



**KURAKLIK VE TUZ STRESİ ALTINDAKİ  
*Phaseolus vulgaris* L.'e AİT *SET DOMAIN* GEN  
AİLESİNİN OMİK YAKLAŞIMLAR İLE İFADE  
SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ**

**Sümeyya İNCE**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı**

**2026**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.  
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI



KURAKLIK VE TUZ STRESİ ALTINDAKİ *Phaseolus vulgaris* L.'e AİT SET  
DOMAIN GEN AİLESİNİN OMİK YAKLAŞIMLAR İLE İFADE  
SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sümeyya İNCE

Danışman: Prof. Dr. Emre İLHAN

ERZURUM, 2026

T.C.  
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

---

**KURAKLIK VE TUZ STRESİ ALTINDAKİ *Phaseolus vulgaris* L.'e AİT SET  
DOMAIN GEN AİLESİNİN OMİK YAKLAŞIMLAR İLE İFADE  
SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Emre İLHAN danışmanlığında Sümeyya İNCE tarafından hazırlanan bu çalışma 25.12.2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **Oy birliği ile (3/3)** kabul edilmiştir.

|                  |                                                                     |            |
|------------------|---------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Danışman:</b> | Prof. Dr. Emre İLHAN<br>Erzurum Teknik Üniversitesi                 | İmza ..... |
| <b>Üye:</b>      | Doç. Dr. Esra ARSLAN YÜKSEL<br>Atatürk Üniversitesi                 | İmza ..... |
| <b>Üye:</b>      | Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gül<br>KASAPOĞLU<br>Erzurum Teknik Üniversitesi | İmza ..... |

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

**Prof. Dr. İlker KAZAZ**  
Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması Erzurum Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2025/031 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ VE ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etik ilkelere uygun davrandığımı ve tezin hazırlanması sürecinde üretken yapay zekâ programlarından, içeriğin ve sonuçların özgünlük sorumluluğunun tarafıma ait olması ve çalışmanın bilimsel niteliğini etkilemeyecek düzeyde, yalnızca yardımcı bir araç olarak sınırlı düzeyde destek alındığını beyan ederim.

25.12.2025

İmzası

Sümeyya İNCE

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca; tez çalışmamın hazırlanmasında bana yol gösterip yoğun iş temposuna rağmen gerek bilgi, birikim ve tecrübeleri ile gerekse akademik ve manevi desteklerinin esirmeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Emre İLHAN'a,

Tez çalışmamda maddi kaynak sağladığı için Erzurum Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, laboratuvar kullanımı nedeniyle Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'ne, laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan Ahmed Sidar AYGÖREN ve Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gül KASAPOĞLU'na,

Tez hazırlanması aşamasında ve lisans ve lisansüstü dönemi boyunca bana destek ve katkılarından dolayı değerli arkadaşlarım Azize BUTTANRI, Cemile GÜNEŞ ve Tülay ÖTER'e,

Hayatım boyunca maddi ve manevi tüm destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili anneme, babama, kardeşime ve dostum Meltem YOĞURTCU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

**Sümeyya İNCE**

## ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

### KURAKLIK VE TUZ STRESİ ALTINDAKİ *Phaseolus vulgaris* L.'e AİT *SET DOMAIN* GEN AİLESİNİN OMİK YAKLAŞIMLAR İLE İFADE SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

Sümeyya İNCE

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Emre İLHAN

*SET domain* gen ailesi, histon metiltransferaz genleri olarak bilinen ve kromatin yapısının epigenetik düzenlenmesinde görev yapan önemli gen ailelerinden biridir. Korunmuş bir *SET domaini* içeren proteinler tarafından, histon kuyruklarında bulunan lizin kalıntılarının metilasyonu katalize edilmektedir. Yapılan literatür taramalarına göre, *Phaseolus vulgaris*'in *SET domain* gen ailesi için yapılan genom çaplı analiz çalışmalarının olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada, tuz ve kuraklık stres faktörlerine maruz bırakılan fasulye yapraklarında *SET domain* genlerinin ifade profillerinin değerlendirilmesi ve omik yaklaşımlar aracılığıyla *SET domain* gen ailesi üyelerinin genom çaplı analizlerinin yapılması amaçlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, *Phaseolus vulgaris* genomunda 11 farklı kromozom üzerinde yer alan 49 *SET domain* geni tespit edilmiştir. *P. vulgaris*, *Glycine max*, *Arabidopsis thaliana* ve *Hordeum vulgare* türlerinden *SET domain* proteinleri kullanılarak filogenetik analiz yapılmıştır. *P. vulgaris* ve *G. max* türlerinin *SET* proteinlerinin evrimsel süreçte daha yakın ilişki gösterdiği saptanmıştır. Seçilen 10 *Phvul-SET* geni üzerinde RT-qPCR çalışmaları yapılarak ifade seviyeleri tuz ve kuraklık uygulamaları altında incelenmiştir. *Phvul-SET-34* ve *Phvul-SET-36* genlerinin tuz ve kuraklık stresine karşı aşırı ifade edilmesi ile elde edilen sonuçlar bu genin kuraklık stresine karşı yanıtta görev aldığını doğrulamıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulguların, tuz ve kuraklık streslerine yanıt olarak *Phvul-SET-34* ve *Phvul-SET-36* genlerinin rolü ile ilgili literatürdeki mevcut bilgi boşluğunu doldurması beklenmektedir ve fonksiyonel çalışmalarla doğrulanması gerekebilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Phaseolus vulgaris*, *SET domain* gen ailesi, abiyotik stres, domain, intron

## ABSTRACT

### MASTER'S THESIS

#### DETERMINATION OF EXPRESSION LEVELS OF THE *SET* DOMAIN GENE FAMILY BELONGING TO *Phaseolus vulgaris* L. UNDER DROUGHT AND SALT STRESS USING OMIC APPROACHES

Sümeyya İNCE

Erzurum Technical University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology And Genetics

**Supervisor:** Prof. Dr. Emre İLHAN

The *SET domain* gene family is one of the important gene families known as histone methyltransferase genes, which are involved in the epigenetic regulation of chromatin structure. Proteins containing a conserved SET domain catalyze the methylation of lysine residues located in histone tails. According to the literature review, no genome-wide analysis studies have been conducted for the *SET domain* gene family of *Phaseolus vulgaris*. This study aimed to evaluate the expression profiles of *SET domain* genes in bean leaves exposed to salt and drought stress factors and to perform genome-wide analyses of *SET domain* gene family members using omics approaches. As a result of the study, 49 *SET domain* genes located on 11 different chromosomes were identified in the *Phaseolus vulgaris* genome. Phylogenetic analysis was performed using SET domain proteins from *P. vulgaris*, *Glycine max*, *Arabidopsis thaliana*, and *Hordeum vulgare* species. It was determined that the SET proteins of *P. vulgaris* and *G. max* species showed closer evolutionary relationships. Expression levels of 10 selected *Phvul-SET* genes were investigated under salt and drought conditions using RT-qPCR studies. Results obtained by overexpressing *Phvul-SET-34* and *Phvul-SET-36* genes in response to salt and drought stress confirmed that these genes play a role in the response to drought stress. The findings of this study are expected to fill the existing knowledge gap in the literature regarding the role of *Phvul-SET-34* and *Phvul-SET-36* genes in response to salt and drought stresses, and may require confirmation through functional studies.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *SET domain* gene family, abiotic stress, domain, intron

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                                                   |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ VE ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI .....                                                                                        | i    |
| TEŞEKKÜR .....                                                                                                                                    | ii   |
| ÖZET.....                                                                                                                                         | iii  |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                    | iv   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                                                                 | v    |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                                                                                             | vii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                                                                             | viii |
| KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ .....                                                                                                              | ix   |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                                                    | 1    |
| 1.1. Kaynakça Özeti .....                                                                                                                         | 6    |
| 2. MATERYAL ve METOT .....                                                                                                                        | 9    |
| 2.1. <i>P. vulgaris</i> , <i>H. vulgare</i> L., <i>G. max</i> ve <i>A. thaliana</i> Genomlarındaki <i>SET</i><br>Genlerinin Tespit Edilmesi ..... | 9    |
| 2.2. Fasulyede Bulunan <i>SET Domaini</i> Genlerinin Yapısı, Kromozom Lokasyonu,<br>Gen Duplikasyonları ve Korunmuş Motiflerin Belirlenmesi ..... | 9    |
| 2.3. Filogenetik Analizler ve Dizi Hizalama .....                                                                                                 | 10   |
| 2.4. Fasulye ve Diğer Türler Arasında Karşılaştırmalı Haritalama (Sinteni Analizi) .....                                                          | 10   |
| 2.5. Fasulyede <i>SET</i> Gen Ailesinin Hücre İçi Lokalizasyonu ve Promotör Analizleri .....                                                      | 10   |
| 2.6. Fasulyede Bulunan <i>SET Domain</i> Proteinlerinin Homoloji Modellemesi .....                                                                | 10   |
| 2.7. <i>P. vulgaris</i> 'deki <i>SET</i> Protein-Protein Etkileşimleri .....                                                                      | 11   |
| 2.8. İn Siliko Gen İfade Analiz.....                                                                                                              | 11   |
| 2.9. Bitkilerin Yetiştirilmesi, Büyüme Şartları ve Stres Uygulamalarının Yapılması<br>.....                                                       | 11   |
| 2.10. RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi .....                                                                                                        | 12   |
| 2.11. Kantitatif Real Time PCR Analizleri .....                                                                                                   | 13   |
| 2.12. Verilerin Değerlendirilmesi.....                                                                                                            | 14   |
| 3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....                                                                                                           | 15   |
| 3.1. Fasulye Genomunda Tanımlanan <i>SET Domain</i> Genlerinin Tanımlanması ve<br>Karakterize Edilmesi .....                                      | 15   |
| 3.2. <i>Phvul-SET</i> Genlerinin Kromozomal Lokasyonu ve Gen Duplikasyonu.....                                                                    | 18   |
| 3.3. <i>Phvul-SET</i> Genlerinin Ekzon ve İntron Bölgeleri .....                                                                                  | 20   |

|                                                                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.4. <i>Phvul-SET</i> Gen Ailesinin Karşılaştırmalı Haritalaması .....                                                               | 21        |
| 3.5. <i>Phvul-SET</i> Proteinlerinin Türler Arası Filogenetik Analizi .....                                                          | 24        |
| 3.6. <i>Phvul-SET</i> Genlerinin Korunmuş Dizi Motifleri .....                                                                       | 26        |
| 3.7. Tanımlanan <i>Phvul-SET</i> Hücre İçi Lokalizasyonu .....                                                                       | 29        |
| 3.8. <i>Phvul-SET</i> Proteinlerinin Homoloji Modellemesi .....                                                                      | 30        |
| 3.9. <i>Phvul-SET</i> Protein- Protein Etkileşimleri.....                                                                            | 33        |
| 3.10. <i>Phvul-SET</i> Genlerinin Promotor Analizi.....                                                                              | 34        |
| 3.11. <i>Phvul-SET</i> Genlerinin Farklı Fasulye Dokularında Tuz ve Kuraklık Stresi<br>Şartları Altında İn Siliko İfade Analizi..... | 35        |
| 3.12. Kantitatif Real Time PCR (RT-qPCR) Analizleri.....                                                                             | 38        |
| <b>4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                                                                                     | <b>42</b> |
| <b>KAYNAKÇA .....</b>                                                                                                                | <b>43</b> |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> cDNA sentez karışımı .....                                         | 13 |
| <b>Tablo 2.2.</b> Real-Time PCR reaksiyon bileşenleri .....                          | 14 |
| <b>Tablo 2.3.</b> Real-Time PCR koşulları .....                                      | 14 |
| <b>Tablo 2.4.</b> Çalışmada kullanılan primerler hakkında bilgi .....                | 14 |
| <b>Tablo 3.1.</b> <i>Phvul-SET</i> proteinlerinin hakkında bilgi.....                | 16 |
| <b>Tablo 3.2.</b> <i>Phvul-SET</i> gen duplikasyonları .....                         | 19 |
| <b>Tablo 3.3.</b> <i>Phvul-SET</i> genlerinin korunmuş motiflerinin özellikleri..... | 28 |
| <b>Tablo 3.4.</b> <i>Phvul-SET</i> genlerinin hücre içi lokalizasyonu .....          | 30 |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1. <i>Phvul-SET</i> genlerinin fasulye genomunda kromozomal dağılımları.....                                                                                 | 18 |
| Şekil 3.2. <i>Phvul-SET</i> genlerinin ekzon ve intron bölgeleri.....                                                                                                | 21 |
| Şekil 3.3. <i>P. vulgaris</i> ve <i>G. max</i> 'ın karşılaştırmalı haritası .....                                                                                    | 22 |
| Şekil 3.4. <i>P. vulgaris</i> ve <i>A. thaliana</i> karşılaştırılmalı haritası .....                                                                                 | 23 |
| Şekil 3.5. <i>P. vulgaris</i> ve <i>H. vulgare</i> karşılaştırılmalı haritası .....                                                                                  | 24 |
| Şekil 3.6. <i>P. vulgaris</i> , <i>G. max</i> , <i>A. thaliana</i> ve <i>H. vulgare</i> bitkilerinde bulunan <i>SET domain</i> proteinlerinin filogenetik ağacı..... | 25 |
| Şekil 3.7. <i>Phvul-SET</i> genlerinin korunmuş dizi bölgeleri .....                                                                                                 | 27 |
| Şekil 3.8. <i>Phvul-SET</i> proteinlerinin 3D boyutlu homoloji modellemesi .....                                                                                     | 32 |
| Şekil 3.9. Tanımlanan <i>SET</i> proteinlerinin protein protein etkileşimleri (PPI).....                                                                             | 33 |
| Şekil 3.10. <i>Phvul -SET</i> genlerinin 2000 bç yukarı akış bölgesinde bulunan cis-etkili elementler .....                                                          | 35 |
| Şekil 3.11. Farklı stres koşullarında <i>Phvul-SET</i> genlerinin in silico ifade seviyeleri ....                                                                    | 36 |
| Şekil 3.12. Fasulye dokusunda <i>Phvul-SET</i> genlerinin in silico ifade seviyeleri.....                                                                            | 37 |
| Şekil 3.13. Kuraklık stresi altında (%20 PEG6000) Elkoca 05 ve Serra fasulye çeşitlerinde <i>Phvul-SET</i> genlerinin ifade seviyesi grafikleri .....                | 39 |
| Şekil 3.14. Tuz stresi altında (150 mM NaCl) Elkoca 05 ve Serra fasulye çeşitlerinde <i>Phvul-SET</i> genlerinin ifade seviyesi grafikleri .....                     | 40 |

## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

|         |                                                  |
|---------|--------------------------------------------------|
| cDNA    | Komplementer DNA                                 |
| DNA     | Deoksiribonükleikasit                            |
| dNTP    | Deoksiribonükleotid                              |
| Mbp     | Mega baz çifti                                   |
| mg      | Miligram                                         |
| mM      | Milimolar                                        |
| M.Y.Ö.  | Milyon yıl önce                                  |
| °       | Derece                                           |
| RT-qPCR | Kantitatif Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| RNA     | Ribonükleikasit                                  |
| RNAase  | Ribonükleaz                                      |
| OD      | Optik yoğunluk                                   |
| µg      | Mikrogram                                        |
| µL      | Mikrolitre                                       |
| µM      | Mikromolar                                       |
| kDa     | Kilo Dalton                                      |
| α       | Alfa                                             |
| β       | Beta                                             |

## 1. GİRİŞ

*Phaseolus vulgaris* L. (fasulye), en fazla ekim alanına sahip baklagil olarak öne çıkmaktadır (Gülümser, 2016). *P. vulgaris*, *Phaseolus* cinsinin Fabaceae ailesinin, *Papilionidaceae* alt ailesinden *Phaseoleae* takımında bulunan bir baklagildir. *P. vulgaris* ılıman ve yarı tropikal bölgelerde yetiştirilen  $2n = 22$  kromozoma sahip tek yıllık otsu bir bitkidir (Gepts 2001; Ganesan and Xu, 2017). Baskın çeşitleri arasında ise lacivert fasulye, barbunya, kırmızı fasulye, siyah fasulye, pinto fasulye ve kızılılık fasulyesi bulunmaktadır (Ganesan and Xu, 2017). Genom büyüklüğünün 588 ile 637 mega baz çifti (Mbp) arasında olduğu tahmin edilen bir diploittir (Kalavacharla et al. 2011; Schmutz et al. 2014).

Fasulye, insan beslenmesi açısından en önemli baklagillerden biridir (Schmutz et al. 2014). Yüksek protein, karbonhidrat, vitamin, mineral ve diyet lifi içeriği ile potasyum, magnezyum, demir ve çinko gibi mikro besin öğeleri açısından zengin olması ve düşük doymuş yağ içeriğine sahip olması, fasulyeyi insan beslenmesinde değerli bir gıda kaynağı yapmaktadır (Yıldırım vd 2020). Gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde de önemli bir bitkisel protein kaynağıdır (Celmeli vd 2018). Ayrıca, yüksek protein ve lif içeriği ile bazı biyolojik aktif bileşenleri sayesinde sadece insan beslenmesinde değil, hayvan beslenmesinde de alternatif bir yem kaynağı olarak kullanılmaktadır. Fasulye ve artıklarının işlenerek rasyonlara dahil edilmesi yem maliyetlerini düşürmektedir. Ayrıca bu durum hem hayvan sağlığını destekleyici hem de ekonomik ve besleyici bir çözüm sunmaktadır (Kılınç ve Uslu, 2021). Bunun yanı sıra fasulye, yüksek miktarda polifenol ve diğer metabolitleri içermekte olup antioksidan aktivitesi sayesinde diyabet, kanser ve mikrobiyal enfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlayabilmektedir (Messina, 2014; Ganesan and Xu, 2017).

Bitkiler, yaşam döngüleri boyunca hem abiyotik (sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, ağır metaller gibi) hem de biyotik (patojenler, zararlılar) stres faktörlerine maruz kalmaktadır ve bu stres etmenleri bitki büyümesini, gelişimini, verimliliğini ve hayatta kalma şansını olumsuz etkilemektedir (Büyük vd 2012). Biyotik ve abiyotik kökenli olan bu stres etmenleri, bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde çeşitli hasarlara yol açarak, ürün verimliliğini olumsuz şekilde etkileyebilmektedir (Örs ve Ekinci, 2015). Stres faktörlerinin bitkiyi olumsuz yönde etkilemesi sonucunda fotosentez, su dengesi, hormonal sinyalizasyon ve gen ifadesi gibi hayati süreçlerde bozulmalara yol

açtığı bilinmektedir. (Zhu 2002; Mittler 2006; Gupta et al. 2020). Abiyotik stres koşulları, fotosentez etkinliğini sınırlandırarak stoma iletkenliği ve klorofil düzeylerinde azalmaya yol açmaktadır. Özellikle azot başta olmak üzere temel besin elementlerine bağlı protein içeriğini de olumsuz etkilemektedir (Mathobo et al. 2017; Uebersax et al. 2023). Buna ek olarak, küresel iklim değişikliğinin etkisiyle abiyotik streslerin görülme sıklığı ve şiddetinin artması, tarımsal üretimin sürdürülebilirliğini tehdit eden önemli bir unsur olarak değerlendirilmektedir (Lesk et al. 2016).

Düşük yağış, tuzluluk, aşırı sıcaklıklar ve yüksek ışık yoğunluğu gibi çeşitli çevresel faktörler bitkilerde kuraklık stresine yol açmaktadır (Acar ve Demirbaş, 2022). Kuraklık stresi, su kıtlığı ve kuruma olmak üzere iki ana tipe ayrılmaktadır. Bitkiler su kıtlığına karşı genellikle transpirasyonu azaltarak suyu korumaya çalışırlar (Örs ve Ekinci, 2015). Yaprakta su kıtlığı, stomaların kapanmasına ve gaz değişiminin kısıtlanmasına yol açan orta düzeyde su kaybı olarak tanımlanabilir. Oransal su içeriği yaklaşık %70 seviyesinde olan bitkilerde stomaların kapanması karbondioksit alımını sınırlarken, transpirasyon da önemli ölçüde yavaşlar (Smirnov 1993). Ayrıca su kıtlığı, yapraklarda absisik asit (ABA) sentezini ve salınımını artırır, bu hormon, bekçi hücrelerde iyon akışını düzenleyerek stomaların kapalı tutulmasına yardımcı olur (Yüksel ve Aksoy, 2017). Bitkilerde kuruma ise, metabolizma ve hücre yapısının tamamen bozulmasına ve enzimler aracılığıyla gerçekleşen tepkimelerin durmasına yol açabilecek derecede aşırı su kaybıdır. Solma durumunda bitki turgorunu kaybederek hücrelerin çökmesine neden olur. Ancak bitkiye gerekli su sağlandığında solgunluk azalır ve bitki eski sağlıklı durumuna dönebilir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Solma ileri seviyelere ulaştığında ise bitkinin toparlanması mümkün değildir. Kurumaya duyarlı vasküler bitkilerin birçoğu vejetatif dokuda su içeriği %30'un altına düştüğünde iyileşme sürecine giremezler (Urry et al. 2022).

Kuraklık stresi, bitkilerde su dengesinin bozulmasına bağlı olarak fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri olumsuz yönde etkilemektedir (Balasubramaniam et al. 2023). Fasulye bitkisinde kuraklık, yaprak alanı, kök ve gövde uzunluğu ile kök ve gövde yaş-kuru ağırlıkları gibi morfolojik özellikleri olumsuz etkileyebilmektedir. Tuz ve kuraklık abiyotik stres faktörleri, bitkinin morfolojik ve fizyolojik işleyişini olumsuz yönde etkilemesi sebebiyle verim potansiyelini düşürmekte ve fasulye yetiştiriciliğini sınırlandırmaktadır (Korkmaz ve Durmaz, 2017).

