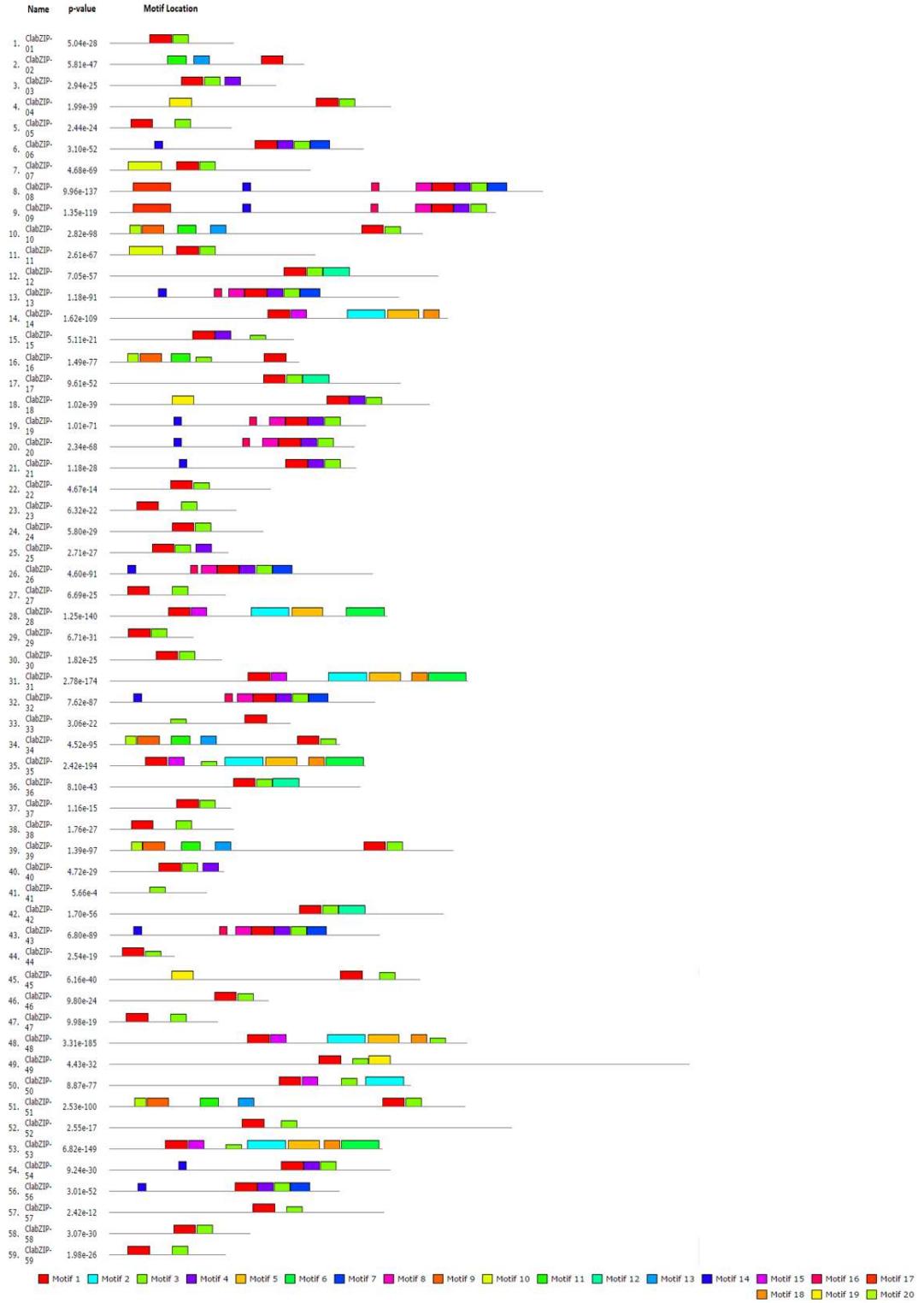
EK 1'in devamı

<i>ClabZIP-44</i>	Cla016247	9	10.809.367	10.809.997	85	9,79	10010,2	87.84	Kararsız
<i>ClabZIP-45</i>	Cla008839	10	1.097.045	1.101.935	405	6,43	43190,6	56.51	Kararsız
<i>ClabZIP-46</i>	Cla008917	10	1.766.179	1.767.132	208	9,88	22863,4	63,08	Kararsız
<i>ClabZIP-47</i>	Cla017361	10	16.792.528	16.792.956	142	9,42	15891,2	60,44	Kararsız
<i>ClabZIP-48</i>	Cla002873	10	22.392.006	22.399.567	467	8,41	51572,8	49.44	Kararsız
<i>ClabZIP-49</i>	Cla017444	10	22.593.039	22.596.318	767	6,64	82807,4	54,82	Kararsız
<i>ClabZIP-50</i>	Cla017522	10	23.580.019	23.582.853	393	6,96	44264,9	62,48	Kararsız
<i>ClabZIP-51</i>	Cla017696	10	25.301.689	25.303.800	464	8,98	50018,1	57,1	Kararsız
<i>ClabZIP-52</i>	Cla017709	10	25.414.956	25.418.760	525	7,51	58432,4	73.24	Kararsız
<i>ClabZIP-53</i>	Cla011901	11	3.065.514	3.068.509	356	7,23	40986,6	52.45	Kararsız
<i>ClabZIP-54</i>	Cla022943	11	15.820.483	15.822.319	367	8,77	41295,9	60.9	Kararsız
<i>ClabZIP-55</i>	Cla023140	11	17.833.816	17.834.286	156	6,92	17492,6	70.29	Kararsız
<i>ClabZIP-56</i>	Cla023348	11	19.886.710	19.888.937	300	5,99	33197,0	73	Kararsız
<i>ClabZIP-57</i>	Cla023484	11	21.045.324	21.048.668	358	4,49	39132,4	53,26	Kararsız
<i>ClabZIP-58</i>	Cla016491	11	21.882.491	21.883.045	184	6,16	21618,9	54.08	Kararsız
<i>ClabZIP-59</i>	Cla016581	11	22.829.898	22.830.356	152	5,79	16767,8	60.41	Kararsız

EK 2 ClabZIP amino asitlerinin motif özellikleri

Motif No.	Bölge	E-Değeri	Motiflerin Amino Asit Dizileri	Uzunluk (aa)
Motif 1	57	2.8e-835	ERKQRRMISNRESARRSRMRKQKHLDELW VDGILVHYDELFRLKGNAAKADVHLLSGMWKTPAERCFLWLGG	29
Motif 2	7	6.8e-152	GFRSSEL	50
Motif 3	54	1.1e-136	DTSGTLVENKELKLRLQAMEQ	21
Motif 4	17	1.3e-071	RKVQTLQTEATSLSAQLTLLQ	21
Motif 5	6	3.9e-055	LVNQLEPLTEQQLVGITNLQQSSQQAEDALSQGMEALQQSL FIRQADNLRQQTLQQMHRILTRQTSARALLAHDYFSRLRALSSL	41
Motif 6	4	2.6e-043	WLARP	50
Motif 7	7	2.7e-040	QAHLRDALNEALKKEVERLKIATGEV	26
Motif 8	8	4.8e-034	ESIEAKKAMDPAKLAELWTID	21
Motif 9	5	7.5e-034	LGEMGKPLGSMNLDELLHNIWTAEANQSM	29
Motif 10	2	8.7e-028	CSMDSFFDEILKDTHACTHAHTCNPPGPDYSHHTCFHVHTKIV	44
Motif 11	6	9.2e-028	LQRQGSLLPRTLSQLKKVDEVWKDI	25
Motif 12	4	2.2e-027	KYDDAAVDNRLKADIETLRAKVKMAEETVKRVTG	35
Motif 13	5	1.1e-019	RQPTFGEMTLEDFLIKAGVVR	21
Motif 14	12	2.2e-019	HHRRSHSDTSF	11
Motif 15	7	1.0e-032	SRLKLTQLEQELQRARQQGIF	21
Motif 16	8	2.6e-014	RHRHSNSMDG FSMDQLKISQMNCSSQGRAQHFQSNFLGDNRRIGIPPCPNPQIPPI	10
Motif 17	2	5.7e-013	SPY	50
Motif 18	5	9.7e-013	GNVANYMGQMAMAMGKLGTL	21
Motif 19	4	1.0e-012	YVAMYPPGGIYAHPSIPPGSYFPSPFTMP	29
Motif 20	5	2.2e-012	RQPSIYSLTFDEFQN	15

EK 3 ClabZIP amino asitlerinin motif bileşenleri



EK 4 *ClabZIP* genlerinin tandem duplikasyonları ile homolog ve homolog olmayan değişim sonuçları

<i>ClabZIP</i> Genlerinde Tandem Duplikasyonlar							
Chromosome	Gene	Duplicate	e value	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
2	ClabZIP-07	ClabZIP-11	e-114	1,5645	0,1389	0,0888	12,0
2	ClabZIP-08	ClabZIP-09	0,00E+00	0,41	0,05	0,1241	3,1
5	ClabZIP-19	ClabZIP-20	e-132	0,54	0,14	0,2544	4,1
Mean				0,84	0,11	0,16	6,43

EK 5 *ClabZIP* genlerinin Segmental duplikasyonları ile homolog ve homolog olmayan değişim sonuçları

<i>ClabZIP</i> Genlerinde Segmental Duplikasyonlar											
Gene 1	locus	Chr.	Gene 2	locus	Chr.	e-value	% Homology	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
ClabZIP-06	2,166,640-2,169,711	2	ClabZIP-56	19886710-19888937	11	2,00E-86	65%	6,0769	0,3023	0,049746	46,74538
ClabZIP-10	6312256-6315076	2	ClabZIP-51	25301689-25303800	10	e-171	100%	53,7251	0,6157	0,01146	413,27
ClabZIP-12	27036736-27040518	1	ClabZIP-17	27299476-27305648	2	2,00E-86	59%	2,17	0,41	0,18882	16,71923
ClabZIP-13	29584144-29587415	2	ClabZIP-26	6480013-6485650	7	8,00E-93	68%	50,30	0,34	0,006714	386,91
ClabZIP-21	9852472-9855123	5	ClabZIP-54	15820483-15822319	11	2,00E-97	77%	1,61	0,27	0,168333	12,38385
ClabZIP-22	25151735-25155826	5	ClabZIP-37	22548321-22549723	8	3,00E-39	70%	2,45	0,25	0,100898	18,83846
ClabZIP-24	30756326-30756928	5	ClabZIP-58	21882491-21883045	11	6,00E-45	70%	2,48	0,34	0,135137	19,07462

EK 5'in devamı

ClabZIP-28	22549936-22555645	7	ClabZIP-53	3065514-3068509	11	e-100	69%	3,16	0,35	0,109505	24,31923
ClabZIP-28	22549936-22555645	7	ClabZIP-35	19924170-19927941	8	1,00E-83	72%	49,81	0,43	0,008648	383,1723
ClabZIP-31	5660154-5662898	8	ClabZIP-48	22392006-22399567	10	e-136	74%	3,56	0,31	0,085763	27,35615
ClabZIP-32	16165681-16167329	8	ClabZIP-43	8712068-8715272	9	e-100	71%	2,60	0,35	0,133572	20,00077
ClabZIP-34	17840811-17841924	8	ClabZIP-16	24987780-24988700	3	5,00E-60	61%	2,67	0,36	0,134245	20,54231
ClabZIP-35	19924170-19927941	8	ClabZIP-48	22392006-22399567	10	e-151	91%	2,83	0,11	0,037118	21,78077
ClabZIP-35	19924170-19927941	8	ClabZIP-31	5660154-5662898	8	e-129	84%	3,22	0,20	0,062855	24,78231
ClabZIP-39	24791660-24794455	8	ClabZIP-10	6312256-6315076	2	7,00E-99	63%	2,65	0,38	0,14455	20,35000
ClabZIP-54	15820483-15822319	11	ClabZIP-35	19924170-19927941	8	1,00E-81	67%	3,03	1,29	0,42505	23,29846
ClabZIP-54	15820483-15822319	11	ClabZIP-48	22392006-22399567	10	2,00E-75	67%	5,54	0,99	0,17942	42,63846
ClabZIP-58	21882491-21883045	11	ClabZIP-29	29964541-29964870	7	7,00E-46	94%	0,98	0,12	0,11903	7,55462
Mean								11,05	0,41	0,12	85,0