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkileyen başlıca abiyotik faktörlerden biri de tuz stresidir. Tuz uygulaması, tohum çimlenmesini, kök uzunluğunu, bitki boyunu ve meyve oluşumunu önemli ölçüde engelleyebilir (Liang et al. 2018). Toprakta sodyum klorür ve diğer tuzların aşırı birikimi, toprak çözeltisinin su potansiyelini düşürür. Toprak yeterli su içeriğine sahip olsa bile bitkilerde su kıtlığına yol açabilir. Su potansiyelindeki bu düşüş, köklerden bitkiye su alımını azaltır (Çulha ve Çakırlar 2011). Tuzlu topraklarda yüksek sodyum ve bazı diğer iyon konsantrasyonları bitkiler için toksik olup kök hücre zarlarının seçici geçirgenliğini bozabilir (Ekmekçi vd. 2005). Orta şiddette tuzluluk durumunda birçok bitki, çözünmüş organik maddeler üreterek stres yanıtı verebilir. Bu maddeler, hücrelerin su potansiyelini düşürerek toprak çözeltisinin su potansiyeline uyum sağlar ve tuzların zehirli düzeylerde birikmesini engeller (Urry et al. 2022).

Bitkiler, çevresel stres faktörlerine karşı hayatta kalmak ve uyum sağlamak için savunma mekanizmaları geliştirirler. Bu mekanizmalar, hücresel düzeyde sinyal iletimi, antioksidan tepkiler, metabolik yeniden programlama gibi yanıtların yanı sıra, gen düzeyindeki düzenlemeleri de içermektedir (Büyük vd 2012). Bu bağlamda, epigenetik mekanizmalar, bitkilerin stres koşullarına hızlı ve esnek şekilde yanıt vermesinde önemli bir rol oynamaktadır (Arıkan et al. 2025). Epigenetik düzenlemeler arasında histon modifikasyonları kromatin düzenleme işlevlerini etkileyerek stresle ilişkili genlerin ifadesini kontrol edebilme kapasitesi ile öne çıkmaktadır (Qian et al. 2014; Abdulraheem et al. 2024).

Yapılan çalışmalar sonucunda bitkilerin kuraklık, soğuk ve yüksek tuzluluk streslerine verdiği yanıtlarda epigenetik mekanizmaların, özellikle de histon modifikasyonlarının, kritik düzenleyici roller oynadığı bildirilmiştir (KIM et al. 2010; Luo et al. 2012; Yu et al. 2025). Histon metilasyonu, DNA'nın etrafına sarılmış histon proteinlerine metil gruplarının (-CH<sub>3</sub>) eklenmesiyle gerçekleşen bir post-translasyonel modifikasyondur ve gen ifadesinin çevresel sinyallere yanıt olarak dinamik biçimde düzenlenmesini sağlayan temel epigenetik işaretlerden biridir (Greer and Shi 2012). Bu modifikasyon, genomun belirli bölgelerinde gen ifadesini artırabilir veya baskılayabilir. Özellikle H3 ve H4 histon proteinlerinin lizin (K) kalıntılarına metil grubunun eklenmesi şeklinde gerçekleşen histon lizin metilasyonu, gen ifadesinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar (Lei et al. 2012). *SET domaini*, histon lizin metiltransferaz (HKMT)'lerde bulunan korunmuş bir metiltransferaz domainidir ve bu

domaini taşıyan enzimler *SET domain grubu* (SDG) proteinleri olarak adlandırılır (Xiao et al. 2022).

*SET* (Su(var)3-9, Enhancer-of-zeste, Trithorax) domaini, yaklaşık 130-150 amino asitlik evrimsel olarak korunmuş bir multigen ailesidir (Huang et al. 2011). *SET domaini*, başlangıçta *Drosophila*'da tanımlanan üç histon lizin metiltransferazı olan protein etkili değişkenliğinin baskılayıcısı 3-9 [Su(var) 3-9], Enhancer of zeste [E(z)] ve Trithorax (trx) temel alınarak *SET* olarak adlandırılmıştır (Dillon et al. 2005). HKMTazlar, korunmuş bir *SET domaini* taşıyan *SET domain grubu* (SDG) proteinlerinin yanı sıra, *SET domainine* sahip olmayan ancak lizin metilasyonu gerçekleştiren DOT1p ve DOT1L enzimlerini de içermektedir (Zhou et al. 2020). Korunmuş bir *SET domaini* içeren proteinler, histon kuyruklarında yer alan lizin kalıntılarının metilasyonunu katalize etmektedir (Marmorstein et al. 2003; Ng et al. 2007). Histon lizin metilasyonu, kromatin yapısını değiştirmekte ve ökaryotik gen transkripsiyonunun yanı sıra çeşitli fizyolojik ve gelişimsel süreçleri düzenlemektedir (Lämke and Bäurle, 2017). *SET domain* proteinleri, promotör bölgelerde bulunan metilasyon işaretleriyle transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını kolaylaştırır veya engeller. Bu mekanizma yardımıyla tuz, kuraklık, ışık, sıcaklık gibi çevresel sinyaller gen ifade profiline yansıtılmaktadır (Banerjee and Roychoudhury, 2017). Bitkilerde meydana gelen abiyotik stres faktörlerinde bazı *SET domain* genleri aktif hale gelir. Bu aktivasyon, stres toleransı sağlayan genlerin transkripsiyonel düzenlenmesi sayesinde bitkinin adaptasyon kapasitesini artırmaktadır. Son çalışmalarda *SET domain* genlerinin embriyogenez kontrolü ve bitkilerde çiçeklenme zamanı gibi üreme ve büyüme süreçlerini düzenlemek için önemli olduğu anlaşılmıştır (Berr et al. 2009; Zhou et al. 2020). Ayrıca *SET domain* gen ailesinin abiyotik stres koşullarında ve karotenoid biyosentezinde de kritik işlevlere sahip olduğu bilinmektedir (Cazzonelli et al. 2009).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, *SET domaini* gen ailesinin genom çapındaki yapısal ve evrimsel analizlerinin özellikle *A. thaliana* (Baumbusch et al, 2001) ve *Oryza sativa* (Lu et al. 2013) gibi bitkilerde detaylı bir şekilde raporlandığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra *SET* gen ailesi için *Zea mays* (Qian et al. 2014), *Brassica rapa* (Huang et al. 2011) ve *Triticum aestivum* (Batra et al. 2020) gibi birçok bitkide de genom çapında çalışmalar yapılmıştır. Ancak, literatürde *P. vulgaris* için *SET domaini* gen ailesine yönelik kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, *P. vulgaris*'te bulunan *SET domaini* gen ailesinin biyoinformatik yöntemlerle kapsamlı bir biçimde

tanımlanması, tuz ve kuraklık stresine maruz bırakılan fasulye bitkilerinin yaprak dokularındaki *SET domain* genlerinin ifade profilleri RT-qPCR kullanılarak analiz edilmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışmanın bulguları, stres koşulları altındaki *SET domain* genlerinin verdiği yanıtlar için yapılan araştırmalarda katkı sağlayacak ve *Phvul-SET domain* genlerinin bitki stres metabolizmasındaki rolüne yeni bir bakış açısı sağlayacaktır.



## 1.1. Kaynak Özetleri

Tarımı olumsuz yönde etkileyen iklim değışiklikleri, artan nüfus, doğal kaynakların tükenmesi ve küresel ısınma gibi çevresel koşullar gıda talebini artırmaktadır (Mittler et al. 2006; Duru 2025). Aşırı yağış ve seller, hızla artan CO<sub>2</sub> emisyonları, kuraklık, yeraltı su seviyesinin düşmesi gibi abiyotik ve biyotik streslerin ekilebilir alanlar üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Bayraç ve Doğan 2016). Özellikle tuzluluk ve kuraklık, bitkisel ürün üretimi ve verimde düşüşlere neden olmaktadır (Örs ve Ekinci, 2015).

Qian et al. (2014) tarafından yapılan çalışmada, mısır genomunda *SET domain* gen ailesi çalışılmıştır. Yapısal özelliklere ve *A. thaliana*, mısır, çeltik arasındaki filogenetik ilişkilerin karşılaştırılması ile 43 *ZmSET* proteinini tespit edilmiştir. Tüm genom ve kromozomal segmental duplikasyonların, mısırdaki *SET domain* gen ailesi genişlemesine büyük ölçüde katkıda bulunduğunu rapor edilmiştir. Hesaplamalı ifade analizleri ile birçok mısır *SET domain* geninin birden fazla dokuda işlevsel ve gelişimsel rolleri olduğu bildirilmiştir.

Tuzluluk, yağış eksikliği, tarım arazilerinin yanlış kullanımı, aşırı buharlaşma, drenaj eksikliği gibi sorunlar sebebiyle meydana gelen abiyotik faktördür. Tuzların, toprakta aşırı birikmesi nedeniyle bitkinin büyümesi, gelişmesi, verimliliği, tohum kalitesi gibi özellikleri etkileyen duruma tuz stresi denir (Arslan vd. 2013). Toprakta aşırı miktarda biriken tuz sebebiyle, bitkinin ihtiyacı olan suyun kök tarafından alınıp sürgünlere aktarılmasında sorun yaşanır (Faroog et al. 2009; Çulha ve Çakırlar 2011). Bu durum, bitkilerde ozmotik ve iyon dengesinin bozulmasına yol açarak stres oluşumuna neden olmaktadır (Parida and Das, 2005). Kök rizosferinde tuz miktarının artmasıyla ozmotik stres oluşur. Oluşan ozmotik stres kullanılabilir su miktarının da azalmasına sebep olur ve bu olaya “fizyolojik kuraklık” denilmektedir. Osmotik stres sebebiyle ortaya çıkan iyon stresi aşamasında, ortamda artan Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyonlarının K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup> ve NO gibi gerekli besin elementleri ile rekabete girmesiyle bitkilerde, besin dengesizliği veya besin eksikliği meydana gelmektedir (Çulha ve Çakırlar, 2011; Hu and Schmidhalter, 2005). Jian et al. (2023) tarafından pamuk bitkisinde (*Gossypium hirsutum* L.) tuz stresi altındaki *SET domain* genlerinin genom çapında analizi ve *GhSDG51*’in işlevi araştırılmıştır. *Gossypium arboreum*, *G. raimondii*, *G. hirsutum* ve *G. barbadense* olmak üzere dört *Gossypium* türünde toplam 229 *SDG* geni tespit

edilmiştir. Cis -element analizi ile *GhSDG*'lerin abiyotik streslere direnç ve büyüme gelişiminde görev yaptığı bildirilmiştir. RT-qPCR analizi ile, *GhSDG*'lerin tuz stresine yanıt verdiği rapor edilmiştir. VIGS (virüs kaynaklı gen susturma) yöntemiyle *Gossypium hirsutum* L.'de *GhSDG51* geninin susturulması, *GhSDG51*'in tuz stresinde potansiyel bir pozitif düzenleyici rol üstlendiği rapor edilmiştir.

Yang et al. (2024) tarafından *Solanum lycopersicum*'daki (domates) *SET domaini* içeren genler tespit edilmiştir. Domates bitkisinde 46 *SET* gen üyesi belirlenmiştir. Çalışmada, genlerin ekzon ve intronlarında yapısal değişkenliğin olduğunu ve bu çeşitliliğin büyük olasılıkla farklı düzenleyici işlevlerin oluşumuna etki ettiği rapor edilmiştir. *SET domain* genlerinin; büyüme, hormonal sinyalizasyon, ışık duyarlılığı ve stres tepkisi gibi farklı biyolojik reaksiyonlarda rol aldığı promotör analizleri aracılığıyla belirtilmiştir. Tuz stresi şartlarında yapılan transkriptomik profillemeye, abiyotik stres toleransında rol alan belirgin ifade kalıplarını ortaya koymuştur. Ayrıca virüs kaynaklı gen susturma yoluyla *SlSET6* geninin susturulması, artan oksidatif hasar ve azalan stres adaptasyon mekanizmalarıyla belirginleşen tuz toleransında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir.

Kuraklık, susuzluk manasına gelen eski veya lehçe kökenli olan “drought” kelimesinin eski İngilizce ve İskoçça dillerinden türetilmiştir. Kuraklık kelimesi, genel olarak belirli bir unsurun yokluğu veya kıtlığına işaret edilmekle birlikte, tarihsel olarak uzun süreli kuraklık veya düşük yağış dönemi olarak ortaya çıkmaktadır (Coles and Eslamian, 2017). Kuraklık, tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklıklar, yüksek ışık yoğunluğu gibi çeşitli sebeplerin yanı sıra temel olarak bir bölgede belirli bir süre boyunca düşük yağıştan kaynaklanır ve aşırı iklim olayı olarak kabul edilmektedir. Kuraklık sebebiyle su bulunmasının azaldığı durumlarda, bitkilerde doku konsantrasyonları ve besin alınımı azalmaktadır. Si, Mg, N ve Ca gibi hayati elementler su aracılığıyla kökler tarafından alınır. Alınan bu elementlerin kuraklık şartları nedeniyle difüzyon ve kütle yoluyla taşınmasını önleyerek bitki büyümesinin yavaşlamasına sebep olmaktadır (Khatun et al. 2021).

Chen et al. (2020) yaptıkları çalışmada, *Dendrobium catenatum*'da *SET* gen ailesinin genom çapında tanımlanması ve ekspresyon profillemesi yapılmıştır. *D. catenatum*'da 44 *SDG* proteini ve *P. equestris*'te 42 *SDG* proteini belirlenmiştir. *DcSDG* genlerinin kuraklık stresine verdiği tepkileri tespit etmek için, farklı kuraklık uygulamaları altındaki yapraklardan elde edilen RNA-seq verileri analiz edilerek

*DcSDG*'lerin ekspresyon profilleri değerlendirildiği rapor edilmiştir. Bir haftalık kuraklık stresinin *DcCLF*, *DcSUVR3*, *DcASHR3* ve *DcSUVR14c* genlerinin ekspresyonunu önemli ölçüde baskıladığını ancak hem şafak hem de alacakaranlıkta örnekleme yapıldığında *DcATXR4*, *DcATXR5b* ve *DcSDG49* genlerinin ekspresyonunu artırdığı rapor edilmiştir. Sulama işlemi yapıldığında ise *DcASHR3*, *DcSUVR3*, *DcATXR5b*, *DcATXR4* ve *DcSDG49* genlerinin ekspresyon düzeyleri yeniden kontrol koşullarındaki seviyelere döndüğü bildirilmiştir.

Suppiyar et al. (2024) yaptığı çalışmada *S. tuberosum* L (patateste) *SET domain* içeren gen ailesinin genom çapında tanımlanması ve ifade analizi yapılmıştır. Patates genomunda 57 *SET domain* geni belirlenmiştir. Laura (kuraklığa duyarlı ve sıcaklığa dayanıklı), Karlana (kuraklığa dayanıklı) ve Kolibri (kuraklığa dayanıklı) olmak üzere üç farklı patates türünde, kuraklık ve ısı stresinin altında *StSET13*, *StSET30*, *StSET48* ve *StSET52* genlerinin ifade seviyeleri araştırıldığı rapor edilmiştir. Kontrol koşullarına kıyasla, aşırı kuraklık stresi altında (stresten 18 gün sonra) tüm *StSET* genlerinin nispi ekspresyonu azaldığı bildirilmiştir. Kuraklığa toleranslı çeşitlerde bazı genlerin (*StSET13*, *StSET52*) göreceli ifadesi artmış, bazıları ise (*StSET30* ve *StSET48*) kontrol koşullarına benzer seviyelerde kaldığı belirtilmiştir. Stres ortadan kalktıktan sonra, tüm çeşitlerde dört genin de göreceli ifadesini kontrol koşullarındakiyle karşılaştırılabilir düzeyde olduğu rapor edilmiştir.

Li et al. (2021) yaptığı çalışmada, *Malus domestica*'da (elma) bulunan *SET domain* gen ailesinin ifade profilleri ayrıca meyve gelişimi, tomurcuk dormansisinin kırılması ve abiyotik ve biyotik strese verilen tepkilerdeki rolleri araştırılmıştır. *M. domestica* bitkisinde 67 SDG geni tanımlanmış ve bu genler filogenetik olarak altı farklı gruba ayrılmıştır. *MdSDG* genlerinin soğuk, sıcak ve kuraklık stresleri altında ifade profilleri araştırılmıştır. Sınıf I'de bulunan *MD00G1179500* ve *MD03G1294100* ile Sınıf II'ye ait *MD15G1133700* genlerinin, özellikle kuraklık stresi olmak üzere, soğuk ve sıcak stres uygulamaları altında belirgin şekilde baskılandığı bildirilmiştir. Sınıf V'de bulunan genlerin birçoğunun özellikle *MD14G1101300*, *MD00G1068300* ve *MD12G1112200* genlerinin ifade seviyelerinin kuraklık stresi altında belirgin şekilde arttığı rapor edilmiştir.

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. *P. vulgaris*, *H. vulgare*, *G. max* ve *A. thaliana* Genomlarındaki *SET Domain* Genlerinin Tespit edilmesi

*P. vulgaris*, *H. vulgare*, *G. max* ve *A. thaliana* genomlarında bulunan *SET domaini* gen ailesi üyelerinin protein dizilerinin elde edilmesi için gerekli olan Pfam Erişim Numarası (PF00856) (<http://pfam.xfam.org/family/PF00856>) Pfam veri tabanından (Mistry et al. 2021) alınmıştır. Pfam erişim numaraları ile Phytozome v13 (Goodstein et al. 2012) veri tabanından *SET domaini* protein dizileri ile elde edilmiştir. Bu üç bitkinin genomunda bulunan bütün olası *SET domaini* proteinlerini belirlemek için hem Phytozome veri tabanının v13'teki BLASTP hem de gizli Markov model (HMM) (<http://www.ebi.ac.uk>) taraması ile üç bitkinin kendi genomlarında tespit edilmiştir.

InterProScan (<http://www.ebi.ac.uk/interpro>) veritabanı kullanılarak protein verilerinin içerdiği domainler tespit edilmiştir. Fasulyede bulunmakta olan *SET domain* proteinlerinin aminoasit sayısı, instabilite indeksi, stabilizasyon durumu, teorik izoelektrik noktası (pI) ve moleküler ağırlığı “ProtParam aracı” (<https://web.expasy.org/protparam/>) kullanılarak saptanmıştır.

### 2.2. Fasulyede Bulunan *SET Domain* Genlerinin Yapısı, Kromozom Lokasyonu, Gen Duplikasyonları ve Korunmuş Motiflerin Belirlenmesi

*Phvul-SET* genlerinin kodlanan ve kodlanmayan bölgeleriyle ilgili bilgi edinmek için, Gene Structure Display Server v2.0 veri tabanından faydalanılmıştır (<http://gsds.gao-lab.org/>) (Hu et al. 2015). Kodlanan DNA dizileri (CDS) ve genom dizileri ile *Phvul-SET* genlerinin yer aldığı konumlar Phytozome v13 veritabanından elde edilmiştir. Phytozome veri tabanı v13 aracılığıyla, *Phvul-SET* genlerinin kromozomal lokasyonları ve boyutları tespit edilmiştir (<https://phytozomenext.jgi.doe.gov/>). *Phvul-SET* genlerinin konumları fasulyenin kromozomlarında işaretlenip MapChart programıyla resimlendirilmiştir (Voorrips, 2002).

*P. vulgaris*, *A. thaliana* ve *H. vulgare* arasındaki gen duplikasyon olayları (The Multiple Collinearity Scan Toolkit) (Wang et al. 2012) programı kullanılarak belirlenmiştir. *Phvul-SET* genlerinin ikili çiftleri arasındaki Non-sinonim oranları (Ka),

sinonim oranları (Ks) ve evrimsel zorlamalar (Ka/Ks) PAL2NAL (Suyama et al. 2006) tarayıcısı aracılığıyla PAML ara yüzünde (Yang 2007) hesaplanmıştır. *Phvul-SET* amino asit dizilerinin ek olarak korunmuş motiflerini saptamak için, “Multiple EM for Motif Elicitation (MEME)” (<https://memesuite.org/meme/index.html>) aracından faydalanılmıştır (Bailey et al. 2006). Motiflerin genişlik aralığı en az 2 ve en fazla 50 ve motiflerin maksimum sayısı ise 10 olarak belirlenmiştir. Motif bölgeleri ise 6 ila 300 aralığındadır. Saptanan motifler InterPro veri tabanının varsayılan ayarları kullanarak taranmıştır (Quevillon et al. 2005).

### 2.3. Filogenetik Analizler ve Dizi Hizalama

Filogenetik analizler, 1000 tekrarlı bootstrap değeri ile Komşu katılım (Neighbor-joining; NJ) modeline göre yapılmıştır. *P. vulgaris*, *H. vulgare*, *G. max* ve *A. thaliana* türlerine ait *SET domain* protein dizileri MEGA v12 programı ile ClustalW ara yüzü kullanılarak hizalanmış ve filogenetik ağaç çizilmiştir (Kumar et al. 2024; Thompson et al. 1997). Filogenetik ağaç, Interactive Tree Of Life (iTOL) (<https://itol.embl.de/>) tarayıcısı aracılığıyla çizilmiştir (Letunic and Bork 2024).

### 2.4. Fasulye ve Diğer Türler Arasında Karşılaştırmalı Haritalama (Sinteni Analizi)

*P. vulgaris*, *H. vulgare*, *G. max* ve *A. thaliana*’daki *SET* genlerinin sinteni haritası TBtools programı ile kullanılarak çizilmiştir (Chen et al. 2023).

### 2.5. Fasulye SET Gen Ailesinin Hücre İçi Lokalizasyonu ve Promotör Analizleri

Cis-acting element analizi, PlantCARE veri tabanı kullanılarak fasulye *SET* gen ailesi üyelerinin her birinin yaklaşık 2 kb DNA fragmanını içeren 5’ üst akış bölgesinde yapılmıştır (Lescot et al. 2002). Fenogram TBTools aracı kullanılarak çizilmiştir (Chen et al. 2023). WoLF PSORT veri tabanı, fasulye *SET* gen ailesi üyelerinin hücre içi lokalizasyonlarını tahmin etmek için kullanılmıştır (Horton et al. 2007).

### 2.6. Fasulyede Bulunan SET Domain Proteinlerinin Homoloji Modellemesi

Phyre<sup>2</sup> veri tabanı aracılığıyla *SET* proteinlerinin dizileri kullanılarak proteinlerin 3 boyutlu yapıları elde edilmiştir (Powell et al. 2025). Protein modellerinin güvenilirlik oranları karşılaştırılarak proteinlerin en iyi 3D görüntüsü belirlenmiştir.

Proteinlerin içeriğinde bulunan alfa heliks, beta sarmal, TM heliks (transmembran heliks) oranları tespit edilmiştir.

## 2.7. *P. vulgaris*'deki SET Protein- Protein Etkileşimleri

Protein-protein etkileşimleri fiziksel ve fonksiyonel ilişkilerini belirlemek için STRING (<https://string-db.org/>) veri tabanı kullanılmıştır. Tüm protein-protein etkileşimlerini için alınan veriler sınıflandırılıp ve güvenilir bir puan ile birleştirilmiştir.

## 2.8. İn Siliko Gen İfade Analizi

NCBI veri tabanındaki Sequence Read Archive (SRA) veri kütüphanesinden elde edilen RNA-seq verileri sayesinde fasulye *SET domain* genlerinin ifade profillerinin incelenmesi yapılmıştır. RNA-seq verilerini bulmak amacıyla tuz (Hiz et al. 2014) ve kuraklık (Gregorio Jorge et al. 2020) stresi erişim (Accession) numaraları saptanmıştır. SRR8284481 (kuraklık stresine maruz bırakılmış yaprak), SRR958469 (yaprak tuz kontrol), SRR957668 (tuz stresine maruz bırakılmış yaprak), ve SRR8284480 (yaprak kuraklık kontrol) erişim numaraları ile analizlerin yapımı sağlanmıştır. Gen ifade değerlerini normalleştirmek için RPKM (Reads per Kilobase Million: Transcript per kilobase, transkript ifadesinin normalleştirilmiş hali) değerlerinin log2 dönüşümü sağlanarak hesaplanmıştır. Fasulye bitkilerinin olgun yeşil bakla, genç bakla, gövde, kök, nodül, yaprak, çiçek ve çiçek tomurcuğu vb. gelişim aşamalarına karşılık gelen ifade verileri Phytozome v13 veri tabanından FPKM şeklinde elde edilmiştir. RPKM ve FPKM verileri kullanılarak TBTools programı aracılığıyla heatmap çizimi yapılmıştır.

## 2.9. Bitkilerin Yetiştirilmesi, Büyüme Şartları ve Stres Uygulamalarının Yapılması

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünden, bitki materyali olarak çalışmada kullanılacak olan Serra ve Elkoca 05 ticari fasulye çeşitleri temin edilmiştir. Genotiplere ait olan tohumlar 5 dakika süreyle %1'lik NaOCl içeren çözeltide yüzey sterilize edilmiştir. Tohumlar ön çimlendirme işlemi için perlit içeren saksılara her birine 100 adet olacak şekilde ekimi yapılarak saf su ile sulanmıştır. Çimlenmiş tohumlar arasından benzer büyüklükteki fideler seçilerek, 200 mL modifiye edilmiş 1/10 Hoagland çözeltisi içeren saksılarda hidroponik koşullarda yetiştirilmiştir. Hoagland çözeltisi;  $10^{-6}$  M Mn, 2mM Ca,  $2 \cdot 10^{-7}$  M Cu, 4mM

NO<sub>3</sub>, 1mM Mg, 10<sup>-8</sup> M NH<sub>4</sub>, 2mM K, 10<sup>-6</sup> M Zn, 10<sup>-4</sup> M Fe, 0,2 mM P ve 10<sup>-6</sup> M B final konsantrasyonları olacak biçimde makro besin elementleri (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O ve KCl) ve mikro besin elementleri (MnSO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>Mo, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) içermektedir (Hoagland and Arnon 1950). Fasulye fideleri %70 nem içeren, 25°C sıcaklıkta 250 mmol 16/8 saat ışık taksimli fotoperiyotta bitki büyütme odasında kontrollü şartlarda ilk üç yapraklı döneme kadar bekletilmiştir. Üç yapraklı döneme ulaşan fidelere, tuz ve kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. Hoagland çözeltisi (0 (kontrol) ve 150 mM NaCl içeren) uygulanmıştır. Tuz stresinin iyon etkisini değerlendirilmesi amacıyla uygulamanın 9. gününde fasulye genotiplerinden yaprak eksplantı alınmıştır. Kuraklık stresini uygulaması için, benzer şartlarda yetiştirilen fasulye genotipleri %20 PEG6000 ve 0 (kontrol) içeren Hoagland çözeltisinde 24 saat boyunca bekletilmiştir (Buttanri et al. 2025). İşlem sonucunda fasulye genotiplerinden elde edilen yaprak eksplantı sıvı azot içerisine alınarak çalışma başlatılıncaya kadar -80°C’de saklanılmıştır. Çalışma esnasında kullanılacak olan fasulye genotipleri 3 biyolojik tekrar olacak şekilde ekilmiştir ve RT-qPCR analizlerinde ise 3 tekrar yapılmıştır.

## 2.10. RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Kuraklık ve tuz stres faktörlerinin maruz bırakılmış olan fasulye bitkisinin yaprak eksplantları ve TRIzol® reagent (Invitrogen Life Technologies) kullanılarak, RNA izolasyonu aşağıda verilmiş olan protokole uyarak gerçekleştirilmiştir.

Fasulye bitkisinden elde edilen yaprak dokuları havanda öğütülmüştür ve elde edilen örnekler 50 – 100 mg doku gelecek şekilde mikrosantrifüj tüplerine tartılıp alınmıştır. Denatürasyon solüsyonundan mikrosantrifüj tüplerine 0,5 mL bırakılmıştır. Homojenize olan örnekler oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. 1 ml Trizol için 0,2 ml kloroform eklenmiştir. 15 sn hızlı bir şekilde çalkalanmış ve oda sıcaklığında 2-3 dakika bekletilmiştir. 15.000 rpm’de 4°C’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra mikrosantrifüj tüplerinde oluşan en üstteki faz, steril bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Mikro santrifüj tüpüne yeni fazdaki RNA’yı çöktürmek amacıyla 0,5 mL izopropanol eklenmiştir. 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. 15.000 rpm’de 4°C’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Örnekteki süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır ve RNA’nın bulunduğu pellet kısmına 1 mL %75 EtOH eklenmiş ve 5-10 saniye yavaş bir şekilde vorteks yapılarak EtOH eklenmiştir. 1000 rpm’de 4°C’de

5 dakika santrifüj edilmiştir. Tüplerdeki süpernatant kısmındaki EtOH uzaklaştırılmıştır ve örnekler 10 dakika kurutmaya bırakılmıştır. Tüplerde kalan RNA pelleti 30 µl DEPC'li su ile çözündürülmüştür. Elde edilen solüsyon, 55-60°C'de su banyosunda 10 dakika inkübe edilmiştir. RNA örnekleri -80°C'de saklanmıştır. RNA konsantrasyonu, nanodrop spektrofotometrede  $A_{260/280}$  dalga boylarında absorbans değerleri ile belirlenmiştir.

Ölçümleri yapılan toplam RNA'lar eşitlenerek Thermo RevertAid First Strand cDNA sentez kitinin (#K1622) talimatları doğrultusunda yapılmıştır.

- 1- cDNA sentez karışımının hazırlanması aşağıdaki Tablo 2.1.'e göre yapılmıştır.
- 2- Kit içeriğinde yer alan reaktifler, belirtilen sıraya uygun şekilde buz üzerinde, steril ve nükleaz bulundurmeyen bir tüpe eklenmiştir.
- 3- 5 dakika 65 °C'de inkübe edilip, buz üzerinde soğuması için bırakılmıştır.
- 4- Yavaş bir şekilde karıştırılarak kısa süre santrifüjlenmiştir.
- 5- PCR cihazında 42°C'de 60 dakika inkübasyon işlemi yapılmıştır.
- 6- Sentez işlemi, 70°C'de 5 dakika bekletilerek sonlandırılmıştır.
- 7- -20°C'de muhafaza edilmiştir.

**Tablo 2.1.** cDNA sentez karışımı

|                                                     |       |
|-----------------------------------------------------|-------|
| Toplam RNA (0,5 µg/µl)                              | ---   |
| RevertAid M-MULYRT Reverse Transcriptase (200 u/µl) | 1 µl  |
| RiboLock RNase Inhibitor (20 u/µl)                  | 1 µl  |
| 5X Reaction Buffer                                  | 4 µl  |
| 10mM dNTP Mix                                       | 2 µl  |
| Oligo(dT) <sub>18</sub> Primer                      | 1 µl  |
| Nükleaz free su                                     | ----  |
| Toplam                                              | 20 µl |

## 2.11. Kantitatif Real Time PCR (RT-qPCR) Analizleri

Fasulye *SET domain* gen ailesi üyelerine ait spesifik primerler tasarlanarak RT-qPCR denemeleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan primerler hakkında bilgi Tablo 2.4'de verilmiştir. RT-qPCR analizlerinde optimum amplifikasyon şartlarını sağlamak amacıyla, deney koşullarına bağlı olarak bağlanma sıcaklıkları ve döngü sayıları ayarlanmıştır. RT-qPCR cihazında transkriptin seviyesini karşılaştırmak

amacıyla fasulye *β-actin* geninden primer hazırlanmıştır. RT-qPCR deneyi, Thermo firmasının 2X'lik Fast SYBR® Green Master Mix kullanarak üreticinin talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir. Tüm real-time PCR örnekleri 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. RT-qPCR analizinde, 1:20 oranında seyreltilmiş cDNA'lar kalıp olarak kullanılmıştır. RT-qPCR reaksiyon bileşenleri Tablo 2.2'de reaksiyon sıcaklık döngüleri ise Tablo 2.3'de belirtilmiştir.

**Tablo 2.2.** Real-Time PCR reaksiyon bileşenleri

| PCR bileşeni            | Miktarı |
|-------------------------|---------|
| Total Mix               | 12.5 µl |
| Forward primer (2.5 µM) | 1.2 µl  |
| Reverse primer (2.5 µM) | 1.2 µl  |
| Ultra Saf Su            | 8.1 µl  |
| cDNA [1:20]             | 2.0 µl  |
| Son Hacim               | 25 µl   |

**Tablo 2.3.** Real-Time PCR koşulları

|                 |          |       |             |
|-----------------|----------|-------|-------------|
| Ön Denatürasyon | 95 °C    | 10 dk | 40<br>Döngü |
| Denatürasyon    | 94 °C    | 15 sn |             |
| Bağlanma        | 54-63 °C | 30 sn |             |
| Uzama           | 72 °C    | 30 sn |             |

**Tablo 2.4.** Çalışmada kullanılan primerler hakkında bilgi

| Gen Adı      | İleri Primer             | Geri Primer             | Tm | Ürün Büyüklüğü |
|--------------|--------------------------|-------------------------|----|----------------|
| Phvul_SET_1  | ACTTCTCGATTTCATTTCCCGG   | AAGTAGCAGGCACTCTTGTC    | 62 | 134            |
| Phvul_SET_2  | AGGCTCTGGGACATGAAATAC    | CAAAACACAGTTGGGATCGC    | 62 | 138            |
| Phvul_SET_5  | GTGATGATTGATGCAACGGATAAG | CCTCACCCTCAAGCACATAA    | 62 | 100            |
| Phvul_SET_6  | TGAAGGGAGTAGAAGTGTTGG    | CAATTGAAAGTGGCATGGATCG  | 62 | 144            |
| Phvul_SET_10 | GTCGATTGTGTCCATGCTTTG    | GCTCCCCTAATGAACCATCG    | 62 | 96             |
| Phvul_SET_13 | TTGAAGAGGTTGAAGGTTAGGG   | CATGGCCCTTCTGACCTATAA   | 62 | 96             |
| Phvul_SET_30 | CGACAGTGGAAGTGAAGTATTT   | ATCTGGCTCGGTAAATCCATATC | 62 | 121            |
| Phvul_SET_34 | GACTAGCTTCTGACCTGGAATC   | TCTAACACCCCAACCTTTCAG   | 62 | 149            |
| Phvul_SET_36 | TCGAAGAGGAAACGGAAACTG    | TTCCAGGCATGTAAGTGAGC    | 62 | 139            |
| Phvul_SET_45 | AGGCTCTGGGACATGAAATAC    | CAAAACACAGTTGGGATCGC    | 62 | 138            |

## 2.12. Verilerin Değerlendirilmesi

Kuraklık stresine maruz bırakılmış bitkilerde *SET domain* genlerine ait ifade profilleri ve kontrol profilleri *Phvul-Actin* ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilerin

istatistiksel olarak  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  (Livak and Schmittgen 2001) metoduna göre ve One Way ANOVA ile analiz edilmiştir (Dunnett 1955). Normalizasyon işlemi ct değerleri ve housekeeping olarak kullanılan *Phvul- $\beta$ -Actin* (XM\_068616709.1) ileri primeri (5' TGAGCAAGGAGATTACAGCATTGG-3') ve geri primeri ile (5' CATACTCTGCCTTCGCAATCCAC-3') geni ifade verileri ile yapılmıştır. Bu verilere ait istatistiksel analizler Graphpad Prizm 9 ile yapılmıştır.



### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

#### 3.1. Fasulye Genomunda Tanımlanan *SET Domain* Genlerinin Tanımlanması ve Karakterize Edilmesi

*P. vulgaris*'de bulunan *SET domain* genleri, Phytozome v13 tarayıcısı ve Pfam veritabanından alınan Pfam numarası (PF00856) kullanılarak tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, fasulye genomunda 49 adet *SET domain* geni olduğu saptanmıştır. Yapılan literatür taramalarında farklı bitkilerde bulunan *SET domain* gen ailesi üyelerinin tanımlanması yapılmıştır. *S. tuberosum* (Suppiyar et al. 2024)'de 57 adet, *Populus trichocarpa* (Lei et al. 2012)'de 59 adet, *Dendrobium catenatum* (Chen et al. 2020) 44 adet, *B. napus* (Sehrish et al. 2022)'de 122 adet ve *Z. mays* (Qian et al. 2014)'de 43 adet *SET domain* gen ailesi üyesi olduğu rapor edilmiştir.

Kromozom numaraları, amino asit uzunluğu, moleküler ağırlıkları, izoelektrik noktaları, kararsızlık indeksleri ve stabilite durumları Tablo 3.1.'de verilmiştir. Elde edilen verilere göre *SET* proteinlerinin moleküler ağırlıklarının 97,91 kDa ila 111,31 kDa arasında olduğu, izoelektrik noktalarının 10,11 ila 4,48 arasında, 126 ila 2393 adet aminoasit uzunluğu arasında değiştiği tespit edilmiştir. *S. tuberosum*'de protein uzunlukları 112 ila 2421 amino asit, moleküler ağırlıkları 87,7 ve 78,2 kDa, izoelektrik noktalarının ise 4,51 ila 9,47 arasında olduğu rapor edilmiştir (Suppiyar et al. 2024). Yapılan çalışmalar sonucunda, tanımlanan *SET* genlerinden *Phvul-SET-15*, *Phvul-SET-26*, *Phvul-SET-27*, *Phvul-SET-33* ve *Phvul-SET-34* genleri hariç diğer genlerin kararsız yapıda olduğu ve kararsızlık indeksinin ise 31,73 ila 62,64 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen veriler sonucunda 49 *SET* geninin sadece 4 tane geninde stabil olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.1). Yapılan literatür taramalarına göre *S. tuberosum* (patates) ve *O. sativa* (çeltik) üzerinde yapılan genom çaplı analizlerde, çeltikte bulunan 43 *OsSET* geninin 3 tanesinin, patatesten bulunan 57 *SET* geninin ise sadece 9 tanesinin stabil olduğu rapor edilmiştir (Lu et al. 2013; Suppiyar et al. 2024).

**Tablo 3.1. Phvul-SET proteinlerinin hakkında bilgi**

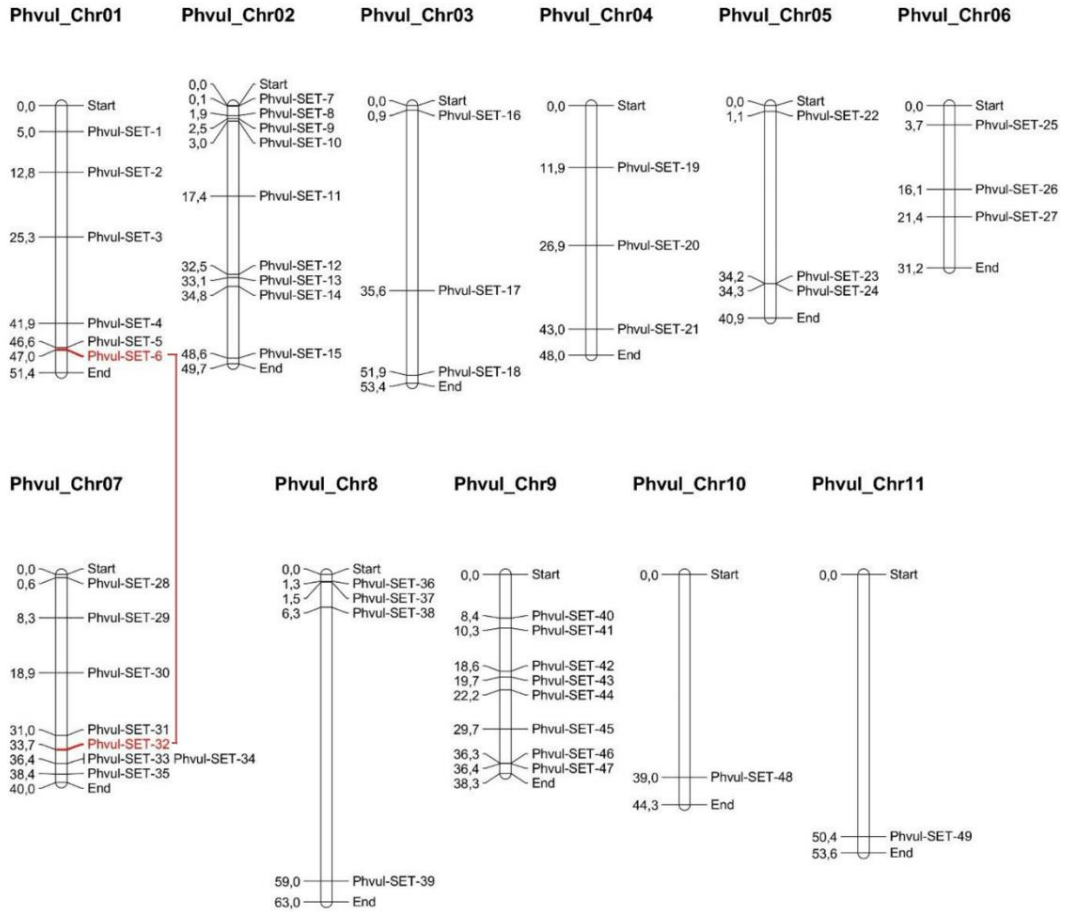
| Gen adı      | Phytozome adı      | Kromozom numarası | Kromozom lokasyonu | AA uzunluğu | Molekül Ağırlığı (kDa) | PI        | Kararsızlık İndeksi | Stabilite Durumu |              |
|--------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------|------------------------|-----------|---------------------|------------------|--------------|
| Phvul-SET-1  | Phvul.001G047700.4 | Chr01             | 5001309            | 5019579     | geri 2001              | 221390,68 | 8,67                | 48,63            | stabil değil |
| Phvul-SET-2  | Phvul.001G083533.1 | Chr01             | 12753040           | 12774710    | ileri 460              | 52108,05  | 8,65                | 44,29            | stabil değil |
| Phvul-SET-3  | Phvul.001G103400.1 | Chr01             | 25260575           | 25263547    | geri 711               | 77433,55  | 8,15                | 47,88            | stabil değil |
| Phvul-SET-4  | Phvul.001G164300.1 | Chr01             | 41862164           | 41867853    | geri 734               | 81643,19  | 5,4                 | 56,69            | stabil değil |
| Phvul-SET-5  | Phvul.001G208500.1 | Chr01             | 46551310           | 46559977    | ileri 989              | 111315,03 | 8,54                | 42,08            | stabil değil |
| Phvul-SET-6  | Phvul.001G213300.2 | Chr01             | 46954423           | 46962859    | geri 705               | 80057,74  | 7,98                | 45,86            | stabil değil |
| Phvul-SET-7  | Phvul.002G001600.1 | Chr02             | 122360             | 127196      | ileri 1158             | 127916,29 | 5,81                | 40,48            | stabil değil |
| Phvul-SET-8  | Phvul.002G017200.1 | Chr02             | 1855720            | 1865842     | ileri 861              | 96359,57  | 8,73                | 53,68            | stabil değil |
| Phvul-SET-9  | Phvul.002G024600.1 | Chr02             | 2533558            | 2548041     | ileri 1496             | 169086,73 | 6,37                | 43,29            | stabil değil |
| Phvul-SET-10 | Phvul.002G029000.1 | Chr02             | 2973301            | 2985859     | ileri 790              | 89491,87  | 8,32                | 41,66            | stabil değil |
| Phvul-SET-11 | Phvul.002G094200.1 | Chr02             | 17397171           | 17400352    | ileri 713              | 78581,10  | 8,5                 | 42,84            | stabil değil |
| Phvul-SET-12 | Phvul.002G169400.1 | Chr02             | 32537281           | 32541960    | geri 489               | 54878,88  | 5,26                | 45,09            | stabil değil |
| Phvul-SET-13 | Phvul.002G170100.1 | Chr02             | 33093247           | 33095160    | geri 522               | 58639,75  | 7,98                | 41,43            | stabil değil |
| Phvul-SET-14 | Phvul.002G185500.1 | Chr02             | 34767132           | 34771111    | geri 415               | 46087,56  | 4,48                | 54,78            | stabil değil |
| Phvul-SET-15 | Phvul.002G320700.1 | Chr02             | 48634353           | 48637419    | geri 465               | 51612,63  | 5,98                | 36,29            | stabil       |
| Phvul-SET-16 | Phvul.003G007700.3 | Chr03             | 860867             | 868020      | geri 704               | 78098,39  | 5,8                 | 42,25            | stabil değil |
| Phvul-SET-17 | Phvul.003G146300.2 | Chr03             | 35570631           | 35578443    | geri 589               | 67067,92  | 4,98                | 47,63            | stabil değil |
| Phvul-SET-18 | Phvul.003G282200.2 | Chr03             | 51934427           | 51939301    | ileri 675              | 75266,47  | 5,94                | 45,08            | stabil değil |
| Phvul-SET-19 | Phvul.004G072625.1 | Chr04             | 11859475           | 11869885    | geri 340               | 37089,56  | 8,49                | 62,64            | stabil değil |
| Phvul-SET-20 | Phvul.004G094200.2 | Chr04             | 26891144           | 26895294    | geri 628               | 69445,02  | 5,84                | 45,18            | stabil değil |
| Phvul-SET-21 | Phvul.004G131700.1 | Chr04             | 42966946           | 42973113    | ileri 346              | 39790,71  | 8,85                | 44,62            | stabil değil |
| Phvul-SET-22 | Phvul.005G012600.1 | Chr05             | 1074134            | 1077736     | geri 664               | 73775,99  | 8,8                 | 44,38            | stabil değil |
| Phvul-SET-23 | Phvul.005G112000.1 | Chr05             | 34171602           | 34186980    | ileri 2393             | 273785,42 | 6,25                | 56,08            | stabil değil |
| Phvul-SET-24 | Phvul.005G113700.1 | Chr05             | 34348634           | 34354632    | ileri 484              | 54197,67  | 4,95                | 56,68            | stabil değil |