EK 6 *ClabZIP* genlerinin diğer türlerle ortolog duplikasyonlarının protein kodlama ve birbirlerinden ayrılma oranları

Karpuz-Çeltik							
ID	Krm.	Gene IDs	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
ClabZIP-07	2	LOC_Os06g50310.1	6	12,03	0,36	0,0299	92,6
ClabZIP-08	2	LOC_Os03g03550.1	3	27,79	0,45	0,0162	213,8
ClabZIP-08	2	LOC_Os08g43090.1	8	46,66	0,46	0,0098	359,0
ClabZIP-11	2	LOC_Os06g50310.1	6	4,23	0,36	0,0843	32,5
ClabZIP-13	2	LOC_Os03g21800.1	3	12,87	0,34	0,0262	99,0
ClabZIP-13	2	LOC_Os07g48180.1	7	4,60	0,40	0,0880	35,4
ClabZIP-14	2	LOC_Os11g05480.1	11	4,21	0,48	0,1142	32,4
ClabZIP-14	2	LOC_Os12g05680.1	12	4,89	0,47	0,0967	37,7
ClabZIP-14	2	LOC_Os01g64020.1	1	7,91	0,52	0,0654	60,9
ClabZIP-14	2	LOC_Os01g59350.1	1	24,76	0,58	0,0233	190,5
ClabZIP-14	2	LOC_Os05g37170.8	5	4,42	0,53	0,1190	34,0
ClabZIP-14	2	LOC_Os01g17260.1	1	20,12	0,42	0,0209	154,8
ClabZIP-14	2	LOC_Os07g48820.1	7	25,95	0,48	0,0185	199,6
ClabZIP-14	2	LOC_Os03g20310.1	3	16,07	0,47	0,0293	123,6
ClabZIP-14	2	LOC_Os06g15480.1	6	54,30	0,47	0,0087	417,7
ClabZIP-14	2	LOC_Os09g10840.1	9	52,07	0,62	0,0118	400,5
ClabZIP-14	2	LOC_Os05g41280.1	5	47,78	0,47	0,0099	367,5
ClabZIP-19	5	LOC_Os09g34060.1	9	5,11	0,31	0,0605	39,3
ClabZIP-19	5	LOC_Os04g41820.1	4	6,41	0,54	0,0839	49,3
ClabZIP-20	5	LOC_Os09g34060.1	9	3,34	0,34	0,1009	25,7
ClabZIP-26	7	LOC_Os03g21800.1	3	1,99	0,33	0,1662	15,3
ClabZIP-26	7	LOC_Os07g48180.1	7	6,61	0,45	0,0678	50,8
ClabZIP-26	7	LOC_Os09g34060.1	9	4,89	0,58	0,1182	37,6
ClabZIP-28	7	LOC_Os04g54474.1	4	54,14	0,96	0,0178	416,5
ClabZIP-28	7	LOC_Os01g17260.1	1	6,20	0,40	0,0650	47,7
ClabZIP-28	7	LOC_Os01g59350.1	1	7,76	0,46	0,0589	59,7
ClabZIP-28	7	LOC_Os07g48820.1	7	4,03	0,43	0,1054	31,0
ClabZIP-28	7	LOC_Os03g20310.1	3	13,28	0,42	0,0316	102,1
ClabZIP-28	7	LOC_Os06g15480.1	6	11,30	0,48	0,0421	86,9
ClabZIP-28	7	LOC_Os12g05680.1	12	8,08	0,50	0,0622	62,1
ClabZIP-31	8	LOC_Os01g59350.1	1	4,04	0,32	0,0793	31,1
ClabZIP-31	8	LOC_Os06g15480.1	6	19,70	0,22	0,0113	151,5
ClabZIP-31	8	LOC_Os01g17260.1	1	3,23	0,20	0,0626	24,8
ClabZIP-31	8	LOC_Os07g48820.1	7	49,56	0,20	0,0041	381,2
ClabZIP-31	8	LOC_Os03g20310.1	3	4,82	0,21	0,0432	37,1
ClabZIP-31	8	LOC_Os11g05480.1	11	12,58	0,47	0,0376	96,8
ClabZIP-31	8	LOC_Os05g41280.1	5	3,88	0,33	0,0857	29,8
ClabZIP-31	8	LOC_Os01g64020.1	1	9,44	0,56	0,0597	72,7
ClabZIP-31	8	LOC_Os12g05680.1	12	47,70	0,49	0,0103	366,9
ClabZIP-31	8	LOC_Os09g31390.1	9	46,06	0,56	0,0122	354,3

EK 6'nın devamı

ClabZIP-31	8	LOC_Os05g37170.1	5	47,63	0,61	0,0128	366,4
ClabZIP-31	8	LOC_Os09g10840.1	9	49,41	0,56	0,0114	380,0
ClabZIP-31	8	LOC_Os04g54474.1	4	44,80	0,45	0,0100	344,6
ClabZIP-32	8	LOC_Os12g06520.1	12	47,37	0,40	0,0084	364,4
ClabZIP-32	8	LOC_Os11g06170.2	11	7,58	0,32	0,0425	58,3
ClabZIP-35	8	LOC_Os03g20310.1	3	1,89	0,13	0,0690	14,6
ClabZIP-35	8	LOC_Os01g17260.1	1	2,32	0,13	0,0554	17,9
ClabZIP-35	8	LOC_Os07g48820.1	7	1,89	0,14	0,0717	14,5
ClabZIP-35	8	LOC_Os01g59350.1	1	2,78	0,12	0,0433	21,4
ClabZIP-35	8	LOC_Os06g15480.1	6	41,15	0,22	0,0052	316,6
ClabZIP-35	8	LOC_Os05g41280.1	5	3,91	0,25	0,0641	30,1
ClabZIP-35	8	LOC_Os11g05480.1	11	48,05	0,33	0,0068	369,6
ClabZIP-35	8	LOC_Os12g05680.1	12	23,95	0,35	0,0147	184,2
ClabZIP-35	8	LOC_Os09g31390.1	9	51,83	0,35	0,0068	398,7
ClabZIP-35	8	LOC_Os01g64020.1	1	33,40	0,35	0,0103	256,9
ClabZIP-35	8	LOC_Os05g37170.1	5	28,06	0,39	0,0139	215,8
ClabZIP-35	8	LOC_Os09g10840.1	9	10,99	0,46	0,0421	84,6
ClabZIP-35	8	LOC_Os04g54474.1	4	49,99	0,40	0,0080	384,5
ClabZIP-37	8	LOC_Os02g10860.1	2	36,41	0,17	0,0046	280,1
ClabZIP-43	9	LOC_Os12g06520.1	12	3,50	0,39	0,1111	26,9
ClabZIP-43	9	LOC_Os11g06170.2	11	2,92	0,32	0,1104	22,5
ClabZIP-43	9	LOC_Os07g48180.1	7	4,70	0,54	0,1146	36,1
ClabZIP-43	9	LOC_Os03g21800.1	3	2,69	0,52	0,1952	20,7
ClabZIP-43	9	LOC_Os04g41820.1	4	3,85	0,57	0,1469	29,6
ClabZIP-43	9	LOC_Os09g34060.1	9	3,62	0,59	0,1636	27,8
ClabZIP-45	10	LOC_Os12g13170.1	12	2,98	0,36	0,1212	22,9
ClabZIP-48	10	LOC_Os01g59350.1	1	2,08	0,27	0,1278	16,0
ClabZIP-48	10	LOC_Os01g17260.1	1	2,38	0,13	0,0538	18,3
ClabZIP-48	10	LOC_Os03g20310.1	3	2,19	0,14	0,0661	16,8
ClabZIP-48	10	LOC_Os07g48820.1	7	4,23	0,15	0,0358	32,6
ClabZIP-48	10	LOC_Os06g15480.1	6	8,50	0,27	0,0317	65,4
ClabZIP-48	10	LOC_Os11g05480.1	11	49,51	0,43	0,0086	380,8
ClabZIP-48	10	LOC_Os05g41280.1	5	2,29	0,28	0,1227	17,6
ClabZIP-48	10	LOC_Os12g05680.1	12	14,81	0,49	0,0329	113,9
ClabZIP-48	10	LOC_Os09g31390.1	9	37,46	0,56	0,0149	288,1
ClabZIP-48	10	LOC_Os01g64020.1	1	6,35	0,56	0,0874	48,9
ClabZIP-48	10	LOC_Os09g10840.1	9	12,26	0,55	0,0445	94,3
ClabZIP-48	10	LOC_Os05g37170.1	5	47,89	0,60	0,0126	368,4
ClabZIP-48	10	LOC_Os04g54474.1	4	48,69	0,50	0,0103	374,5
ClabZIP-50	10	LOC_Os01g59350.2	1	52,07	0,62	0,0119	400,5
ClabZIP-50	10	LOC_Os09g31390.1	9	51,37	0,55	0,0108	395,2

EK 6'nın devamı

ClabZIP-53	11	LOC_Os04g54474.1	4	49,39	0,42	0,0086	379,9
ClabZIP-53	11	LOC_Os01g17260.1	1	49,69	0,43	0,0087	382,2
ClabZIP-53	11	LOC_Os03g20310.1	3	48,50	0,44	0,0092	373,1
ClabZIP-53	11	LOC_Os01g59350.1	1	49,97	0,48	0,0097	384,4
ClabZIP-53	11	LOC_Os06g15480.1	6	20,16	0,47	0,0233	155,0
Mean				21,19	0,41	162,99	163,0

Karpuz-Arabidopsis							
ID	Kromozom	Gene IDs	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
ClabZIP-01	1	AT1G13600.1	1	5,30	0,43	0,0821	40,8
ClabZIP-04	1	AT4G36730.1	4	3,38	0,28	0,0829	26,0
ClabZIP-06	2	AT3G58120.1	3	3,73	0,25	0,0658	28,7
ClabZIP-06	2	AT2G42380.2	2	3,07	0,31	0,1016	23,6
ClabZIP-07	2	AT2G16770.1	2	5,46	0,24	0,0446	42,0
ClabZIP-07	2	AT4G35040.1	4	6,58	0,25	0,0377	50,6
ClabZIP-08	2	AT4G38900.1	4	4,29	0,34	0,0782	33,0
ClabZIP-08	2	AT2G21230.1	2	2,96	0,36	0,1211	22,8
ClabZIP-09	2	AT4G38900.1	4	3,67	0,31	0,0839	28,2
ClabZIP-09	2	AT2G21230.1	2	2,76	0,33	0,1202	21,3
ClabZIP-10	2	AT4G34000.1	4	2,02	0,38	0,1899	15,5
ClabZIP-10	2	AT1G49720.1	1	2,62	0,42	0,1606	20,2
ClabZIP-10	2	AT1G45249.1	1	3,42	0,45	0,1306	26,3
ClabZIP-11	2	AT2G16770.1	2	3,45	0,22	0,0627	26,6
ClabZIP-11	2	AT4G35040.1	4	5,70	0,24	0,0416	43,8
ClabZIP-12	2	AT5G28770.1	5	5,96	0,37	0,0625	45,8
ClabZIP-13	2	AT2G40620.1	2	2,78	0,36	0,1308	21,4
ClabZIP-13	2	AT1G06850.1	1	7,31	0,41	0,0561	56,3
ClabZIP-14	2	AT1G08320.1	1	2,27	0,34	0,1501	17,4
ClabZIP-14	2	AT3G12250.1	3	25,54	0,42	0,0164	196,5
ClabZIP-14	2	AT5G06960.1	5	52,47	0,42	0,0081	403,6
ClabZIP-14	2	AT5G06950.1	5	50,87	0,42	0,0083	391,3
ClabZIP-14	2	AT5G06839.1	5	52,68	0,42	0,0079	405,2
ClabZIP-14	2	AT1G68640.1	1	24,65	0,61	0,0246	189,6
ClabZIP-14	2	AT1G77920.1	1	52,65	0,57	0,0108	405,0
ClabZIP-14	2	AT1G22070.1	1	8,68	0,57	0,0651	66,8
ClabZIP-14	2	AT5G65210.1	5	32,34	0,53	0,0164	248,8
ClabZIP-17	3	AT5G28770.1	5	2,46	0,48	0,1939	19,0
ClabZIP-18	5	AT2G46270.1	2	4,52	0,37	0,0824	34,8
ClabZIP-18	5	AT4G01120.1	4	2,64	0,42	0,1591	20,3
ClabZIP-19	5	AT1G06070.1	1	2,35	0,25	0,1043	18,1
ClabZIP-19	5	AT2G31370.1	2	5,17	0,24	0,0468	39,8
ClabZIP-20	5	AT1G06070.1	1	2,16	0,23	0,1045	16,6
ClabZIP-20	5	AT2G31370.1	2	2,53	0,26	0,1026	19,5