Tablo 3.1. (devamı)

| Gen adı      | Phytozome adı      | Kromozom numarası | Kromozom lokasyonu | AA uzunluğu | Molekül Ağırlığı (kDa) | PI   | Kararsızlık İndeksi | Stabilite Durumu |       |              |
|--------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------|------------------------|------|---------------------|------------------|-------|--------------|
| Phvul-SET-25 | Phvul.006G005700.1 | Chr06             | 3719705            | 3726056     | geri                   | 492  | 55803,01            | 8,84             | 47,14 | stabil değil |
| Phvul-SET-26 | Phvul.006G054800.1 | Chr06             | 16106818           | 16107504    | ileri                  | 126  | 14294,68            | 10,11            | 36,18 | stabil       |
| Phvul-SET-27 | Phvul.006G104500.1 | Chr06             | 21384847           | 21391420    | ileri                  | 645  | 72577,29            | 6,26             | 34,28 | stabil       |
| Phvul-SET-28 | Phvul.007G007800.1 | Chr07             | 556991             | 563486      | geri                   | 456  | 51616,39            | 6,29             | 48,23 | stabil değil |
| Phvul-SET-29 | Phvul.007G082400.1 | Chr07             | 8273658            | 8281590     | ileri                  | 481  | 54354,06            | 5,25             | 53,30 | stabil değil |
| Phvul-SET-30 | Phvul.007G114400.2 | Chr07             | 18887214           | 18890255    | geri                   | 514  | 57755,32            | 4,86             | 49,84 | stabil değil |
| Phvul-SET-31 | Phvul.007G189700.1 | Chr07             | 30965029           | 30973668    | ileri                  | 824  | 91869,46            | 5,49             | 50,72 | stabil değil |
| Phvul-SET-32 | Phvul.007G213900.2 | Chr07             | 33653293           | 33664344    | ileri                  | 878  | 97901,88            | 6,66             | 50,24 | stabil değil |
| Phvul-SET-33 | Phvul.007G240800.1 | Chr07             | 36425433           | 36428684    | geri                   | 521  | 59120,79            | 9,03             | 32,43 | stabil       |
| Phvul-SET-34 | Phvul.007G240900.1 | Chr07             | 36429428           | 36431761    | ileri                  | 536  | 60808,47            | 9,25             | 31,73 | stabil       |
| Phvul-SET-35 | Phvul.007G262400.1 | Chr07             | 38432083           | 38437914    | geri                   | 310  | 34849,91            | 6,06             | 51,13 | stabil değil |
| Phvul-SET-36 | Phvul.008G015700.1 | Chr08             | 1294504            | 1296926     | geri                   | 334  | 37625,12            | 8,84             | 51,77 | stabil değil |
| Phvul-SET-37 | Phvul.008G018500.1 | Chr08             | 1524257            | 1536772     | ileri                  | 1092 | 122693,50           | 7,72             | 41,77 | stabil değil |
| Phvul-SET-38 | Phvul.008G069900.2 | Chr08             | 6331337            | 6341253     | ileri                  | 563  | 64112,88            | 4,7              | 40,90 | stabil değil |
| Phvul-SET-39 | Phvul.008G241400.1 | Chr08             | 58998519           | 59002323    | geri                   | 497  | 56706,65            | 5,76             | 47,32 | stabil değil |
| Phvul-SET-40 | Phvul.009G040900.4 | Chr09             | 8420745            | 8439628     | ileri                  | 784  | 87427,14            | 5,94             | 44,08 | stabil değil |
| Phvul-SET-41 | Phvul.009G053400.1 | Chr09             | 10282975           | 10294509    | ileri                  | 1066 | 120971,33           | 8,86             | 41,22 | stabil değil |
| Phvul-SET-42 | Phvul.009G121500.1 | Chr09             | 18604138           | 18610730    | ileri                  | 485  | 54992,41            | 6,3              | 50,05 | stabil değil |
| Phvul-SET-43 | Phvul.009G130100.1 | Chr09             | 19695940           | 19711532    | ileri                  | 2017 | 220975,75           | 5,36             | 51,58 | stabil değil |
| Phvul-SET-44 | Phvul.009G148600.1 | Chr09             | 22204680           | 22208358    | ileri                  | 411  | 47015,80            | 8,49             | 52,20 | stabil değil |
| Phvul-SET-45 | Phvul.009G195400.2 | Chr09             | 29713800           | 29729603    | geri                   | 460  | 52018,92            | 8,5              | 44,94 | stabil değil |
| Phvul-SET-46 | Phvul.009G241600.1 | Chr09             | 36269650           | 36287579    | geri                   | 1212 | 134818,68           | 8,7              | 42,13 | stabil değil |
| Phvul-SET-47 | Phvul.009G243500.1 | Chr09             | 36434471           | 36443312    | geri                   | 484  | 55647,68            | 5,94             | 42,27 | stabil değil |
| Phvul-SET-48 | Phvul.010G113900.1 | Chr10             | 39004679           | 39013108    | geri                   | 985  | 111308,65           | 8,58             | 40,50 | stabil değil |
| Phvul-SET-49 | Phvul.011G190200.2 | Chr11             | 50384707           | 50390830    | geri                   | 670  | 74217,89            | 8,62             | 50,93 | stabil değil |

### 3.2. Phvul-SET Genlerinin Kromozomal Lokasyonu ve Gen Duplikasyonu

Tanımlanan *SET* genlerinin fasulye genomunda 11 kromozom üzerinde yer aldığı Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Çalışma sonucunda genlerin en yoğun olarak Phvul\_Ch02’de üzerinde konumlandığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda genlerin en fazla kromozom 2’de (Phvul\_Ch02) en az ise kromozom 10 (Phvul\_Ch10) ve kromozom 11 (Phvul\_Ch11)’de konumlandığı tespit edilmiştir. Literatürde yapılan benzer çalışmalarda, *S. tuberosum* ve *Cordyceps militaris* (tırıl mantarı) üzerinde gerçekleştirilen genom çaplı analizler, *SET domaini* içeren gen ailesinin patatest 3, tırıl mantarında ise 7 kromozomal bölgeye konumlandığını göstermektedir (Suppiyar et al. 2024; Lu et al. 2025).



Şekil 3.1. Phvul-SET genlerinin fasulye genomunda kromozomal dağılımları (Kırmızı renkte belirtilmiş olanlar segmental duplike genleri ifade etmektedir)

Gen duplikasyon olayları, gen ailelerinin büyümesinde ve genişlemesinde rol oynayan en önemli faktörlerden biridir. Gen duplikasyonları, kopyalanmış genlerin genomdaki dizilimlerine bağlı olarak farklı biçimlerde sınıflandırılmaktadır. Aynı genin kopyalarının farklı kromozomlar üzerinde bulunması segmental duplikasyon, aynı kromozom üzerinde ardışık şekilde bulunması ise tandem duplikasyon olarak ifade edilmektedir (Cannon et al. 2004). Yapılan analizler sonucunda, kromozomal lokasyonların dağılımı da dikkate alındığında, *Phvul-SET-6* ve *Phvul-SET-32* genleri arasında segmental duplikasyonun bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 3.1).

Farklı duplikasyon türlerinden elde edilen doğrulanmış gen çiftleri, Ka ve Ks oranlarının hesaplanmasında kullanılmaktadır (Aygören et al. 2019). *SET domain* gen ailesinde evrimsel yayılımını değerlendirmek amacıyla duplikasyon gösteren gen çiftleri için Ka (non-sinonim değişim oranı), Ks (sinonim değişim oranı) ve Ka/Ks oranı hesaplanmış ve Tablo 3.2’de veriler belirtilmiştir. *Phvul-SET-6* ve *Phvul-SET-32* segmental duplike genin, PAL2NAL tarayıcısı kullanılarak Ka, Ks ve Ka/Ks değerleri hesaplanmıştır.

**Tablo 3.2.** *Phvul-SET* gen duplikasyonları

| Gen-1              | Gen-2               | Ka    | Ks    | Ka/Ks | Seleksiyon baskısı | M.Y.Ö. | Duplikasyon türü |
|--------------------|---------------------|-------|-------|-------|--------------------|--------|------------------|
| <i>Phvul-SET-6</i> | <i>Phvul-SET-32</i> | 0,322 | 0,874 | 0,369 | Arındırıcı         | 66,615 | Segmental        |

Duplikasyon zamanının (milyon yıl önce, M.Y.Ö.) hesaplanmasında  $T = Ks / (2\lambda)$  formülü kullanılmıştır ( $\lambda = 6,56 \times 10^{-9}$ ). Ka/Ks oranının 1’den küçük olması arındırıcı seleksiyonu, 1’den büyük olması pozitif seleksiyonu, 1’e eşit olması ise nötr seleksiyonu işaret etmektedir (İlhan, 2018; Muslu et al. 2024). Elde edilen sonuçlar, *Phvul-SET-6* ve *Phvul-SET-32* genlerinin arındırıcı seleksiyon altında evrimleştiğini göstermektedir. Ayrıca, bu iki gen arasındaki duplikasyon olayının yaklaşık 66,615 MYÖ gerçekleştiği hesaplanmıştır. Önceki çalışmalar doğrultusunda, özellikle hekzaploid buğdayda yüksek *SDG* (*SET domaini grubu*) gen sayısının tespit edilmesinin, poliploid türlerde duplikasyon olaylarının *SDG* ailesinin genişlemesine önemli ölçüde katkı sağladığını göstermektedir (Batra et al. 2020). *Gossypium hirsutum* L. bitkisinde duplikasyon olayları sonucu oluşan *SDG* gen çiftlerinin tüm Ka/Ks oranlarının 1’den düşük olduğu bildirilmiştir (Jian et al. 2023). Segmental duplikasyonun *SDG* genlerinin evriminde belirleyici olduğu ve Ka/Ks analizlerinin

duplike genlerin pozitif seleksiyon altında bulunduğunu ortaya koyduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bu tür çoğaltma olaylarının genom genişlemesi ve işlevsel çeşitliliğin artışıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir (Schrish et al. 2022).

### 3.3. *Phvul-SET* Genlerinin Ekzon ve İntron Bölgeleri

İntron varlığı, genetik düzeyde hem post-transkripsiyonel hem de transkripsiyonel düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır. İntron sayısı ve uzunluğundaki farklılıklar, gen fonksiyonu, düzenlenme biçimi ve evrimsel uyum süreçleriyle doğrudan ilişkilidir. Özellikle daha fazla veya daha uzun intron içeren genlerin alternatif splayz kapasitesinin arttığı gösterilmiştir (Szakonyi and Duque 2018). Bu durum, bitkilerin stres koşullarına veya çevresel değişimlere karşı gen ifade düzenlerini hızlı bir şekilde optimize edebilmesine katkı sağlamaktadır (Liu et al. 2025). Çalışmamız sonucunda, *Phvul-SET domain* genlerinin ekzon sayısının 1-24, intron sayısı ise 0-23 arasında değiştiği belirlenmiştir. Özellikle *Phvul-SET-22*, *Phvul-SET-49*, *Phvul-SET-3*, *Phvul-SET-16*, *Phvul-SET-18* ve *Phvul-SET-11* genlerinde intron bulunmadığı tespit edilmiştir (Şekil 3.2). Genellikle ekzon sayısının fazla olması, genin işlevsel ve yapısal çeşitliliğini arttırmaktadır (Weng et al. 2021). Çalışmamızda 24 ekzonla en fazla ekzon sayısına sahip gen *Phvul-SET-37* olduğu tespit edilmiştir. En az intron ve ekzon sayısına sahip olan genler ise *Phvul-SET-22*, *Phvul-SET-49*, *Phvul-SET-3*, *Phvul-SET-16*, *Phvul-SET-18*, *Phvul-SET-11*, *Phvul-SET-7*, *Phvul-SET-13* ve *Phvul-SET-14*'tür (Şekil 3.2).

İntron içermeyen genlerde gen ifade düzenleme veya alternatif splayz mekanizmaları sınırlı olduğundan, çevresel streslere karşı gen ifadesinin esnekliği azalmaktadır (Panahi et al. 2015). En fazla intron sayısına sahip gen, 23 intron içeren *Phvul-SET-37*'dir (Şekil 3.2). Bu durum, söz konusu gende alternatif splayz olasılığının daha yüksek olduğunu düşündürmektedir. Benzer şekilde, çeltikte yürütülen bir çalışmada toplam 34 *OsSET* geninin üçünde intron bulunmadığı; buna karşılık *OsSET33* geninin 25 ekzon ve 24 intron taşıdığı bildirilmiştir (Lu et al. 2013).

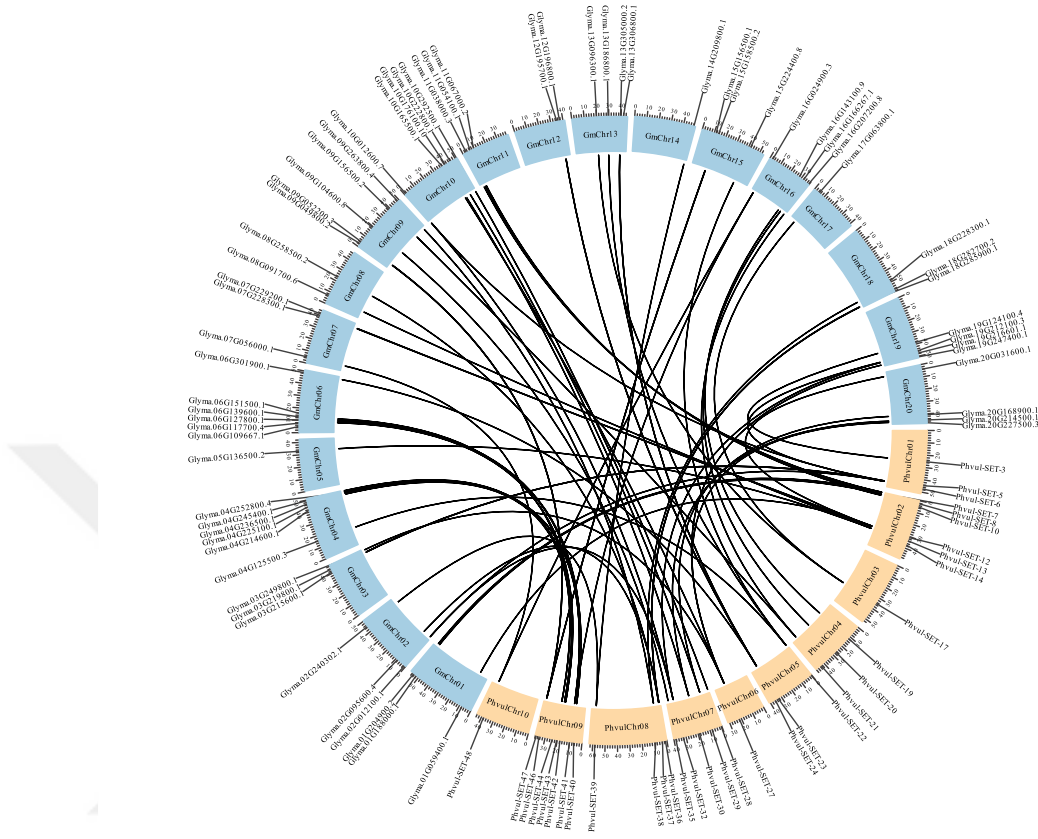


Şekil 3.2. *Phvul-SET* genlerinin ekzon ve intron bölgeleri

### 3.4. *Phvul-SET* Gen Ailesinin Karşılaştırmalı Haritalaması

Ortolog genler, farklı türlerde bulunmalarına rağmen ortak bir ata geninden türeyen ve çoğunlukla benzer işlevleri sürdüren gen dizileri olarak tanımlanmaktadır (Gabaldón and Koonin, 2013). Sinteni analizi ise türler arasındaki evrimsel ilişkileri ortaya koymak, gen duplikasyon olaylarını belirlemek ve gen ailelerinin kökeni ile işlevsel benzerliklerini değerlendirmek amacıyla uygulanmıştır (Liu et al. 2018). Bu çalışmada, *P. vulgaris*, *G. max*, *A. thaliana* ve *H. vulgare* türleri arasında sinteni analizi gerçekleştirilmiştir. *P. vulgaris* ile *G. max* ve *A. thaliana*'nın karşılaştırmalı genom

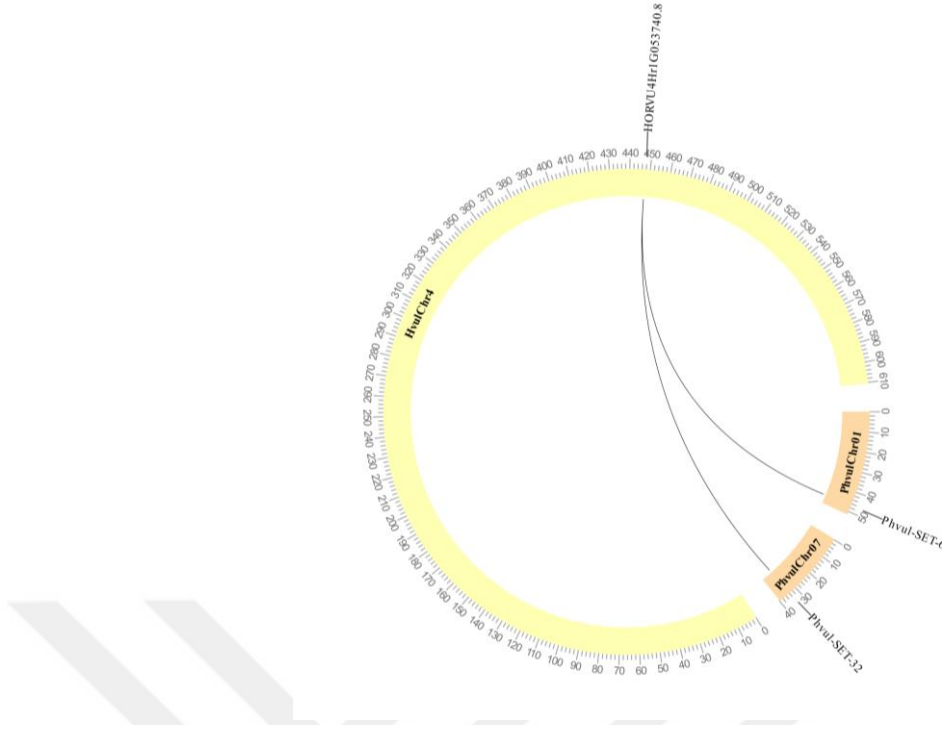
haritaları incelendiğinde, ilgili genler arasında ortolog ilişkilerin bulunduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.3. *P. vulgaris* ve *G. max*'ın karşılaştırmalı haritası

*P. vulgaris* ve *G. max* arasında gerçekleştirilen sinteni analizinde toplam 69 ortolog gen ilişkisinin bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 3.2). Ayrıca *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-12*, *Phvul-SET-22*, *Phvul-SET-23*, *Phvul-SET-32* ve *Phvul-SET-41* genlerinin üç farklı *G. max* geniyle, *Phvul-SET-27* geninin ise dört farklı *G. max* geniyle ortolog ilişki gösterdiği tespit edilmiştir.





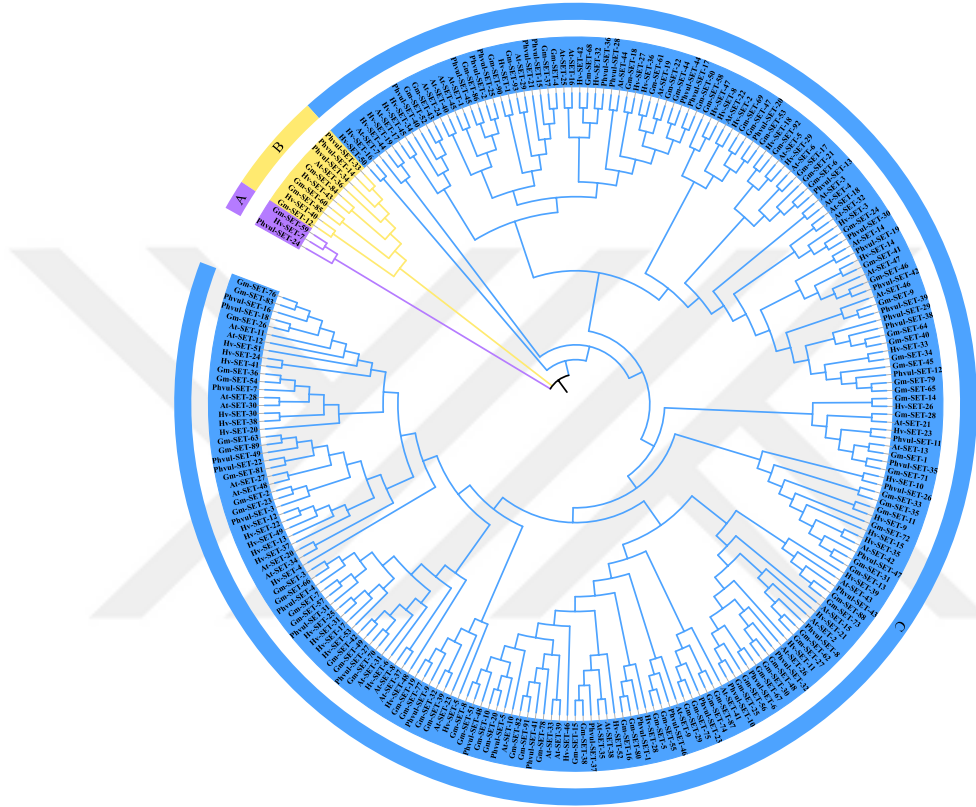
Şekil 3.5. *P. vulgaris* ve *H. vulgare* karşılaştırmalı haritası

Yapılan karşılaştırmalı analizler genel olarak incelendiğinde *P. vulgaris* ve *G. max* arasında yapılan analiz sonucunda ortolog genin daha fazla olduğu, *P. vulgaris* ve *H. vulgare* arasında yapılan analiz sonucunda ise ortolog genin daha az olduğu tespit edilmiştir. Sinteni analizi sonucunda fazla sayıda ortolog gen tespit edilmesinin temel nedeni, *P. vulgaris* ile *G. max*'ın yaklaşık 19 MYÖ ayrıldığından dolayı evrimsel olarak yakın türler olması ve *G. max* genomunun tam genom duplikasyonu geçirmiş olmasından kaynaklanmaktadır (McClellan et al. 2010). *H. vulgare* (monokot) ile *P. vulgaris* (dikot), ortak bir atadan yaklaşık 130–240 milyon yıl önce ayrılmış iki büyük angiosperm grubudur. Bu uzun evrimsel süreçte genom yapılarında belirgin farklılıklar oluşmuş; birçok gen tür-özgü hâle gelmiş ya da bir grupta korunurken diğerinde kaybolduğu bilinmektedir. Bu durum, monokot ve dikot karşılaştırmalarında ortolog gen sayısının azalmasına yol açmaktadır (Vincentz et al. 2004).

### 3.5. *Phvul-SET* Proteinlerinin Türler Arası Filogenetik Analizi

*P. vulgaris*, *G. max*, *H. vulgare* ve *A. thaliana* türlerine ait genom çaplı protein dizileri ilgili veri tabanlarından elde edilmiş ve yapılan analizler sonucunda dört türde toplam 243 *SET* proteini tanımlanmıştır. Bu proteinler filogenetik ilişkilere göre A, B ve C olmak üzere üç ana gruba ayrılmış olup C grubu en fazla *SET* genini içeren grup

olarak belirlenmiştir (Şekil 3.5). Literatürde, benzer şekilde *BnSDG* genlerinin filogenetik analiz sonucunda *A. thaliana* ve diğer türlerde kullanılan sınıflandırma sistemine paralel olarak yedi gruba ayrıldığı bildirilmiştir. Ayrıca bazı homolog genlerin *SET domaini* kesintiye uğramış Sınıf VI içerisinde yer aldığı ve bu filogenetik sınıflandırmanın gen ile protein/domain yapısı analizleriyle desteklendiği rapor edilmiştir (Dong et al. 2015; Sehrish et al. 2022).



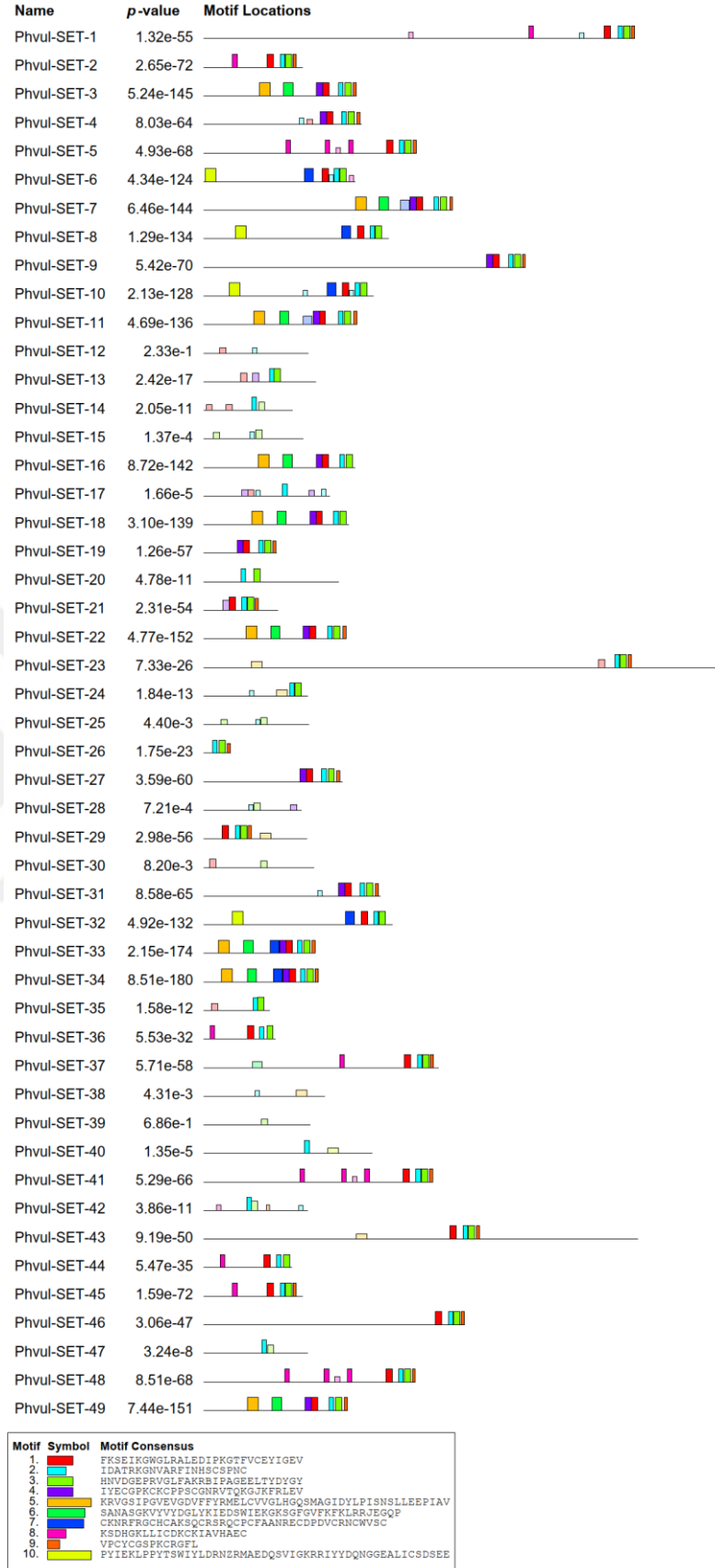
Şekil 3.6. *P. vulgaris*, *G. max*, *A. thaliana* ve *H. vulgare* bitkilerinde bulunan *SET domain* proteinlerinin filogenetik ağacı

Bu çalışmada, segmental duplikasyona sahip *Phvul-SET-6* ve *Phvul-SET-32* genlerinin filogenetik olarak C grubunda yer aldığı belirlenmiştir. Ayrıca B grubunda en fazla türün *G. max* tarafından, C grubunda ise *A. thaliana* tarafından temsil edildiği görülmüştür. Buna paralel olarak literatürde, mısır *SET domain* genlerinin *Arabidopsis* ve çeltikteki *SET* genlerinde olduğu gibi yedi sınıfa ayrıldığı bildirilmiştir. Ayrıca, mısır *SET* genlerinin *Arabidopsis*'tekilere göre çeltik *SET* genlerine daha yakın olduğu belirtilmiştir (Qian et al. 2014).

### 3.6. *Phvul-SET* Genlerinin Korunmuş Dizi Motifleri

MEME Suite protein, DNA ve RNA dizilerini tekrarlayan ve biyolojik olarak önemli motifleri bulmak, karşılaştırmak ve fonksiyonel yorum yapılabilmesi için kullanılan bir web tabanlı araçlar bütünüdür. Bu motifler, gen ifadesinin düzenlenmesi de dahil olmak üzere farklı biyolojik süreçlerde rol oynayan önemli fonksiyonel faktörleri içermektedir. Bu sebeple motiflerin tespiti ve karakterizasyonu, hücrel moleküler etkileşimlerin anlaşılmasında önemlidir (Bailey et al. 2015). *Phvul-SET* proteinlerine ait peptit dizilerinde belirlenen korunmuş bölgeler, yürütülen filogenetik analizlerin sonuçlarını desteklemektedir. Benzer motif grupları, *SET* proteinleri arasındaki yapısal benzerliğin ortaya konulmasında önemli rol oynamaktadır. Analizler sonucunda, *Phvul-SET-33* ile *Phvul-SET-34*, *Phvul-SET-48* ile *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-22* ile *Phvul-SET-11* ve *Phvul-SET-16* ile *Phvul-SET-18* proteinleri arasında belirgin yapısal benzerlikler saptanmıştır. Ayrıca benzer motif kalıplarına sahip proteinlerin, Şekil 3.6'da gösterilen filogenetik ağaçta aynı sınıfta yer aldığı görülmüştür.

MEME Suite protein, DNA ve RNA dizilerini tekrarlayan ve biyolojik olarak önemli motifleri bulmak, karşılaştırmak ve fonksiyonel yorum yapılabilmesi için kullanılan bir web tabanlı araçlar bütünüdür. Bu motifler, gen ifadesinin düzenlenmesi de dahil olmak üzere farklı biyolojik süreçlerde rol oynayan önemli fonksiyonel faktörleri içermektedir. Bu sebeple motiflerin tespiti ve karakterizasyonu, hücrel moleküler etkileşimlerin anlaşılmasında önemlidir (Bailey et al. 2015). *Phvul-SET* proteinlerine ait peptit dizilerinde belirlenen korunmuş bölgeler, yürütülen filogenetik analizlerin sonuçlarını desteklemektedir. Benzer motif grupları, *SET* proteinleri arasındaki yapısal benzerliğin ortaya konulmasında önemli rol oynamaktadır. Analizler sonucunda, *Phvul-SET-33* ile *Phvul-SET-34*, *Phvul-SET-48* ile *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-22* ile *Phvul-SET-11* ve *Phvul-SET-16* ile *Phvul-SET-18* proteinleri arasında belirgin yapısal benzerlikler saptanmıştır. Ayrıca benzer motif kalıplarına sahip proteinlerin, Şekil 3.6'da gösterilen filogenetik ağaçta aynı sınıfta yer aldığı tespit edilmiştir.



Şekil 3.7. Phvul- SET genlerinin korunmuş dizi bölgeleri

Tablo 3.3. *Phvul-SET* genlerinin korunmuş motiflerinin özellikleri

| MOTİF ID | GENİŞLİK | MUHEMEL EN İYİ EŞLEŞME                             | İÇERDİĞİ DOMAIN |
|----------|----------|----------------------------------------------------|-----------------|
| 1        | 29       | FKTEIHGWGVRAWEPIQKGTFTVCEYIGEY                     | SAD/SRA domain  |
| 2        | 21       | IDATRFNGIARFINHSCMPNC                              | SET domain      |
| 3        | 29       | WMVHGEPHIMFFAKRDIPAGEELTYDYN                       | SET domain      |
| 4        | 29       | IYECGPMCKCPCPHCGNRVTQHGIKYQLEV                     | SET domain      |
| 5        | 50       | KIVGHIPGIEVGDVFFYRMEMCVVGLHRQWWNGIDYMPMNMSLQAEPIAV | SAD/SRA domain  |
| 6        | 43       | AANPSGKVYVYDGLYKIQDHWIEKSGFGVFKFKLWRIPGQP          | SAD/SRA domain  |
| 7        | 41       | CQNRFRGCHCAKSQCRSRQCPCFAANRECDPDVCRNCWVSC          | SET domain      |
| 8        | 21       | HWDHNKWIQCCRCQIWFHQMC                              | N/A             |
| 9        | 14       | VPCYCGSPKCRGFM                                     | N/A             |
| 10       | 50       | PYIEKLPPYTTTIIYVDRNQMAEDQSVIGKRQIYYDQNGGEMLICDSEE  | SET domain      |

N/A: Eşleşme olmayan motifleri belirtir.

*Phvul-SET* amino asit dizilerinde belirlenen korunmuş motiflerin en iyi eşleşme sonuçları Tablo 3.3'te sunulmuştur. Analizler, genlerin en yoğun olarak *SET domaini* içerdiğini ortaya koymuştur. Motif 1, Motif 2 ve Motif 3'ün ise *SAD/SRA domainine* karşılık geldiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, Motif 8 ve Motif 9'da anlamlı bir motif bulunmadığı tespit edilmiştir. Nitekim *Archae plastida*'da *SET domain* proteinlerinin filogenetik ilişkileri ve domain organizasyonunun incelendiği bir çalışmada da *SET domain* proteinlerinin *SAD/SRA domaini* içerdiği rapor edilmiştir (Sarma and Lodha 2017).

### 3.7. Tanımlanan *Phvul-SET* Genlerinin Hücre İçi Lokalizasyonu

Genlerin hücre içi lokalizasyonunun belirlenmesi, ilgili proteinlerin hangi biyolojik süreçlerde yol alacağını, hangi etkileşimlere girebileceğini, stres yanıt mekanizmalarını düzenlediğini ortaya koyarak gen fonksiyonlarının doğru şekilde yorumlanmasına olanak sağlamaktadır (Dönnes and Höglund 2004; Gillani and Pollastri 2024). *Phvul-SET* genlerinin hücre içi lokalizasyonları WoLF PSORT veri tabanı kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen bilgiler doğrultusunda Tablo 3.4 oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-7*, *Phvul-SET-13*, *Phvul-SET-26*, *Phvul-SET-28*, *Phvul-SET-30*, *Phvul-SET-36*, *Phvul-SET-37*, *Phvul-SET-38*, *Phvul-SET-39* ve *Phvul-SET-48* genleri dışında kalan tüm *SET* genlerinin mitokondri, kloroplast ve sitoplazma dâhil olmak üzere 14 farklı hücresel bölgede lokalize olduğu belirlenmiştir. *SET* genlerinin en yoğun olarak çekirdekte lokalize olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde, *B. napus*'ta yapılan genom çaplı bir çalışmada da *SET domain* genlerinin en fazla çekirdek bölgesinde bulunduğu bildirilmiştir (Sehrish et al. 2022). Yapılan bir çalışmada *SET domain* genlerinin epigenetik düzenlemedeki rolleri nedeniyle çekirdek bölgesindeki varlıklarını doğrular niteliktedir (Yadav et al. 2016).

Genlerin hücre lokalizasyonu için yapılan bu çalışma da *Phvul-SET-18* geninin en fazla endoplazmik retikulumda bulunduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde *Phvul-SET* genlerinin çekirdekten sonra en çok konumlandığı bölgenin sitozol olduğu saptanmıştır. *B. napus*'da bulunan *SET domain* genlerinin çekirdek ve sitoplazma bölgelerinde bulunduğu bildirilmiştir (Dong et al. 2015).

**Tablo 3.4.** *Phvul* -*SET* genlerinin hücre içi lokalizasyonu

| Gen Adı             | Hücreyel Yerleşim                                                             |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Phvul-SET-1</i>  | nucl: 13, vakum: 1                                                            |
| <i>Phvul-SET-2</i>  | nucl: 6, cyto: 4, cysk: 2, chlo: 1, plas: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-3</i>  | nucl: 11, cyto: 3                                                             |
| <i>Phvul-SET-4</i>  | chlo: 8, nucl: 2, cyto: 1, plas: 1, cysk: 1, cyto_mito: 1                     |
| <i>Phvul-SET-5</i>  | chlo: 6, mito: 3, nucl: 2.5, cysk_nucl: 2, E.R.: 1, golg: 1                   |
| <i>Phvul-SET-6</i>  | nucl: 13, vacu: 1                                                             |
| <i>Phvul-SET-7</i>  | nucl: 12.5, cyto_nucl: 7.5, cyto: 1.5                                         |
| <i>Phvul-SET-8</i>  | nucl: 12, mito: 1, cysk: 1                                                    |
| <i>Phvul-SET-9</i>  | nucl: 14                                                                      |
| <i>Phvul-SET-10</i> | nucl: 6, chlo: 3, cyto: 3, mito: 2                                            |
| <i>Phvul-SET-11</i> | cyto: 7, chlo: 4, nucl: 3                                                     |
| <i>Phvul-SET-12</i> | cyto: 8, chlo: 5, plas: 1                                                     |
| <i>Phvul-SET-13</i> | cyto: 7.5, cyto_nucl: 5.5, nucl: 2.5, chlo: 2, cysk: 2                        |
| <i>Phvul-SET-14</i> | nucl: 8, cyto: 4, extr: 1, cysk: 1                                            |
| <i>Phvul-SET-15</i> | vacu: 7, chlo: 4, nucl: 1, mito: 1, golg: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-16</i> | nucl: 12, plas: 1, cysk: 1                                                    |
| <i>Phvul-SET-17</i> | chlo: 5, mito: 4, nucl: 2, cyto: 2, extr: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-18</i> | E.R.: 4, nucl: 3, cyto: 3, vacu: 3, chlo: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-19</i> | cyto: 8, nucl: 4, chlo: 1, mito: 1                                            |
| <i>Phvul-SET-20</i> | nucl: 6, cyto: 4, chlo: 2, golg: 1, cysk_plas: 1                              |
| <i>Phvul-SET-21</i> | nucl: 6, cyto: 5, plas: 1, pero: 1, cysk: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-22</i> | nucl: 9, pero: 3, cyto: 1, mito: 1                                            |
| <i>Phvul-SET-23</i> | nucl: 14                                                                      |
| <i>Phvul-SET-24</i> | nucl: 10, cyto: 3, plas: 1                                                    |
| <i>Phvul-SET-25</i> | chlo: 12, nucl: 1, cyto: 1                                                    |
| <i>Phvul-SET-26</i> | chlo: 8, mito: 5.5, cyto_mito: 3.5                                            |
| <i>Phvul-SET-27</i> | nucl: 11, chlo: 1, mito: 1, plas: 1                                           |
| <i>Phvul-SET-28</i> | mito: 7, chlo_mito: 6.33333, chlo: 4.5, cyto_mito: 4.33333, nucl:1, cyto: 1   |
| <i>Phvul-SET-29</i> | nucl: 6, cyto: 3, chlo: 2, vacu: 1, pero: 1, cysk: 1                          |
| <i>Phvul-SET-30</i> | nucl: 6, mito: 4.5, cyto_mito: 3, chlo: 2, cysk: 1                            |
| <i>Phvul-SET-31</i> | nucl: 13, vacu: 1                                                             |
| <i>Phvul-SET-32</i> | nucl: 9, cysk: 2, chlo: 1, mito: 1, plas: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-33</i> | nucl: 7, cyto: 4, chlo: 2, mito: 1                                            |
| <i>Phvul-SET-34</i> | nucl: 7, cyto: 4, chlo: 1, mito: 1, plas: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-35</i> | mito: 11, chlo: 3                                                             |
| <i>Phvul-SET-36</i> | mito: 6, cyto_mito: 4.5, nucl: 4, chlo: 3                                     |
| <i>Phvul-SET-37</i> | nucl: 10.5, cyto_nucl: 7.5, cyto: 3.5                                         |
| <i>Phvul-SET-38</i> | chlo: 3, cyto: 3, nucl: 2.5, E.R.: 2, cysk_nucl: 2, mito: 1, plas: 1, vacu: 1 |
| <i>Phvul-SET-39</i> | nucl: 4.5, chlo: 4, cysk_nucl: 3, plas: 2, cyto: 1, mito: 1, vacu: 1          |
| <i>Phvul-SET-40</i> | nucl: 5, golg: 3, cyto: 2, chlo: 1, plas: 1, vacu: 1, E.R.: 1                 |
| <i>Phvul-SET-41</i> | nucl: 7, chlo: 4, mito: 3                                                     |
| <i>Phvul-SET-42</i> | nucl: 7, cyto: 5, plas: 1, vacu: 1                                            |
| <i>Phvul-SET-43</i> | nucl: 14                                                                      |
| <i>Phvul-SET-44</i> | nucl: 9, chlo: 3, mito: 2                                                     |
| <i>Phvul-SET-45</i> | nucl: 8, cyto: 2, cysk: 2, chlo: 1, plas: 1                                   |
| <i>Phvul-SET-46</i> | nucl: 5, chlo: 4, cyto: 3, cysk: 2                                            |
| <i>Phvul-SET-47</i> | chlo: 8, cyto: 6                                                              |
| <i>Phvul-SET-48</i> | chlo: 5, nucl: 3.5, cysk_nucl: 2.5, mito: 2, E.R.: 2, golg: 1                 |
| <i>Phvul-SET-49</i> | nucl: 13, cyto: 1                                                             |

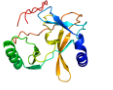
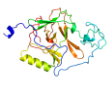
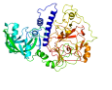
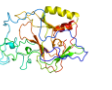
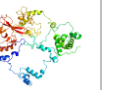
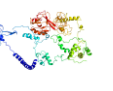
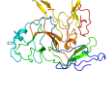
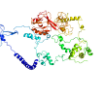
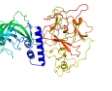
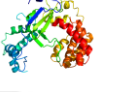
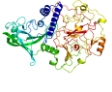
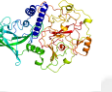
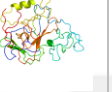
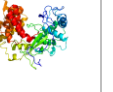
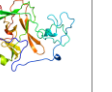
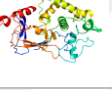
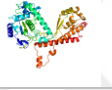
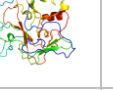
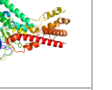
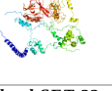
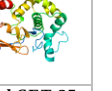
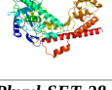
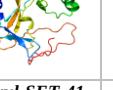
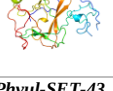
\*: chlo: kloroplast, cyto: sitozol, cysk: hücre iskeleti, cysk\_nucl: sitoiskelet\_çekirdek, cysk\_plas: sitoiskelet\_plazma membranı, cyto\_mito: sitozol\_mitokondri, E.R.: Endoplazmik retikulum, extr: hücre dışı, golg: golgi, mito: mitokondri, nucl: çekirdek, vacu: vakoul, plas: plazma zarı, pero: peroksizom

### 3.8 *Phvul-SET* Proteinlerinin Homoloji Modellemesi

Proteinlerin üç boyutlu konformasyonu, biyolojik fonksiyonlarını tanımlamada önemli rol oynamaktadır (Vyas et al. 2012). *SET* proteinlerinin üç boyutlu homoloji modelleri Phyre<sup>2</sup> veri tabanı aracılığıyla oluşturulmuş ve proteinlerin yapı-fonksiyon

tahminleri bu platform üzerinden değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda proteinlere ait alfa heliks, beta zincir, transmembran (TM) heliks yapıları ile modellemelerin güvenilirlik oranları belirlenmiştir. Elde edilen üç boyutlu homoloji modelleri Şekil 3.7.'de sunulmuştur.