EK 6'nın devamı

ClabZIP-21	5	AT1G58110.1	1	3,03	0,35	0,1162	23,3
ClabZIP-21	5	AT4G06598.1	4	4,40	0,41	0,0938	33,8
ClabZIP-24	5	AT3G30530.1	3	59,53	0,39	0,0065	457,9
ClabZIP-26	7	AT2G40620.1	2	2,95	0,31	0,1050	22,7
ClabZIP-26	7	AT1G06850.1	1	2,04	0,42	0,2073	15,7
ClabZIP-26	7	AT2G31370.1	2	10,44	0,64	0,0613	80,3
ClabZIP-26	7	AT1G06070.1	1	7,45	0,60	0,0804	57,3
ClabZIP-28	7	AT5G65210.1	5	2,58	0,22	0,0854	19,9
ClabZIP-28	7	AT5G10030.1	5	2,39	0,22	0,0927	18,4
ClabZIP-28	7	AT1G77920.1	1	3,87	0,33	0,0860	29,8
ClabZIP-28	7	AT1G22070.1	1	6,07	0,35	0,0574	46,7
ClabZIP-28	7	AT3G12250.1	3	8,57	0,43	0,0499	65,9
ClabZIP-28	7	AT5G06950.1	5	2,93	0,44	0,1503	22,6
ClabZIP-28	7	AT5G06960.1	5	24,00	0,45	0,0187	184,6
ClabZIP-28	7	AT1G08320.1	1	5,27	0,51	0,0970	40,5
ClabZIP-28	7	AT5G06839.1	5	50,76	0,54	0,0105	390,5
ClabZIP-28	7	AT1G68640.1	1	20,42	0,49	0,0239	157,1
ClabZIP-29	7	AT3G30530.1	3	33,61	0,18	0,0053	258,5
ClabZIP-29	7	AT5G38800.1	5	54,66	0,29	0,0052	420,4
ClabZIP-29	7	AT1G13600.1	1	3,89	0,28	0,0711	29,9
ClabZIP-31	8	AT1G68640.1	1	2,50	0,25	0,1013	19,3
ClabZIP-31	8	AT5G06950.1	5	3,37	0,21	0,0619	25,9
ClabZIP-31	8	AT3G12250.1	3	2,83	0,23	0,0819	21,7
ClabZIP-31	8	AT5G06960.1	5	2,81	0,25	0,0874	21,6
ClabZIP-31	8	AT5G06839.1	5	6,24	0,47	0,0752	48,0
ClabZIP-31	8	AT1G08320.1	1	33,59	0,51	0,0153	258,4
ClabZIP-31	8	AT5G10030.1	5	51,82	0,41	0,0079	398,6
ClabZIP-31	8	AT5G65210.1	5	49,20	0,45	0,0092	378,5
ClabZIP-31	8	AT1G22070.1	1	48,87	0,48	0,0098	375,9
ClabZIP-31	8	AT1G77920.1	1	51,75	0,45	0,0086	398,1
ClabZIP-32	8	AT1G43700.1	1	2,21	0,43	0,1938	17,0
ClabZIP-34	8	AT3G56850.1	3	3,69	0,34	0,0923	28,4
ClabZIP-35	8	AT3G12250.1	3	1,47	0,11	0,0767	11,3
ClabZIP-35	8	AT5G06960.1	5	1,83	0,13	0,0686	14,0
ClabZIP-35	8	AT5G06950.1	5	1,75	0,12	0,0661	13,5
ClabZIP-35	8	AT1G68640.1	1	5,23	0,22	0,0413	40,3
ClabZIP-35	8	AT1G08320.1	1	29,17	0,34	0,0116	224,4
ClabZIP-35	8	AT5G06839.1	5	43,08	0,34	0,0080	331,4
ClabZIP-35	8	AT5G10030.1	5	11,40	0,37	0,0324	87,7
ClabZIP-35	8	AT1G22070.1	1	49,40	0,38	0,0076	380,0
ClabZIP-35	8	AT1G77920.1	1	49,52	0,39	0,0080	380,9
ClabZIP-35	8	AT5G65210.1	5	8,63	0,40	0,0469	66,4

EK 6'nın devamı

ClabZIP-37	8	AT5G11260.1	5	2,77	0,11	0,0414	21,3
ClabZIP-39	8	AT1G45249.1	1	2,41	0,28	0,1182	18,5
ClabZIP-39	8	AT3G19290.1	3	3,66	0,38	0,1046	28,2
ClabZIP-39	8	AT1G49720.1	1	3,81	0,42	0,1116	29,3
ClabZIP-43	9	AT1G43700.1	1	2,15	0,46	0,2132	16,5
ClabZIP-43	9	AT2G31370.1	2	5,94	0,57	0,0961	45,7
ClabZIP-44	9	AT1G32150.1	1	2,17	0,29	0,1322	16,7
ClabZIP-45	10	AT2G35530.1	2	52,07	0,29	0,0056	400,5
ClabZIP-45	10	AT1G32150.1	1	8,65	0,30	0,0346	66,6
ClabZIP-47	10	AT3G62420.1	3	5,03	0,16	0,0313	38,7
ClabZIP-48	10	AT5G06950.1	5	2,42	0,16	0,0665	18,6
ClabZIP-48	10	AT3G12250.1	3	3,97	0,19	0,0472	30,6
ClabZIP-48	10	AT5G06960.1	5	3,97	0,19	0,0473	30,6
ClabZIP-48	10	AT1G68640.1	1	7,13	0,36	0,0501	54,8
ClabZIP-48	10	AT5G06839.1	5	3,60	0,44	0,1210	27,7
ClabZIP-48	10	AT1G08320.1	1	46,64	0,45	0,0096	358,8
ClabZIP-48	10	AT5G10030.1	5	4,79	0,40	0,0843	36,9
ClabZIP-48	10	AT1G22070.1	1	17,30	0,46	0,0267	133,1
ClabZIP-48	10	AT5G65210.1	5	3,59	0,42	0,1183	27,6
ClabZIP-48	10	AT1G77920.1	1	51,47	0,44	0,0086	396,0
ClabZIP-49	10	AT2G40950.1	2	2,74	0,38	0,1398	21,0
ClabZIP-49	10	AT3G10800.1	3	3,91	0,52	0,1334	30,1
ClabZIP-49	10	AT3G56660.1	3	3,17	0,51	0,1613	24,4
ClabZIP-50	10	AT5G06839.1	5	50,37	0,28	0,0055	387,4
ClabZIP-50	10	AT1G08320.1	1	51,58	0,45	0,0087	396,8
ClabZIP-50	10	AT5G06960.1	5	55,83	0,44	0,0078	429,4
ClabZIP-50	10	AT3G12250.1	3	54,55	0,44	0,0081	419,6
ClabZIP-50	10	AT5G06950.1	5	51,85	0,46	0,0088	398,8
ClabZIP-50	10	AT1G68640.1	1	55,58	0,6117	0,0110	427,5
ClabZIP-51	10	AT2G36270.1	2	7,09	36,47	5,1428	54,5
ClabZIP-51	11	AT1G77920.1	1	50,81	1,23	0,0242	390,8
ClabZIP-51	11	AT1G22070.1	1	53,31	1,21	0,0226	410,1
ClabZIP-51	11	AT5G65210.1	5	49,93	1,18	0,0237	384,1
ClabZIP-51	11	AT5G10030.1	5	38,30	0,84	0,0220	294,6
ClabZIP-51	11	AT3G12250.1	3	54,55	0,97	0,0177	419,6
ClabZIP-51	11	AT5G06950.1	5	50,09	1,00	0,0200	385,3
ClabZIP-51	11	AT5G06960.1	5	5,05	0,95	0,1875	38,8
ClabZIP-51	11	AT5G06839.1	5	49,17	1,00	0,0204	378,3
ClabZIP-51	11	AT1G08320.1	1	57,07	0,88	0,0154	439,0
ClabZIP-51	11	AT1G68640.1	1	53,48	1,04	0,0195	411,4
ClabZIP-54	11	AT1G58110.1	1	2,90	0,40	0,1393	22,3
ClabZIP-54	11	AT4G06598.1	4	2,41	0,36	0,1511	18,5

EK 6'nın devamı

ClabZIP-56	11	AT3G58120.1	3	3,15	0,30	0,0941	24,2
ClabZIP-56	11	AT2G42380.2	2	3,89	0,35	0,0894	29,9
Mean				18,43	0,72	0,11	141,8

Karpuz-Mısır							
ID	Kromozom	Gene IDs	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
ClabZIP-06	2	AC233853.1_FGT002	3	9,43	0,30	0,0317	72,5
ClabZIP-08	2	GRMZM2G149150_T01	4	47,26	0,45	0,0095	363,5
ClabZIP-08	2	GRMZM2G175280_T01	1	48,10	0,43	0,0090	370,0
ClabZIP-08	2	GRMZM2G428184_T01	1	51,35	0,43	0,0084	395,0
ClabZIP-08	2	GRMZM2G353553_T01	1	12,59	0,46	0,0365	96,8
ClabZIP-11	2	GRMZM2G000171_T01	5	34,05	0,41	0,0120	261,9
ClabZIP-13	2	GRMZM2G146020_T02	3	9,59	0,48	0,0501	73,7
ClabZIP-13	2	GRMZM2G149040_T01	7	9,69	0,34	0,0350	74,6
ClabZIP-13	2	GRMZM2G062391_T01	1	34,10	0,35	0,0103	262,3
ClabZIP-13	2	GRMZM2G151295_T02	9	43,61	0,33	0,0075	335,5
ClabZIP-13	2	GRMZM5G821024_T01	2	10,80	0,47	0,0431	83,1
ClabZIP-13	2	GRMZM2G079365_T01	4	6,67	0,47	0,0702	51,3
ClabZIP-14	2	GRMZM2G030877_T01	4	6,33	0,44	0,0693	48,7
ClabZIP-14	2	GRMZM2G030280_T01	8	46,79	0,42	0,0090	359,9
ClabZIP-14	2	GRMZM2G060216_T01	3	40,48	0,50	0,0123	311,4
ClabZIP-14	2	GRMZM2G361847_T06	7	36,18	0,46	0,0128	278,3
ClabZIP-14	2	GRMZM2G366264_T01	10	14,60	0,32	0,0221	112,3
ClabZIP-14	2	GRMZM2G125243_T01	8	17,84	0,57	0,0322	137,2
ClabZIP-14	2	GRMZM2G174284_T01	1	11,83	0,47	0,0395	91,0
ClabZIP-14	2	GRMZM2G056099_T01	9	15,37	0,40	0,0261	118,2
ClabZIP-14	2	GRMZM2G019907_T02	3	18,40	0,42	0,0226	141,5
ClabZIP-14	2	AC232238.2_FGT004	8	9,22	0,51	0,0556	70,9
ClabZIP-14	2	GRMZM2G094352_T01	10	35,09	0,55	0,0156	269,9

EK 6'nın devamı

ClabZIP-19	5	GRMZM2G180847_T01	2	5,30	0,29	0,0546	40,8
ClabZIP-19	5	GRMZM2G332294_T01	1	5,39	0,45	0,0834	41,4
ClabZIP-19	5	AC190609.3_FGT001	4	49,85	0,41	0,0083	383,4
ClabZIP-20	5	GRMZM2G180847_T01	2	3,96	0,34	0,0868	30,4
ClabZIP-20	5	AC200057.4_FGT007	7	3,57	0,35	0,0969	27,4
ClabZIP-20	5	GRMZM2G332294_T01	1	4,56	0,44	0,0971	35,0
ClabZIP-26	7	GRMZM2G062391_T01	1	5,35	0,37	0,0687	41,1
ClabZIP-26	7	GRMZM2G151295_T02	9	5,04	0,35	0,0704	38,8
ClabZIP-26	7	GRMZM2G180847_T01	2	4,05	0,50	0,1233	31,2
ClabZIP-28	7	GRMZM2G131961_T01	2	48,40	0,43	0,0089	372,3
ClabZIP-28	7	GRMZM2G445575_T01	10	49,33	0,40	0,0082	379,4
ClabZIP-28	7	GRMZM2G094352_T01	10	10,54	0,43	0,0407	81,0
ClabZIP-28	7	GRMZM2G361847_T01	7	6,70	0,43	0,0639	51,5
ClabZIP-28	7	GRMZM2G030280_T02	8	20,88	0,42	0,0201	160,6
ClabZIP-28	7	GRMZM2G056099_T01	9	27,57	0,39	0,0141	212,1
ClabZIP-28	7	GRMZM2G174284_T01	1	12,43	0,43	0,0347	95,6
ClabZIP-28	7	GRMZM2G019907_T02	3	4,18	0,43	0,1034	32,1
ClabZIP-28	7	GRMZM2G030280_T01	8	21,15	0,42	0,0198	162,7
ClabZIP-28	7	GRMZM2G000842_T01	6	10,93	0,52	0,0478	84,1
ClabZIP-31	8	GRMZM2G125243_T01	8	3,25	0,29	0,0904	25,0
ClabZIP-31	8	GRMZM2G019907_T02	3	2,97	0,20	0,0668	22,9
ClabZIP-31	8	GRMZM2G361847_T01	7	3,44	0,22	0,0629	26,5
ClabZIP-31	8	GRMZM2G030280_T01	8	5,60	0,20	0,0355	43,0
ClabZIP-31	8	GRMZM2G174284_T01	1	3,29	0,22	0,0656	25,3
ClabZIP-31	8	GRMZM2G056099_T01	9	3,42	0,20	0,0599	26,3
ClabZIP-31	8	GRMZM2G133331_T01	6	27,63	0,36	0,0131	212,6
ClabZIP-31	8	GRMZM2G080731_T01	8	7,47	0,29	0,0395	57,4

EK 6'nın devamı

ClabZIP-31	8	GRMZM2G006578_T01	7	51,99	0,47	0,0090	399,9
ClabZIP-31	8	GRMZM2G030877_T01	4	43,95	0,47	0,0108	338,1
ClabZIP-31	8	GRMZM2G060216_T01	3	42,92	0,49	0,0114	330,2
ClabZIP-31	8	GRMZM2G125934_T01	2	51,80	0,47	0,0091	398,5
ClabZIP-31	8	GRMZM2G366264_T01	10	12,69	0,35	0,0272	97,6
ClabZIP-31	8	GRMZM2G131961_T01	2	46,74	0,46	0,0098	359,6
ClabZIP-31	8	AC232238.2_FGT004	8	20,90	0,56	0,0268	160,8
ClabZIP-32	8	GRMZM5G821024_T01	2	5,25	0,42	0,0793	40,4
ClabZIP-32	8	GRMZM2G146020_T02	3	37,17	0,40	0,0108	285,9
ClabZIP-32	8	GRMZM2G079365_T01	4	6,44	0,42	0,0653	49,5
ClabZIP-35	8	GRMZM2G174284_T01	1	2,15	0,13	0,0582	16,5
ClabZIP-35	8	GRMZM2G361847_T01	7	2,12	0,13	0,0630	16,3
ClabZIP-35	8	GRMZM2G056099_T01	9	1,89	0,10	0,0540	14,5
ClabZIP-35	8	GRMZM2G125243_T01	8	2,95	0,11	0,0383	22,7
ClabZIP-35	8	GRMZM2G030280_T01	8	3,28	0,11	0,0340	25,2
ClabZIP-35	8	GRMZM2G133331_T01	6	10,76	0,29	0,0271	82,8
ClabZIP-35	8	GRMZM2G030877_T01	4	20,75	0,34	0,0163	159,6
ClabZIP-35	8	GRMZM2G006578_T01	7	27,22	0,34	0,0126	209,4
ClabZIP-35	8	GRMZM2G366264_T01	10	47,53	0,31	0,0066	365,6
ClabZIP-35	8	GRMZM2G080731_T01	8	3,81	0,28	0,0737	29,3
ClabZIP-35	8	GRMZM2G060216_T01	3	45,98	0,38	0,0082	353,7
ClabZIP-35	8	GRMZM2G019907_T01	3	3,18	0,13	0,0398	24,5
ClabZIP-35	8	GRMZM2G125934_T01	2	10,53	0,36	0,0340	81,0
ClabZIP-35	8	AC232238.2_FGT004	8	51,18	0,40	0,0078	393,7
ClabZIP-37	8	GRMZM2G137046_T01	5	6,58	0,16	0,0238	50,6
ClabZIP-43	9	GRMZM5G821024_T01	2	4,36	0,40	0,0921	33,5
ClabZIP-43	9	GRMZM2G146020_T02	3	3,63	0,46	0,1266	27,9

EK 6'nın devamı

ClabZIP-43	9	GRMZM2G079365_T01	4	4,35	0,43	0,0993	33,5
ClabZIP-43	9	GRMZM2G149040_T01	7	3,21	0,53	0,1656	24,7
ClabZIP-43	9	GRMZM2G151295_T02	9	7,70	0,56	0,0726	59,3
ClabZIP-43	9	GRMZM2G136266_T01	10	3,19	0,45	0,1424	24,5
ClabZIP-45	10	GRMZM2G074373_T01	3	4,17	0,35	0,0839	32,1
ClabZIP-45	10	GRMZM2G088140_T02	10	3,72	0,34	0,0919	28,7
ClabZIP-48	10	GRMZM2G125243_T01	8	2,66	0,27	0,1022	20,5
ClabZIP-48	10	GRMZM2G174284_T01	1	2,04	0,14	0,0673	15,7
ClabZIP-48	10	GRMZM2G056099_T01	9	1,79	0,12	0,0673	13,8
ClabZIP-48	10	GRMZM2G030280_T01	8	2,94	0,12	0,0395	22,7
ClabZIP-48	10	GRMZM2G361847_T01	7	4,13	0,15	0,0371	31,8
ClabZIP-48	10	GRMZM2G133331_T01	6	49,18	0,40	0,0082	378,3
ClabZIP-48	10	GRMZM2G030877_T01	4	9,68	0,47	0,0488	74,5
ClabZIP-48	10	GRMZM2G006578_T01	7	49,16	0,47	0,0097	378,2
ClabZIP-48	10	GRMZM2G080731_T01	8	3,57	0,29	0,0800	27,5
ClabZIP-48	10	GRMZM2G125934_T01	2	43,71	0,52	0,0118	336,2
ClabZIP-48	10	GRMZM2G019907_T01	3	2,63	0,16	0,0611	20,2
ClabZIP-48	10	GRMZM2G060216_T01	3	50,00	0,54	0,0108	384,6
ClabZIP-48	10	GRMZM2G366264_T01	10	8,43	0,34	0,0407	64,8
ClabZIP-48	10	GRMZM2G000842_T01	6	22,47	0,59	0,0264	172,9
ClabZIP-48	10	GRMZM2G131961_T01	2	49,67	0,48	0,0097	382,1
ClabZIP-48	10	AC232238.2_FGT004	8	49,72	0,58	0,0116	382,5
ClabZIP-48	10	GRMZM2G445575_T01	10	50,65	0,50	0,0099	389,6
ClabZIP-53	11	GRMZM2G131961_T01	2	51,82	0,38	0,0074	398,6
ClabZIP-53	11	GRMZM2G445575_T01	10	35,39	0,38	0,0108	272,2
ClabZIP-53	11	GRMZM2G094352_T01	10	7,79	0,45	0,0579	59,9
ClabZIP-53	11	GRMZM2G361847_T01	7	11,36	0,45	0,0394	87,4

EK 6'nın devamı

ClabZIP-53	11	GRMZM2G056099_T01	9	44,52	0,40	0,0089	342,5
ClabZIP-53	11	GRMZM2G174284_T01	1	47,54	0,45	0,0095	365,7
ClabZIP-53	11	GRMZM2G030877_T01	4	8,18	0,51	0,0622	62,9
ClabZIP-53	11	GRMZM2G125243_T01	8	48,83	0,50	0,0103	375,6
ClabZIP-53	11	GRMZM2G060216_T01	3	50,05	0,54	0,0107	385,0
ClabZIP-53	11	GRMZM2G006578_T01	7	12,31	0,49	0,0395	94,7
ClabZIP-53	11	GRMZM2G030280_T01	8	49,83	0,42	0,0085	383,3
ClabZIP-53	11	GRMZM2G125934_T01	2	8,17	0,50	0,0607	62,9
ClabZIP-53	11	GRMZM2G133331_T01	6	51,64	0,49	0,0095	397,3
ClabZIP-56	11	AC233853.1_FGT002	3	47,82	1,02	0,0214	367,9
Mean				21,03	0,39	0,04	161,77

Karpuz-Kavak							
ID	Kromozom	Gene IDs	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
ClabZIP-01	1	Potri.010G135200.1	10	2,2743	0,3401	0,1495	17,49461
ClabZIP-03	1	Potri.014G007100.1	14	1,9767	0,468	0,2368	15,20538
ClabZIP-04	1	Potri.005G126000.2	5	1,3649	0,2394	0,1754	10,49923
ClabZIP-04	1	Potri.007G029400.1	7	1,37	0,214	0,1562	10,53846
ClabZIP-05	1	Potri.005G119300.1	5	5,3075	0,448	0,0844	40,82692
ClabZIP-06	2	Potri.019G091900.1	19	3,4799	0,2585	0,0743	26,76846
ClabZIP-06	2	Potri.013G124400.1	13	3,7205	0,2575	0,0692	28,61923
ClabZIP-07	2	Potri.004G175200.1	4	2,9351	0,1522	0,0519	22,57769
ClabZIP-07	2	Potri.009G134900.1	9	3,6819	0,1928	0,0524	28,32230
ClabZIP-08	2	Potri.009G125400.1	9	1,859	0,1912	0,1029	14,3
ClabZIP-08	2	Potri.004G163800.1	4	1,9359	0,1938	0,1001	14,89153
ClabZIP-09	2	Potri.004G163800.1	4	1,8082	0,1832	0,1013	13,90923
ClabZIP-09	2	Potri.009G125400.1	9	1,6727	0,1859	0,1111	12,86692

EK 6'nın devamı

ClaZIP-10	2	Potri.004G140600.1	4	1,446	0,3102	0,2145	11,12307692
ClaZIP-10	2	Potri.002G125400.1	2	2,3327	0,3685	0,158	17,94384615
ClabZIP-11	2	Potri.004G175200.1	4	2,6944	0,2231	0,0828	20,72615385
ClaZIP-11	2	Potri.009G134900.1	9	3,5063	0,2445	0,0697	26,97153846
ClaZIP-12	2	Potri.005G053200.1	5	1,4149	0,3393	0,2398	10,88384615
ClaZIP-12	2	Potri.013G040700.1	13	1,3533	0,3056	0,2259	10,41
ClaZIP-13	2	Potri.013G156900.1	13	2,0555	0,2213	0,1077	15,81153846
ClaZIP-13	2	Potri.019G130000.1	19	2,5158	0,2351	0,0934	19,35230769
ClaZIP-14	2	Potri.004G203400.1	4	1,2416	0,2759	0,2222	9,550769231
ClaZIP-14	2	Potri.009G164300.1	9	1,2882	0,2783	0,216	9,909230769
ClaZIP-16	3	Potri.009G018500.1	9	0,875	0,2038	0,2329	6,730769231
ClaZIP-16	3	Potri.001G220700.1	1	0,9878	0,2184	0,2211	7,598461538
ClaZIP-17	3	Potri.013G040700.1	13	1,5578	0,3697	0,2373	11,98307692
ClaZIP-18	5	Potri.002G167100.1	2	2,2368	0,2897	0,1295	17,20615385
ClaZIP-18	5	Potri.014G094200.1	14	2,2203	0,2864	0,129	17,07923077
ClaZIP-19	5	Potri.017G027400.1	17	2,1201	0,1967	0,0928	16,30846154
ClaZIP-19	5	Potri.007G130800.1	7	2,5948	0,23	0,0886	19,96
ClaZIP-20	5	Potri.017G027400.1	17	4,0447	0,2097	0,0518	31,11307692
ClaZIP-20	5	Potri.007G130800.1	7	4,1228	0,2167	0,0526	31,71384615
ClaZIP-21	5	Potri.004G219100.1	4	1,4529	0,2337	0,1608	11,17615385
ClaZIP-21	5	Potri.003G014800.1	3	1,539	0,2295	0,1491	11,83846154
ClaZIP-24	5	Potri.008G113400.1	8	1,6949	0,2109	0,1244	13,03769231
ClaZIP-24	5	Potri.010G135200.1	10	1,6748	0,1949	0,1164	12,88307692
ClaZIP-26	7	Potri.013G091400.1	13	2,0472	0,2941	0,1436	15,74769231
ClaZIP-26	7	Potri.013G156900.1	13	51,3386	0,3788	0,0074	394,9123077
ClaZIP-26	7	Potri.019G130000.1	19	42,1108	0,4009	0,0095	323,9292308
ClaZIP-27	7	Potri.009G119700.1	9	5,3975	0,3169	0,0587	41,51923077