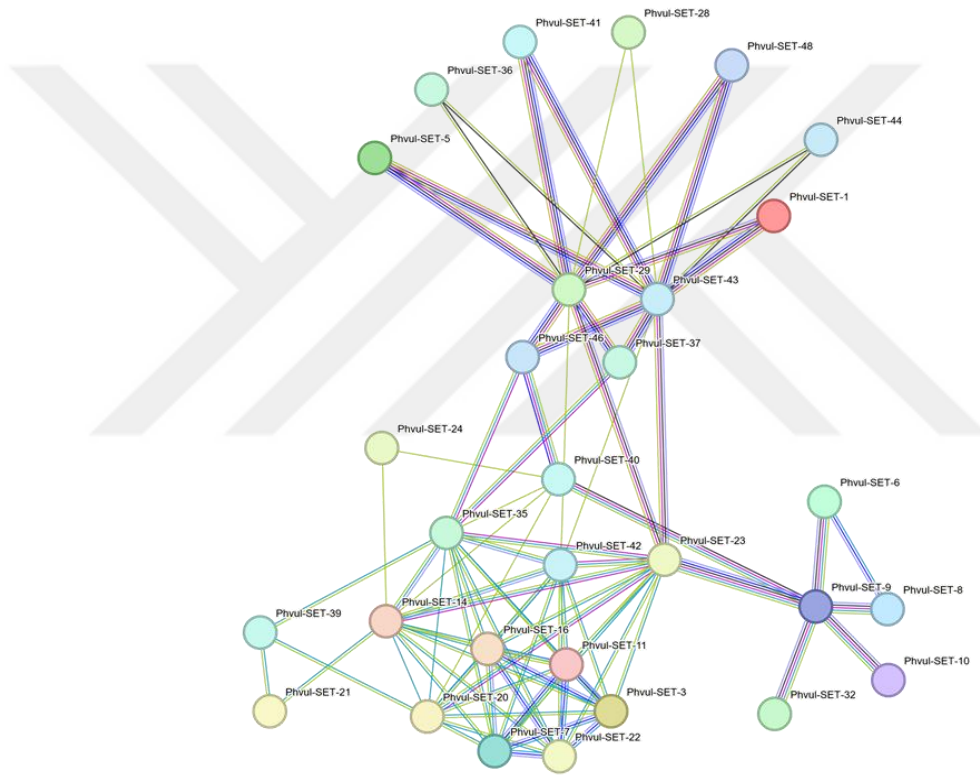
Çalışmamızda, tüm *Phvul-SET* proteinlerinin model güvenilirlik oranlarının %99,3 ile %100 arasında değiştiği belirlenmiştir. Kapsama oranları incelendiğinde, en düşük değer *Phvul-SET-23* (%7), en yüksek değer ise *Phvul-SET-12* (%89) proteininde tespit edilmiştir. İkincil yapı dağılımları değerlendirildiğinde, *Phvul-SET-13* proteininin %43 oranındaki  $\alpha$ -heliks içeriği ile diğer *SET* proteinlerine kıyasla daha baskın bir yapı sergilediği görülmüştür.  $\alpha$ -heliksler ile pre-/post-*SET domainleri*, proteinin yapısal stabilitesini, kofaktör bağlanmasını, substrat tanınmasını ve enzimatik özgülüğünü düzenleyen tamamlayıcı mimari bileşenlerdir (Wilson et al. 2002). Buna ek olarak, *SET domain* proteinlerindeki  $\beta$ -tabaka yapıları, lizin metilasyon aktivitesinin yürütülmesinde ve katalitik çekirdeğin oluşumunda kritik rol oynamaktadır (Zhang et al. 2002; Trievel et al. 2002). Bu bağlamda, *Phvul-SET-21* proteininde %33 oranındaki  $\beta$ -iplikçik içeriğinin diğer *SET* proteinlerine göre daha belirgin olduğu saptanmıştır. Transmembran segmentlere en sık eşlik eden TM-heliks yapısı ise analiz edilen proteinler arasında yalnızca *Phvul-SET-13*'te tespit edilmiştir.

|              |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|              |    |    |    |    |    |    |    |
| Protein adı  | <b>Phvul-SET-1</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-2</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-3</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-4</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-5</b>                                                                    | <b>Phvul-SET-6</b>                                                                    | <b>Phvul-SET-7</b>                                                                    |
| Güvenilirlik | %99,8                                                                               | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                 | %99,3                                                                                 | %100                                                                                  | %100                                                                                  |
| Kapsam       | %8                                                                                  | %47                                                                                 | %64                                                                                 | %35                                                                                  | %16                                                                                   | %70                                                                                   | %39                                                                                   |
| Alfa-heliks  | %7                                                                                  | %4                                                                                  | %8                                                                                  | %7                                                                                   | %9                                                                                    | %11                                                                                   | %5                                                                                    |
| Beta-ipliği  | %8                                                                                  | %27                                                                                 | %19                                                                                 | %9                                                                                   | %17                                                                                   | %11                                                                                   | %19                                                                                   |
| *TM          | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                    | -                                                                                     | -                                                                                     | -                                                                                     |
|              |    |    |    |    |    |    |    |
| Protein adı  | <b>Phvul-SET-8</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-9</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-10</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-11</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-12</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-13</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-14</b>                                                                   |
| Güvenilirlik | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                 | %100                                                                                  | %100                                                                                  | %100                                                                                  |
| Kapsam       | %68                                                                                 | %17                                                                                 | %69                                                                                 | %66                                                                                  | %89                                                                                   | %64                                                                                   | %63                                                                                   |
| Alfa-heliks  | %13                                                                                 | %17                                                                                 | %15                                                                                 | %9                                                                                   | %36                                                                                   | %43                                                                                   | %25                                                                                   |
| Beta-ipliği  | %8                                                                                  | %11                                                                                 | %8                                                                                  | %22                                                                                  | %7                                                                                    | %8                                                                                    | %14                                                                                   |
| TM           | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                    | -                                                                                     | %3                                                                                    | -                                                                                     |
|              |    |    |    |    |    |    |    |
| Protein adı  | <b>Phvul-SET-15</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-16</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-17</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-18</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-19</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-20</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-21</b>                                                                   |
| Güvenilirlik | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                 | %100                                                                                  | %100                                                                                  | %100                                                                                  |
| Kapsam       | %85                                                                                 | %67                                                                                 | %65                                                                                 | %71                                                                                  | %74                                                                                   | %63                                                                                   | %63                                                                                   |
| Alfa-heliks  | %34                                                                                 | %9                                                                                  | %40                                                                                 | %11                                                                                  | %9                                                                                    | %38                                                                                   | %8                                                                                    |
| Beta-ipliği  | %10                                                                                 | %18                                                                                 | %8                                                                                  | %16                                                                                  | %24                                                                                   | %9                                                                                    | %33                                                                                   |
| TM           | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                    | -                                                                                     | -                                                                                     | -                                                                                     |
|              |   |   |   |   |   |   |   |
| Protein adı  | <b>Phvul-SET-22</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-23</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-24</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-25</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-26</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-27</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-28</b>                                                                   |
| Güvenilirlik | %100                                                                                | %99,3                                                                               | %100                                                                                | %100                                                                                 | %99,9                                                                                 | %100                                                                                  | %100                                                                                  |
| Kapsam       | %71                                                                                 | %7                                                                                  | 55%                                                                                 | %83                                                                                  | %87                                                                                   | %39                                                                                   | %88                                                                                   |
| Alfa-heliks  | %9                                                                                  | %16                                                                                 | %30                                                                                 | %40                                                                                  | %10                                                                                   | %9                                                                                    | %35                                                                                   |
| Beta-ipliği  | %20                                                                                 | %4                                                                                  | %11                                                                                 | %10                                                                                  | %39                                                                                   | %12                                                                                   | %9                                                                                    |
| TM           | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                    | -                                                                                     | -                                                                                     | -                                                                                     |
|              |  |  |  |  |  |  |  |
| Protein adı  | <b>Phvul-SET-29</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-30</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-31</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-32</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-33</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-34</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-35</b>                                                                   |
| Güvenilirlik | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                 | %100                                                                                  | %100                                                                                  | %100                                                                                  |
| Kapsam       | %44                                                                                 | %80                                                                                 | %31                                                                                 | %66                                                                                  | %84                                                                                   | %82                                                                                   | %85                                                                                   |
| Alfa-heliks  | %10                                                                                 | %34                                                                                 | %8                                                                                  | %14                                                                                  | %9                                                                                    | %10                                                                                   | %21                                                                                   |
| Beta-ipliği  | %15                                                                                 | %7                                                                                  | %11                                                                                 | %8                                                                                   | %30                                                                                   | %29                                                                                   | %17                                                                                   |
| TM           | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                    | -                                                                                     | -                                                                                     | -                                                                                     |
|              |  |  |  |  |  |  |  |
| Protein adı  | <b>Phvul-SET-36</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-37</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-38</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-39</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-40</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-41</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-42</b>                                                                   |
| Güvenilirlik | %99,9                                                                               | %99,6                                                                               | %100                                                                                | %100                                                                                 | %100                                                                                  | %99,8                                                                                 | %100                                                                                  |
| Kapsam       | %63                                                                                 | %15                                                                                 | %75                                                                                 | %77                                                                                  | %54                                                                                   | %14                                                                                   | %86                                                                                   |
| Alfa-heliks  | %8                                                                                  | %9                                                                                  | %33                                                                                 | %39                                                                                  | %43                                                                                   | %7                                                                                    | %42                                                                                   |
| Beta-ipliği  | %16                                                                                 | %20                                                                                 | %8                                                                                  | %6                                                                                   | %3                                                                                    | %14                                                                                   | %9                                                                                    |
| TM           | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                    | -                                                                                     | -                                                                                     | -                                                                                     |
|              |  |  |  |  |  |  |  |
| Protein adı  | <b>Phvul-SET-43</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-44</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-45</b>                                                                 | <b>Phvul-SET-46</b>                                                                  | <b>Phvul-SET-47</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-48</b>                                                                   | <b>Phvul-SET-49</b>                                                                   |
| Güvenilirlik | %100                                                                                | %100                                                                                | %100                                                                                | %99,8                                                                                | %100                                                                                  | %99,7                                                                                 | %100                                                                                  |
| Kapsam       | %11                                                                                 | %52                                                                                 | %47                                                                                 | %12                                                                                  | %86                                                                                   | %15                                                                                   | %70                                                                                   |
| Alfa-heliks  | %7                                                                                  | %11                                                                                 | %4                                                                                  | %14                                                                                  | %28                                                                                   | %7                                                                                    | %10                                                                                   |
| Beta-ipliği  | %5                                                                                  | %15                                                                                 | %24                                                                                 | %7                                                                                   | %13                                                                                   | %15                                                                                   | %21                                                                                   |
| TM           | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                    | -                                                                                     | -                                                                                     | -                                                                                     |

**Şekil 3.8.** *Phvul-SET* proteinlerinin 3D boyutlu homoloji modellemesi. \*TM: Transmembran protein

### 3.9. *Phvul-SET* Protein-Protein Etkileşimleri

Protein-protein etkileşimi analizleri, proteinler arasındaki olası fonksiyonel ve fiziksel ilişkileri yüksek güvenilirlikte ortaya koymaktadır. Bu yaklaşım, gen ailesinin biyolojik işlevlerini ve ortak yollarını sistematik olarak incelemek için güçlü bir ağ temelli analiz sağlamaktadır (Szkarczyk et al. 2023). Protein-protein etkileşimlerinin analiz sonucunda çeşitli *Phvul-SET* genleri arasında anlamlı etkileşim ağları tespit edilmiştir. Buna göre *Phvul-SET-29* geninin *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-41*, *Phvul-SET-48*, *Phvul-SET-46*, *Phvul-SET-37*, *Phvul-SET-43* ve *Phvul-SET-1* genleriyle etkileşime girdiği belirlenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.9. Tanımlanan SET proteinlerinin protein-protein etkileşimleri (PPI)

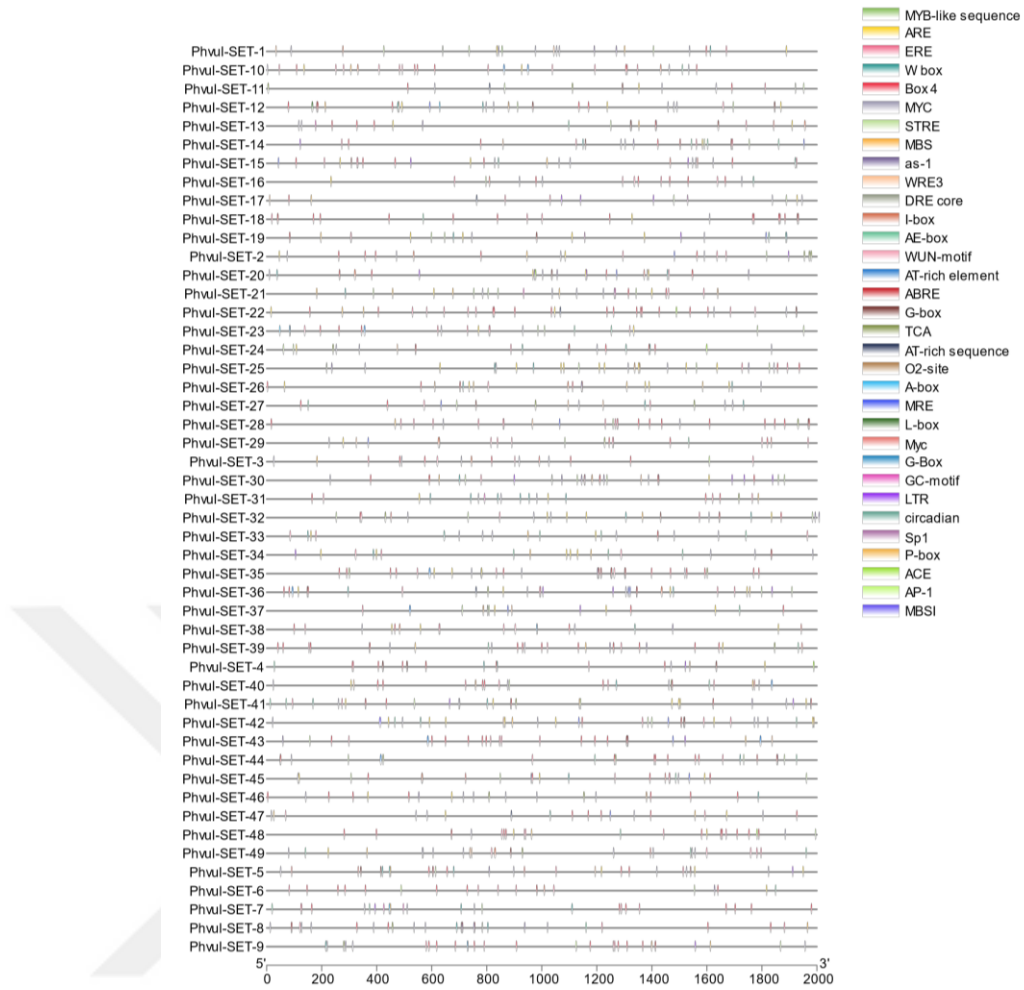
Elde edilen verilere göre, *Phvul-SET-21* geninin sadece *Phvul-SET-14* ve *Phvul-SET-40* genleriyle etkileşim gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, *Phvul-SET-6* geninin *Phvul-SET-8* geniyle, *Phvul-SET-7* geninin *Phvul-SET-11* geniyle; *Phvul-SET-22* geninin ise *Phvul-SET-3*, *Phvul-SET-7*, *Phvul-SET-11* ve *Phvul-SET-16* genleriyle etkileşim gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3.8.). Yapılan analiz sonucunda bazı genlerin hiç etkileşime girmediği tespit edilmiştir. Bazı protein çiftlerinde etkileşim görülmemesi, çoğunlukla kullanılan yöntemlerin teknik sınırlamalarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca protein-protein etkileşiminde zayıf veya geçici

etkileşimleri, düşük düzeyde ifade edilen proteinleri ya da yalnızca belirli koşullarda gerçekleşen etkileşimleri her zaman saptanmayabilir. Bu nedenle protein etkileşimlerinin veri setinde yer almaması, etkileşimin olmamasını değil, mevcut yöntemle tespit edilememiş olabilir (Alvarez-Ponce, 2016).

### 3.10. *Phvul-SET* genlerinin Promotor Analizi

Promotör bölgelerde yer alan *cis*-düzenleyici elementler, genlerin fizyolojik fonksiyonlarının belirli düzeyde kontrol edilmesinde önemli rol oynamaktadır (Whyte and Sipahi 2024). Fasulye genomunda tanımlanan *SET domain* genlerine ait promotör dizilerinde bulunan *cis*-acting elementler PlantCARE veri tabanı kullanılarak analiz edilmiş ve ilgili elementler belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda, *Phvul-SET* genlerinde toplam 101 adet farklı *cis*-acting element tespit edilmiştir (Şekil 3.9).

Promotör bölgelerde bulunan *cis*-etkili elementler, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine yanıt olarak genin transkripsiyon düzeyini düzenleyerek gen ekspresyonunun kontrolünde önemli rol oynamaktadır (Dubos et al. 2010). *SET* genlerinin promotör bölgelerinde, ışığa duyarlı elementler, çevresel streslerle ilişkili elementler, gelişimle ilişkili elementler, promotör çekirdek elementleri ve bitki hormonlarına duyarlı elementler olmak üzere çeşitli fonksiyonel kategorilere ait çok sayıda *cis*-element belirlenmiştir. En yüksek frekansta tanımlanan elementlerin ERE (hormon duyarlı), ARE (stres yanıtı), MYC (kuraklık yanıtı ile ilişkili) ve Box 4 (ışık duyarlı) olduğu tespit edilmiştir. Literatürde benzer çalışmalarda, patatestede 53 *StSET* geninin promotör bölgelerinde ışığa duyarlılıkla ilişkili çok sayıda *cis*-element bulunduğu, ayrıca kuraklığa duyarlı, absisik asit, salisilik asit, metil jasmonat ve oksine yanıt veren çeşitli düzenleyici motiflerin tanımlandığı rapor edilmiştir (Suppiyar et al. 2024). Benzer şekilde, *G. hirsutum* *SDG* gen ailesine ait *GhSDG59* geninin promotör bölgesinde kuraklık stresiyle ilişkili ABRE ve MBS *cis*-elementlerinin bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, *G. hirsutum* ve *S. lycopersicum* türlerinde yer alan *SET domain* gen ailesinin promotör bölgelerinde, özellikle çevresel adaptasyonda rol oynayan MYB ve MYC elementleri ile stres tepkilerine aracılık eden STRE *cis*-elementlerinin yoğunlukla bulunduğu bildirilmiştir (Jian et al. 2023; Yang et al. 2024; Wang et al. 2024). Bu durum, farklı bitki türlerinde *SET* gen ailesinin çevresel adaptasyon ve stres yanıtı süreçlerinde benzer *cis*-düzenleyici stratejiler kullandığını düşündürmektedir.



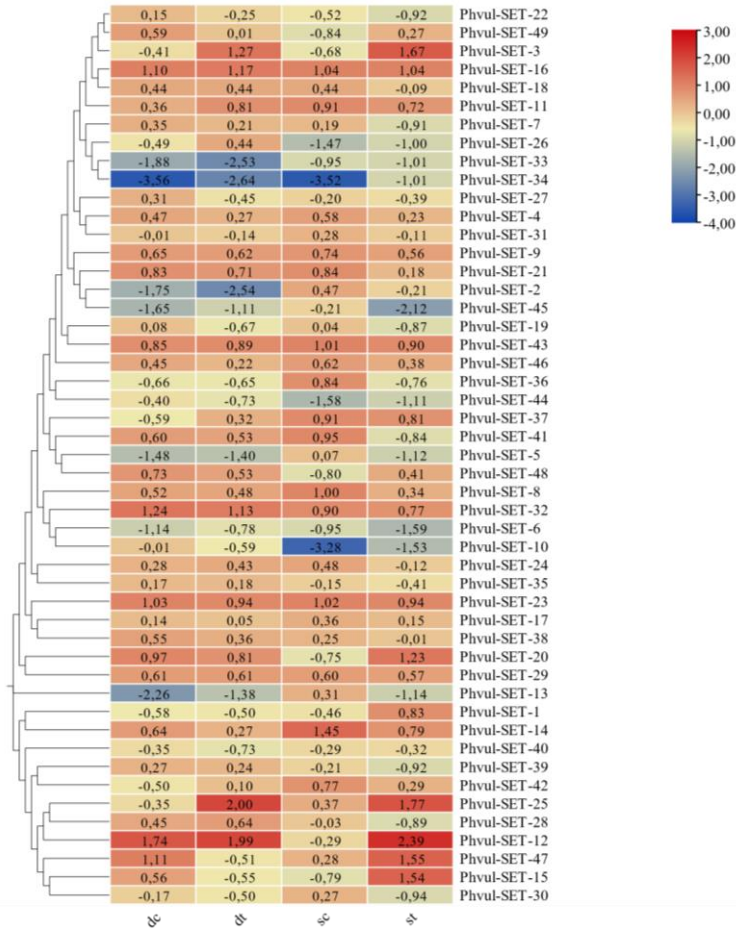
Şekil 3.10. *Phvul-SET* genlerinin 2000 bp yukarı akış bölgesinde bulunan cis-etkili elementler

### 3.11. *Phvul-SET* Genlerinin Fasulye Bitkisinin Farklı Dokularında Tuz ve Kuraklık Stresi Şartları Altında İn Siliko İfade Analizi

Fasulyede abiyotik stres koşullarına maruz kalan *Phvul-SET* genlerinin kuraklık ve tuzluluk altındaki ekspresyon profilleri incelenmiştir. Farklı stres uygulamalarında genlerin in siliko ifade seviyelerini gösteren ısı haritası Şekil 3.10'da sunulmaktadır.