EK 6'nın devamı

ClaZIP-28	7	Potri.007G085700.1	7	1,4695	0,2014	0,137	11,30384615
ClaZIP-28	7	Potri.005G082000.1	5	1,5512	0,231	0,1489	11,93230769
ClaZIP-29	7	Potri.017G106700.1	17	1,2525	0,1045	0,0834	9,634615385
ClaZIP-29	7	Potri.004G111100.1	4	1,3896	0,143	0,1029	10,68923077
ClaZIP-29	7	Potri.010G135200.1	10	2,3391	0,1491	0,0638	17,99307692
ClaZIP-29	7	Potri.008G113400.1	8	2,1974	0,1553	0,0707	16,90307692
ClaZIP-31	8	Potri.008G118300.1	8	1,6069	0,1987	0,1236	12,36076923
ClaZIP-34	8	Potri.008G010800.1	8	1,1559	0,1665	0,144	8,891538462
ClaZIP-34	8	Potri.010G248100.1	10	1,346	0,1835	0,1364	10,35384615
ClaZIP-34	8	Potri.010G248300.1	10	1,6933	0,1893	0,1118	13,02538462
ClaZIP-35	8	Potri.003G194600.2	3	1,1632	0,0635	0,0546	8,947692308
ClaZIP-35	8	Potri.001G029800.1	1	0,9715	0,0607	0,0625	7,473076923
ClaZIP-35	8	Potri.006G039000.1	6	1,8409	0,0923	0,0502	14,16076923
ClaZIP-35	8	Potri.016G036500.1	16	2,0851	0,0905	0,0434	16,03923077
ClaZIP-35	8	Potri.008G118300.2	8	3,4358	0,2006	0,0584	26,42923077
ClaZIP-37	8	Potri.018G029500.1	18	1,8744	0,08	0,0427	14,41846154
ClaZIP-37	8	Potri.006G251800.1	6	1,9089	0,1422	0,0745	14,68384615
ClaZIP-38	8	Potri.005G231300.1	5	2,9018	0,2211	0,0762	22,32153846
ClaZIP-38	8	Potri.004G158200.1	4	2,3504	0,2268	0,0965	18,08
ClaZIP-39	8	Potri.014G028200.2	14	1,8843	0,2055	0,109	14,49461538
ClaZIP-43	9	Potri.002G069500.1	2	1,8844	0,2816	0,1494	14,49538462
ClaZIP-44	9	Potri.001G136000.1	1	1,7209	0,2431	0,1413	13,23769231
ClaZIP-44	9	Potri.014G062400.1	14	1,7209	0,2431	0,1413	13,23769231
ClaZIP-44	9	Potri.003G097600.1	3	1,1336	0,2054	0,1812	8,72
ClaZIP-45	10	Potri.001G136000.1	1	1,0186	0,1353	0,1328	7,835384615
ClaZIP-45	10	Potri.014G062400.1	14	1,0229	0,1368	0,1337	7,868461538
ClaZIP-45	10	Potri.003G097600.1	3	1,0785	0,1425	0,1321	8,296153846

EK 6'nın devamı

ClaZIP-47	10	Potri.002G196200.1	2	3,1661	0,247	0,078	24,35461538
ClaZIP-47	10	Potri.014G120800.1	14	51,8286	0,2817	0,0054	398,6815385
ClaZIP-48	10	Potri.016G036500.1	16	1,0512	0,1219	0,116	8,086153846
ClaZIP-48	10	Potri.006G039000.1	6	1,0428	0,1399	0,1341	8,021538462
ClaZIP-48	10	Potri.003G194600.2	3	1,7246	0,2108	0,1223	13,26615385
ClaZIP-48	10	Potri.001G029800.1	1	1,6064	0,1946	0,1212	12,35692308
ClaZIP-50	10	Potri.006G058800.1	6	2,055	0,2468	0,1201	15,80769231
ClaZIP-50	10	Potri.016G049200.1	16	1,8835	0,2117	0,1124	14,48846154
ClaZIP-53	11	Potri.005G170500.1	5	1,5808	0,2287	0,1447	12,16
ClaZIP-53	11	Potri.002G090700.1	2	1,3952	0,2475	0,1774	10,73230769
ClaZIP-54	11	Potri.004G219100.1	4	1,7037	0,2646	0,1553	13,10538462
ClaZIP-54	11	Potri.003G014800.2	3	1,708	0,2764	0,1618	13,13846154
ClaZIP-56	11	Potri.001G374200.1	1	3,2656	0,2836	0,0868	25,12
ClaZIP-58	11	Potri.004G111100.1	4	1,2651	0,2276	0,1799	9,731538462
Mean				3,73	0,23	0,12	28,73

Karpuz-Salatalık							
ID	Kromozom	Gene IDs	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
ClabZIP-01	1	Csa5M137430,1	5	0,18	0,09	0,46	1,42
ClabZIP-02	1	Csa6M411220.1	6	0,34	0,08	0,23	2,61
ClabZIP-03	1	Csa6M495860,1	6	0,37	0,08	0,22	2,86
ClabZIP-04	1	Csa6M502020,1	6	0,17	0,02	0,13	1,30
ClabZIP-05	1	Csa6M504520,1	6	0,65	0,19	0,30	4,99
ClabZIP-06	2	Csa7M041360,1	7	0,37	0,05	0,14	2,81
ClabZIP-07	2	Csa7M012380,1	7	0,18	0,03	0,18	1,35
ClabZIP-08	2	Csa7M007890,1	7	0,17	0,02	0,10	1,33
ClabZIP-09	2	Csa7M007880,1	7	0,23	0,02	0,08	1,76
ClabZIP-10	2	Csa7M073570,2	7	0,18	0,03	0,14	1,42

EK 6'nın devamı

ClabZIP-11	2	Csa2M270780,1	2	0,27	0,05	0,19	2,10
ClabZIP-12	2	Csa2M011450,1	2	0,22	0,06	0,26	1,72
ClabZIP-13	2	Csa6M133680,1	6	0,29	0,05	0,16	2,26
ClabZIP-14	2	Csa6M152350,1	6	0,46	0,18	0,39	3,57
ClabZIP-16	3	Csa1M600830,1	1	0,14	0,05	0,36	1,07
ClabZIP-17	3	Csa1M573650,1	1	0,36	0,10	0,29	2,74
ClabZIP-18	5	Csa3M119850,1	3	0,20	0,02	0,12	1,51
ClabZIP-19	5	Csa3M172930,1	3	0,22	0,07	0,32	1,72
ClabZIP-20	5	Csa3M173030,1	3	0,29	0,06	0,20	2,26
ClabZIP-21	5	Csa3M225830,1	3	0,23	0,05	0,21	1,80
ClabZIP-22	5	Csa3M878800,1	3	0,47	0,14	0,29	3,65
ClabZIP-23	5	Csa3M860320,1	3	0,45	0,06	0,14	3,49
ClabZIP-24	5	Csa5M608000,1	5	0,11	0,03	0,24	0,82
ClabZIP-25	5	Csa4M644670,1	4	0,39	0,06	0,15	3,00
ClabZIP-26	7	Csa5M221950,1	5	0,18	0,03	0,18	1,38
ClabZIP-27	7	Csa4M045060,1	4	0,18	0,04	0,23	1,39
ClabZIP-28	7	Csa4M036580,1	4	0,22	0,02	0,08	1,67
ClabZIP-29	7	Csa4M122810,1	4	0,15	0,00	0,03	1,13
ClabZIP-31	8	Csa6M031950,1	6	0,25	0,02	0,08	1,93
ClabZIP-32	8	Csa6M057150,1	6	0,24	0,04	0,16	1,82
ClabZIP-33	8	Csa6M056520,1	6	0,41	0,08	0,19	3,17
ClabZIP-34	8	Csa6M051480,1	6	0,14	0,03	0,22	1,10
ClabZIP-35	8	Csa6M401330,1	6	0,16	0,00	0,03	1,20
ClabZIP-36	8	Csa2M376830,1	2	0,29	0,05	0,17	2,23
ClabZIP-37	8	Csa2M381650,1	2	0,19	0,00	0,00	1,46
ClabZIP-38	8	Csa2M362390,1	2	0,26	0,04	0,15	1,98
ClabZIP-39	8	Csa2M357210,1	2	0,22	0,03	0,13	1,67

EK 6'nın devamı

ClabZIP-40	8	Csa2M354050,1	2	0,30	0,05	0,17	2,31
ClabZIP-42	9	Csa7M378570,1	7	0,20	0,03	0,14	1,51
ClabZIP-43	9	Csa7M324150,1	7	0,20	0,03	0,14	1,51
ClabZIP-45	10	Csa3M006770,1	3	0,16	0,03	0,19	1,20
ClabZIP-46	10	Csa3M002610,1	3	0,47	0,11	0,24	3,65
ClabZIP-47	10	Csa4M003660,1	4	0,39	0,02	0,04	3,02
ClabZIP-48	10	Csa3M819960,1	3	0,11	0,01	0,07	0,83
ClabZIP-49	10	Csa3M817710,1	3	0,26	0,08	0,29	2,00
ClabZIP-50	10	Csa3M810480,1	3	0,31	0,06	0,21	2,40
ClabZIP-51	10	Csa3M776860,1	3	0,20	0,03	0,15	1,55
ClabZIP-52	10	Csa3M775260,1	3	0,23	0,07	0,31	1,81
ClabZIP-53	11	Csa2M403160,1	2	0,18	0,03	0,19	1,41
ClabZIP-54	11	Csa5M587160,1	5	0,23	0,04	0,18	1,80
ClabZIP-55	11	Csa4M377720,1	4	0,23	0,08	0,36	1,79
ClabZIP-56	11	Csa4M628890,1	4	0,41	0,09	0,23	3,13
ClabZIP-57	11	Csa4M664530,1	4	0,27	0,09	0,33	2,05
ClabZIP-58	11	Csa5M642710,1	5	0,22	0,02	0,10	1,72
ClabZIP-59	11	Csa2M249260,1	2	0,29	0,05	0,17	2,21
Mean				0,26	0,05	0,19	2,03

Karpuz-Asma							
ID	Krom.	Gene IDs	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Mya
ClabZIP-01	1	GSVIVT01010152001	1	2,0021	0,3302	0,1649268	15,4
ClabZIP-04	1	GSVIVT01019009001	4	1,2551	0,1855	0,147797	9,7
ClabZIP-04	1	GSVIVT01009665001	18	1,6201	0,2891	0,1784458	12,5
ClabZIP-06	2	GSVIVT01020658001	12	1,9644	0,1874	0,0953981	15,1
ClabZIP-08	2	GSVIVT01024160001	3	1,8454	0,1183	0,0641053	14,2
ClabZIP-09	2	GSVIVT01024160001	3	2,1373	0,1181	0,0552566	16,4

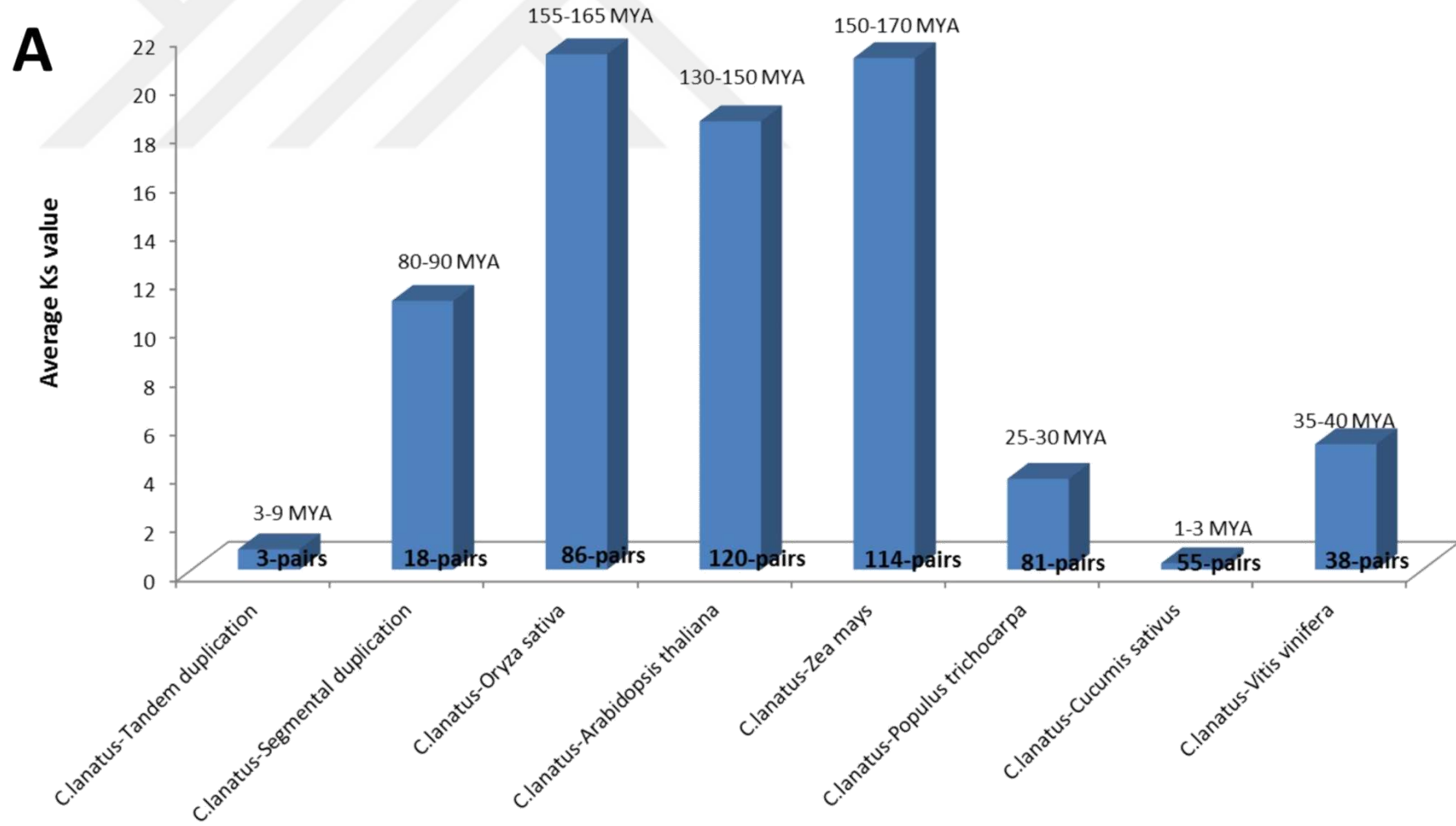
EK 6'nın devamı

ClabZIP-12	2	GSVIVT01021790001	14	0,9361	0,2916	0,3115052	7,2
ClabZIP-13	2	GSVIVT01024562001	6	1,075	0,12	0,1116279	8,3
ClabZIP-14	2	GSVIVT01036134001	6	1,5111	0,2882	0,190722	11,6
ClabZIP-18	5	GSVIVT01027040001	15	1,3702	0,2161	0,1577142	10,5
ClabZIP-19	5	GSVIVT01010836001	5	2,4592	0,1722	0,0700228	18,9
ClabZIP-20	5	GSVIVT01010836001	5	2,1907	0,1723	0,0786507	16,9
ClabZIP-21	5	GSVIVT01023292001	12	16	0,2251	0,1377	125,7
ClabZIP-24	5	GSVIVT01010152001	1	1,8532	0,1762	0,0950788	14,3
ClabZIP-26	7	GSVIVT01032683001	13	1,452	0,1408	0,0969697	11,2
ClabZIP-26	7	GSVIVT01024562001	6	1,7992	0,2172	0,1207203	13,8
ClabZIP-28	7	GSVIVT01022200001	7	1,4308	0,196	0,1369863	11,0
ClabZIP-28	7	GSVIVT01008960001	18	2,0055	0,2478	0,1235602	15,4
ClabZIP-29	7	GSVIVT01010152001	1	2,271	0,1437	0,0632761	17,5
ClabZIP-31	8	GSVIVT01011929001	1	1,2106	0,1569	0,1296052	9,3
ClabZIP-31	8	GSVIVT01033632001	8	2,2372	0,2637	0,1178706	17,2
ClabZIP-35	8	GSVIVT01036649001	13	0,9753	0,0593	0,0608018	7,5
ClabZIP-35	8	GSVIVT01033632001	8	1,2964	0,0855	0,0659519	10,0
ClabZIP-35	8	GSVIVT01011929001	1	3,6324	0,1705	0,0469387	27,9
ClabZIP-37	8	GSVIVT01035829001	4	1,9249	0,0727	0,0377682	14,8
ClabZIP-38	8	GSVIVT01023817001	3	3,3832	0,3632	0,107354	26,0
ClabZIP-44	9	GSVIVT01013053001	2	2,4542	0,237	0,0965691	18,9
ClabZIP-44	9	GSVIVT01019009001	4	56,2263	0,4021	0,0071515	432,5
ClabZIP-44	9	GSVIVT01009665001	18	59,5793	0,4511	0,0075714	458,3
ClabZIP-45	10	GSVIVT01013053001	2	1,1615	0,1334	0,1148515	8,9
ClabZIP-48	10	GSVIVT01033632001	8	0,8066	0,1145	0,1419539	6,2
ClabZIP-48	10	GSVIVT01036649001	13	1,215	0,1658	0,1364609	9,3
ClabZIP-48	10	GSVIVT01011929001	1	3,0514	0,2625	0,0860261	23,5

EK 6'nın devamı

ClabZIP-50	10	GSVIVT01033531001	8	2,6039	0,2067	0,0793809	20,0
ClabZIP-53	11	GSVIVT01008960001	18	1,4853	0,2416	0,1626607	11,4
ClabZIP-53	11	GSVIVT01022200001	7	1,4364	0,2886	0,200919	11,0
ClabZIP-54	11	GSVIVT01023292001	12	1,24	0,24	0,19	9,6
ClabZIP-56	11	GSVIVT01014246001	19	2,6394	0,2538	0,0961582	20,3
Mean				5,16	0,21	0,11	39,69

EK 7 *ClabZIP* genlerinin duplikasyonları ve birbirinden ayrılma oranlarının ortalaması



EK 8 Karpuz bitkisine ait psRNA Target veritabanından elde edilen miRNA hedefleri

miRNA adı	Hedef Gen	Olasılık	UPE	miRNA Başlangıç	miRNA Bitiş
<i>Arabidopsis lyrata</i>					
aly-miR845a-3p	ClabZIP-33	3,00	16.486	CGGCUCUGAUACCAAUUGAUG	UAUCAAGUGGAAUUAGAGUCG
<i>Acyrtosiphon pisum</i>					
api-miR-3023	ClabZIP-28	3,00	19.255	AAGCUUGAUUUCAGAAAUGUCG	UGAUUUACUGAUUCGAGCUU
<i>Arabidopsis thaliana</i>					
ath-miR1888b	ClabZIP-32	3,00	21.992	UUAGGCUAAGAUUUGUGAAG	CUUCACAUGUCUCAGCCUGA
ath-miR414	ClabZIP-17	2,00	18.583	UCAUCUUCAUCAUCAUCGUC	GAUGAUGAUGUUGAAGGUGA
ath-miR5658	ClabZIP-50	1,00	6.474	AUGAUGAUGAUGAUGAUGAA	AUCAUCAUCAUCAUCAU
ath-miR779.2	ClabZIP-17	2,50	21.117	UGAUUGGAAAUUUCGUUGAC	GUCGACGGAAUCUCCGAUCA
ath-miR845a,	ClabZIP-33	3,00	16.486	CGGCUCUGAUACCAAUUGAUG	UAUCAAGUGGAAUUAGAGUCG
ath-miR854a, ath-miR854b, ath-miR854c, ath-miR854d, ath-miR854e	ClabZIP-52	3,00	24.776	GAUGAGGAUAGGGAGGAGGAG	UUCCUCCUCCAUGUCCUCUUC
ath-miR869.1	ClabZIP-08	3,00	9.605	AUUGGUUCAAUUCUGGUGUUG	CAAAACCAGAAUCCAACCAAU
atr-miR8602	ClabZIP-36	2,00	15.598	UCAGGAGAGAUGAUGCCGGC	GCCGCCAUCAUCUCUCCCGA
<i>Amborella trichopoda</i>					
atr-miR166b	ClabZIP-51	2,00	23.273	UCUCGGACCAGGCUUCAUUC	GGAUGAGGUUUGGUCUGAGA

EK 8'in devamı

<i>Brachypodium distachyon</i>					
bdi-miR5181b	ClabZIP-28	3,00	19.229	UCCGAUCCAUAUAAGUGUC	GACUUUUCUUAUGGAUUGGA
bdi-miR7729a-3p, bdi-miR7729b-3p	ClabZIP-32	3,00	12.693	AGCAAUGGUGGUGGUUUGGAGGAG	CCUCUCCAAAC-AUCAUCAUUGCU
bdi-miR7745-3p	ClabZIP-46	2,00	12.628	UUGUUGUUACUUAAGUCUUG	CAAGACUUAGGAGACAGCAA
bdi-miR7753-5p	ClabZIP-34	3,00	21.753	AUGUCUUCUCCUUGCUCAU	ACGAGCAAGGAAGCAGGCAU
bdi-miR7777-3p.2	ClabZIP-14	2,50	22.176	UGAGAUGGUGUCUGUUGAAGG	CCUUCAACGGGCACGAUCUCA
bdi-miR166f	ClabZIP-51	2,00	23.273	UCUCGGACCAGGCUUCAUUC	GGAUGAGGUUUGGUCUGAGA
<i>Brassica rapa</i>					
bra-miR5726	ClabZIP-36	3,00	12885	CAAAGGUUGCUUGAAUAAGGU	ACCUUGUUCAACCAACUUUUA
<i>Gossypium hirsutum</i>					
ghr-miR7508	ClabZIP-57	3,00	16.988	CAAGAAAAGAAGUCGGGAGA	UCUCCUGAUUCCUUUUCUUC
<i>Glycine max</i>					
gma-miR1514a	ClabZIP-45	3,00	11.143	UUCAUUUUUAAAAUAGGCAUU	GAUGCCAAUUCUAAAAUGAA
gma-miR1520q	ClabZIP-04	3,00	19.782	AUUGACCAAUCAGAACAUGA	UCAUAUCCUGAUUGGUCAAG
gma-miR166h-3p., gma-miR166u, gma-miR166k	ClabZIP-51	2,00	23.273	UCUCGGACCAGGCUUCAUUC	GGAUGAGGUUUGGUCUGAGA
gma-miR4414-3p	ClabZIP-31	3,00	23	UCCAACGAUGCGGGAGCUGC	GCAGCUUCGUCAUCGUUGGG
gma-miR4993	ClabZIP-06	2,50	16533	GAGCGGCGGCGGUGGAGGAU	AAUCUCCGCCGCCGUCGCUC