Tuz stresi koşullarında, kontrole kıyasla en yüksek ekspresyon artışı *Phvul-SET-12*, *Phvul-SET-25* ve *Phvul-SET-3* genlerinde belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Buna karşılık *Phvul-SET-16* geninin ifadesinde herhangi bir değişiklik görülmemiş diğer tüm *SET* genlerinin ise tuz stresi altında ifade seviyeleri azalmıştır. Yapılan çalışmalara göre *G. hirsutum* L. bitkisinde tuz stresi altında *GhSDG51*'te dahil olmak üzere birçok *SDG* geninin tuz uygulamasına yanıt verdiği rapor edilmiştir (Jian et al. 2023).

Kuraklık stresi koşullarında kontrole kıyasla en yüksek ifade artışının *Phvul-SET-12*, *Phvul-SET-25* ve *Phvul-SET-3* genlerinde meydana geldiği belirlenmiştir. Diğer genlerde genel olarak ifade seviyelerinde azalma gözlenirken *Phvul-SET-29* geninde herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir (Şekil 3.11). Bu bulgular hem tuz hem de kuraklık stresi altında benzer şekilde yükselen *Phvul-SET-12*, *Phvul-SET-25* ve *Phvul-SET-3* genlerinin, stres toleransında ortak ve kritik bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle *Phvul-SET-16* ve *Phvul-SET-29* geninin stres koşulunda da stabil kalması, bu genin strese karşı duyarsız olabileceğini veya temel hücresel süreçleri düzenleyen konstitütif bir ifade paternine sahip olduğunu göstermektedir. *T. aestivum* L. bitkisinin fide aşamasında *SET* geninin ısı ve kuraklık stresine yanıt verdiği ve ifade düzenleri ısı ve kuraklık stresi altında  $\pm$  iki kat değiştiği *SET* geni ifade seviyelerinde genellikle azalma olduğu bildirilmiştir (Batra et al. 2020).

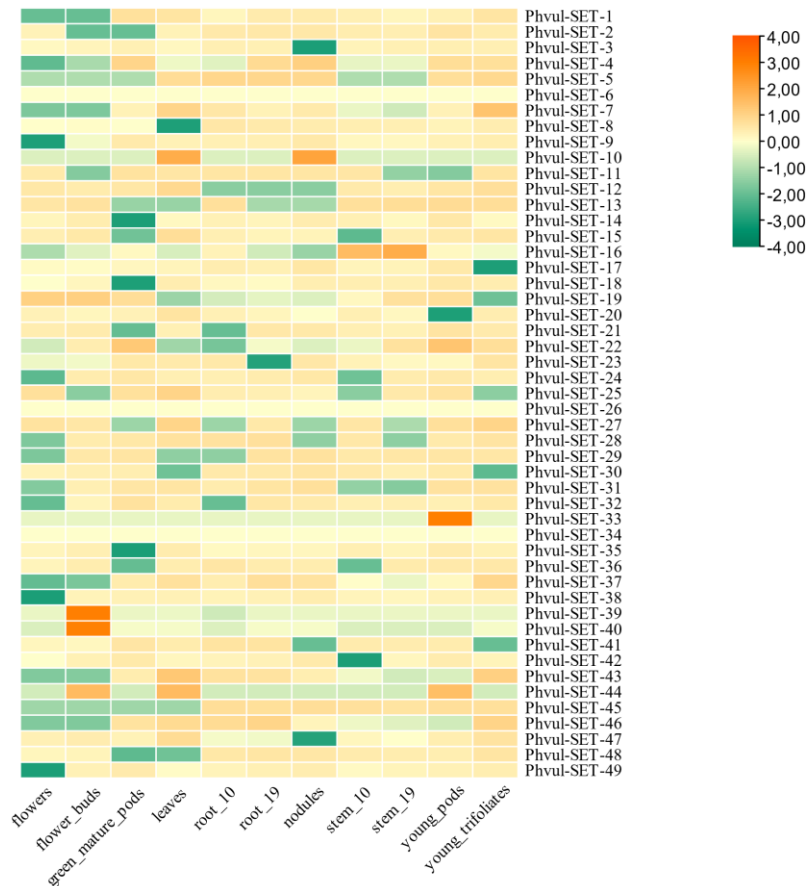


Şekil 3.11. Farklı stres koşullarında *Phvul-SET* genlerinin in siliko ifade seviyeleri

(dc: drought control, dt: drought treatment, sc: salt control, st: salt treatment)

Fasulyenin 11 farklı dokusundan elde edilen RNA-seq verileri ile heatmap çizilmiştir (Şekil 3.12). Elde edilen verilere göre, *SET* genlerinin ifade düzeyleri

dokulara göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Heatmap analizine göre, en yüksek ifade seviyesi çiçek tomurcuğu dokusunda *Phvul-SET-39*'da olduğu saptanmıştır. Tüm dokularda en düşük ifade seviyelerinin *Phvul-SET-6*, *Phvul-SET-26*, ve *Phvul-SET-34* genlerinde olduğu gözlemlenmiştir. *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-10*, *Phvul-SET-33* ve *Phvul-SET-44* genlerinde ise ifade seviyelerinin düşük olduğu tespit edilmiştir. En yüksek ifade seviyesinin *Phvul-SET-3*'te olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen genel verilere göre, en az ifade edilen dokunun çiçek olduğunu en fazla ifade edilen dokunun ise genç bakla kısmında olduğu tespit edilmiştir. Chen et al. (2020) yaptığı çalışmada, *D. catenatum* bitkisinde bulunan *SET domain* gen ailesinde yapılan genom sonucunda ise genlerin en yüksek ifade edilen dokunun çiçek tomurcuğunda başka bir çalışmada ise *B. napus* L. bitkisinde bulunan *SET domain* genleri için yaptığı genom çaplı analizde ise genlerin en fazla bulunduğu dokunun çiçek olduğu bildirilmiştir (Sehrish et al. 2022).



**Şekil 3.12.** Fasulye dokusunda *Phvul-SET* genlerinin in silico ifade seviyeleri

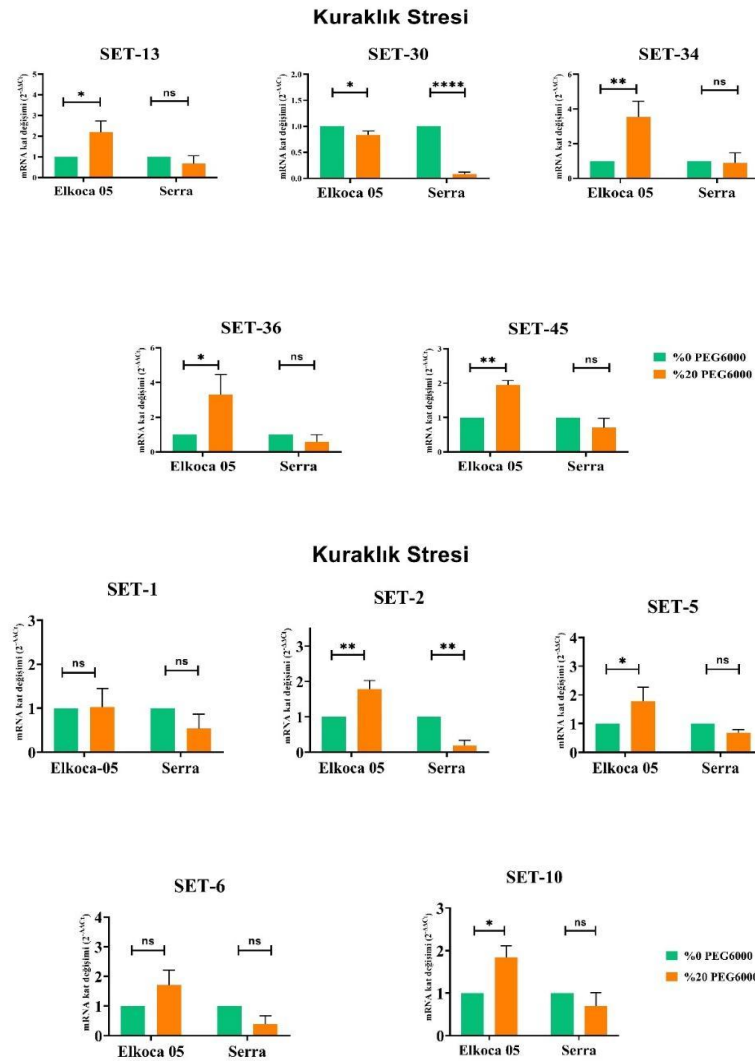
(İfade düzeyi mavi renkten yeşil renge doğru artış göstermektedir)

### 3.12. Kantitatif Real Time PCR (RT-qPCR) Analizleri

RT-qPCR, strese duyarlı gen ifade modellerinin kesin tespiti ve analizi, bitki stres tepkilerinin moleküler mekanizmaların anlaşılması için yapılan analizdir (Chen et al. 2024). RT-qPCR analizi aracılığıyla kuraklık ve tuz stresi maruz kalan *Phvul-SET* genlerinin ifade seviyeleri belirlenmesi için çalışma yapılmıştır. *Phvul-SET* genlerinin tuz ve kuraklık stresi ifade edilme durumları RNAseq verilerine bakılarak değerlendirilerek *Phvul-SET-1*, *Phvul-SET-2*, *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-6*, *Phvul-SET-10*, *Phvul-SET-13*, *Phvul-SET-30*, *Phvul-SET-34*, *Phvul-SET-36* ve *Phvul-SET-45* genlerinin ifade seviyelerinin yapraktaki tuz ve kuraklık stresi ile ilişkili olarak farklılaştığı tespit edilmiştir. Elde edilen veriler aracılığıyla belirlenen 10 gene ait primerler tasarlanmış ve bu genlerin tuz ve kuraklık stresine karşı olan yanıtlarını RT-qPCR kullanılarak Elkoca 05 ve Serra fasulye çeşitlerinde karşılaştırmalı olarak analizi yapılmıştır (Şekil 3.13).

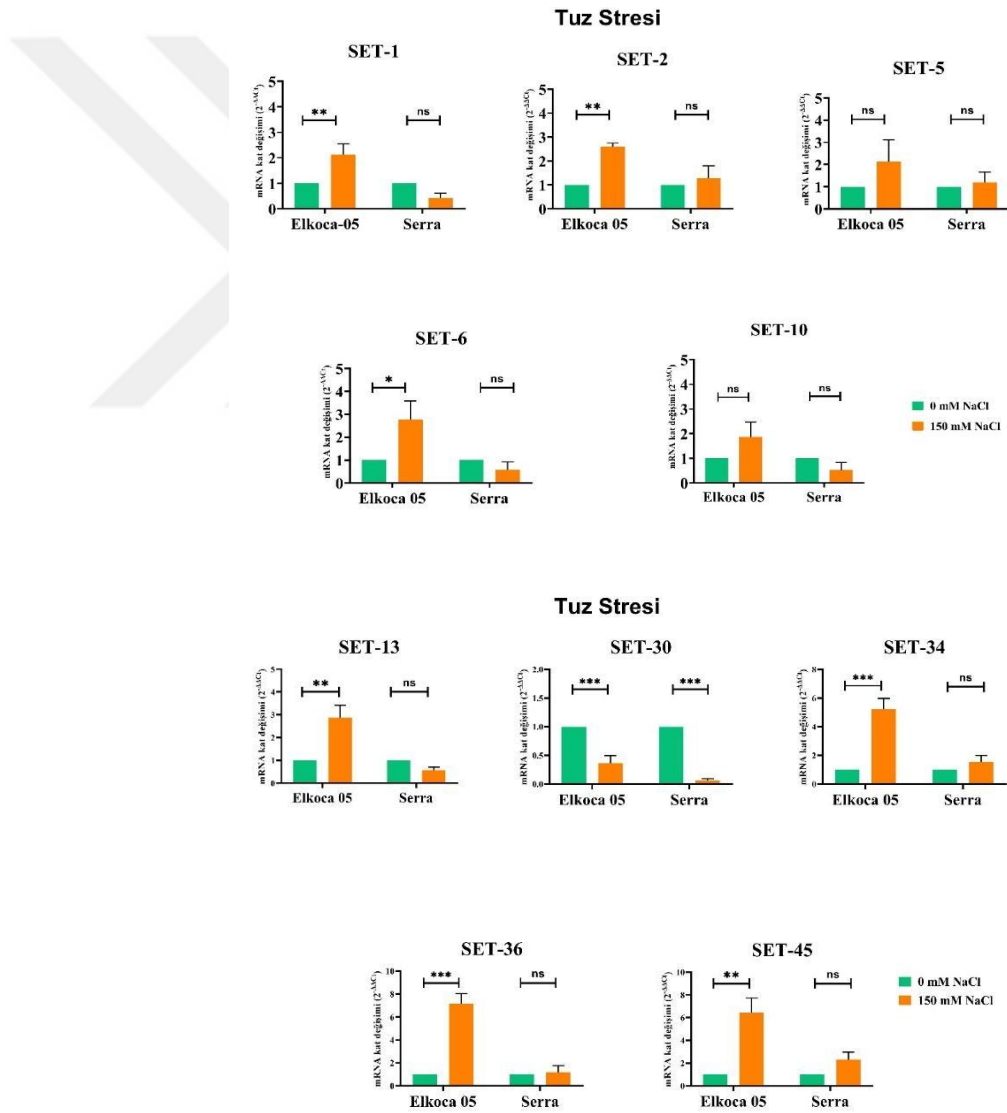
Kuraklık abiyotik faktörünü oluşması için uygulanan stres (%20 PEG6000) sonucunda kontrole (%0 PEG6000) karşılaştırıldığında her iki çeşitte de tüm genlerde belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. Elkoca 05 çeşidinde kontrole kıyasla *Phvul-SET-1* ve *Phvul-SET-30* genleri hariç tüm genlerin ifade seviyelerinde artış olduğu görülürken Serra çeşidinin ifade seviyesinde ise tüm genlerde azalış görülmüştür. Buna ek olarak Elkoca 05 çeşidinde en yüksek artış *Phvul-SET-13* ve *Phvul-SET-34* ve *Phvul-SET-36* olmuştur. Ayrıca *Phvul-SET-34* geninin ifade seviyesi incelendiğinde Serra çeşidinde kontrole yakın değerler olduğu tespit edilmiştir. Kuraklık için yapılan çalışmada elde edilen veriler incelendiğinde Elkoca 05 çeşidinin Serra çeşidine göre daha anlamlı artışların olduğu tespit edilmiştir. Yapılan literatür çalışmalarına göre Elkoca 05 çeşidinin Serra çeşidine göre daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Aygören et al. 2023; Aydınuyurt et al. 2025). Yapılan çalışmada her iki fasulye çeşidinde de elde edilen sonuçların farklı olması, genotipler arasındaki genetik ve moleküler farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Genlerin strese verdikleri yanıtın düzeyini, çeşitlere özgü DNA farklılıkları, genlerin promotör ve diğer düzenleyici bölgelerindeki değişimler ile stresin algılanması ve iletilmesinde görevli mekanizmaların farklı olması belirlemektedir (Salgotra et al. 2023). Bu farklılıklar, bazı çeşitlerde stresle ilişkili genlerin etkili bir şekilde ifade seviyelerinin artmasını sağlarken, bazı çeşitlerde ise aynı genlerin ifade seviyelerinde sınırlı düzeyde ya da hiç değişiklik göstermemesine neden olmaktadır (Isıyel et al. 2025).

Yapılan literatür taramalarında; *S. tuberosum* L. *SET domaini* gen ailesi için yapılan çalışmaya göre kontrol koşullarına kıyasla, aşırı kuraklık stresi altında (stresten 18 gün sonra, %2,8 VMC) tüm *StSET* genlerinin nispi ifadesinin azaldığı ve kuraklığa dayanıklı çeşitlerde ise ya genlerden birinin nispi ifadesinin arttığı (*StSET13*, *StSET52*) ya da kontrol koşullarına kıyasla benzer seviyelerde kaldığı (*StSET30* ve *StSET48*) bildirilmiştir (Suppiyar et al. 2024). Yapılan farklı bir çalışmada ise *D. catenatum*'da *SET domain* gen ailesi için yapılan analizin sonucunda, bir haftalık kuraklık stresinin *DcCLF*, *DcASHR3*, *DcSUVR3* ve *DcSUVR14c* genlerinin ifadesini önemli ölçüde baskıladığını, ancak hem şafak hem de alacakaranlıkta örnekleme yapıldığında *DcATXR5b*, *DcATXR4* ve *DcSDG49* genlerinin ifadesini belirgin şekilde arttırdığını gösterdiği rapor edilmiştir (Chen et al. 2020).



**Şekil 3.13.** Kuraklık stresi altında (%20 PEG6000) Elkoca 05 ve Serra fasulye çeşitlerinde *Phvul-SET* genlerinin ifade seviyesi grafikleri

Tuz stresinin oluşması için uygulanan stres (150 mM NaCl) sonucunda kontrole (0 mM NaCl) karşılaştırıldığında her iki çeşitte de belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Elkoca 05 çeşidinde kontrole kıyasla *Phvul-SET-3* geni hariç tüm genlerin ifade seviyelerinde artış görülmüştür. Serra çeşidinde ise kontrole kıyasla *Phvul-SET-2*, *Phvul-SET-5*, *Phvul-SET-34* ve *Phvul-SET-45* genlerinin ifade seviyelerinde artış görülürken *Phvul-SET-1*, *Phvul-SET-6*, *Phvul-SET-10*, *Phvul-SET-13* ve *Phvul-SET-30* genlerinin ifade seviyelerinde azalış olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra Serra çeşidinde *Phvul-SET-36* geninin ifade seviyesinde kontrole yakın değerler olduğu saptanmıştır. Elkoca 05 çeşidinin ifade seviyelerinde en yüksek artışın *Phvul-SET-34*, *Phvul-SET-36* ve *Phvul-SET-45* genlerinde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.14).



**Şekil 3.14.** Tuz stresi altında (150 mM NaCl) Elkoca 05 ve Serra fasulye çeşitlerinde *Phvul-SET* genlerinin ifade seviyesi grafikleri.

Elkoca 05 çeşidinde ise her iki stres uygulaması altında *Phvul-SET-34*, *Phvul-SET-36* genlerinin ifade seviyelerinde belirgin artışlar olduğu gözlenmiştir. Literatürde, *G. hirsutum* L. bitkisinde tuz stresi koşullarında *SET domain* gen ailesine yönelik yapılan çalışmalarda *GhSDG* genlerinin tuz stresine yanıt verdiği rapor edilmiştir (Jian et al. 2023). Benzer şekilde, *S. lycopersicum* bitkisinde tuz stresi altında *SET domainlerine* ilişkin yapılan bir çalışmada *SlSET1* ve *SlSET6* genlerinin ifade düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Yang et al. 2024). Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, *SET domain* içeren genlerin farklı bitki türlerinde abiyotik streslere karşı korunmuş ve kritik bir düzenleyici role sahip olduğu, *Phvul-SET- 34* ve *Phvul-SET-36* genlerinin de fasulyede stres tolerans mekanizmalarında önemli bir aday gen olabileceği düşünülmektedir.

#### 4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada, *P. vulgaris* genomundaki *SET domain* gen ailesinin karakterizasyonu omik yaklaşımlar ile ifade seviyelerinin belirlenmiştir. *P. vulgaris* genomunda 49 *SET domain* gen ailesi üyesi olduğu saptanmış ve tanımlanan bu genlerin 11 farklı kromozom üzerinde yer aldığı tespit edilmiştir. Serra ve Elkoca 05 çeşitlerinde *SET* genlerinin tuz ve kuraklık uygulamalarına tepkisi RT-qPCR analizi ile ifade düzeyinde incelenmiştir. Yapılan RT-qPCR sonuçlarına göre, her iki çeşitte de *Phvul-SET-30* geninde ifade düzeyinde önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Kuraklık için yapılan çalışmada Elkoca 05 çeşidinin Serra çeşidine göre daha anlamlı artışların olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan diğer genlerin ifade düzeyleri her iki çeşitte de farklılık gösterdiği ve Elkoca 05 çeşidinin her iki uygulama içinde genellikle önemli artışlar olduğu saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgular, *SET domaininin* abiyotik strese yanıtta rol aldığını doğrular niteliktedir. Bu çalışmadan elde edilen bulguların, *Phvul-SET-34* ve *Phvul-SET-36* geninin kuraklık stresine *Phvul-SET-34*, *Phvul-SET-36* ve *Phvul-SET-45* genlerinin ise tuz stresine verdiği yanıtta rolüne ilişkin literatürde bulunan mevcut bilgi eksikliğinin doldurması beklenmektedir. Gelecekte tuz ve kuraklık stresine verilen yanıtın sürdürülebilirliği ve tarla koşulları altında bu genin fonksiyonel çalışmalarının yapılması önerilmektedir.

## KAYNAKÇA

- Abdulraheem, M. I., Xiong, Y., Moshood, A. Y., Cadenas-Pliego, G., Zhang, H., & Hu, J. (2024). Mechanisms of plant epigenetic regulation in response to plant stress: recent discoveries and implications. *Plants*, 13(2), 163.
- Alvarez-Ponce, D. (2017). Recording negative results of protein–protein interaction assays: an easy way to deal with the biases and errors of interactomic data sets. *Briefings in Bioinformatics*, 18(6), 1017-1020.
- Arslan, M., Çetin, S., & Erdurmuş, C. (2013). Tuz Stresinin Bitki Gelişimindeki Olumsuz Etkileri ve Bazı Yem Bitkilerinin Tuzluluk Toleransları. *Ziraat Mühendisliği* (360), 32-39.
- Aydinyurt, R., Yağcı, S., Yaprak, E., Kasapoğlu, A. G., Muslu, S., Uçar, S., ... & Aydın, M. (2025). Epigenetic Evaluation of Melatonin Application in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes Under Drought and Salt Stress Conditions. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1-19.
- Aygören, A. S., Güneş, E., Muslu, S., Kasapoğlu, A. G., Yiğider, E., Aydın, M., ... & İlhan, E. (2023). Genome-wide analysis and characterization of SABATH gene family in *Phaseolus vulgaris* genotypes subject to melatonin under drought and salinity stresses. *Plant Molecular Biology Reporter*, 41(2), 242-259.
- ACAR, O., & DEMİRBAŞ, S. (2022). BÖLÜM 2 Parazit Yabancı Otlarla Tarımsal Bitkiler Arasındaki Etkileşimde Antioksidan Savunma Sisteminin Rolü. *Bitkilerde abiyotik ve biyotik*, 35.
- Arıkan, B., Çakır, Ö., & Kara, N. T. (2025). Epigenetic and transcriptomic features of stress memory during salt-stress priming in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 112775.
- Bailey, T. L., Johnson, J., Grant, C. E., & Noble, W. S. (2015). The MEME suite. *Nucleic acids research*, 43(W1), W39-W49.
- Bailey, T. L., Williams, N., Mistleh, C., & Li, W. W. (2006). MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs. *Nucleic acids research*, 34(suppl\_2), W369-W373.
- Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaeili, N., & Zhang, H. (2023). Plants' response mechanisms to salinity stress. *Plants*, 12(12), 2253.
- Banerjee, A., & Roychoudhury, A. (2017). Epigenetic regulation during salinity and drought stress in plants: Histone modifications and DNA methylation. *Plant Gene*, 11, 199-204.
- Batra, R., Gautam, T., Pal, S., Chaturvedi, D., Rakhi, Jan, I., ... & Gupta, P. K. (2020). Identification and characterization of *SET domain* family genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Reports*, 10(1), 14624.
- Baumbusch, L. O., Thorstensen, T., Krauss, V., Fischer, A., Naumann, K., Assalkhou, R., ... & Aalen, R. B. (2001). The *Arabidopsis thaliana* genome contains at least 29 active genes encoding *SET domain* proteins that can be assigned to four evolutionarily conserved classes. *Nucleic acids research*, 29(21), 4319-4333.

- Bayraç, H. N., & Doğan, E. (2016). Türkiye’de İklim Değişikliğinin Tarım Sektörü Üzerine Etkileri. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi*, 11(1), 23-48.
- Berr, A., Xu, L., Gao, J., Cognat, V., Steinmetz, A., Dong, A., & Shen, W. H. (2009). *SET DOMAIN GROUP25* encodes a histone methyltransferase and is involved in *FLOWERING LOCUS C* activation and repression of flowering. *Plant physiology*, 151(3), 1476-1485.
- Buttanri, A., Kasapoğlu, A. G., Öner, B. M., Aygören, A. S., Muslu, S., İlhan, E., ... & Aydın, M. (2025). Predicting the role of  $\beta$ -GAL genes in bean under abiotic stress and genome-wide characterization of  $\beta$ -GAL gene family members. *Protoplasma*, 262(2), 365-383.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S., & Aras, S. (2012). Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 69(2).
- Cannon, S. B., Mitra, A., Baumgarten, A., Young, N. D., & May, G. (2004). The roles of segmental and tandem gene duplication in the evolution of large gene families in *Arabidopsis thaliana*. *BMC plant biology*, 4(1), 10.
- Cazzonelli, C. I., Cuttriss, A. J., Cossetto, S. B., Pye, W., Crisp, P., Whelan, J., ... & Pogson, B. J. (2009). Regulation of carotenoid composition and shoot branching in *Arabidopsis* by a chromatin modifying histone methyltransferase, *SDG8*. *The Plant Cell*, 21(1), 39-53.
- Celmeli, T., Sari, H., Canci, H., Sari, D., Adak, A., Eker, T., & Toker, C. (2018). The nutritional content of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in comparison to modern varieties. *Agronomy*, 8(9), 166.
- Chen, C., Wu, Y., Li, J., Wang, X., Zeng, Z., Xu, J., ... & Xia, R. (2023). TBtools-II: A “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining. *Molecular plant*, 16(11), 1733-1742.
- Chen, D. H., Qiu, H. L., Huang, Y., Zhang, L., & Si, J. P. (2020). Genome-wide identification and expression profiling of *SET DOMAIN GROUP* family in *Dendrobium catenatum*. *BMC Plant Biology*, 20(1), 40.
- Chen, S., Cai, Q., Liu, P., Liu, J., Chen, G., Yan, H., & Zheng, H. (2024). Identification and Validation of qRT-PCR Reference Genes for Analyzing *Arabidopsis* Responses to High-Temperature Stress. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(12), 14304-14320. <https://doi.org/10.3390/cimb46120857>
- Coles, N. A., & Eslamian, S. (2017). Definition of drought. In *handbook of drought and water scarcity* (pp. 1-11). CRC Press.
- Çulha, Ş., & Çakırlar, H. (2011). Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 11(2), 11-34.
- Dillon, S. C., Zhang, X., Trievel, R. C., & Cheng, X. (2005). The *SET-domain* protein superfamily: protein lysine methyltransferases. *Genome biology*, 6(8), 227.
- Dong, H., Liu, D., Han, T., Zhao, Y., Sun, J., Lin, S., ... & Huang, L. (2015). Diversification and evolution of the *SDG* gene family in *Brassica rapa* after the whole genome triplication. *Scientific Reports*, 5(1), 16851.

- Dönnes, P., & Höglund, A. (2004). Predicting protein subcellular localization: past, present, and future. *Genomics, proteomics & bioinformatics*, 2(4), 209-215.
- Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C., & Lepiniec, L. (2010). MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in plant science*, 15(10), 573-581.
- Dunnett, C. W. (1955). A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *Journal of the American Statistical Association*, 50(272), 1096-1121.
- Duru, S. (2025). Sürdürülebilir Tarım ve İklim Değişikliği. *Muş Alparslan Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 5(1), 21-32. <https://doi.org/10.59359/maujan.1585443>
- Ekmekçi, E., Apan, M., & Kara, T. (2005). Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi. *Anadolu tarım bilimleri dergisi*, 20(3), 118-125.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N. S. M. A., Fujita, D. B. S. M. A., & Basra, S. M. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In *Sustainable agriculture* (pp. 153-188). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Gabaldón, T., & Koonin, E. V. (2013). Functional and evolutionary implications of gene orthology. *Nature Reviews Genetics*, 14(5), 360-366.
- Ganesan, K., & Xu, B. (2017). Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. *International journal of molecular sciences*, 18(11), 2331.
- Gepts, P. (2001). *Phaseolus vulgaris* (beans). *Encyclopedia of genetics*, 1444, 1445.
- Gillani, M., & Pollastri, G. (2024). Protein subcellular localization prediction tools. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 23, 1796-1807.
- Goodstein, D. M., Shu, S., Howson, R., Neupane, R., Hayes, R. D., Fazo, J., ... & Rokhsar, D. S. (2012). Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic acids research*, 40(D1), D1178-D1186.
- Greer, E. L., & Shi, Y. (2012). Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nature Reviews Genetics*, 13(5), 343-357.
- Gregorio Jorge, J., Villalobos-López, M. A., Chavarría-Alvarado, K. L., Ríos-Meléndez, S., López-Meyer, M., & Arroyo-Becerra, A. (2020). Genome-wide transcriptional changes triggered by water deficit on a drought-tolerant common bean cultivar. *BMC plant biology*, 20(1), 525.
- Gupta, A., Rico-Medina, A., & Caño-Delgado, A. I. (2020). The physiology of plant responses to drought. *Science*, 368(6488), 266-269.
- Gülümser, A. (2016). Dünyada ve Türkiye’de Yemeklik Dane Baklagillerin Durumu. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(ÖZEL SAYI-1), 292-298. <https://doi.org/10.21566/tarbitderg.280511>
- Hiz, M. C., Canher, B., Niron, H., & Turet, M. (2014). Transcriptome analysis of salt tolerant common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under saline conditions. *PloS one*, 9(3), e92598.
- Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water-culture method for grow ing plants without soil. Circular. California agricultural experi ment station, 347(2nd edit)

- Horton, P., Park, K. J., Obayashi, T., Fujita, N., Harada, H., Adams-Collier, C. J., & Nakai, K. (2007). WoLF PSORT: protein localization predictor. *Nucleic acids research*, 35(suppl\_2), W585-W587.
- Hu, B., Jin, J., Guo, A. Y., Zhang, H., Luo, J., & Gao, G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8), 1296-1297.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of plant nutrition and soil science*, 168(4), 541-549.
- Huang, Y., Liu, C., Shen, W. H., & Ruan, Y. (2011). Phylogenetic analysis and classification of the Brassica rapa *SET-domain* protein family. *BMC plant biology*, 11(1), 175.
- İsiyel, M., İlhan, E., Kasapoğlu, A. G., Muslu, S., Öner, B. M., Aygören, A. S., ... & Yıldırım, E. (2025). Identification and characterization of Phaseolus vulgaris CHS genes in response to salt and drought stress. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 72(1), 271-293.
- Jian, H., Wei, F., Chen, P., Hu, T., Lv, X., Wang, B., ... & Yu, S. (2023). Genome-wide analysis of *SET domain* genes and the function of *GhSDG51* during salt stress in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC Plant Biology*, 23(1), 653.
- Khatun, M., Sarkar, S., Era, F. M., Islam, A. M., Anwar, M. P., Fahad, S., ... & Islam, A. A. (2021). Drought stress in grain legumes: Effects, tolerance mechanisms and management. *Agronomy*, 11(12), 2374.
- Kalavacharla, V., Liu, Z., Meyers, B. C., Thimmapuram, J., & Melmaiee, K. (2011). Identification and analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) transcriptomes by massively parallel pyrosequencing. *BMC plant biology*, 11(1), 135.
- Kalefetoğlu, T., & Ekmekci, Y. (2005). The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi University Journal of Science*, 18(4), 723-740.
- Kılınç, İ., & Uslu, Ö. S. (2021). Karasal İklim Şartlarında Bazı Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Kuru Otlarının Hayvan Yemi Olarak Kullanım Potansiyelinin Belirlenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10(1), 224-235.
- KIM, J. M., To, T. K., Nishioka, T., & Seki, M. (2010). Chromatin regulation functions in plant abiotic stress responses. *Plant, Cell & Environment*, 33(4), 604-611.
- Korkmaz, H., & Durmaz, A. (2017). Bitkilerin abiyotik stres faktörlerine karşı geliştirilen cevaplar. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 192-207.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41(12), msae263.
- Lämke, J., & Bäurle, I. (2017). Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. *Genome biology*, 18(1), 124.
- Lei, L., Zhou, S. L., Ma, H., & Zhang, L. S. (2012). Expansion and diversification of the *SET domain* gene family following whole-genome duplications in Populus trichocarpa. *BMC evolutionary biology*, 12(1), 51.

- Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., Van de Peer, Y., ... & Rombauts, S. (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic acids research*, 30(1), 325-327.
- Lesk, C., Rowhani, P., & Ramankutty, N. (2016). Influence of extreme weather disasters on global crop production. *Nature*, 529(7584), 84-87.
- Letunic, I., & Bork, P. (2024). Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic acids research*, 52(W1), W78-W82.
- Li, W., Yan, J., Wang, S., Wang, Q., Wang, C., Li, Z., ... & Xu, J. (2021). Genome-wide analysis of SET-domain group histone methyltransferases in apple reveals their role in development and stress responses. *BMC genomics*, 22(1), 283.
- Liang, W., Ma, X., Wan, P., & Liu, L. (2018). Plant salt-tolerance mechanism: A review. *Biochemical and biophysical research communications*, 495(1), 286-291.
- Liu, D., Hunt, M., & Tsai, I. J. (2018). Inferring synteny between genome assemblies: a systematic evaluation. *BMC bioinformatics*, 19(1), 26.
- Liu, W., Yang, S., Chen, Y., Ye, S., Lin, W., Lin, X., ... & Liu, B. (2025). Genome-Wide Analysis of AGC Genes Related to Salt Stress in Soybeans (*Glycine max*). *International Journal of Molecular Sciences*, 26(6), 2588.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Lu, Y., Zhang, Y., Yao, L., Yuan, D., Yao, B., Zhou, B., & He, B. (2025). Identification and functional analysis of the *SET* domain-containing gene family in *Cordyceps militaris*. *Scientific Reports*, 15(1), 35668.
- Lu, Z., Huang, X., Ouyang, Y., & Yao, J. (2013). Genome-wide identification, phylogenetic and co-expression analysis of *OsSET* gene family in *rice*. *PLoS One*, 8(6), e65426.
- Luo, M., Liu, X., Singh, P., Cui, Y., Zimmerli, L., & Wu, K. (2012). Chromatin modifications and remodeling in plant abiotic stress responses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1819(2), 129-136.
- Marmorstein, R. (2003). Structure of *SET* domain proteins: a new twist on histone methylation. *Trends in biochemical sciences*, 28(2), 59-62.
- Mathobo, R., Marais, D., & Steyn, J. M. (2017). The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agricultural Water Management*, 180, 118-125.
- McClean, P. E., Mamidi, S., McConnell, M., Chikara, S., & Lee, R. (2010). Synteny mapping between common bean and soybean reveals extensive blocks of shared loci. *BMC genomics*, 11, 184. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-184>
- Messina, V. (2014). Nutritional and health benefits of dried beans<sup>123</sup>. *The American journal of clinical nutrition*, 100, 437S-442S.
- Mistry, J., Chuguransky, S., Williams, L., Qureshi, M., Salazar, G. A., Sonnhammer, E. L. and Bateman, A. 2021. Pfam: The protein families database in 2021. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D412-D419.

- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in plant science*, 11(1), 15-19.
- Ng, D. W., Wang, T., Chandrasekharan, M. B., Aramayo, R., Kertbundit, S., & Hall, T. C. (2007). Plant *SET domain*-containing proteins: structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1769(5-6), 316-329.
- Örs, S., & Ekinci, M. (2015). Kuraklık stresi ve bitki fizyolojisi. *Derim*, 32(2), 237-250.
- Panahi, B., Mohammadi, S. A., Khaksefidi, R. E., Mehrabadi, J. F., & Ebrahimie, E. (2015). Genome-wide analysis of alternative splicing events in *Hordeum vulgare*: Highlighting retention of intron-based splicing and its possible function through network analysis. *FEBS letters*, 589(23), 3564-3575.
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Powell, H. R., Islam, S. A., David, A., & Sternberg, M. J. (2025). Phyre2. 2: a community resource for template-based protein structure prediction. *Journal of molecular biology*, 168960.
- Qian, Y., Xi, Y., Cheng, B., Zhu, S., & Kan, X. (2014). Identification and characterization of the *SET domain* gene family in maize. *Molecular biology reports*, 41(3), 1341-1354.
- Quevillon, E., Silventoinen, V., Pillai, S., Harte, N., Mulder, N., Apweiler, R., & Lopez, R. (2005). InterProScan: protein domains identifier. *Nucleic acids research*, 33(suppl\_2), W116-W120.
- Salgotra, R. K., & Chauhan, B. S. (2023). Genetic diversity, conservation, and utilization of plant genetic resources. *Genes*, 14(1), 174.
- Sarma, S., & Lodha, M. (2017). Phylogenetic relationship and domain organisation of *SET domain* proteins of Archaeplastida. *BMC Plant Biology*, 17(1), 238.
- Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., ... & Jackson, S. A. (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature genetics*, 46(7), 707-713.
- Sehrish, S., Sumbal, W., Xie, M., Zhao, C., Zuo, R., Gao, F., & Liu, S. (2022). Genome-wide identification and characterization of *SET domain* family genes in *Brassica napus* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 1936.
- Smirnoff, N. (1993). Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New phytologist*, 27-58.
- Suppiyar, V., Bonthala, V. S., Shrestha, A., Krey, S., & Stich, B. (2024). Genome-wide identification and expression analysis of the *SET domain*-containing gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.). *BMC Genomics*, 25(1), 442.
- Suyama, M., Torrents, D., & Bork, P. (2006). PAL2NAL: robust conversion of protein sequence alignments into the corresponding codon alignments. *Nucleic acids research*, 34(suppl\_2), W609-W612.
- Szakonyi, D., & Duque, P. (2018). Alternative splicing as a regulator of early plant development. *Frontiers in plant science*, 9, 1174.

- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Nastou, K. C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., ... & von Mering, C. (2021). The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic acids research*, 49(D1), D605-D612.
- Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., ... & Von Mering, C. (2023). The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic acids research*, 51(D1), D638-D646.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D. G. (1997). The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic acids research*, 25(24), 4876-4882.
- Trievel, R. C., Beach, B. M., Dirk, L. M., Houtz, R. L., & Hurley, J. H. (2002). Structure and catalytic mechanism of a *SET domain* protein methyltransferase. *Cell*, 111(1), 91–103. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)01000-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)01000-0)
- Uebersax, M. A., Cichy, K. A., Gomez, F. E., Porch, T. G., Heitholt, J., Osorno, J. M., ... & Bales, S. (2023). Dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as a vital component of sustainable agriculture and food security—A review. *Legume science*, 5(1), e155.
- Urry, L. A., Cain M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Orr, R. B. 2022. Campbell Biyoloji. Palme yayınevi, 863, Ankara
- Vincentz, M., Cara, F. A., Okura, V. K., da Silva, F. R., Pedrosa, G. L., Hemerly, A. S., Capella, A. N., Marins, M., Ferreira, P. C., França, S. C., Grivet, L., Vettore, A. L., Kemper, E. L., Burnquist, W. L., Targon, M. L., Siqueira, W. J., Kuramae, E. E., Marino, C. L., Camargo, L. E., Carrer, H., ... Menck, C. F. (2004). Evaluation of monocot and eudicot divergence using the sugarcane transcriptome. *Plant physiology*, 134(3), 951–959. <https://doi.org/10.1104/pp.103.033878>
- Voorrips, R.E., 2002. Mapchart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *J. Hered.* 93, 77–78.
- Vyas, V. K., Ukawala, R. D., Ghate, M., & Chintha, C. (2012). Homology modeling a fast tool for drug discovery: current perspectives. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 74(1), 1.
- Wang, P., Yin, L., Liang, D., Li, C., Ma, F., & Yue, Z. (2012). Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. *Journal of pineal research*, 53(1), 11-20.
- Wang, T. T., Yu, T. F., Fu, J. D., Su, H. G., Chen, J., Zhou, Y. B., ... & Xu, Z. S. (2020). Genome-wide analysis of the *GRAS* gene family and functional identification of *GmGRAS37* in drought and salt tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 604690.
- Wang, Z., Fu, W., Zhang, X., Liusui, Y., Saimi, G., Zhao, H., ... & Guo, Y. (2024). Identification of the *Gossypium hirsutum* *SDG* Gene Family and Functional Study of *GhSDG59* in Response to Drought Stress *Plants*, 13(9), 1257.
- Weng, X., Zhou, X., Xie, S., Gu, J., & Wang, Z. Y. (2021). Identification of cassava alternative splicing-related genes and functional characterization of *MeSCL30*

- involvement in drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 160, 130-142.
- Whyte, T. D., & Sipahi, H. (2024). Bioinformatic and Expression Analyses of the Wall-Associated Kinase Genes Under High-Temperature Stress in *Sorghum*. *Physiologia Plantarum*, 176(1), e14125.
- Wilson, J. R., Jing, C., Walker, P. A., Martin, S. R., Howell, S. A., Blackburn, G. M., ... & Xiao, B. (2002). Crystal structure and functional analysis of the histone methyltransferase *SET7/9*. *Cell*, 111(1), 105-115.
- Xiao, M., Wang, J., & Xu, F. (2022). Methylation hallmarks on the histone tail as a linker of osmotic stress and gene transcription. *Frontiers in Plant Science*, 13, 967607.
- Yadav, C. B., Muthamilarasan, M., Dangi, A., Shweta, S., & Prasad, M. (2016). Comprehensive analysis of *SET domain* gene family in foxtail millet identifies the putative role of *SiSET14* in abiotic stress tolerance. *Scientific reports*, 6(1), 32621.
- Yang, X., Gao, Y., Zhu, C., Li, X., Gao, Y., & Li, K. (2024). Genome-Wide Identification of the *SlSET* Gene Family and the Function of *SlSET6* Under Salt Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13461.
- Yang, Z. (2007). PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Molecular biology and evolution*, 24(8), 1586-1591.
- Yıldırım, E., Caşka Kılıçaslan, S., Ekinci, M., Kul, R. (2020). Kuraklık Stresinin Fasulyede Bitki Gelişimi, Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikler Üzerine Etkisi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 36(2), 264-273.
- Yu, M. H., Liao, W. C., & Wu, K. (2025). Histone methylation in plant responses to abiotic stresses. *Journal of Experimental Botany*, e1058.
- Yu, Q., Li, C., Zhang, J., Tian, Y., Wang, H., Zhang, Y., ... & Zhang, L. (2020). Genome-wide identification and expression analysis of the *Dof* gene family under drought stress in tea (*Camellia sinensis*). *PeerJ*, 8, e9269.
- Yüksel, B., & Aksoy, Ö. (2017). Su Stresi Koşullarında Bitkilerde Gözlenen Değişimler. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 10(2), 1-5.
- Zhang, J. (2013). Gene duplication. *Princeton Guide to Evolution*, 397, 405.
- Zhang, X., Tamaru, H., Khan, S. I., Horton, J. R., Keefe, L. J., Selker, E. U., & Cheng, X. (2002). Structure of the *Neurospora SET domain* protein DIM-5, a histone H3 lysine methyltransferase. *Cell*, 111(1), 117-127.
- Zhou, H., Liu, Y., Liang, Y., Zhou, D., Li, S., Lin, S., ... & Huang, L. (2020). The function of histone lysine methylation related *SET domain* group proteins in plants. *Protein Science*, 29(5), 1120-1137.
- Zhu, J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual review of plant biology*, 53(1), 247-273.