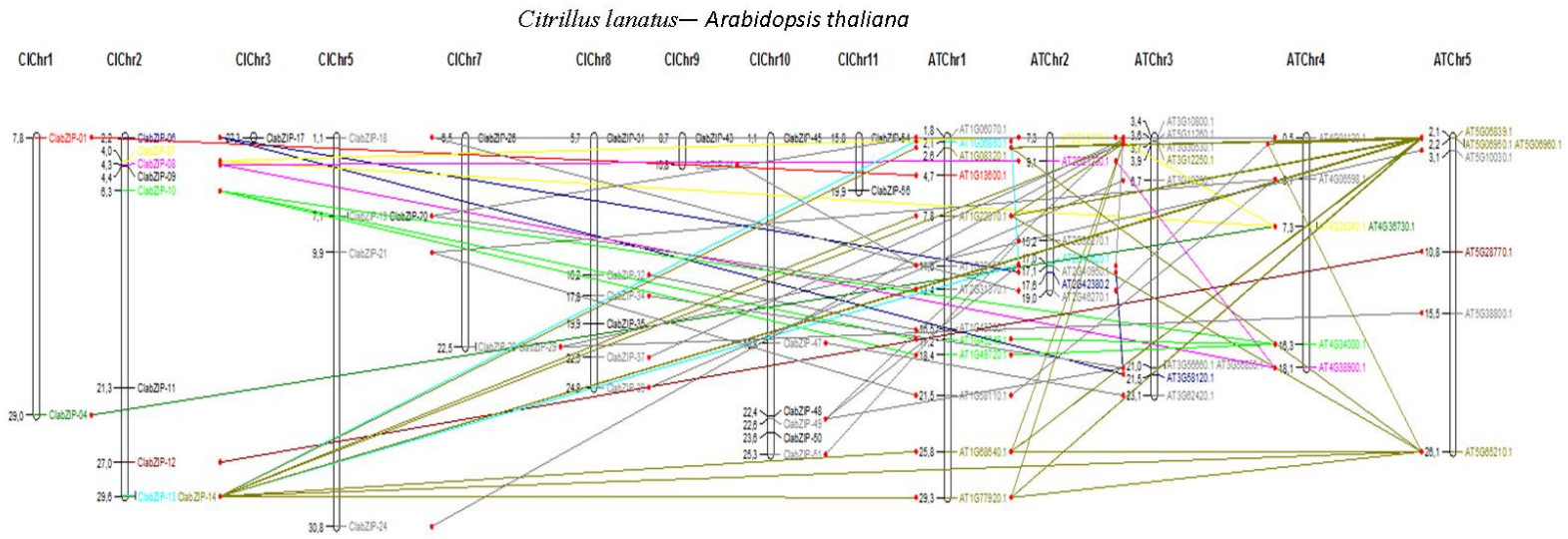
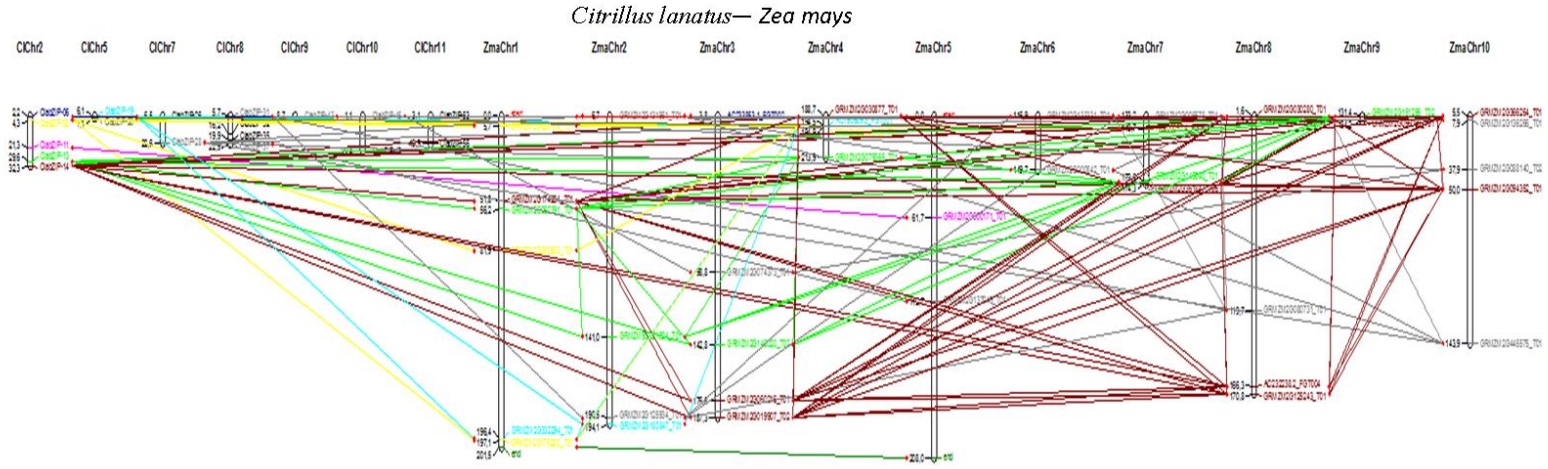
EK 8'in devamı

<i>Gossypium raimondii</i>					
gra-miR167a	ClabZIP-27	3,00	21.083	UCAGAUCAUCUUGCAGCUUC	GAAGCAACUAGAUGAUCUGA
gra-miR167b	ClabZIP-27	3,00	21083	UCAGAUCAUCUUGCAGCUUC	GAAGCAACUAGAUGAUCUGA
gra-miR8672	ClabZIP-25	2,00	10.563	AAGAGAAAUGAUUGUAUGAAA	UAUCAUUCAAUUAUUUCUCUU
gra-miR8778	ClabZIP-07	2,00	21.763	UUUCCAUAUUAGGGUUUGAA	UUCAGCCCUAAUAUGGAGA
gra-miR8781b	ClabZIP-50	3,00	22.463	UUUGAUUAGGAAGUUUGAGG	CUUCAAUUCUUAAGCAAA
<i>Medicago truncatula</i>					
mtr-miR2673a, mtr-miR2673b	ClabZIP-59	3,00	14.53	CCUCUCCUCUCCUCUCC	AACAGAGGAAGAGGAAGAGG
mtr-miR5227	ClabZIP-46	2,00	13.057	UGAAGAGAAGA-AGAUUGAUG	CAUUAUCUCUCUUCUCUUA
<i>Nicotiana tabacum</i>					
nta-miR172b	ClabZIP-52	3,00	15.224	AGAAUCAUGAUGAUGCUGCA	UGUUGCCUCAUCAUGAUUUU
nta-miR6151f	ClabZIP-17	2,50	22.974	UGAGUGUGAGGCAUUGGAUUGA	UCAAGCCGGUGCCUCACACUUA
nta-miR6151g, nta-miR6151h, nta-miR6151i	ClabZIP-17	3,00	22.974	UGAGUGUGAGGCGUUGGAUUGA	UCAAGCCGGUGCCUCACACUUA
<i>Oryza sativa</i>					
osa-miR166k-5p	ClabZIP-15	3,00	19.637	GGUUUGUUGUCUGGCUCGAGG	UCUCGAGCAAGAAAACAGGCC
<i>Populus trichocarpa</i>					
ptc-miR7837, ptc-miR7836	ClabZIP-08	3,00	13.062	UGGGUGGGAGGUGUGGUAGCU	AGCUACCACACUGUCCGCUCA

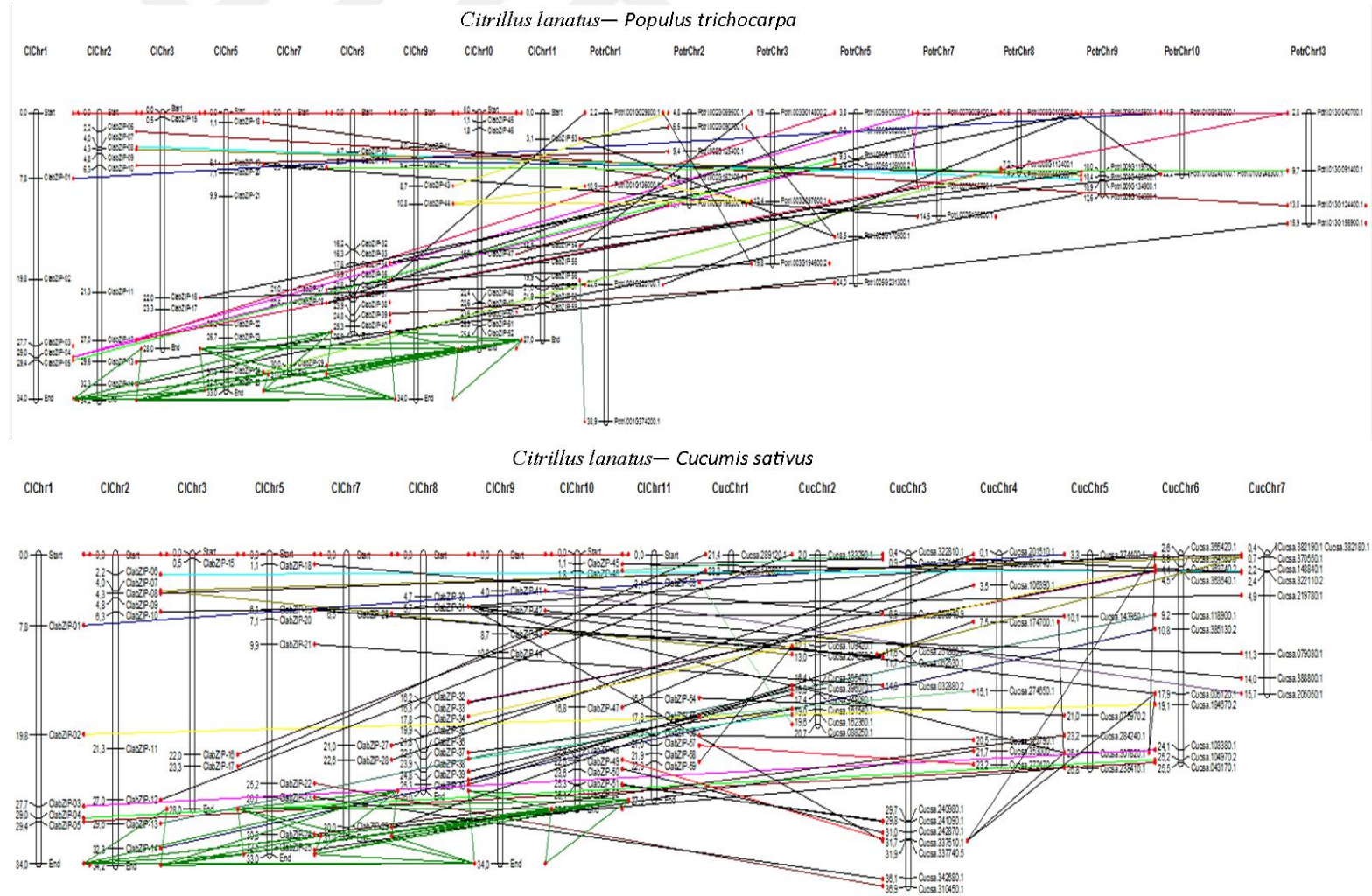
EK 8'in devamı

<i>Phaseolus vulgaris</i>					
pvu-miR1514a	ClabZIP-45	2,00	11.143	UUCAUUUUGAAAAUAGGCAUUG	CGAUGCCAAUUCUAAAAUGAA
<i>Solanum tuberosum</i>					
stu-miR3627-5p	ClabZIP-54	3,00	14.309	UCGCAGGAGAGAUGGCACUUAG	CCAGGUGCCCGCUCUUCUGCGA

EK 9 Karpuz kromozomlarında yer alan *bZIP* genlerinin diğer türlerle arasındaki ortolog ilişkiler

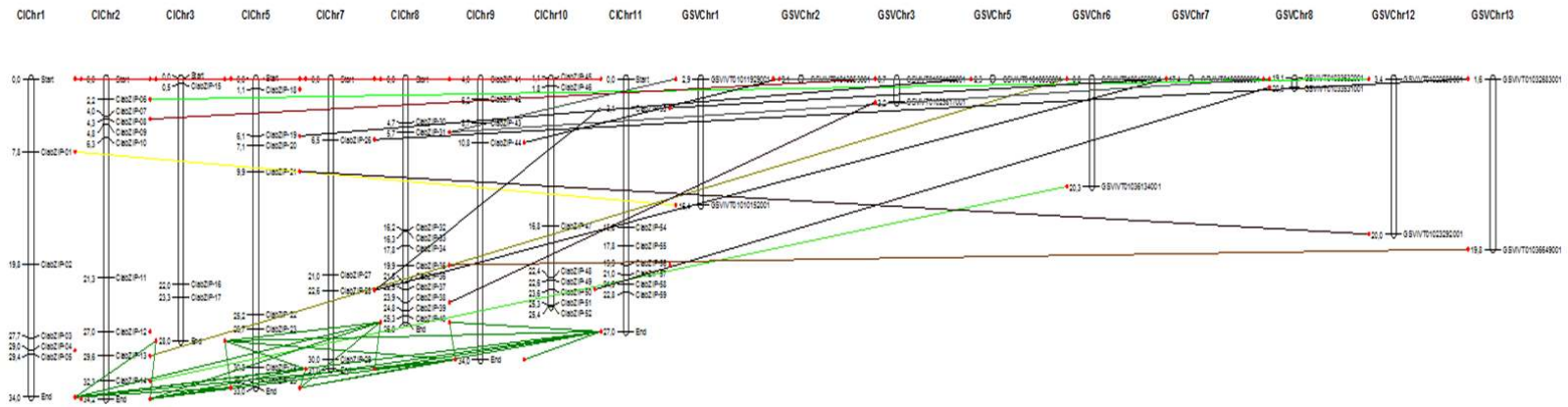


EK 9'un devamı

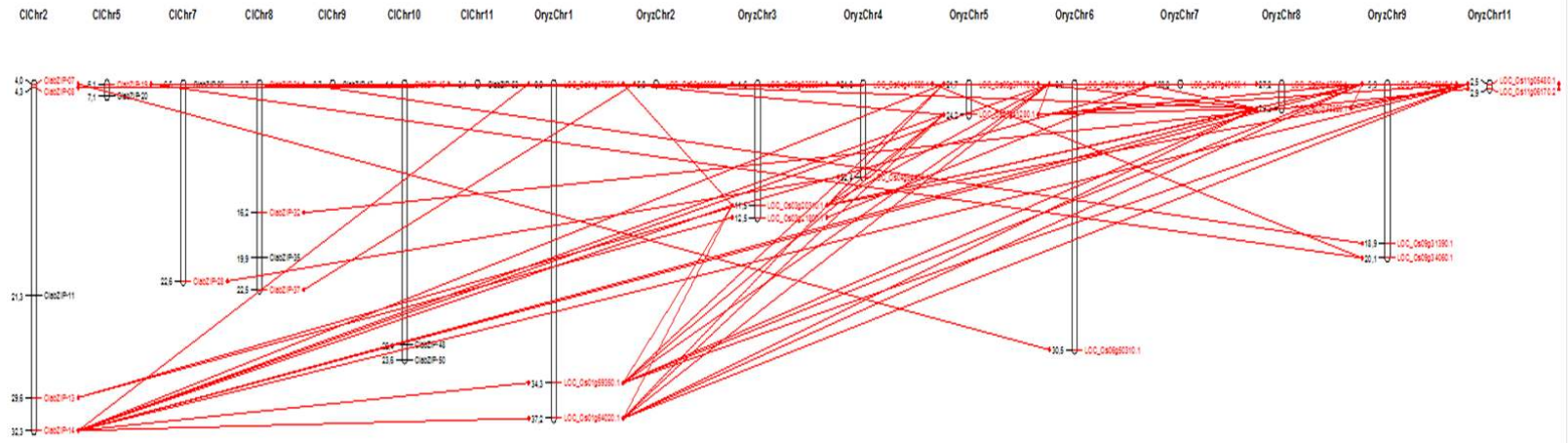


EK 9'un devamı

Citrillus lanatus— *Vitis vinifera*



Citrillus lanatus—*Oryza sativa*



EK 10 bZIP protein dizilerinin Blast2Go analiz detayları

Sekans Adı	Sekans Açıklaması	Sekans Uzunluğu	Beklenti Değeri	Benzerlik Oranı	Biyolojik Süreç	Moleküler Fonksiyon	Hücresel Bileşenler
ClabZIP-01	basic leucine zipper 43	162	1.3E-83	73.05%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-02	ABSCISIC ACID- INSENSITIVE 5 4 isoform X1	253	1.1E-103	68.1%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-03	light-inducible CPRF2-like	217	2.5E-101	63.55%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-04	G-box-binding factor 1	367	0	80.65%	Hücre Yaşlanması'nın Düzenlenmesi; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA,Hidrojen peroksit metabolik sürecinin düzenlenmesi	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Sitoplazma
ClabZIP-05	ocs element-binding factor 1-like	159	3.1E-50	72.45%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-06	basic leucine zipper 61	331	7.2E-163	74.7%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	

EK 10 'un devamı

ClabZIP-07	Basic-leucine zipper transcription factor family isoform 1	262	8.2E-162	86.9%	Kalıp DNA ile transkripsiyon, Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Membran Bileşenleri
ClabZIP-08	transcription factor RF2a	565	0	81.85%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek;
ClabZIP-09	probable transcription factor 21	503	0	81.65%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek
ClabZIP-10	ABSCISIC ACID- INSENSITIVE 5 7	702	0	74.15%	Absisik aside cevap; organik maddeye hücrel cevap, sinyal iletimi; olumlu Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA'sı;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek
ClabZIP-11	DNA binding ,	268	3.1E-167	87.55%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Membran Bileşenleri
ClabZIP-12	light-inducible CPRF2	428	0	69.2%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA; Uyarana cevap	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması;	Çekirdek
ClabZIP-13	transcription factor RF2b-like	377	0	76.65%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek

EK 10 'un devamı

ClabZIP-14	transcription factor TGA6 isoform X1	441	2.9E-177	71.45%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-15	basic leucine zipper 34-like	240	6.1E-117	71.7%	Endoplazmik retikulum açılmamış protein tepkisi; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA, ksenobiyotik uyarana cevap	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması;	
ClabZIP-16	ABSCISIC ACID- INSENSITIVE 5 2 isoform X1	247	1.2E-121	79.35%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-17	light-inducible CPRF2	379	0	62.3%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-18	common plant regulatory factor 1-like isoform X1	417	0	78.9%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-19	probable transcription factor 21	334	0	82.95%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek
ClabZIP-20	probable transcription factor 21	319	0	82.45%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek

EK 10 'un devamı

ClabZIP-21	Basic-leucine zipper transcription factor family isoform 1	321	0	82.85%	protein glikozilasyonu; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA, 1. mekanik uyarana cevap, kalsiyum aracılı sinyal	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-22	transcription factor HY5	210	3.7E-62	74.85%	metabolik sürecin pozitif düzenlenmesi; sinyal iletimi; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA, hormona cevap; oksijen içeren bileşiğe verilen cevap; asitlere karşı tepki; Makromolekül metabolik süreci, hücresel sürecin pozitif düzenlenmesi; lipide cevap; embriyon sonrası gelişimin düzenlenmesi	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek
ClabZIP-23	ocs element-binding factor 1	165	1.5E-78	74.5%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-24	basic leucine zipper 43	200	1.2E-128	81.5%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-25	basic leucine zipper 1-like	155	2.3E-88	71.2%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA, ;Uyarana cevap	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	

EK 10 'un devamı

ClabZIP-26	transcription factor RF2b	343	0	77.95%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi, protein heterodimerizasyon aktivitesi; sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek
ClabZIP-27	ocs element-binding factor 1-like	151	2.4E-84	76.75%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-28	transcription factor TGA1 isoform X1	362	0	84.6%	Kalıp DNA ile transkripsiyon; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi, Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-29	basic leucine zipper 43-like	109	4.6E-70	93.05%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi, MAP kinaz aktivitesi; sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-30	basic leucine zipper 43-like	146	8.4E-60	79.25%	MAPK Katlaması, P:Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması;	Hücreiçi
ClabZIP-31	transcription factor HBP-1b(c38) isoform X2	467	0	84.8%	Etal oluşumu; çiçek gelişiminin düzenlenmesi; Kalıp DNA ile Transkripsiyon; endoplazmik retikulum açılmamış protein tepkisi; sepal oluşumu; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması;	

EK 10 'un devamı

ClabZIP-32	transcription factor VIP1-like	346	0	69.1%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek
ClabZIP-33	G-box-binding factor 4-like	236	4.5E-107	70.1%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-34	ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5 2 isoform X1	300	1.5E-180	85.75%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-35	transcription factor TGA2-like	333	0	94.15%	Kalıp DNA ile transkripsiyon; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-36	basic leucine zipper 9	327	0	68.95%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	

EK 10 'un devamı

ClabZIP-37	transcription factor HY5	158	1.1E-87	91.8%	meristem kimliğinin korunması, fotomorfojenizin düzenlenmesi, hücre proliferasyonunun pozitif düzenlenmesi, gibberellik asit aracılı sinyal yolu; sirkadiyen ritmin pozitif düzenlenmesi; post-translasyonel protein modifikasyonu; nükleustan mRNA ihracatı, antosiyanin metabolik sürecinin pozitif düzenlenmesi; absisik aside cevap;çiçek gelişiminin düzenlenmesi; olumlu Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA, kromozom organizasyonu; kalsiyum aracılı sinyalleme; P: UV-B'ye yanıt	Transkripsiyon faktörü aktivitesi, çift zincirli DNA bağlanması; sekansa spesifik DNA bağlanması;	Çekirdek
ClabZIP-38	ocs element-binding factor 1	162	3.2E-94	80.7%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-39	ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5 5	448	0	71.25%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-40	basic leucine zipper 1-like	149	2.1E-79	67.8%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması;	

EK 10 'un devamı

ClabZIP-41	ocs element-binding factor 1	127	1.9E-46	75.4%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA, transport; positive regulation of biological process	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-42	light-inducible CPRF2	435	0	63.85%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-43	transcription factor VIP1	352	0	75.5%	sülfat taşınması; C: çekirdeği; DNA aracılı transformasyon, sülfat açılığa hücrel cevap; negatif Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;endoplazmik retikulum açılmamış protein yanıtı, hücre farklılaşmasının negatif düzenlenmesi, nükleer ithalat; ksenobiyotik uyarana cevap	Transkripsiyon faktörü aktivitesi, mitojen'e aktif protein kinaz bağlanması Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-44	transcription factor HBP-1a	85	5.9E-36	98.8%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-45	transcription factor HBP-1a	405	0	86.9%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-46	FD, partial	208	5.1E-85	63.2%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi, MAP kinaz aktivitesi; sekansa özgü DNA bağlanması	

EK 10 'un devamı

ClabZIP-47	ocs element-binding factor 1	142	5.6E-92	80.4%	MAPK Katlaması, Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Hücreiçi
ClabZIP-48	transcription factor HBP-1b(c38)-like	467	0	87.1%	Kalıp DNA ile transkripsiyon;Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-49	bZIP transcription factor 17-like	767	0	68.45%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-50	transcription factor HBP-1b(c38) isoform X1	393	1.9E-173	79.1%	Kalıp DNA ile transkripsiyon, Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-51	ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5	464	0	71.85%	sinial iletimi; tohum gelişimi; birincil metabolik süreç, oksijen içeren bileşige hücresele tepki; hücresele metabolik süreç, abiyotik uyarana cevap, absisik aside yanıt;organik maddeye hücresele cevap; olumlu Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA, embriyonik gelişimin düzenlenmesi; organik madde metabolizması süreci	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Çekirdek
ClabZIP-52	bZIP transcription factor family	525	0	65.3%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	

EK 10 'un devamı

ClabZIP-53	transcription factor TGA7-like isoform X1	356	0	79.85%	Kalıp DNA ile transkripsiyon, ; Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	Membran Bileşenleri
ClabZIP-54	Basic-leucine zipper domain-containing	367	0	74.7%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-55	ABSCISIC ACID- INSENSITIVE 5 3	156	1.3E-72	57.85%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-56	basic leucine zipper 34	300	2.2E-126	72.9%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-57	bZIP transcription factor 60	358	4.7E-173	62.4%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-58	basic leucine zipper 43-like	184	2.0E-120	79%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	
ClabZIP-59	ocs element-binding factor 1-like	152	4.4E-78	77.95%	Transkripsiyonun düzenlenmesi; Kalıp DNA;	Transkripsiyon faktörü aktivitesi; Sekansa özgü DNA bağlanması	

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yasin KARACA
Doğum Yeri ve Yılı: Altındağ-1987
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce (A1)
E-posta : biyolog517@hotmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Bahçelievler Deneme Lisesi
Lisans : Gazi Üniversitesi Çorum Fen-Edebiyat Fak., Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans : Kastamonu Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik