



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SORGUM (*Sorghum bicolor*) *SnRK2* GEN
AİLESİNİN SOĞUK STRESİ ALTINDAKİ
TRANSKRİPTOMİK YANITLARININ
BİYOİNFORMATİK ANALİZİ**

Serhad BÜYÜKYILDIZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı

KASIM-2025
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SORGUM (*Sorghum bicolor*) *SnRK2* GEN
AİLESİNİN SOĞUK STRESİ ALTINDAKİ
TRANSKRİPTOMİK YANITLARININ
BİYOİNFORMATİK ANALİZİ**

Serhad BÜYÜKYILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fırat KURT

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Ertuğrul FİLİZ

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Fırat KURT

Jüri Üyesi: Dr. Işıl Nihan KORKMAZ

**KASIM-2025
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ PROJESİ KABUL ve ONAYI

Serhad BÜYÜKYILDIZ tarafından hazırlanan “Sorgum (*Sorghum bicolor*) bitkisinde SnRK2 Gen Ailesinin Soğuk Stresi Altındaki Transkriptomik Yanıtlarının Bionformatik Analizi” adlı tez çalışması 14/10/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Ertuğrul FİLİZ
Düzce Üniversitesi, Çilimli Meslek Yüksekokulu,
Bitkisel ve Hayvansal Bölümü

.....

Danışman

Doç. Dr. Fırat KURT
Muş Alparslan Üniversitesi, Uygulamalı
Bilimler Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümü

.....

Üye

Dr. Işıl Nihan KORKMAZ
Muş Alparslan Üniversitesi, Uygulamalı
Bilimler Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümü

.....

Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu/...../..... Tarih ve/..... nolu kararı
ile onaylanmıştır.

Prof.Dr. Selçuk SAĞIR
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

DECLARATION PAGE

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

İmza

Serhad BÜYÜKYILDIZ

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SORGUM (*Sorghum bicolor*) *SnRK2* GEN AİLESİNİN SOĞUK STRESİ ALTINDAKİ TRANSKRİPTOMİK YANITLARININ BİYOİNFORMATİK ANALİZİ

Serhad BÜYÜKYILDIZ

Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fırat KURT

Bu çalışmada, *Sorghum bicolor* bitkisinde *SnRK2* gen ailesine ait *SORBI_3002G379400* geninin Ağırlıklandırılmış Koekspresyon Ağı (AGKA) Analizi yoluyla moleküler ağlar içindeki rolü ve etkileşimlerinin belirlenmesini hedeflenmiştir. AGKA sonuçlarına göre, *SnRK2* ile yüksek korelasyon gösteren 23 gen çifti belirlenmiş ve bu genlerin transkripsiyonel düzenleme, membran taşınımı, protein fosforilasyonu, translasyonel kontrol ve redoks homeostazi gibi temel biyolojik süreçlerle ilişkili olduğu ortaya konmuştur. *SnRK2*'nin ağ içindeki merkezi konumu, onu abiyotik stres yanıtlarında kilit bir düzenleyici haline getirmektedir.

Etkileşim gösteren genler arasında AMPK homologları, ferredoksinle ilişkili elektron taşıma genleri, iyon kanalları ve ribozomal protein genleri yer almakta, bu da *SnRK2*'nin stres sinyallemede çok katmanlı bir rol üstlendiğini göstermektedir. Literatürle desteklenen bu bulgular, *SnRK2*'nin sadece ABA sinyali ile sınırlı kalmayıp enerji dengesi, çeviri, redoks ve iyon yanıtları gibi hayati süreçlerde de aktif olduğunu göstermektedir. Gelecekteki deneysel doğrulama çalışmaları, bu genlerin fonksiyonlarını daha ayrıntılı ortaya koyacak ve *SnRK2* merkezli ağ yapısının biyolojik önemini derinleştirecektir.

2025, 72 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Abiyotik stres, Gen ko-ekspresyon ağı, Redoks homeostazi, *SnRK2*, Transkripsiyonel düzenleme, WGCNA

ABSTRACT

MS THESIS

BIOINFORMATIC ANALYSIS OF THE TRANSCRIPTOMIC RESPONSES OF THE *SNRK2* GENE FAMILY TO COLD STRESS IN SORGHUM (*Sorghum bicolor*)

Serhad BÜYÜKYILDIZ

Muş Alparslan University
Natural ve Applied Sciences
Department of Plant Production and Technologies

Advisor: Assoc. Prof. Fırat KURT

In this study, the aim is to determine the role and interactions of the *SORBI_3002G379400* (or *SORBI_3002G379400*) gene, which belongs to the *SnRK2* gene family in *Sorghum bicolor*, within molecular networks through Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA). Using WGCNA, 23 highly correlated gene pairs were identified, highlighting the strong transcriptional coordination between *SnRK2* and other genes involved in key biological processes such as transcriptional regulation, membrane transport, protein phosphorylation, translational control, and redox homeostasis. The central position of *SnRK2* within the network suggests that it plays a pivotal regulatory role in abiotic stress responses.

Among the interacting genes are AMPK homologs, ferredoxin-related electron transport genes, ion channels, and ribosomal protein genes, indicating a multi-layered involvement of *SnRK2* in stress signaling. These results, supported by existing literature, demonstrate that *SnRK2* functions not only in ABA signaling but also in broader cellular pathways including energy balance, translation, redox regulation, and ionic responses. Future experimental validations will be crucial to elucidate the functional roles of these genes and to explore the full regulatory potential of the *SnRK2*-centered co-expression network.

2025, 72 Pages

Keywords: Abiotic stress; Gene co-expression network; Redox homeostasis; *SnRK2*; Transcriptional regulation; WGCNA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince bilgi, deneyim ve değerli önerileri ile bana yol gösteren, her aşamada desteğini ve sabrını esirgemeyen danışmanım **Doç. Dr. Fırat KURT**'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Araştırma sürecinde karşılaştığım zorlukların aşılmasında gösterdiği rehberlik ve akademik katkıları, bu çalışmanın tamamlanmasında büyük önem taşımıştır.

Ayrıca, çalışmam boyunca bana destek olan aileme, arkadaşlarıma ve katkı sağlayan tüm kurum ve kişilere şükranlarımı ifade etmek isterim.

Serhad BÜYÜKYILDIZ
MUŞ-2025



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Soğuk Stresi ve Tarımsal Önemi	1
1.2 Sorgumda Soğuk Stresinin Etkileri.....	1
1.3 Bitkilerde Soğuk Stresine Karşı Verilen Moleküler Yanıtlar	2
1.4 <i>SnRK</i> Gen Ailesi ve Abiyotik Stres Yanıtları	2
1.5 <i>SnRK2</i> Genlerinin Sınıflandırılması ve İşlevleri	3
1.6 Sorgum ve Yakın Türlerde <i>SnRK2</i> Genlerinin Rolü	3
1.7 <i>SnRK2</i> Tabanlı Stres Toleransı Islahı	3
1.8 Tezin Amacı.....	4
1. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	20
3.1 <i>SnRK2</i> genlerinin seçilmesi	20
3.2 mRNA Veri Kaynağı ve Veri Ekstraksiyonu	20
3.4 Verinin elde edildiği bitkilerin büyüme ve gelişme koşulları.....	20
3.4.1 Örnek toplama.....	21
3.4.2 RNA dizileme süreci:.....	21
3.5 Biyoinformatiksel Analizler	21
3.5.1 Verilerin Galaxy Platformuna Yüklmesi	21
3.5.2 Verilerin Ekstraksiyonu, Etiketlenmesi ve Kalite Kontrolü	22
3.5.3 Verilerin Kırılması	22
3.5.4 Genom Bilgi Dosyalarının İndirilmesi	22
3.5.5. Genoma Hizalanma ve Okuma Yönünün Belirlenmesi.....	22
3.5.6 Diferansiyel Gen Ekspresyon Analizi.....	23
3.5.7 AGKA Haritasının Oluşturulması	23
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA	26
4.1 Ham Verilere Ait Önemli Grafikler.....	26
4.1.1 Veri Kalitesine Ait Genel İstatistikler	26
4.1.2 Ham RNA Dizilerine Ait Ortalama Kalite Skorları.....	27

4.1.3 Ham RNA Dizilerine Ait Ortalama GC İçeriği Oranları	29
4.1.4 Ham mRNA Dizilerine Ait Dizi Duplikasyon Oranları	30
4.1.5 Dizi Uzunluğu Dağılımı.....	32
4.2 Trimleme Sonrası Kalite Değerlendirmesi	32
4.2.1 Fastp Özeti	33
4.2.2 Filtrelenen Okuma Dağılımı	33
4.2.3 Okuma Kalitesi	34
4.2.4 GC İçeriği	35
4.2.5 Aşırı Temsil Edilen Diziler.....	36
4.3 STAR ile Genoma Hizalama Sonuçlarının Değerlendirilmesi	37
4.3.1 STAR Alignment Özeti	37
4.3.2 STAR İstatistiksel Özeti	38
4.3.3 STAR Hizalama Kategorileri.....	39
4.4 FeatureCounts ile Genlere Okuma Atanması	40
4.4.5 FeatureCounts Okuma Atamaları	40
4.4.6 Genlere Atanan Okuma Oranları	41
4.5 PCA Plot	42
4.6 Örnekler Arası Mesafe Isı Haritası	42
4.7 Dağılım (Dispersion) Tahminleri.....	42
4.8 p-değeri Histogramı	44
4.9 MA Plot.....	45
4.10 WGCNA Analizi: Modüllerin Tanımlanması ve Yorumlanması	45
4.10.1 Gen Koekspresyon Ağı Topolojisi	46
4.10.2 Modül Boyutları ve Kesişimler.....	46
4.10.3 Hub Gen Adayları	47
4.10.4 Korelasyon Eşiği ile Ağ Yoğunluğu İlişkisi	48
4.10.5 Modüller Arası Gen Sayısı Dağılımı	49
4.10.6 Gen Dendrogramı ve Modül Atamaları	49
4.10.7 Hub Genlerin Ekspresyon Profil Isı Haritası	50
4.10.8 Modül-Trait Korelasyon Matrisi.....	51
4.10.9 Ölçeksiz Topolojiye Uygunluk ve Ortalama Bağlantı Değişimi	52
4.11 SnRK genlerine ait gen etkileşimleri	52
4.11.1 <i>SnRK2</i> Genine Ait WGCNA Modül Analizi	52
4.11.2 <i>SnRK2</i> Genlerinin Etkileşim Ağı (Edge List) Yorumu.....	56
5. TARTIŞMA.....	60
5.1 <i>SnRK2</i> Ağ Yapısının Modülerliği ve Fonksiyonel Bütünlük	61
5.2 Potansiyel Biyoteknolojik Hedeflerin Belirlenmesi	61
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	65

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
Ca ²⁺	: Kalsiyum iyonu
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
PEP	: Fosfoenolpiruvat
ROS	: Reaktif oksijen türleri
→	: Yön, etkileşim, dönüşüm belirtir
↑/↓	: Artış/Azalış (gen ekspresyonu vb.)

Kısaltmalar

ABA	: Absciscic Acid (Absisik Asit)
AMPK	: AMP-activated protein kinase
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
DEG	: Differentially Expressed Genes
FDR	: False Discovery Rate
GC	: Guanine-Cytosine
GO	: Gene Ontology
KEGG	: Kyoto Encyclopedia of Genes ve Genomes
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
PCA	: Principal Component Analysis
qRT-PCR	: Quantitative Real-Time PCR
RNA-seq	: RNA sequencing
ROS	: Reactive Oxygen Species
SCS	: SnRK2-interacting Calcium Sensor

SnRK	: Sucrose non-fermenting 1-related kinase
SnRK2	: Sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2
STRING Genes/Proteins	: Search Tool for the Retrieval of Interacting
TPM	: Transcripts Per Million
TF	: Transcription Factor
WGCNA	: Weighted Gene Co-expression Network Analysis
WRKY	: Bitkilere özgü bir transkripsiyon faktörü ailesi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilerin genel istatistikleri.....	26
Şekil 4.2 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilerin genel istatistikleri.....	27
Şekil 4.3 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilerin kalite profili	28
Şekil 4.4 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilerin kalite profili.....	28
Şekil 4.5 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait GC içeriği (%).....	29
Şekil 4.6 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait GC içeriği (%).....	30
Şekil 4.7 Kontrol bitkilerinden edilen dizilere ait duplikasyon oranları	31
Şekil 4.8 Uygulama yapılmış bitkilerden edilen dizilere ait duplikasyon oranları	32
Şekil 4.9 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait Fastp genel istatistikleri	33
Şekil 4.10 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait Fastp genel istatistikleri.....	33
Şekil 4.11 Kontrol bitkilerinden edilen dizilere ait Read 1'e ait okuma dağılımı.....	33
Şekil 4.12 Uygulama bitkilerinden elde edilen dizilere ait Read 1'e ait okuma dağılımı	34
Şekil 4.13 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait dizi kaliteleri	34
Şekil 4.14 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait dizi kaliteleri.....	35
Şekil 4.15 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait GC içerikleri.....	35
Şekil 4.16 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait GC içerikleri.....	36
Şekil 4.17 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait Read 1'e ait aşırı temsil edilen diziler.....	36
Şekil 4.18 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait Read 1'e ait aşırı temsil edilen diziler	37
Şekil 4.19 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait hizalama özeti	38
Şekil 4.20 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait hizalama özeti.....	38
Şekil 4.21 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait istatistiksel özet.....	38
Şekil 4.22 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait istatistiksel özet	38
Şekil 4.23 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait hizalama kategorileri skorları	39
Şekil 4.24 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait hizalama skorları ..	39
Şekil 4.25 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait okuma atamaları	40
Şekil 4.26 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait okuma atamaları ...	41
Şekil 4.27 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait okuma oranları	41
Şekil 4.28 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait okuma oranları	41
Şekil 4.29 PCA (Principal Component Analysis) veya Temel Bileşenler Analizi.....	42
Şekil 4.30 Örnekten örneğe ısı haritası.....	43
Şekil 4.31 Dispersiyon haritası.....	43
Şekil 4.32 Genler için hesaplanan p-değerlerinin histogramı.....	44
Şekil 4.33 Log2 ifade farkı ile Ortalama ifade farkı arasındaki ilişki	44
Şekil 4.34 Genlerin birbirleriyle etkileşimlerini gösteren koekspresyon ağı	46
Şekil 4.35 Koekspresyon gruplarına ait modül grupları ve gen içerikleri.....	46
Şekil 4.36 Koekspresyon ağında yer alan modüllerdeki olası hub genler.....	47
Şekil 4.37 Bağlantı ve eşik değerleri arasındaki korelasyon	48
Şekil 4.38 Üç modülde yer alan gen sayılarını gösteren Venn diyagramı	49
Şekil 4.39 Modüllere ait gen dendogramı	49
Şekil 4.40 En yüksek ekspresyonlu hub genlere ait ısı haritası.....	50
Şekil 4.41 Modül ile belirli örnek grupları (trait) arasındaki korelasyon katsayısı ve p-değerleri.....	51

Şekil 4.42 Ölçeksiz ve Ortalama bağlantı grafikleri.....	52
Şekil 4.43 SnRK2 genin etkileştiği genler.....	56



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Denemeye ait veri dizaynı ve SRA kodları	22
Çizelge 3.2 Hesaplanan Güç Değerleri (Power) ve Ölçeksiz topoloji uyum indeksi (R^2)	24
Çizelge 3.3 Cytoscape programında görüntülenecek bağlantı ve kenar sayısının belirlenmesi	25
Çizelge 4.4 SnRK2 geni ile etkileşen genlere ait modül tablosu.....	54
Çizelge 4.5 SnRK2 geni ile etkileşen genlere ait ağırlıklar.....	57
Çizelge 4.6 SnRK2 geni ile etkileşen genlerin GO ve KEGG fonksiyonları	59



1. GİRİŞ

1.1 Soğuk Stresi ve Tarımsal Önemi

Bitkiler, çevresel koşullardaki değişimlere karşı sınırlı hareket yetenekleri nedeniyle fizyolojik ve biyokimyasal yanıtlar geliştirerek hayatta kalmaya çalışırlar. Bu bağlamda, düşük sıcaklıklar bitkilerde "soğuk stresi" olarak tanımlanan önemli bir abiyotik stres faktörünü oluşturur. Soğuk stresi, genellikle 0 °C'nin üzerindeki düşük sıcaklıklar için kullanılırken; daha şiddetli durumlarda "don stresi" tanımı da yapılmaktadır. Soğuk stres, bitkilerde hücre zarı bütünlüğünün bozulması, su kaybı, enzimatik aktivitelerde düşüş, fotosentezde aksama, solunumda yavaşlama ve hücre iskeletinde yapısal değişikliklere neden olur (Umezawa ve ark., 2013; Zhao ve ark., 2017). Bu etkiler yalnızca bitki metabolizmasını değil, aynı zamanda büyüme, gelişim ve üreme süreçlerini de olumsuz yönde etkiler.

Tarım açısından soğuk stresi büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Erken çimlenme döneminde yaşanan soğuk maruziyeti, tohumların çıkışını azaltmakta; vejetatif dönemde ise büyümenin yavaşlamasına ve biyokütle üretiminin düşmesine neden olmaktadır. Soğuk stresi, özellikle ilkbahar donları veya yaz başında yaşanan ani sıcaklık düşüşleriyle birlikte, yetiştirilen bitki türlerinde ciddi ürün kayıpları yaratmaktadır (Chen ve ark., 2020).

1.2 Sorgumda Soğuk Stresinin Etkileri

Sorgum (*Sorghum bicolor*), kuraklığa toleransı yüksek, ılıman ve tropikal bölgelerde yaygın olarak yetiştirilen stratejik öneme sahip bir tahıldır. Ancak sorgum, düşük sıcaklıklara karşı oldukça hassastır ve bu durum özellikle serin iklimlerde üretimi sınırlandıran önemli bir faktördür. Sorgumda soğuk stresi, çimlenme gecikmesi, kök gelişiminin kısıtlanması, yaprak yüzey alanında azalma ve klorofil miktarında düşüşe neden olmaktadır (Zhang ve ark., 2023). Bu etkiler, fotosentetik etkinliği sınırlandırarak bitkilerin gelişimini baskılamakta ve sonuç olarak tane verimini olumsuz etkilemektedir.

Soğuk stresinin özellikle çiçeklenme döneminde meydana gelmesi, fertilité kaybına ve ürün miktarının dramatik biçimde düşmesine neden olur. Ayrıca, düşük sıcaklıklar lignifikasyon ve hücre duvarı kalınlaşması gibi savunma mekanizmalarını aktive etse de, bu süreçler genellikle büyüme ve verimlilik açısından maliyetlidir.

Sorgumda bu stres koşullarının oluşturduğu etkilerin moleküler düzeyde anlaşılması, soğuga toleranslı yeni varyetelerin geliştirilmesi için kritik önem arz etmektedir.

1.3 Bitkilerde Soğuk Stresine Karşı Verilen Moleküler Yanıtlar

Bitkiler, soğuk stresine karşı çok yönlü sinyal ağları üzerinden çeşitli yanıt mekanizmaları geliştirirler. Bu yanıtlar genellikle sinyal algılama, transdüksiyon, transkripsiyonel düzenleme ve metabolik yeniden yapılanma olmak üzere dört temel aşamada gerçekleşmektedir (Takahashi ve ark., 2020). Soğuk algısı, hücre zarında yer alan duysal proteinler aracılığıyla gerçekleştirilmektedir ve ardından kalsiyum iyonları (Ca^{2+}), reaktif oksijen türleri (ROS) ve hormonlar gibi ikincil haberci moleküller aracılığıyla sinyal hücre içine taşınmaktadır.

Abiyotik streslere yanıtın düzenlenmesinde en önemli hormonal sinyal moleküllerinden biri absisik asittir (ABA). ABA, stomatal kapanma, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve osmotik denge gibi süreçlerde görev almaktadır. Soğuk stresi sırasında ABA seviyesi artar ve bu da belirli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikler (Yoshida ve ark., 2019). Bu bağlamda, C-tekrarlı bağlanma faktörü (CBF) ailesi ve **akış-aşağı** hedefleri, soğuk stresin genetik düzeydeki temel düzenleyicileri arasında yer alır.

1.4 *SnRK* Gen Ailesi ve Abiyotik Stres Yanıtları

Sükroz fermentesiz-1 bağlı protein kinazlar (Sucrose non-fermenting-1 related protein kinazs veya *SnRK*) gen ailesi, bitkilerde enerji metabolizması, stres sinyalleme ve gelişimsel süreçlerde merkezi rol oynayan Ser/Thr protein kinazlardan oluşur. Bu gen ailesi, *SnRK1*, *SnRK2* ve *SnRK3* olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır. *SnRK1* üyeleri metabolik homeostazı düzenlerken; *SnRK3* grubu genellikle iyon taşınımı ve kalsiyum sensör proteinleriyle etkileşimler yoluyla işlev görür (Coello ve ark., 2011).

SnRK2 ailesi ise özellikle abiyotik stres yanıtlarında öne çıkmaktadır. Bu genler, ABA'ya bağımlı ve bağımsız sinyal yollarını düzenleyerek, çevresel uyarılara karşı hızlı ve etkin hücresel yanıtların üretilmesini sağlar. Arabidopsis ve diğer model bitkilerde yapılan çalışmalarda, *SnRK2* genlerinin abiyotik strese karşı yüksek duyarlılık gösterdiği ve çok sayıda hücresel süreci koordine ettiği görülmüştür (Stefanik ve ark., 2020).

1.5 *SnRK2* Genlerinin Sınıflandırılması ve İşlevleri

SnRK2 gen ailesi, ABA duyarlılıklarına göre üç sınıfa ayrılmaktadır: Grup I (ABA-bağımsız), Grup II (zayıf ABA yanıtı), Grup III (ABA-duyarlı). Grup III üyeleri, özellikle OST1 (*SnRK2.6*) gibi genlerle ABA sinyalleşmesinde anahtar pozisyonundadır (Sirichvera ve ark., 2010). Bu genlerin inaktivasyonu durumunda stomatal kapanmanın engellendiği ve kuraklık toleransının azaldığı gösterilmiştir.

Öte yandan Grup I üyeleri (ör. *SnRK2.4*, *SnRK2.10*) ABA'dan bağımsız olarak ozmotik ve soğuk stres koşullarında aktive olmaktadır. Bu kinazlar, kök gelişimi, ROS homeostazı ve fotosentetik denge üzerinde düzenleyici etkiye sahiptir. *snrk2.10* mutantlarında fotosistem II verimliliğinde düşüş, ROS birikiminde artış ve büyümede yavaşlama gözlemlenmiştir (Rachowka ve ark., 2023a; Szymańska ve ark., 2019).

1.6 Sorgum ve Yakın Türlerde *SnRK2* Genlerinin Rolü

Sorgumda *SnRK2* ailesine ait genlerin doğrudan fonksiyonel analizleri sınırlı olmakla birlikte, yakın türlerden elde edilen veriler, bu genlerin potansiyel işlevlerini ortaya koymaktadır. Örneğin, buğdayda tanımlanan *TaSnRK2.10* geni, su kaybını azaltan, hücre zarının stabilitesini artıran ve kuraklık toleransını yükselten etkiler sergilemiştir (Zhang ve ark., 2023). Mısırdan izole edilen *ZmSnRK2.11* genin ise stomaların kapanmasının düzenlenmesinde ve bitki su içeriğinin kontrolünde rol aldığı gözlemlenmiştir (Zhang ve ark., 2015).

Patates, pirinç ve Arabidopsis gibi model bitkilerde yapılan gen ekspresyon analizleri, *SnRK2* genlerinin çoğunlukla kök ve yaprak gibi anahtar dokularda ifade edildiğini ve PEG, NaCl, ABA gibi uygulamalara duyarlı olduğunu göstermiştir (Bai ve ark., 2017; Hirayama ve Umezawa, 2010).

1.7 *SnRK2* Tabanlı Stres Toleransı Islahı

SnRK2 genlerinin stres yanıtlarında merkezi düzenleyiciler olması, bu genleri moleküler ıslah çalışmalarında cazip hedefler hâline getirmiştir. Transgenik Arabidopsis bitkilerinde *TaSnRK2.7*, *VvSnRK2.3*, *OsSAPK2* gibi genlerin aşırı ekspresyonu, stres toleransını anlamlı düzeyde artırmıştır (Lan ve ark., 2024a; Wang ve ark., 2013a). *SnRK2* kinazları, yalnızca ABA aracılı gen ekspresyonunu değil; aynı zamanda fotosistem II aktivitesi, karbon metabolizması ve ROS detoksifikasyonu gibi çoklu fizyolojik süreçleri de koordine etmektedir.

Ayrıca, *SnRK2* genlerinin miRNA'lar, transkripsiyon faktörleri (ör. bZIP, ABF), *SCS* gibi düzenleyiciler ve fosfatazlarla etkileşimleri, stres sinyal iletim ağlarının karmaşıklığını ortaya koymaktadır. Bu genlerin moleküler ağlar içindeki yerinin aydınlatılması, tarımsal üretimde stres toleransını artıracak yenilikçi stratejilerin geliştirilmesine katkı sunmaktadır (Maszkowska ve ark., 2021; Yan ve ark., 2017).

1.8 Tezin Amacı

Sorghum bicolor bitkisinde *SnRK2* gen ailesine ait *SORBI_3002G379400* geninin, Ağırlıklandırılmış Koekspresyon Ağı (AGKA) Analizi (veya WGCNA) yoluyla moleküler ağlar içindeki rolü ve etkileşimlerinin belirlenmesidir. Bu analiz yoluyla, SnRK2 ile yüksek korelasyon gösteren gen çiftlerinin belirlenmesi ve bu genlerin transkripsiyonel düzenleme, membran taşınımı, protein fosforilasyonu, translasyonel kontrol ve redoks homeostazı gibi temel biyolojik süreçlerle ilişkisinin ortaya konulması hedeflenmiştir.

1. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Mısır (*Zea mays*) ve sorgum (*Sorghum bicolor*) bitkilerinde soğuk stresine karşı genlerin transkripsiyonel tepkilerini ve bu tepkilerin türler arasındaki farklılıklarını analiz eden Zhang ve ark (2017), özellikle korunan ve türe özgü gen düzenlenme modelleri karşılaştırılarak, soğuğa duyarlı genlerin evrimsel süreçte nasıl farklılaştığı incelemişlerdir. Araştırmacılar, erken aşamalarda benzer transkripsiyonel tepkiler gözlemlerken, daha ileri aşamalarda türler arasındaki farklılıkların arttığını belirlemişlerdir. Gen ifadelerinin analiz edilmesiyle, soğuğa duyarlı genlerin düzenlenme modelleri karşılaştırıldığı çalışmada ve ortolog genler arasındaki transkripsiyonel yanıtların benzerlikleri ile farklılıkları ayrıca değerlendirilmiştir. Son olarak promotör bölgelerde açık kromatin varlığı ve mutasyon oranları da incelendiği çalışma; türler arasındaki genetik tepkilerin belirlenmesi, soğuğa dayanıklılıkla ilişkili evrimsel olarak korunmuş düzenleme mekanizmalarının anlaşılmasına ve biyoteknolojik uygulamalarda hedef genlerin belirlenmesine katkı sağlamıştır (Zhang ve ark., 2017).

Rehman ve ark (2019), buğdayda tane verimiyle ilişkili özellikleri iyileştirmek amacıyla, yüksek verimli ve maliyet etkin bir KASP (kompetitif alel-spesifik PCR) belirteci geliştirmişlerdir. Araştırmada, SnRK2 protein kinaz ailesinin metabolik düzenleme, besin kullanımı ve çevresel stres yanıtlarındaki işlevlerini dikkate alarak, *TaSnRK2.9* geninin 5A, 5B ve 5D kromozomlarındaki üç kopyasını izole etmişler ve bu kopyalardaki genetik varyasyonları analiz etmişlerdir. Yalnızca *TaSnRK2.9-5A*'nın kodlama bölgesinde üç adet tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tespit eden araştırmacılar, diğer iki kopyada ise herhangi bir polimorfizme rastlamamışlardır. Araştırmacılar ayrıca varyasyonlara dayanarak genotipleme amacıyla iki farklı KASP belirteci tasarlamışlardır. Bu belirteçler Çin, Avrupa ve Pakistan kökenli buğday popülasyonlarında uygulandığında dört farklı haplotip (Hap-5A-1, Hap-5A-2, Hap-5A-3 ve Hap-5A-4) elde edilmiştir. Araştırmacılar İlişki Analizleri sonucunda, Hap-5A-1 ve Hap-5A-2 haplotiplerinin yüksek bin tane ağırlığıyla; Hap-5A-4'ün ise başak başına yüksek tane sayısı ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Transgenik pirinçte yürüttükleri doğrulama çalışmaları da bu bulguları desteklemiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar geliştirmiş oldukları KASP belirteçlerinin, belirteç destekli seleksiyon (MAS) yaklaşımlarında etkili bir şekilde kullanılabileceğini ve buğday veriminin

artırılmasına katkı sağlayabilecek değerli moleküler araçlar sunduğunu ifade etmişlerdir (Rehman ve ark., 2019).

Long ve ark. (2021), absisik asidin (ABA) çeşitli biyolojik süreçleri düzenlediğini ve *SnRK2* protein kinazlarının ABA sinyal yolunda merkezi rol oynadığını belirlemişlerdir. Mısırdaki *ZmSnRK2* genlerinin işlevlerine yönelik sınırlı sayıdaki çalışmayı göz önünde bulundurarak, bu gen ailesini detaylı şekilde incelemişlerdir. Mısır genom veritabanında 14 *ZmSnRK2* genini tanımlamış ve bu genlerin filogenetik analizlerde üç alt sınıfa ayrıldığını tespit eden araştırmacılar; ekzon-intron yapılarını analiz ederek, özellikle III. alt sınıfın evrimsel olarak korunduğunu gözlemlemişlerdir. Bu bulgular yine araştırmadaki Sinteni ve kolinearite analizleriyle de desteklenmiştir. Hücre altı lokalizasyon deneylerini yürüterek, *ZmSnRK2* proteinlerinin çekirdekte ve sitoplazmada yer aldığını tespit eden araştırmacılar, RNA-Seq ve qRT-PCR analizlerini gerçekleştirerek, bazı *ZmSnRK2* genlerinin ABA ve sakaroz ile indüklendiğini ortaya koymuşlardır. *ZmSnRK2.10* genini daha ayrıntılı incelediklerinde ise, bu genin çekirdekte yüksek düzeyde ifade edildiğini ve ABA tarafından aktive edildiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu geni Arabidopsis'te aşırı şekilde ifade ederek, ABA'ya duyarsız mutantlarda gözlenen fenotipi kısmen düzelttiklerini ve çiçeklenme sürecini geciktirdiklerini göstermişlerdir. *SnRK2* gen ailesinin tüm genom ve segmental çoğalma yoluyla genişlediğini, ancak tandem çoğalma göstermediği sonucuna ulaşılan araştırma; *ZmSnRK2* proteinlerinin işlevsel özelliklerini daha iyi anlamaya yönelik güçlü bir temel oluşturmaktadır.

Soma ve ark (2020) Arabidopsis bitkisinde yaptıkları çalışmada üç B4 Raf benzeri mitojenle aktive olan protein kinaz kinaz kinazının (MAPKKK'ler) ozmotik stres koşullarında alt sınıf I *SnRK2*'leri fosfore ederek aktive ettiğini belirlemişlerdir. Yazarlar, yaptıkları transkriptom analizlerinde, bu MAPKKK'ların alt sınıf I *SnRK2* tarafından düzenlenen genler ile büyük ölçüde örtüştüğünü ortaya koymuşlardır. Yazarlara göre B4 Raf benzeri mitojenle aktive olan MAPKKK'lar, alt sınıf I *SnRK2*'lerin yukarı akış düzenleyicileri olduğunu göstermektedir. Ayrıca, söz konusu MAPKKK'lerin doğrudan ozmotik stres tarafından aktive edildiği yine bu çalışmada tespit edilmiştir (Soma ve ark., 2020).

Araştırmacılar, armut (*Pyrus bretschneideri*) ve diğer yedi *Rosaceae* türünde *SnRK2* gen ailesini genom çapında analiz etmişlerdir. Sekiz farklı *Rosaceae* türünü

kapsayan bu çalışmada, *SnRK2* genlerinin işlevlerini ilk kez kapsamlı şekilde incelemişlerdir. Yazarlar, genom düzeyindeki taramalarda toplam 71 *SnRK2* genini tanımlamışlar ve bu genlerin filogenetik analizlerde yapısal özelliklerine göre üç alt gruba ayrıldığını tespit etmişlerdir. *SnRK2* genlerinin evrimsel sürecinin değerlendirildiği çalışmada, arındırıcı seçilimin evrimsel süreçte belirleyici bir rol oynadığı, tüm genom duplikasyonu ve dağılmış duplikasyon olaylarının, *Rosaceae* familyasında *SnRK2* gen ailesinin çeşitlenmesini yönlendirdiği Chen ve ark (2020) tarafından ortaya koyulmuştur. İlgili çalışmada transkriptom ve qRT-PCR verileri kullanılarak detaylı bir ifade profili oluşturulmaya çalışıldığında; *PbrSnRK2* genlerinin kök, yaprak, polen, stilus ve çiçek gibi farklı dokularda ifade edildiği, bu genin yaprak dokusunda yüksek düzeyde birikim gösterdiği saptanmıştır. Chen ve ark (2020) bitkileri farklı stres koşullarına maruz bıraktıklarında, bazı genlerin yapraklardaki transkript düzeylerini ABA uygulamasına bağlı olarak yukarı yönde düzenlendiğini gözlemlemişlerdir (Chen ve ark., 2020).

Yao ve ark (2023), patatesten *SnRK2* gen ailesinin evrimsel özelliklerini ve kuraklık direncindeki rollerini moleküler düzeyde incelemişlerdir. Yazarlar, altı kromozom üzerinde konumlanan sekiz *StSnRK2* genini tanımlamışlar ve bu genlerin üç alt gruba ayrıldığını tespit etmişlerdir. Aynı gruptaki genlerin benzer korunmuş motiflere ve yapısal özelliklere sahip olduğunu, bazı genlerin türler arasında geniş çaplı replikasyon geçirdiğini ve evrimsel olarak dikotiledonlara daha fazla yakınlığını belirlemişlerdir. Ayrıca, monokotiledonlarda *SnRK2* genlerinin daha hızlı evrimleştiğini ve kodon kullanım tercihlerinin farklılık gösterdiği yine bu araştırmada belirlenmiştir. Yao ve ark (2023) aynı çalışmalarında kuraklık stresine yönelik yürüttükleri analizlerde, *StSnRK2* genlerinin fizyolojik stres göstergeleriyle ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Transgenik bitkiler üzerinde gerçekleştirdikleri deneylerle araştırmacılar, özellikle *StSnRK2.1* ve *StSnRK2.8* genlerinin kuraklık direncine güçlü katkı sağladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca kuraklık direnci sağlanmasında belirtilen bu iki geni sırasıyla *StSnRK2.2/2.5*, *StSnRK2.4/2.6*'nin daha düşük düzeyde ise *StSnRK2.3* ile *StSnRK2.7*'nin takip ettiğini bildirmişlerdir (Yao ve ark., 2023).

Lan ve ark (2024b), stres koşullarında üzüm *SnRK2* gen ailesine ait *VvSnRK2.7* geninin işlevini ortaya koymak amacıyla transkriptomik verileri taramış ve hedef geni klonlamışlardır. *VvSnRK2.7* proteininin etkileşimli bileşenlerini tanımlamak için maya

iki hibrit (Y2H) analizini uygulamışlar ve bu genin *VvbZIP* proteiniyle spesifik etkileşim kurduğunu göstermişlerdir. Heterolog ifade sisteminde, *VvSnRK2.7* genini *Arabidopsis thaliana* üzerinde eksprese ederek kuraklık stresine karşı verdiği yanıtı değerlendiren araştırmacılar, transgenik bitkilerde bağıl iletkenlik ve malondialdehit (MDA) içeriğinin yabani tipe göre daha düşük seviyelerde gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Buna karşılık, antioksidan enzim aktivitelerinin ve şeker içeriklerinin transgenik hatlarda anlamlı biçimde arttığı yine ilgili araştırmada tespit edilmiştir. Hücresel lokalizasyon analizinde ise, *VvSnRK2.7-EGFP* füzyon proteininin tütün yapraklarında hücre zarı ve çekirdekte lokalize olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular doğrultusunda yazarlar, *VvSnRK2.7* geninin antioksidan sistemleri aktive edebileceğini, hücresel fizyolojik dengeyi koruyabileceğini ve kuraklık stresinde şeker metabolizmasını stabilize edebileceğini ortaya koymuşlardır (Lan ve ark., 2024).

Zhang ve ark (2023), buğdayda (*Triticum aestivum*) sapa kalkma döneminde artan su duyarlılığını dengeleyen *SnRK2* mekanizmasını analiz etmişlerdir. Zhang ve ark (2023) *TaSnRK2.10* olarak tanımladıkları bir genin, çoklu abiyotik stres faktörleri ve çeşitli fitohormonlarla uyarıldığını belirlemişler ve bu geni yapısal ve işlevsel açıdan detaylı şekilde incelemişlerdir. *Oryza sativa* (çeltik)'da ektopik olarak ifade ettikleri *TaSnRK2.10*'un, yaprak su içeriğini artırdığını, hücre zarı stabilitesini iyileştirdiğini ve hayatta kalma oranlarını yükselttiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, aynı deneylerde, su kaybına bağlı H_2O_2 ve MDA birikiminde azalma gözlemlemişlerdir. Moleküler düzeyde yürüttükleri analizlerde yazarlar, *TaSnRK2.10*'un kuraklık yanıtında görev alan *TaERD15* ve glikoliz yolunun önemli bir bileşeni olan *TaENO1* proteinleriyle etkileşim kurarak bu proteinleri fosforile ettiğini göstermişlerdir. Yazarlar, fosforilasyon sonucunda, *TaERD15*'in 26S proteazomu aracılığıyla hızla degradasyona uğradığını ve bu yolla kuraklık toleransını olumsuz etkileyen rolünün hafiflediğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar ayrıca, *TaENO1*'in fosforilasyonu ile fosfoenolpiruvat (PEP) düzeylerinin anlamlı şekilde arttığını ve bu artışın kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde canlılık oranını desteklediğini saptamışlardır. *TaSnRK2.10*'un stomatal açıklığı düzenlediğini, kuraklıkla ilişkili gen ekspresyonunu ve PEP üretimini yönettiğini saptayan yazarlar; aynı zamanda stresle ilişkili proteinlerin, kontrollü degradasyonunu teşvik ederek kuraklık toleransında merkezi bir düzenleyici olduğunu göstermişlerdir (Zhang ve ark., 2023).

Tarnowski ve ark (2020), *SnRK2* grubuna ait proteinlerin, absisik asit (ABA) ile ilişkili gelişim süreçleri ve çevresel stres yanıtlarında temel sinyal bileşenleri olduğunu ortaya koymuşlardır. Önceki araştırmalardan yola çıkarak Tarnowski ve ark (2020), SnRK2-etkileşimli Kalsiyum Sensör (SnRK2-interacting Calcium Sensor veya SCS) proteinlerinin *SnRK2* aktivitesini inhibe edebildiğini dikkate almışlar ve bu etkileşimi *Arabidopsis thaliana* türü üzerinden detaylı şekilde incelemişlerdir. *AtSCS* geninin alternatif transkripsiyon başlangıç bölgeleri kullanarak yalnızca N-terminal dizileri farklı iki izoform (*AtSCS-A* ve *AtSCS-B*) oluşturduğu yazarlar tarafından belirlenmiştir. Tanımlanan *AtSCS-A*'nın yanı sıra, diğer tanımlanan kısa izoform *AtSCS-B*'nin ekspresyon düzeyi, çevresel stres yanıtları, kalsiyum bağlama kapasitesi ve Ca^{2+} varlığında veya yokluğunda gösterdiği konformasyonel değişimleri analiz eden araştırmacılar bu genlerin belirgin farklılıklar sergilediğini tespit etmişleridir. Yazarlar *AtSCS-A* izoformunun kalsiyum sensörü olarak işlev gördüğünü, buna karşılık *AtSCS-B*'nin bu işlevi yerine getirmediğini ifade etmişlerdir. Ayrıca, her iki izoformun da SnRK2 aktivitesini inhibe edebildiğini, ancak *AtSCS-A*'nın bu işlev için kalsiyuma ihtiyaç duyduğunu; *AtSCS-B*'nin ise kalsiyumdan bağımsız şekilde etki gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar *scs-1* mutanları arka planında, 35S promotörü altında *AtSCS-A-c-myc* veya *AtSCS-B-c-myc* proteinlerini kararlı olarak ifade eden transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde yürüttükleri deneylerle, her iki izoformun da ABA ile aktive olan SnRK2 sinyal yollarında negatif düzenleyici rol üstlendiğini ve su eksikliği koşullarında bitki dayanıklılığını modüle ettiğini göstermişlerdir. Son olarak, araştırmacılar bitkisel proteinlerde bulunan EF-hve-benzeri motiflerin biyokimyasal, biyofiziksel ve işlevsel rollerine dikkat çekmişlerdir (Tarnowski ve ark., 2020).

Mazur ve ark (2021), bitkilere özgü SNF1-ilişkili protein kinaz tip 2 (SNF1-Related protein kinases Type 2 veya *SnRK2*) ailesinin, absisik asit (ABA) bağımlı ve bağımsız sinyal iletim yollarında merkezi düzenleyici roller üstlendiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar *Arabidopsis thaliana* üzerinde gerçekleştirdikleri analizlerde, ABA tarafından aktive edilmeyen *SnRK2.4* ve *SnRK2.10*'un, rozet yapraklarda tuz stresine karşı erken yanıt sürecinde devreye girdiğini ve uzun süreli tuzluluk koşullarında yaprak büyümesini geciktirdiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında *snrk2.10* mutantlarında, fotosistem II (PSII) proteinlerinin yeniden düzenlenmesinde yetersizlik tespit etmişler; bu durumun fotokimyasal olmayan sönmeyi artırdığını, PSII kuantum verimini düşürdüğünü ve fotosentetik

adaptasyonu zayıflattığını göstermişlerdir. Ayrıca yazarlar aynı mutantlarda, reaktif oksijen türlerinin (ROS) biriktiğini ve bu birikimin fotosentetik hasarı derinleştirdiğini, büyüme üzerinde ise olumsuz etkiler oluşturabileceğini ileri sürmüşlerdir. Buna karşılık, *snrk2.4* mutantlarında fotosentezle ilişkili anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir. Elde ettikleri bulgular, *SnRK2.10*'un tuz stresine karşı erken dönemde hızla aktive olduğunu; fotosentezin korunmasına, oksidatif hasarın sınırlandırılmasına ve genel stres toleransının artırılmasına önemli katkılar sağladığını göstermektedir (Mazur ve ark., 2021).

Son ve Park (2023), bitki büyümesi, gelişimi ve çevresel streslere karşı geliştirilen hücresel yanıtların, uyarana bağlı olarak aktive edilen sinyal yolları üzerinden düzenlendiğini belirtmişlerdir. Bu yolların, merkezi düzenleyiciler aracılığıyla çeşitli bileşenler tarafından modüle edildiğini; protein fosforilasyonunun ise kinazlar yoluyla gerçekleştirilen sinyal iletiminde kritik bir posttranslasyonel mekanizma olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar Serin/treonin kinazlardan oluşan SnRK ailesini, bitkilerde yüksek düzeyde korunan ve üç alt gruba ayrılan bir gen ailesi olarak tanımlamışlar; SnRK proteinlerinin yalnızca büyüme ve gelişimi değil, aynı zamanda abiyotik ve biyotik stres yanıtlarını kapsayan geniş bir sinyal ağı içinde işlev gördüğünü ortaya koymuşlardır. Özellikle çeltik üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarla, *SnRK*'lerin karmaşık düzenleyici rollerine ilişkin mevcut bilgileri derinleştiren yazarlar, derlemelerinde *OsSnRK* sinyal yollarının büyüme, gelişim ve stres tepkilerindeki işlevlerini detaylandırarak bu bilgilerin *SnRK* temelli stres toleransı stratejilerinin geliştirilmesine bilimsel bir temel sağlayabileceğini ifade etmişlerdir (Son ve Park., 2023).

Rachowka ve ark (2023), canlı organizmaların çevresel değişimlere uyum sağlamak amacıyla çevrelerini algılayarak uygun hücresel yanıtlar ürettiğini ve bu süreçte sinyal iletiminin fosforilasyon kaskatları aracılığıyla yürütüldüğünü ifade etmişlerdir. Çalışmada bitkilere özgü Ser/Thr protein kinazlarından oluşan *SnRK2* ailesinin, ozmotik stres ve tuzluluk koşullarında ABA-bağımlı ve bağımsız sinyal yollarında merkezi düzenleyici olarak görev aldığı gösterilmiştir. Tuz stresinin yalnızca su eksikliğiyle sınırlı kalmayıp aynı zamanda iyon dengesizliği ve oksidatif strese yol açtığını; bu durumun reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimine neden olduğunu vurgulamışlardır. Arabidopsis üzerinde araştırmacılar yürüttükleri deneylerde, ROS'un

WRKY transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerin ekspresyonunu *SnRK2.10* aracılığıyla indüklediğini ve *snrk2.10* mutantlarında bu genlerin ifadesinde belirgin bir azalma meydana geldiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca ROS'un etkisinin kaynağa bağlı olarak farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar H_2O_2 'nin *SnRK2.10*'u aktive ettiğini ancak *WRKY* genlerinin ekspresyonunu sınırlı düzeyde artırdığını; buna karşılık metil viyolojen (*MV*) uygulamasının *SnRK2.10*'u aktive etmeden yüksek seviyede *WRKY* ekspresyonu sağladığını göstermişlerdir. Çalışmada özellikle *WRKY33*, *WRKY40*, *WRKY46* ve *WRKY75* genlerini geniş kapsamlı stres yanıtı hedefleri olarak tanımlanmıştır. Bu bulgularla *SnRK2.10*'un, stres yanıtlarında ROS kaynağına ve diğer sinyallere bağlı olarak hassas biçimde düzenlendiğini göstermişlerdir (Rachowka ve ark., 2023a).

Shahzad ve ark (2024), toprak suyunun kökler aracılığıyla alınmasının bitki su homeostazının temel bir bileşeni olduğunu ve değişen çevre koşullarında büyümeyi ve hayatta kalmayı desteklediğini belirtmişlerdir. Yazarlar bu sürecin kök hidrolik iletkenliği (*Lpr*) üzerinden gerçekleştiğini ve *Lpr*'nin akuaporinler tarafından düzenlendiğini göstermişlerdir. Arabidopsis'te yürüttükleri çalışmalarında araştırmacılar, kantitatif özellik lokusu (QTL) analizleriyle, Col-0 kökenli *SnRK2.4* geninin PIP-bağımlı su taşınımını artırarak *Lpr*'nin %30'dan fazlasına katkı sağladığını ortaya koymuşlardır. Cvi-0 genotipindeki *SnRK2.4* formunun inaktif olduğu; buna karşılık Col-0 formunun, PIP2;1 akuaporiniyle etkileşerek Ser121 pozisyonunu fosforile ettiği yine ilgili çalışmada tespit edilmiştir. *Xenopus* oositleri ve maya hücrelerinde yürütülen deneylerde, bu fosforilasyonun su taşıma aktivitesini artırdığı, *SnRK2.4*'ün bu aktivasyonunun protein kinaz işlevine bağlı olduğu ve A sınıfı protein fosfataz 2C ile inhibe edilebildiği tespit edilmiştir. *SnRK2.4*'ün ABA sinyal modülleriyle benzerlik taşımasına rağmen, ABA'nın *Lpr* üzerindeki uzun süreli baskılayıcı etkilerinin *SnRK2.4* dışındaki mekanizmalarla yönetildiği Shahzad ve ark (2024) tarafından öne sürülmüş; ayrıca, *SnRK2.4*'ün stomatal açıklığın sürdürülmesinde ve ABA'ya bağlı kök büyümesi inhibisyonunda görev aldığı belirlenmiştir (Shahzad ve ark., 2024). Araştırmacıların analiz sonuçları genetik, moleküler ve fizyolojik verilerle birlikte değerlendirildiğinde, *SnRK2.4*'ün *Lpr* düzenlenmesinde merkezi ve kısmen özgül bir rol üstlendiği ortaya çıkmaktadır.

Szymańska ve ark (2019), *Arabidopsis thaliana*'da gerçekleştirdikleri çalışmada, *SnRK2.4* ve *SnRK2.10*'un tuzluluk gibi çevresel stres koşullarında oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) yanıtındaki işlevsel rollerini ortaya koymuşlardır. Stresin erken evrelerinde sinyal molekülleri olarak görev yapan ROS'ların, ilerleyen aşamalarda kontrolsüz birikerek lipit, DNA ve protein yapılarında hasara neden olduğu ve hücreSEL düzeyde zararlı etkiler oluşturduğu yazarların çalışmalarında vurgulanmıştır. ROS üretimi ve detoksifikasyonunda birçok sistemin görev aldığı; ROS homeostazının ise bu seviyelerin ve enzimatik aktivitelerin sıkı kontrolüyle sağlandığı ilgili çalışmada belirtilmiştir. Ancak abiyotik stres koşullarında bu homeostazın hangi sinyal yollarıyla düzenlendiği büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır. Çalışmada, *SnRK2.4* ve *SnRK2.10*'un ABA'dan bağımsız şekilde aktive olduğu ve tuz stresinde hem ROS üretiminden hem de temizlenmesinden sorumlu genlerin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Özellikle *SnRK2.4*'ün, strese maruz kalan fidelerde katalaz enzimi düzeyini, aktivitesini ve askorbat miktarını modüle ettiği tespit edilmiştir. Çalışmanın bulguları, her iki kinazın da ROS homeostazının hassas kontrolünde merkezi bir role sahip olduğunu ve abiyotik stres yanıtlarında önemli düzenleyiciler olarak işlev gördüğünü ortaya koymaktadır (Szymańska ve ark., 2019).

Wang ve ark (2023), bitkiye özgü bir protein kinaz ailesi olan SnRK2'nin absisik asit (ABA) sinyal yolunun temel bileşenlerinden biri olduğunu ifade ettikleri çalışmalarında; *Vaccinium corymbosum* (yaban mersini) üzerine yaptıkları çalışmada, *SnRK2* ailesine ilişkin verilerin sınırlı olduğunu vurgulamışlar; gerçekleştirdikleri genom analizleri sonucunda *VcSnRK2.1–VcSnRK2.6* olmak üzere altı üyeyi tanımlamışlardır. Araştırmacılar, bu genlerden *VcSnRK2.3*'ün meyve olgunlaşmasıyla pozitif korelasyon gösterdiğini ve ABA sinyalizasyonu ile uyarıldığını ortaya koymuşlardır. Çalışmadaki geçici gen ekspresyon analizlerinde, *VcSnRK2.3*'ün antosiyanin birikiminin arttığı ve bu etkinin *VcF3H*, *VcDFR*, *VcANS* ve *VcUFGT* gibi antosiyanin biyosentezine katılan genlerin transkripsiyonunu desteklediği belirlenmiştir. *Arabidopsis VcSnRK2.3*'ü aşırı ifadesini sağlayan araştırmacılar, transgenik bitkilerde belirgin antosiyanin pigmentasyonu gözlemlemişlerdir. Yürütülen maya iki hibrit (Y2H) ve bimoleküler floresan komplementasyon (BiFC) analizleriyle araştırmacılar, *VcSnRK2.3*'ün antosiyanin pozitif düzenleyicisi olan *VcMYB1* ile fiziksel etkileşim kurduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, *VcSnRK2.3*'ün, *VcMYB1*'in *VcDFR* promotör bölgesine bağlanma yeteneğini artırdığını gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak,

VcSnRK2.3'ün ABA'ya duyarlılığı aracılığıyla işlev gördüğü ve *VcMYB1* ile kurduğu etkileşim yoluyla antosiyanin birikimini teşvik ettiği ilgili çalışmada ortaya konmuştur (Wang ve ark., 2023).

Kawa ve ark (2020), bitkilerde erken ozmotik ve tuzluluk stresine verilen yanıtlarda *SnRK2* ailesinin merkezi rol oynadığını ortaya koymuşlardır. Arabidopsis thaliana'da *SnRK2* ailesi üyelerinin, ABA ile aktive olan (*SnRK2.2*, 2.3, 2.6, 2.7, 2.8) ve ABA'dan bağımsız işlev görenler (*SnRK2.1*, 2.4, 2.5, 2.9, 2.10) olmak üzere iki gruba ayrıldığını çalışmalarında tespit etmişleridir. Çalışmada, ABA-bağımsız *SnRK2*'lerin, mRNA yıkımında görev alan VARICOSE (VCS) proteinini fosforile ederek posttranskripsiyonel düzeyde etkili olduğunu ve VCS ile yapısal benzeri VCR proteinlerinin *SnRK2.5*, *SnRK2.6* ve *SnRK2.10* genleriyle etkileşime girdiğini ve bu biyokimyasal olayların kinazlar tarafından doğrudan fosforile edildiği belirlemişlerdir. Belirtilen çalışmada *SnRK2.1*, 2.5 ve 2.9'un kontrol koşullarında; *SnRK2.4* ve 2.10'un ise tuz stresine bağlı kök gelişiminde işlev gördüğü ve bu durumun *SnRK2* üyeleri arasında işlevsel yedekliliğe işaret ettiği ifade edilmiştir. Son olarak çalışmada, bu kinazların kök sistemini akuaporin transkript düzeyleri ve *CYP79B2* enziminin ekspresyonu aracılığıyla yönettiği öne sürülmüştür (Kawa ve ark., 2020).

Balakrishnan ve ark (2024), *Oryza sativa* üzerinde yürüttükleri çalışmada, *SnRK1* geninin yaprak zararlısı olan Sonbahar Tırtılı (*Spodoptera frugiperda*)'na karşı olası rolünü incelemişlerdir. Enerji yoksunluğu sinyalizasyonunun temel düzenleyicisi olan *SnRK1*'in, abiyotik ve biyotik stres yanıtlarında görev aldığı bilinmesine rağmen, böcek otçulluğuna karşı etkisi netlik kazanmadığı için çalışmanın yapıldığı bildirilmiştir. Bu amaçla çalışmalarında, *SnRK1* içeren yabani tip ve *snrk1* mutant pirinç hatlarını karşılaştırarak zararlının gelişimi, beslenme etkileri ve bitki savunma tepkilerini değerlendirmişleridir. Ayrıca, aynı çalışmada jasmonik asit (JA) ve JA inhibitörü olan ibuprofen uygulamalarıyla bitkinin hormonal yanıtlarını analiz etmişlerdir. Denemeler sonucunda, *SnRK1* mutasyonunun zararlıya karşı anlamlı bir savunma etkisi oluşturmadığı; buna karşılık JA uygulamasının savunma tepkilerini belirgin biçimde aktive ettiği ortaya konmuştur. Elde ettikleri bulgularında araştırmacılar, çeltikte Sonbahar Tırtılı'na karşı savunmanın ağırlıklı olarak JA aracılığıyla yürütüldüğünü ve *SnRK1*'in bu süreçte sınırlı bir rol üstlendiğini göstermişlerdir (Balakrishnan ve ark., 2024).

Song ve ark (2023), *Poncirus trifoliata* üzerinde yürüttükleri araştırmada, *SnRK2.4* ve *ABF2* proteinlerinden oluşan kompleksin, *ADC* geninin promotör bölgesindeki *ABRE* dizisine bağlanarak gen ekspresyonunu aktive ettiğini ve bunun sonucunda putresin birikimini artırarak kuraklık toleransını güçlendirdiğini göstermişlerdir. Çalışmalarında yazarlar, kuraklık koşullarında ABA tarafından yukarı regüle edilen *ABF2*'nin, *ADC* geninin ifadesini kontrol ettiğini ve bu düzenlemenin *SnRK2.4*'ün *Ser93* pozisyonuna gerçekleştirdiği fosforilasyon aracılığıyla sağladığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca *SnRK2.4*'ün bu fosforilasyon yoluyla putresin biyosentezini teşvik ettiğini ve kuraklık direncine pozitif katkı sağladığını rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, *SnRK2.4*'ün kuraklık stresine karşı geliştirilen moleküler yanıtların hassas kontrolünde merkezi bir işlev üstlendiğini vurgulamışlardır (Song ve ark., 2023).

Yuan ve Zhao (2025), ağır ozmotik stres koşullarında SnRK2 ailesinin hızlı şekilde aktive olduğunu ve çevresel değişimlerin bu sinyal yoluyla algıladığını bildirmişlerdir. Normal koşullarda Clade A tipi 2C protein fosfatazların (*PP2C*), *SnRK2* alt grup III üyelerini inhibe ettiğini; *PYL* proteinlerinin ise bu baskıyı ortadan kaldırdığını ifade etmişlerdir. Şiddetli ozmotik stres altında, SnRK2 alt grup I kinazlarının faz ayrışması yoluyla yoğunlaşmalar oluşturduğunu ve bu mekanizmanın *PP2C* aracılı inhibisyonu devre dışı bıraktığını bildiren araştırmacılar; faz ayrışmasının, kinaz-PP2C etkileşimini keserek sinyal iletimini başlattığını ve alt grup I *SnRK2*'leri çevresel stres yanıtlarında temel düzenleyici konumuna yerleştirdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca sinyalleme, makromoleküler sıkışıklık algısı üzerinden fiziksel ayrışmayla aktive olabileceğini ortaya koymuşlardır (Yuan ve Zhao, 2025).

Soma ve ark (2020), kuraklık ve yüksek tuzluluk gibi ozmotik stres koşullarında *SnRK2* ailesinin bitkisel adaptasyonu düzenleyen temel bir sinyal bileşeni olduğunu bildirmişlerdir. Alt sınıf III *SnRK2*'lerin, ABA sinyalizasyonunun merkezi düzenleyicileri olarak görev yaptığını ve ABA aracılı ozmotik stres yanıtlarında kritik roller üstlendiğini ortaya koymuşlardır. Buna karşılık, ABA'ya duyarsız ve ozmotik stresle hızla aktive olan alt sınıf I *SnRK2*'lerin yalnızca tohumlu bitkilerde geliştiğini belirtmişlerdir. Bu alt grubun aktivasyon mekanizmalarının uzun süre bilinmediğini; ancak üç B4 Raf-benzeri *MAPKKK*'nin bu kinazları doğrudan fosforile ederek aktive ettiğini göstermişlerdir. Yürüttükleri transkriptom analizleriyle, B4 Raf-benzeri

MAPKKK'lerin düzenlediği genlerle alt sınıf I *SnRK2*'lerin hedeflediği genler arasında yüksek oranda örtüşme olduğunu saptamışlardır. Bu verilerle, B4 Raf-benzeri *MAPKKK*'leri, ozmotik stres altında alt sınıf I *SnRK2*'leri doğrudan aktive eden temel yukarı akış düzenleyiciler olarak tanımlamışlardır (Soma ve ark., 2020).

Jiang ve ark (2022), *Triticum aestivum*'da (buğdayda) bitki büyümesi ve çevresel stres yanıtlarının düzenlenmesinde yaşamsal rol oynayan *SnRK*'lara dair bilgilerin sınırlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu doğrultuda yürüttükleri çalışmada, 149 *TaSnRK* genini tanımlamış ve bu genleri filogenetik analiz sonucu üç alt aileye ayırdığını bildirmişlerdir. Kamuya açık transkriptom verileri ile qRT-PCR sonuçlarını birlikte değerlendiren yazarlar, genlerin çeşitli abiyotik ve biyotik stres koşullarında özgün ekspresyon paternleri sergilediğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca, *SnRK2* ailesinden *TaSnRK2.4-B* geninin, PEG, NaCl ve yüksek doz ABA uygulamalarında farklı düzeylerde ifade edildiğini belirlemişlerdir. Maya iki-hibrit deneyleriyle araştırmacılar, bu genin *SnRK2*-etkileşimli kalsiyum sensörü (SCS) ile fiziksel etkileşim kurabildiğini ve ABA-bağımlı sinyal yollarında görev aldığını göstermişlerdir. Ayrıca *TaSnRK2.4-B'nin*, buğdayda patojen enfeksiyonlarına karşı negatif düzenleyici rol üstlenebileceğini öne sürmüşlerdir (Jiang ve ark., 2022).

Wang ve Liu (2021), *Dendrobium officinale*'de (Dendrobium Orkidesi) *SnRK* gen ailesine ilişkin bilgilerin sınırlı olduğunu belirtmişlerdir. Gerçekleştirdikleri kapsamlı analiz sonucunda, 36 *DoSnRK* genini tanımlamış ve bu genleri *DoSnRK1* (1 gen), *DoSnRK2* (7 gen) ve *DoSnRK3* (28 gen) olmak üzere üç alt gruba ayırmışlardır. Genomik incelemelerde, gen yapılarında belirgin çeşitlilik saptamış; bazı genlerin intron içermediğini, bazılarının ise çok sayıda introna sahip olduğunu bildiren yazarlar, alt gruplar içinde korunan motiflerin, bu genlerin işlevsel benzerliklerini desteklediğini göstermişlerdir. Promotör bölgelerde tespit edilen çeşitli cis-elementlerin, *DoSnRK* genlerinin abiyotik stres ve hormon sinyallerine duyarlı olduğunu işaret ettiğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında araştırmacılar, sekiz farklı dokuda gerçekleştirilen RNA-seq analizleriyle, bu genlerin yaygın şekilde ifade edildiğini göstermiştir. Ancak, kuraklık, metil jasmonat ve ABA uygulamaları sonrasında qRT-PCR ile yapılan analizler, ilgili genlerin bu stres koşullarına karşı yanıt vermediğini tespit etmişlerdir. Elde edilen veriler, *D. Officinale*'de *SnRK* gen ailesinin işlevsel analizine temel oluşturması açısından önem taşımaktadır (Wang ve Liu, 2021).

Takahashi ve ark (2020), abiyotik stres koşullarında bitkilerde aktive olan *SnRK2* kinazlarının hem ABA-bağımlı hem de ABA-dışı yollarla düzenlendiğini ortaya koymuşlardır. Yaptıkları çalışmada, işlevsel olarak birbirini tamamlayan MAPKK kinazlarını (M3K'lar) tanımlamışlar ve bu kinazların, *SnRK2/OST1* üzerindeki kritik bir bölgeyi fosforile ederek *SnRK2*'lerin yeniden aktivasyonu için gerekli olduğunu göstermişlerdir. Uyguladıkları M3K üçlü mutasyonları sonucunda, *SnRK2* aktivasyonunun, transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonunu ve stomatal kapanmada görev alan *SLAC1* kanalının işlevinin zayıflattığını belirlemişlerdir. Ayrıca, bu mutasyonların hem ABA'ya hem de ozmotik strese karşı yanıtı önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir. Elde ettikleri bulgular, M3K grubunun, *SnRK2* kinazlarının stres koşullarında etkili şekilde devreye girmesi için temel bir düzenleyici işlev üstlendiğini göstermiştir (Takahashi ve ark., 2020).

Yu ve ark. (2022), *SnRK2* ailesinin, çeltikte strese tolerans, büyüme ve gelişim süreçlerinde kritik rol oynadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında çeltik genomunda 10 *OsSnRK2* genini tanımlamışlar ve bu genlerin yedi kromozom üzerinde konumlandığını, filogenetik olarak üç alt gruba (I, II ve III) ayrıldığını göstermişlerdir. Promotör bölgelerinde, hormon yanıtı ve stresle ilişkili çok sayıda *cis*-düzenleyici elementin tespit edilmesi, *OsSnRK2* genlerinin hormonal ve abiyotik stres yanıtlarında etkili olabileceğini ileri süren araştırmacılar; dokuya özgü ekspresyon analizleriyle, bu genlerin tüm pirinç dokularında ifade edildiğini; ancak ekspresyon düzeylerinin hem dokuya hem de çeşide bağlı olarak farklılık gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca, tuz, kuraklık ve kombine tuz-kuraklık stres koşullarında *OsSnRK2* genlerinin farklı ekspresyon paternleri sergilediğini belirlemişlerdir. Elde ettikleri veriler, özellikle ABA, tuz ve kuraklık streslerine karşı *OsSnRK2* ailesinin olası düzenleyici rollerini anlamak açısından önemli bulgular sunmaktadır (Yu ve ark., 2022).

Lan ve ark (2024a), *Vitis vinifera*'da (üzüm) *VvSnRK2.7* geninin kuraklık stresine yanıtını araştırmış ve genin transgenik *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde ifade edilmesiyle işlevsel karakterizasyonunu belirlemeye çalışmışlardır. *VvSnRK2.7* proteininin hücre zarı ve çekirdekte lokalize olduğunu belirleyen araştırmacılar; fungus iki-hibrit (Y2H) analizleri sonucunda ilgili genin, *VvbZIP* proteiniyle spesifik bir etkileşim kurduğunu göstermişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, kuraklık koşullarında *VvSnRK2.7* geninin ekspresyonunun arttığını; transgenik bitkilerde antioksidan enzim

aktivitelerinin ve şeker içeriklerinin anlamlı şekilde yükseldiğini, buna karşılık bağıl iletkenlik ve malondialdehit (MDA) düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular doğrultusunda, *VvSnRK2.7*'nin antioksidan savunma sistemini ve şeker metabolizmasını aktive ederek kuraklık direncini desteklediğini ortaya koymuşlardır (Lan ve ark., 2024).

Lin ve ark (2021), bitki stres yanıtlarının temel düzenleyicilerinden biri olan ABA hormonunun, *SnRK2* gen ailesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. *SnRK2* proteinlerinin, ABA algılayıcı reseptörlerle bağlantılı sinyal yolunun temel bileşenleri olduğunu ve ABA tarafından hızla fosforilasyon yoluyla aktive edildiklerini ortaya koymuşlardır. Ancak bu hızlı aktivasyonun mekanizmasını açıklığa kavuşturmak amacıyla yürüttükleri araştırmada, B2 ve B3 sınıfı Raf-benzeri protein kinazların, *SnRK2.6*'nın aktivasyon halkasını doğrudan fosforile ettiğini göstermişlerdir. Bu trans-fosforilasyonun, *SnRK2* aktivasyonu için gerekli olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca aktive olan *SnRK2* proteinlerinin, henüz aktive olmamış diğer *SnRK2*'leri intermoleküler fosforilasyon yoluyla etkinleştirdiğini ve bu şekilde ABA sinyal yanıtını güçlendirdiğini ifade etmişlerdir. B2 ve B3 sınıfı RAF genlerini taşımayan Arabidopsis mutantlarının ABA'ya karşı düşük duyarlılık sergilediğini tespit etmişlerdir. Bu bulgularla, *SnRK2* aktivasyonunun ABA sinyalinin başlatılması ve pekiştirilmesindeki rolünü açıklayan yeni bir model önermişlerdir (Lin ve ark., 2021).

Zhu ve ark (2020), *Brassica napus* türünde 114 *SnRK* genini tanımlamış ve bu genlerin 19 kromozoma dağıldığını bildirmişlerdir. Filogenetik analizler ve protein alan yapısına dayalı sınıflandırmalarla *SnRK* gen ailesini üç alt gruba ayırmışlardır. Gen yapısı ve motif bileşimi analizleri, bu alt gruplar arasında belirgin farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. *Arabidopsis thaliana* ile gerçekleştirilen gen duplikasyonu ve senteni karşılaştırmaları, *SnRK* gen ailesinin evrimsel geçmişine ilişkin önemli bilgiler sunmuştur. Promotör bölgelerinde belirlenen çok sayıda cis-regülatör elementin, bu genlerin çeşitli çevresel streslere karşı potansiyel yanıt kapasitesine işaret ettiği belirtilmiştir. Dokuya özgü ifade profilleri ile abiyotik stresler altındaki transkriptom analizleri, *SnRK* genlerinin işlevsel çeşitliliğini desteklemiştir. Ayrıca, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) dağılımı üzerinden yapılan değerlendirmeler, farklı *B. napus* genotipleri arasında *SnRK* gen ailesine ilişkin potansiyel fonksiyonel varyasyonları ortaya koymuştur. Elde edilen bulguların, bu gen ailesinin genomik mimarisi, evrimsel

ilişkileri ve stres yanıtlarındaki rolleri hakkında kapsamlı bir anlayış sağladığı; aynı zamanda fonksiyonel karakterizasyon çalışmalarına temel teşkil ettiği vurgulanmıştır (Zhu ve ark., 2020).

Wan ve ark (2022), *Cucumis sativus* (hıyar) bitkisinde 12 *SnRK2* genini tanımlamış ve bu genlerin beş kromozom üzerine dağıldığını bildirmişlerdir. Çalışmada filogenetik analizlerle bu genlerin üç gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Kolinearite analizleri, *CsSnRK2* gen ailesinin evrimsel süreçte arındırıcı seçilim baskısı altında kaldığını göstermiştir. Aynı grupta yer alan *CsSnRK2* genlerinin benzer ekzon yapıları ve korunmuş motiflere sahip olduğu; intron uzunluklarının ise evrimsel genişleme açısından ayırt edici bir özellik taşıdığı ifade edilmiştir. Promotör bölgelerinde gerçekleştirilen cis-element analizleriyle araştırmacılar, bu genlerin hormon ve stresle ilişkili sinyallere yanıt verebilecek düzenleyici elementler taşıdığını ortaya koymuşlardır. Gen ekspresyon analizleri, *CsSnRK2.11* (Grup II) ve *CsSnRK2.12* (Grup III) genlerinin ABA, NaCl ve PEG uygulamalarıyla güçlü şekilde indüklendiğini; buna karşılık *CsSnRK2.2* (Grup III) geninin bu stres koşullarına anlamlı yanıt vermediğini göstermiştir. Grup I'e ait *CsSnRK2* genlerinin bu tedavilere verdiği yanıtın zayıf olduğu belirtilmiştir. Protein-protein etkileşim tahminleri, birçok *CsSnRK2* proteininin PP2C dahil olmak üzere dört farklı proteinle etkileşime girebildiğini göstermiştir. Bu bulgular, *CsSnRK2* genlerinin ABA sinyal yolunda bağımsız üçüncül haberci roller üstlenebileceğini düşündürmektedir. Elde edilen verilerin, *CsSnRK2* gen ailesinin stres yanıtlarındaki potansiyel işlevlerinin aydınlatılması adına önemli bir referans niteliği taşıdığı vurgulanmıştır (Wan ve ark., 2022a).

Kamiyama ve ark (2021), protein fonksiyonlarının düzenlenmesinde geri dönüşümlü fosforilasyonun temel bir mekanizma olduğunu ve bu sürecin çevresel uyarılara verilen yanıtlar da dahil olmak üzere pek çok hücrel olayı kontrol ettiğini belirtmişlerdir. Bitkilere *SnRK2*'lerin, büyüme, gelişim ve çeşitli abiyotik stres koşullarına karşı toleransın merkezi düzenleyicileri olduğunu ortaya koymuşlardır. *SnRK2* aktivitesinin genellikle absisik asit (ABA) ile sıkı biçimde kontrol edildiği; ancak grup B Raf-benzeri protein kinazlar tarafından ABA'dan bağımsız olarak da aktive edilebildiği yazarların bu çalışmasında gösterilmiştir. Ayrıca, araştırmacılar *SnRK2*'lerin büyüme regülasyonunda TOR (Target of Rapamycin) sinyal yolu aracılığıyla da işlev gösterebileceğine dair kanıtların giderek arttığı ifade etmişlerdir (Kamiyama ve ark., 2021a).

Mishra ve ark (2021a), *SnRK* gen ailesinin, hedef proteinleri fosforile ederek ardışık sinyal yollarını düzenlediğini ve bitkilerin stres yanıtlarında kritik roller üstlendiğini belirtmişlerdir. Bu bağlamda yürüttükleri çalışmalarında, buğday genomu üzerinde 174 *SnRK* genini tanımlamışlar ve bu genleri filogenetik analizler ile alan tiplerine göre *SnRK1*, *SnRK2* ve *SnRK3* olmak üzere üç alt gruba ayrıldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, her bir alt gruptaki genlerin intron–ekzon yapılarının ve protein motif bileşimlerinin benzer, gruplar arasında ise belirgin biçimde farklı olduğunu ortaya koymuşlardır. Buğday ile *Arabidopsis* genomları arasında gerçekleştirdikleri gen duplikasyonu ve sinteni analizleriyle, *TaSnRK* gen ailesinin evrimsel özelliklerine ilişkin önemli bulgular elde etmişlerdir. Yazarlar promotör bölgelerinde gerçekleştirdikleri cis-element analizlerinde, 129 *SnRK* geninde stres ve hormona duyarlı çok sayıda düzenleyici element tespit etmişlerdir. Gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) sonuçları ise, ısı, tuz ve kuraklık uygulamaları sonrası *TaSnRK2.11* geninin ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Yazarlar bu sonuçların, genin abiyotik stres toleransında potansiyel bir aday olduğunu düşündürebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, sekiz mikroRNA'nın 16 *TaSnRK* genini hedeflediğini ve bu genlerin stres yanıtları ile farklı biyolojik yolların düzenlenmesinde önemli roller üstlenebiliyor olacağını ortaya koymuşlardır (Mishra ve ark., 2021).

Wang ve ark (2023b), *TOR* (rapamisin hedefi) ve *SnRK1* (sukroz non-fermente 1 ilişkili protein kinaz 1) sinyalleme mekanizmasının ökaryotlarda besine bağlı büyümeyi düzenlemek üzere evrimleştiğini belirlemişlerdir. Yazarlar, bu yolların tüm ökaryotlar arasında korunmuş işlevler taşıdığını, ancak son yirmi yılda bitkilere özgü birçok yeniliğin eklendiğini vurgulamışlardır. Bitkilerde, evrimsel olarak *SnRK1* bağlantılı eski kinazlardan türeyen *SnRK2* ve *SnRK3* üyelerinin büyüme, stres yanıtları ve besin dengesi gibi süreçlerde özelleştiğini belirten yazarlar, güncel bulgularla, *SnRK*'ler ile *TOR* kinazlarının bitkilerde besin ve stres yanıtlarını kontrol eden karmaşık bir ağın parçası olduğunu ve bu iki yolak arasında yoğun bir etkileşim bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca bu kinazların, evrimsel süreçte gelişen bitki hormon sinyalleme yollarıyla doğrudan bağlantılı olduğunun ifade edildiği çalışmadan sonuç olarak, *TOR–SnRK* sinyal bileşenlerinin evrimi, ayrışması ve hormon sinyalleriyle kurduğu etkileşimler aracılığıyla bitki büyümesi ve stres yanıtlarının hassas bir şekilde düzenlendiğini ileri sürülmüştür (Wang ve ark., 2023).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 *SnRK2* genlerinin seçilmesi

SnRK2 genlerinin belirlenmesi amacıyla, öncelikle *Ensembl Plants* veritabanı (Yates ve ark., 2022) kullanılarak *Arabidopsis thaliana*, *Zea mays* (mısır) ve *Oryza sativa* (çeltik) türlerine ait tüm *SnRK* genlerinin amino asit dizileri elde edilmiştir. Elde edilen bu referans protein sekansları, *Sorghum bicolor* (sorgum) genomunda *SnRK* genlerini tespit edebilmek amacıyla BLASTP analizi ile sorgulanmıştır ve analizler Phytozome veritabanı (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov>) üzerinde gerçekleştirilmiştir (Goodstein ve ark., 2012) Sorgum genomuna ait *SnRK* homologları BLAST sonuçlarına göre tanımlanmış ve özellikle *SnRK2* alt grubu proteinleri araştırmaya dahil edilmiştir.

Elde edilen tüm *SnRK* homologları, herhangi bir alt grup ayrımı yapılmaksızın çalışmaya dahil edilmiştir. Bu tercihin temel nedeni, özellikle koekspresyon analizlerinde potansiyel olarak işlevsel olan veya ortak regülasyon gösteren *SnRK2* genlerinin tamamının kapsanabilmesidir. Böylece genler arası ilişkiler daha bütüncül bir şekilde değerlendirilebilmiştir.

3.2 mRNA Veri Kaynağı ve Veri Ekstraksiyonu

Bu çalışmada kullanılan veri, National Center for Biotechnology Institute (NCBI) Sequence Read Archive (SRA) veri tabanında bulunan PRJNA1159475 aksesyon ve 1159475 kimlik numaralı verinin işlenmesiyle elde edilmiştir. İlgili veri, yüksek lisans (Master), doktora (PhD) ve doktora sonrası araştırmacılar (Postdoc) için uluslararası düzeyde öğrenim ve akademik araştırmaları desteklemeyi amaçlayan bir program olan "LAMP" programı tarafından desteklenen RS-2023-00301914 numaralı projenin 2023 yılında Kore Ulusal Araştırma Vakfı tarafından desteklenmesiyle Sangji Üniversitesindeki araştırmacılar tarafından ıslak-lab deneyleri ile elde edilmiştir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA1159475>).

3.4 Verinin elde edildiği bitkilerin büyüme ve gelişme koşulları

Verinin üretildiği proje kapsamında *Sorghum bicolor* L. *Hwanggeumchal* adlı sorgum çeşidinin farklı abiyotik streslere (çevresel ve fiziksel zorluklara) karşı gösterdiği transkriptomik tepkileri (gen düzeyindeki yanıtları) tespit edilmeye

çalışılmıştır. Çalışmada ele alınan stres koşulları tuz, kuraklık, sıcaklık, soğuk stresleri ve hormon uygulamalarından oluşmaktadır. Ancak bu tez kapsamında sadece soğuk stresine ait olan transkriptom verisinin bir kısmı kullanılmıştır.

İlgili çalışmada kullanılan sorgum tohumları, önce yüzey sterilizasyonu işlemine tabi tutulduğu bildirilmiştir. Bu işlem, tohumların dış yüzeyindeki istenmeyen mikroorganizmaların yok edilmesini ve steril bir ortamda çimlenmesini sağlaması için yapılmıştır. Sterilize edilen tohumların, toprak içinde ve kontrollü bir çevre odası (büyüme odası) koşullarında yetiştirildiği bildirilmiştir. Günlük ışıklandırma süresinin 16 saat ışık, 8 saat karanlık (fotoperiyot) olarak ve gündüz- gece sıcaklıklarının 25 °C -23 °C olarak ayarlandığı bildirilmiştir. Bitkilerin iki haftalık olana kadar bu şekilde yetiştirildiği ve daha sonra örnekleme aşamasına geçildiği belirtilmiştir.

3.4.1 Örnek toplama

İlgili çalışmada bitkilerden elde edilen yaprak örnekleri, stres uygulandıktan 6. saat sonra toplanan yaprak örnekleri ve herhangi bir strese maruz bırakılmamış kontrol bitkilerinden elde edilen yaprak örneklerinden oluşmaktadır.

3.4.2 RNA dizileme süreci:

RNA dizileme süreci çalışmaya yapan araştırmacılar tarafından şu şekilde yapılmıştır. Öncelikle toplanan yaprak örneklerinden RNA izole edilmiş, ardından bu RNA'lardan cDNA kütüphaneleri hazırlanarak Illumina'nın NovaSeq 6000 teknolojisi ile ikili uçlu (paired-end) ve her biri 100 baz çifti (2 x 100 bp) uzunluğunda dizileme yapılmıştır. Daha sonra dizileme süreçleri ham veri olarak NCBI SRA platformuna yüklenmiştir. Belirtilen veri bu çalışma kapsamında tarafımızdan indirilerek işlenmiştir.

3.5 Biyoinformatiksel Analizler

Bu çalışma kapsamında öncelikle ham verilerin ekstrakte edilmesi ve daha sonra verinin gen-gen etkileşimlerini sunabilmesi için uygulanan analizler hakkında bilgi verilecektir.

3.5.1 Verilerin Galaxy Platformuna Yüklenmesi

Yukarıda kaynağı belirtilen verinin deneme dizaynı aşağıdaki Çizelge 3.1'deki gibidir. Buna göre 6 saat soğuğa maruz bırakılan sorgum bitkileri ile kontrol örnekleri üç tekrarlı olarak NCBI SRA sayfasına yüklenmiştir. SRA kodları kullanılarak bu

veriler Galaxy (Europe) ortamına aktarılmıştır (<https://usegalaxy.eu>) (Afgan ve ark., 2016) .

Çizelge 3.1 Denemeye ait veri dizaynı ve SRA kodları

SRA Kodu	Uygulama	SRA Kodu	Uygulama
SRR30628870	cold_6h_rep2	SRR30628880	control_6h_rep2
SRR30628871	cold_6h_rep1	SRR30628881	control_6h_rep1
SRR30628868	cold_6h_rep3	SRR30628869	control_6h_rep3

3.5.2 Verilerin Ekstraksiyonu, Etiketlenmesi ve Kalite Kontrolü

Veriler Galaxy’e yüklendikten sonra FastQC dosyalarının ekstraksiyonu “Faster Download ve Extract Reads in Fastq format NCBI SRA” adlı tool yardımı ile ekstrakte edilmiş ve etiketlenmiştir (Leinonen ve ark., 2011). Daha sonra veri “Flatten Collection” yardımıyla düzleştirilmiştir (Afgan ve ark., 2016). Düzleştirilen veri, Falco (de Sena Brveine ve Smith, 2021) adlı tool ile FastQC ve MultiQC araçları kullanılarak kalite testine tabi tutulmuştur (Verews, 2010; Ewels ve ark., 2016).

3.5.3 Verilerin Kırılması

Verilerin kırılması Fastp (Chen ve ark., 2018) adı verilen aracın kullanımı ile yapılmıştır. Kısaca bazı parametrelere ilişkin belirlenen ölçütler şu şekildedir : “aşırı ifadeli örnekleme” 20, “kalifiye kalite phred” 20 ve “istenen uzunluk” 30,” polyg endüşük uzunluğu” 10. Diğer ayarlar genel olarak default olarak tutulmuştur. Kırpma sonrası tekrar veriler tekrar kalite kontrolüne tabi tutulmuştur (Verews, 2010; Ewels ve ark., 2016).

3.5.4 Genom Bilgi Dosyalarının İndirgenmesi

Çalışmadaki verilerin ekstraksiyonu olan gerekli olan genom dosyalarına (gtf, referans gibi) bütün dosyalar Ensembl Plants (<https://plants.ensembl.org/index.html>) adlı veri tabanından indirilmiştir (Yates ve ark., 2022).

3.5.5.Genoma Hizalanma ve Okuma Yönünün Belirlenmesi

RNA dizileri, STAR hizalayıcı kullanılarak referans genom üzerine hizalanmıştır (Dobin ve ark., 2013). Hizalama başarısına ait kalite kontrolü yine MultiQC aracı ile yapılmıştır (Ewels ve ark., 2016).Gen anotasyonuna ait GTF dosyaları BED12 formatına (Kent ve ark., 2002) dönüştürülmüş ve ardından Infer Experiment aracı ile okuma yönelimi belirlenmiştir (Wang ve ark., 2012).

3.5.6 Diferansiyel Gen Ekspresyon Analizi

Hizalanan veriler, FeatureCounts (Liao ve ark., 2014) aracı kullanılarak işlenmiş ve her gen için okuma sayıları (raw counts) elde edilmiştir. Kalite kontrolü MultiQC ile yapıldıktan sonra (Ewels ve ark., 2016) elde edilen sayısal matris, diferansiyel gen ekspresyon analizini gerçekleştirmek amacıyla DESeq2 (Love ve ark., 2014) aracına giriş olarak verilmiştir. Bu analiz sonucunda, farklı koşullar arasında anlamlı şekilde değişen genler istatistiksel olarak belirlenmiş; her gen için log2 kat değişim (log2 fold-change) ve FDR (False Discovery Rate) değerleri hesaplanmıştır. DESeq2, TPM (Transcripts Per Million) değeri üretmemektedir; analiz yalnızca ham okuma sayıları üzerinden normalize edilmiş varyans tahminleri ve istatistiksel karşılaştırmalar ile gerçekleştirilmiştir.

3.5.7 AGKA Haritasının Oluşturulması

Biyolojik olarak anlamlı bir gen koekspresyon ağı oluşturmak amacıyla, uygun bir soft-thresholding power (β) değeri, AGKA paketinde yer alan pickSoftThreshold fonksiyonu kullanılarak belirlenmiştir (Langfelder ve Horvath, 2008). Bu fonksiyon, aday güç değerleri (power) aralığında ölçeksiz topoloji uyum indeksi (R^2)'ni değerlendirerek, ağın yaklaşık olarak ölçeksiz bir yapıya ulaştığı en düşük güç değerini tespit etmeyi hedeflemektedir. Genel olarak, R^2 değerinin 0.8 veya üzeri olması, ölçeksiz topolojiye uygun bir ağ yapısını gösteren geçerli bir eşik olarak kabul edilmektedir. Ancak, veri setimizde test edilen hiçbir güç değeri geleneksel $R^2 \geq 0.8$ eşik değerine ulaşmamıştır. Bu tür durumlarda Langfelder ve Horvath (2008), bunun yerine ölçeksiz topoloji eğrisinin plato yaptığı, aynı zamanda ortalama bağlantının (mean connectivity) da kabul edilebilir düzeyde kaldığı bir güç değerinin seçilebileceğini belirtmektedir. Bu yaklaşım, aşırı seyrek (sparse) ve biyolojik olarak anlamdan uzak ağların oluşmasını önlemeyi amaçlamaktadır.

Bu gerekçeyle, R^2 değeri yaklaşık 0.999 ile plato eğiliminde olan ve aynı zamanda ortalama bağlantı değeri 3860 gibi yeterli bir düzeyde kalan power = 12 seçilmiştir (Çizelge 3.2). Daha yüksek güç değerleri (örneğin 18–20), R^2 değerlerini bir miktar iyileştirse de (örneğin power 20'de ~ 0.5), aynı zamanda ortalama bağlantıda ciddi bir düşüşe (örneğin 2560) neden olmuş ve bu da ağın parçalanmasına veya biyolojik olarak anlamsız modüllerin ortaya çıkmasına yol açabileceği düşünülmüştür .

Tüm bu analiz adımları, R yazılımı (v4.3.1) ortamında, yazarlar tarafından özel olarak geliştirilen betikler aracılığıyla yürütülmüştür (Team, 2023).

Çizelge 3.2 Hesaplanan Güç Değerleri (Power) ve Ölçeksiz topoloji uyum indeksi (R^2)

Power	SFT.R.sq	slope	truncated.R.sq	mean.k.	median.k.	max.k.
1	0.5050	1.3100	0.727	15600	17700	19700
2	0.1220	0.3670	0.704	11600	13600	16800
3	0.0101	0.0874	0.796	9400	11100	15000
4	0.0049	-0.0567	0.857	7990	9260	13800
5	0.0311	-0.134	0.897	6990	7860	12900
6	0.0537	-1.76	0.955	6230	6750	12100
7	0.0923	-2.19	0.966	5640	5860	11500
8	0.1210	-0.246	0.983	5160	5120	11000
9	0.1570	-2.74	0.991	4750	4500	10500
10	0.1940	-0.296	0.995	4410	3980	10100
11	0.2290	-0.316	0.997	4120	3530	9720
12	0.2620	-0.334	0.999	3860	3150	9380
13	0.2960	-0.351	0.999	3630	2830	9070
14	0.3270	-0.365	0.998	3430	2540	8790
15	0.3560	-0.393	0.996	3250	2290	8530
16	0.3900	-0.393	0.996	3080	2070	8290
17	0.4190	-0.406	0.994	2940	1870	8070
18	0.4480	-0.418	0.993	2800	1700	7860
19	0.4740	-0.43	0.992	2680	1550	7660
20	0.5000	-0.441	0.989	2560	1420	7470

Çizelge 3.3'te belirli bir olasılık (probability) veya güven düzeyine karşılık gelen eşik (threshold) değeri yükseldikçe, ağdaki kenar (edge) sayısının azaldığı görülmektedir. Genler arası ilişkileri temsil eden kenarları tanımlamak amacıyla, hesaplanan korelasyon benzerlik değerlerine farklı eşik seviyeleri uygulanmıştır. Bu kapsamda, 0.995 ile 0.9995 aralığında değişen eşik değerleri test edilmiştir. Her bir eşik seviyesi için ağda kalan kenar (bağlantı) sayısı hesaplanarak ağın yoğunluğu değerlendirilmiştir. Eşik değeri arttıkça ağ daha seyrek hale gelmiş; örneğin 0.995 eşik değeriyle 1,720,229 bağlantı elde edilirken, 0.9995 eşğinde yalnızca 167,649 bağlantı kalmıştır. Bu analiz, biyolojik anlamlılık taşıyan güçlü bağlantıların seçilmesini sağlamayı amaçlamıştır.

Çizelge 3.3 Cytoscape programında görüntülenecek bağlantı ve kenar sayısının belirlenmesi

Yüzde	Olasılık	Eşik değeri	Kenar Sayısı
99.5%	0.9950	0.9586	1720229
99.6%	0.9960	0.9643	1376184
99.7%	0.9970	0.9707	1032138
99.8%	0.9980	0.9783	688092
99.9%	0.9990	0.9891	344046
99.95%	0.9995	0.9968	167649

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

4.1 Ham Verilere Ait Önemli Grafikler

Bu bölümde ham verilere ait kalite kontrol değerlendirmesi kapsamında; ortalama baz kalite skorlarını gösteren Ortalama Kalite Skorları, dizilerin GC oranlarına göre dağılımını sunan Her bir Dizideki GC İçeriği, veri tekrar oranlarını inceleyen Sekans Duplikasyon Düzeyleri ve dizilerin sabit uzunlukta olup olmadığını değerlendiren Dizi Uzunluk Dağılımı grafiklerinin yorumları yapılmıştır. Hem kontrol hem de uygulama grupları için bu grafikler karşılaştırmalı olarak ele alınmıştır.

4.1.1 Veri Kalitesine Ait Genel İstatistikler

Şekil 4.1'de araştırmada kullanılan kontrol grubuna ait ham RNA-Seq verilerinin temel istatistikleri sunulmaktadır. Veriler, çift yönlü dizileme (paired-end) formatında olup her örnek için ileri (forward) ve geri (reverse) okuma verileri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Her bir örnek için toplam okuma sayısı 28.5 milyon ile 31.4 milyon arasında değişmektedir. Bu değerler, diferansiyel gen ekspresyonu analizleri için yeterli düzeyde okuma derinliğini sağlamaktadır. GC içeriği, %52 ile %56 arasında olup, bu oranlar sorgum bitkisinin genomik yapısıyla uyumlu ve dengeli bir dağılım göstermektedir. Tekrar oranları (Dups) ise %67.9 ile %69.4 aralığında tespit edilmiştir. Bu yüksek oranlar, kütüphane karmaşıklığının nispeten düşük olabileceğine veya belirli transkriptlerin fazla temsil edilerek PCR çoğaltımına bağlı yinelenmelerin artmış olabileceğine işaret etmektedir. Genel olarak, okuma sayısı ve GC içeriği açısından kaliteli veriler elde edilmiş olup, tekrar oranlarının yüksekliği dikkatle değerlendirilmek kaydıyla verilerin analiz için uygun olduğu sonucuna varılabilir.

Sample Name	Dups	GC	Seqs
SRR30628869_forward	69.2%	52.0%	31.4M
SRR30628869_reverse	68.4%	55.0%	31.4M
SRR30628880_forward	68.5%	53.0%	28.5M
SRR30628880_reverse	67.9%	56.0%	28.5M
SRR30628881_forward	69.4%	53.0%	30.9M
SRR30628881_reverse	68.8%	55.0%	30.9M

Şekil 4.1 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilerin genel istatistikleri

Araştırmada 6 saat boyunca soğuk stresine maruz bırakılan sorgum örneklerine ait ham RNA-Seq verilerinin temel istatistiklerini göstermektedir. Veriler yine çift

yönlü dizileme (paired-end) formatında olup, her bir biyolojik tekrar için ileri (forward) ve geri (reverse) okuma verileri ayrı ayrı sunulmuştur. Toplam okuma sayısı, örnekler arasında 32.3 milyon ile 35.0 milyon arasında değişmekte olup, bu değerler yüksek okuma derinliğine sahip kaliteli verileri işaret etmektedir. Bu durum, hem biyolojik çeşitliliğin iyi temsil edildiğini hem de diferansiyel gen ekspresyonu gibi ileri analizler için sağlam bir veri temeli sağladığını göstermektedir. GC içeriği, %51 ile %53 arasında değişmektedir. Bu dağılım oldukça dengeli olup, bitkinin genomik yapısıyla uyumlu bir GC oranı profili sunmaktadır. Herhangi bir örnekte aşırı GC “ön yargısı” gözlemlenmemiştir. Tekrar oranları (Dups) ise %67.6 ile %70.8 aralığında değişmekte olup genel olarak yüksektir. Bu durum, yüksek derecede çoğaltılmış dizilerin varlığına veya kütüphane karmaşıklığının sınırlı olabileceğine işaret etmektedir. Bu oranlar analizlerin güvenilirliğini engelleyecek düzeyde olmamakla birlikte, yorumlama aşamasında dikkatle ele alınmalıdır. Genel olarak, soğuk stresine maruz kalan örneklerden elde edilen ham veriler yüksek okuma sayısı, dengeli GC içeriği ve analiz için yeterli kaliteyle sahiptir. Tekrar oranlarının yüksekliği teknik bir sınırlılık olarak değerlendirilse de analizlerin yürütülmesi açısından veriler uygun bulunmuştur.

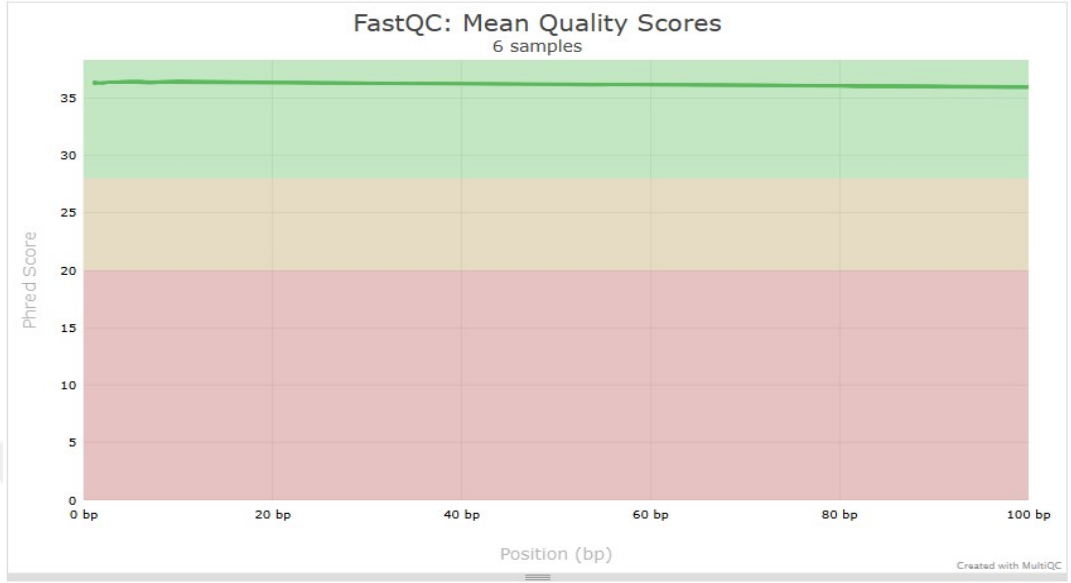
Sample Name	Dups	GC	Seqs
SRR30628868_forward	69.0 %	51.0 %	32.3 M
SRR30628868_reverse	67.6 %	53.0 %	32.3 M
SRR30628870_forward	69.1 %	52.0 %	33.7 M
SRR30628870_reverse	68.0 %	53.0 %	33.7 M
SRR30628871_forward	70.8 %	51.0 %	35.0 M
SRR30628871_reverse	69.2 %	52.0 %	35.0 M

Şekil 4.2 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilerin genel istatistikleri

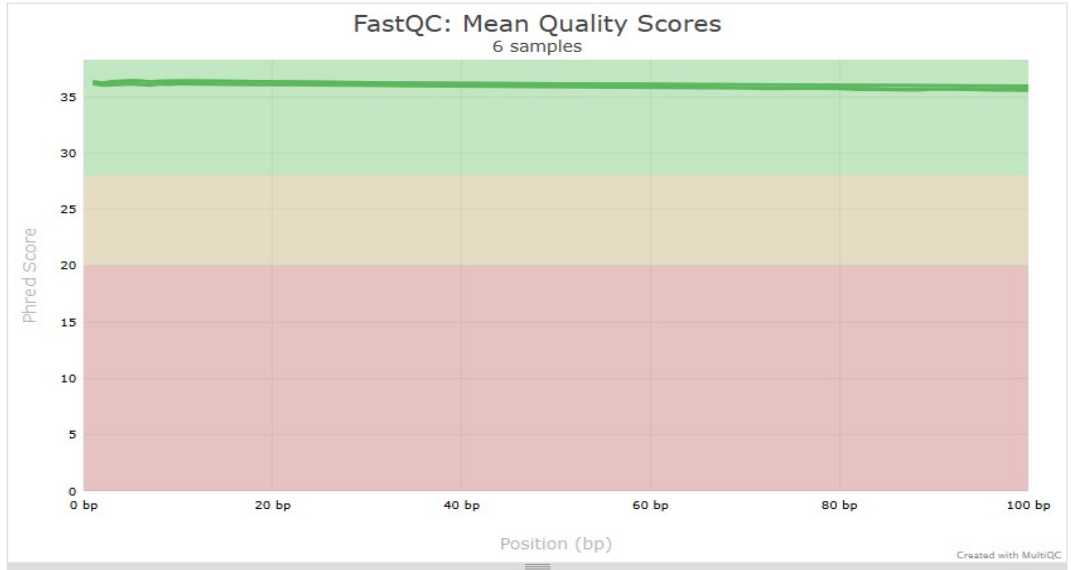
4.1.2 Ham RNA Dizilerine Ait Ortalama Kalite Skorları

Şekil 4.3'te, araştırmadaki kontrol grubu örneklerine ait ham verilerin kalite değerlendirmesini göstermektedir. Grafik, her pozisyondaki ortalama Phred kalite skorlarını temsil etmektedir ve MultiQC aracı ile oluşturulmuştur. 100 baz uzunluğundaki dizilerde, tüm pozisyonlar boyunca kalite skorları 35'in üzerinde seyretmektedir. Bu değer, yüksek kaliteli baz çağırımı anlamına gelir ve minimum hata oranına sahip güvenilir veriler elde edildiğini gösterir (Phred skoru >30 = %99.9 doğruluk). Kalite eğrisi düz ve stabildir; herhangi bir pozisyonda ani düşüş gözlemlenmemektedir. Verinin uç bölgelerinde (başlangıç ve bitiş) dahi kalite kaybı bulunmaması, kütüphane hazırlama ve dizileme adımlarının başarılı bir şekilde

uygulandığını göstermektedir. Bu sonuç, ham verilerin kırpma işlemi öncesinde dahi oldukça yüksek kalitede olduğunu ve ileri analizler için ideal bir başlangıç materyali sunduğunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.3 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilerin kalite profili



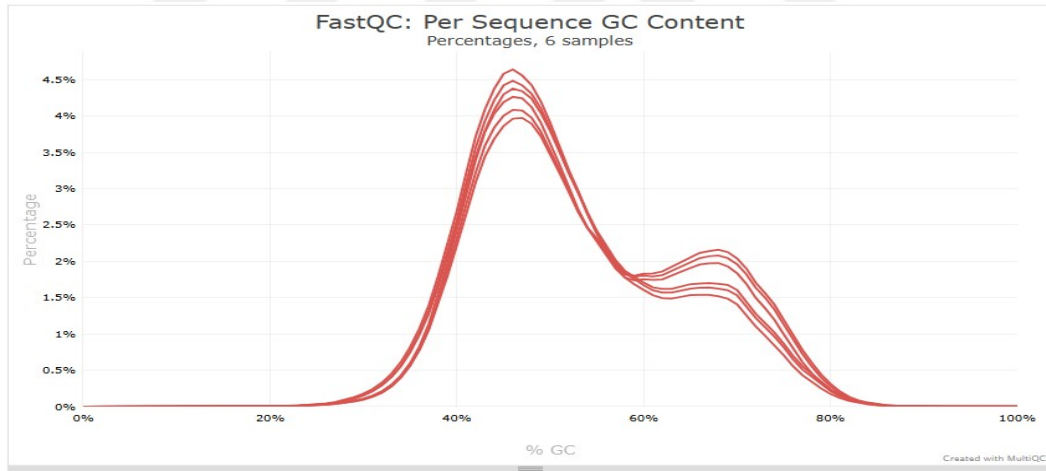
Şekil 4.4 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilerin kalite profili

Çalışmada soğuk stresine maruz bırakılan örneklerle ait ham RNA-Seq verilerinin kalite profilini göstermektedir (Şekil 4.4). Grafik, her baz pozisyonundaki ortalama Phred kalite skorlarını özetlemekte olup, MultiQC aracıyla oluşturulmuştur. Kalite değerleri tüm 100 baz boyunca oldukça stabildir ve 35 Phred skoru civarında seyretmektedir. Bu da dizileme sürecinin genel olarak son derece başarılı olduğunu ve baz çağrım doğruluğunun yaklaşık %99.9'un üzerinde olduğunu göstermektedir. Kalite eğrisinde belirgin bir düşüş ya da varyasyon görülmemektedir. Özellikle 3' ve 5'

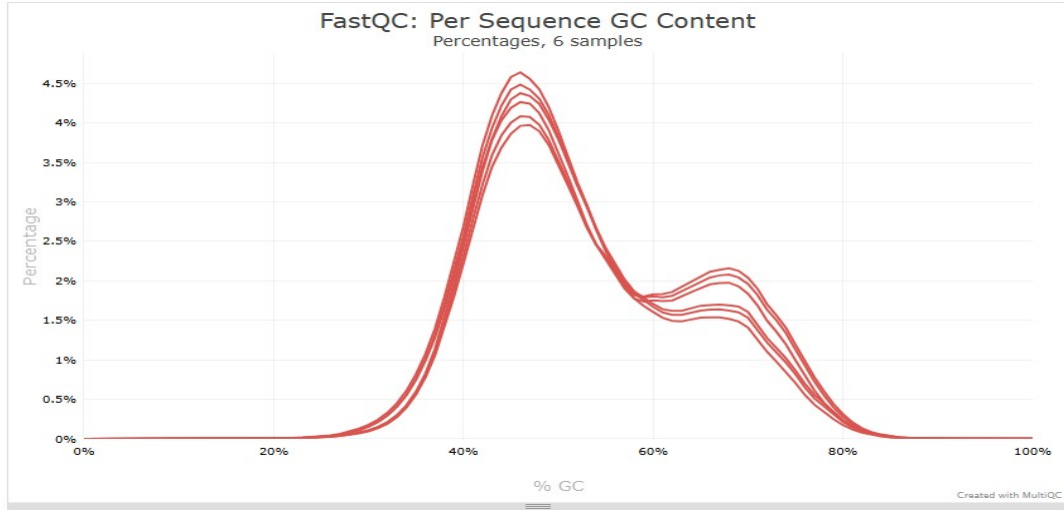
uçlarındaki stabilite, kütüphane hazırlama ve dizileme basamaklarının teknik açıdan düzgün yürütüldüğünü göstermektedir. Bu bağlamda, soğuk örneklerine ait ham veriler herhangi bir agresif kırpma ihtiyacı olmaksızın, doğrudan analiz edilebilir nitelikte yüksek kaliteli bir veri seti sunmaktadır.

4.1.3 Ham RNA Dizilerine Ait Ortalama GC İçeriği Oranları

Şekil 4.5'te kontrol grubu örneklerine ait dizilerin GC içeriği dağılımı gösterilmektedir. Grafikteki eğriler genel olarak %45–55 GC aralığında yoğunlaşmakta olup, bu durum sorgum bitkisine ait RNA dizileri için beklenen biyolojik GC dağılımı ile uyumludur. Ancak eğrilerin çift tepe yapması, özellikle ikinci bir yüksek GC'li tepenin varlığı, bazı örneklerde GC açısından zengin dizilerin aşırı temsil edildiğini gösterebilir. Bu durum, rRNA kontaminasyonu, kopya sayısı yüksek transkriptler veya teknik çoğaltım etkilerinden kaynaklanabilir. Yine de genel dağılım, kontrol örneklerinin biyolojik gerçekliğe uygun ve analiz için kullanılabilir nitelikte olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.5 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait GC içeriği (%)



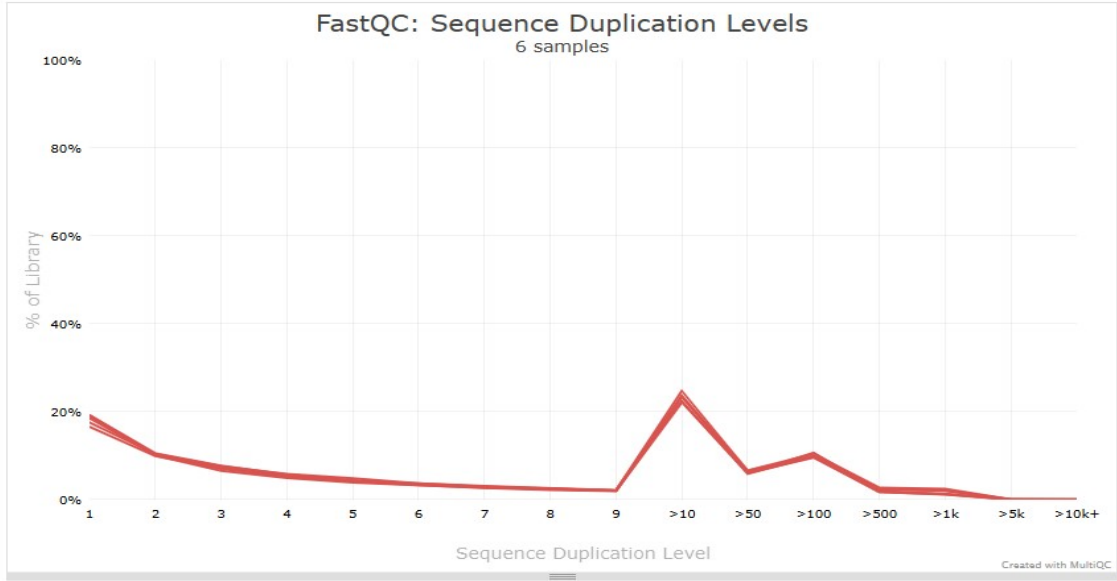
Şekil 4.6 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait GC içeriği (%)

Şekil 4.6’da, soğuk stresine maruz bırakılan örneklerin GC içeriği yüzdesine göre dağılımı gösterilmektedir. Grafikteki eğriler, örneklerin büyük bir kısmında GC oranının %45–55 aralığında yoğunlaştığını göstermektedir ki bu, sorgum bitkisi için beklenen genomik GC içeriği ile uyumludur. Ancak dikkat çekici olan, çift tepe görünümünün bu grupta da belirgin olmasıdır. İlk tepe biyolojik olarak beklenen normal dağılımı temsil ederken, ikinci tepe özellikle yüksek GC içeriğine sahip transkriptlerin aşırı temsil edilmesine işaret ediyor olabilir. Bu durum, bazı gen ailelerinin, rRNA kalıntılarının veya stres altında aşırı ifade edilen yüksek GC içerikli transkriptlerin etkisiyle oluşmuş olabilir. GC içeriğindeki bu çift tepe yapısı, teknik bir sorun olmaktan çok, biyolojik bir yanıtın moleküler yansıması olarak yorumlanabilir. Özetle, GC dağılımı genel olarak dengeli olsa da, stres koşullarının ifadesel yanıtlarıyla ilişkili olarak bu tür çift tepe yapılar biyolojik anlam taşıyabilir.

4.1.4 Ham mRNA Dizilerine Ait Dizi Duplikasyon Oranları

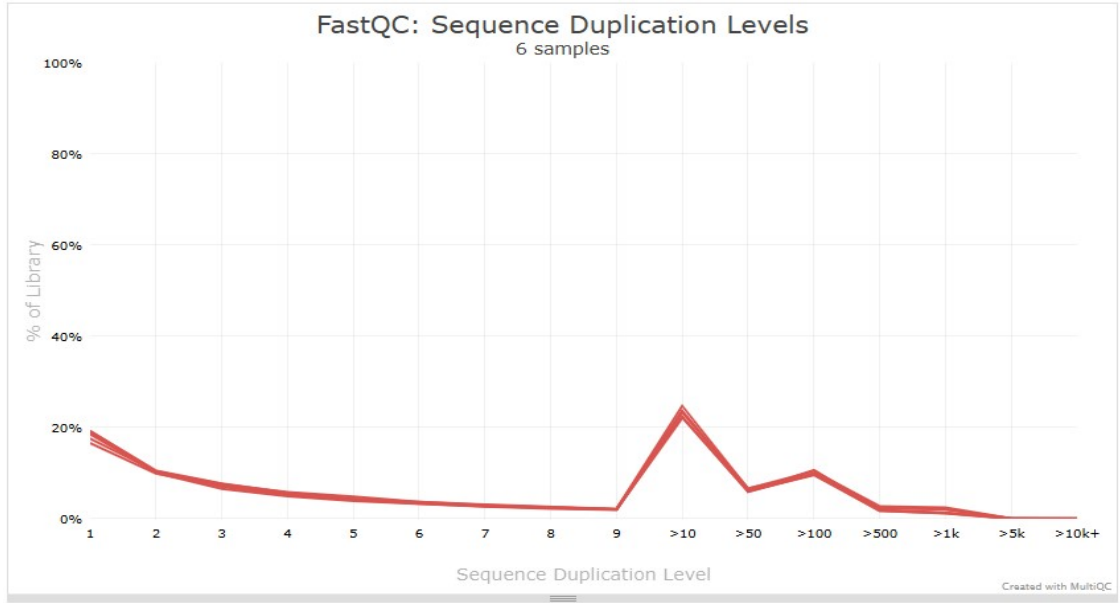
Şekil 4.7’de kontrol örneklerine ait dizi tekrar düzeyleri (sequence duplication levels) gösterilmektedir. Grafikte çoğu dizinin düşük tekrar seviyelerinde (1–2 kez gözlemlenen) yoğunlaştığı görülmektedir. Tekrar düzeylerinin çoğunlukla düşük kopya sayılarında yoğunlaşması, kütüphane karmaşıklığının yüksek olduğunu ve teknik çoğaltım etkisinin sınırlı kaldığını göstermektedir. Grafikte yalnızca >10 tekrar seviyesinden sonra küçük bir artış gözlemlenmekte, ancak bu artış geneli etkilemeyecek düzeydedir. Bu tip küçük bir tepe, yüksek ifadelere sahip bazı transkriptlerin doğal

çoğunlukla temsil edilmesinden kaynaklanabilir. Bu bağlamda, dizi tekrar düzeyleri veri kalitesi açısından tatmin edici ve biyoenformatik analizler için uygun görünmektedir.



Şekil 4.7 Kontrol bitkilerinden edilen dizilere ait duplikasyon oranları

Çalışmaya ait soğuk uygulama örneklerinin kütüphane içerisindeki tekrar düzeyleri Şekil 4.8’de gösterilmektedir. Tekrar seviyesi 1 olan diziler (yalnızca bir kez gözlenen) yaklaşık %20 oranında yer almakta olup, bu değer kütüphane içerisinde benzersiz dizilerin yeterli oranda temsil edildiğini göstermektedir. Bu da kütüphane karmaşıklığının makul düzeyde olduğunu gösterir. Bununla birlikte, >10 kopyadan fazla olan dizilerde küçük ama belirgin bir artış gözlenmektedir. Bu durum, bazı transkriptlerin çok yüksek düzeyde ifade edilmiş olmasından ya da teknik çoğaltımlardan (PCR bias gibi) kaynaklanabilir. Özellikle stres koşullarında, bazı genlerin doğal olarak çok yüksek sayıda transkript üretmesi de bu artışı açıklayabilir. Dolayısıyla genel dağılım, kabul edilebilir düzeyde bir tekrar profili sunmaktadır. Ancak yüksek tekrar seviyelerinde gözlenen bu artışın biyolojik ya da teknik kaynaklı olabileceği göz önünde bulundurularak veri traşlaması ile veri daha sağlıklı hale getirilmiştir.



Şekil 4.8 Uygulama yapılmış bitkilerden edilen dizilere ait duplikasyon oranları

4.1.5 Dizi Uzunluğu Dağılımı

Tüm örneklerde (kontrol ve uygulama) dizi uzunluğu sabit olup, diziler yalnızca 101 baz çifti (bp) uzunluğundadır. Bu durum, dizileme işleminin yüksek tutarlılıkla gerçekleştirildiğini ve veri setinde herhangi bir parça uzunluğu heterojenitesi bulunmadığını göstermektedir. Aynı zamanda kırpma işleminden sonra tüm dizilerin eşit uzunlukta korunmuş olması, kalite kontrol ve kırpma adımlarının standartlarına uygun şekilde uyguladığını göstermektedir. Bu özellik, hizalama algoritmalarının performansını artırır ve aşağı akış analizlerinin (örneğin diferansiyel gen ekspresyonu) daha tutarlı sonuçlar vermesine katkı sağlar.

4.2 Trimleme Sonrası Kalite Değerlendirmesi

Fastp aracı kullanılarak gerçekleştirilen veri kırpma işlemi, düşük kaliteli bazların ve olası adaptör sekanslarının veriden uzaklaştırılmasını sağlamıştır. Bu işlemin ardından, dizilerin genel kalite profili yeniden değerlendirilmiş ve kırpma işleminin veri kalitesine olan etkisi görsel ve sayısal olarak analiz edilmiştir. Bu kapsamda; kırpma sonrası ortalama baz kalite skorlarını gösteren Ortalama Kalite Skorları (veri kırpması sonrası), her dizinin ortalama kalite skor dağılımını sunan Dizi Başına Kalite Skorları, ve dizilerin kırpma sonrası uzunluk dağılımını gösteren Dizi Uzunluğu Dağılımı (kırpma sonrası) grafiklerine yer verilmiş, verinin analiz için daha homojen ve güvenilir hale gelip gelmediği değerlendirilmiştir.

4.2.1 Fastp Özeti

Sample Name	% Duplication	Reads After Filtering	GC content	% PF	% Adapter
SRR30628869	20.0 %	62.4 M	53.4 %	99.3 %	0.3 %
SRR30628880	18.6 %	56.6 M	54.4 %	99.3 %	0.4 %
SRR30628881	19.8 %	61.4 M	54.0 %	99.2 %	0.4 %

Şekil 4.9 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait Fastp genel istatistikleri

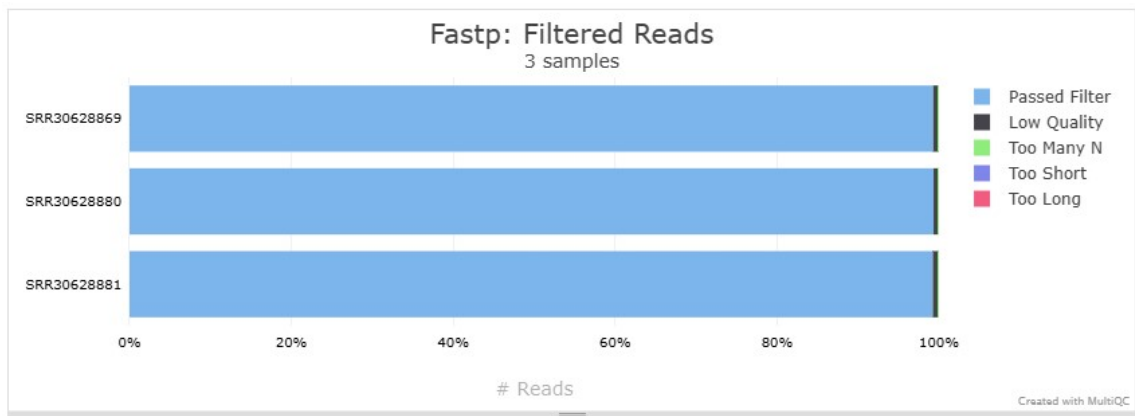
Şekil 4.9’da kırpma sonrası örneklere ait genel istatistikler sunulmaktadır. % Duplikasyon oranları %18.6–20.0 arasında seyrederek, ham veriye kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir. Filtreleme sonrası okuma sayıları yüksek seviyede korunmuştur (yaklaşık 56–62 milyon). Adaptör oranları ise %0.3–0.4 seviyelerine düşmüş ve bu da kırpma işleminin adaptör temizliğinde etkili olduğunu göstermektedir.

Sample Name	% Duplication	Reads After Filtering	GC content	% PF	% Adapter
SRR30628868	21.1 %	64.0 M	52.2 %	99.1 %	0.4 %
SRR30628870	19.9 %	66.9 M	52.5 %	99.4 %	0.5 %
SRR30628871	24.0 %	69.4 M	51.6 %	99.1 %	0.3 %

Şekil 4.10 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait Fastp genel istatistikleri

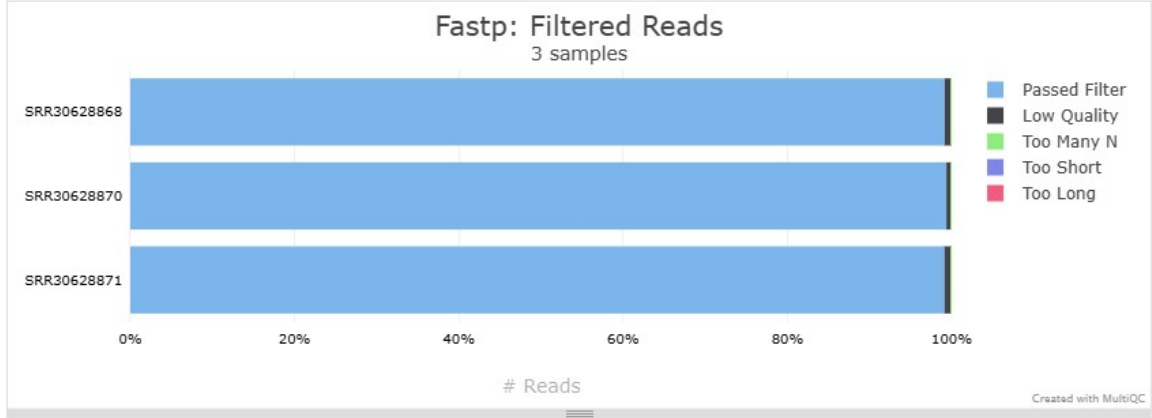
Fastp kırpma işlemi sonrası soğuk uygulama grubuna ait örneklerin temel kalite istatistikleri Şekil 4.10’da sunulmaktadır. % Duplication oranları %19.9–24.0 aralığında seyretmekte olup, bu değerler kırpma sonrası teknik tekrarların büyük ölçüde azaltıldığını göstermektedir. Filtreleme sonrası elde edilen okuma sayıları yüksek olup (~64–69 milyon), veri miktarı korunmuştur. GC içeriği %51.6–52.5 arasında ve adaptör oranları %0.3–0.5 seviyesindedir; bu da adaptör kontaminasyonunun etkili şekilde temizlendiğini gösterir.

4.2.2 Filtrelenen Okuma Dağılımı



Şekil 4.11 Kontrol bitkilerinden edilen dizilere ait Read 1’e ait okuma dağılımı

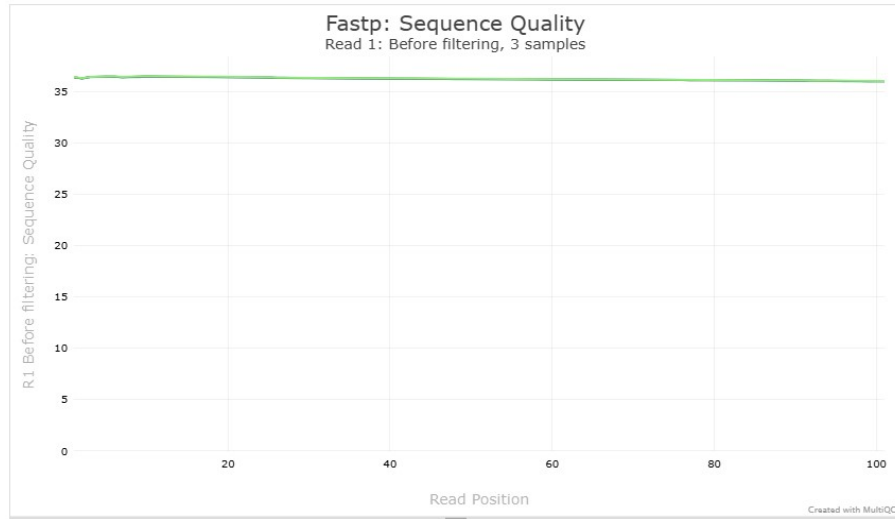
Fastp aracıyla yapılan kırpma sonrası, okuma verilerinin büyük çoğunluğunun 'Passed Filter' kategorisinde kaldığı görülmektedir (Şekil 4.11). Düşük kaliteli, çok sayıda 'N' içeren ya da çok kısa diziler sistematik şekilde elenmiştir. Bu durum, temizlenmiş verinin yüksek analiz kalitesine sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.12 Uygulama bitkilerinden elde edilen dizilere ait Read 1'e ait okuma dağılımı

Şekil 4.12'de soğuk uygulama örneklerine ait kırpma sonrası okuma dağılımları sunulmaktadır. Üç örnekte de okuma dizilerinin neredeyse tamamı 'Passed Filter' yani "onaylanmış filtre" kategorisine girmektedir. Bu durum, düşük kaliteli, çok kısa ya da fazla sayıda N içeren dizilerin başarıyla elendiğini ve analiz için güvenilir bir veri seti elde edildiğini göstermektedir.

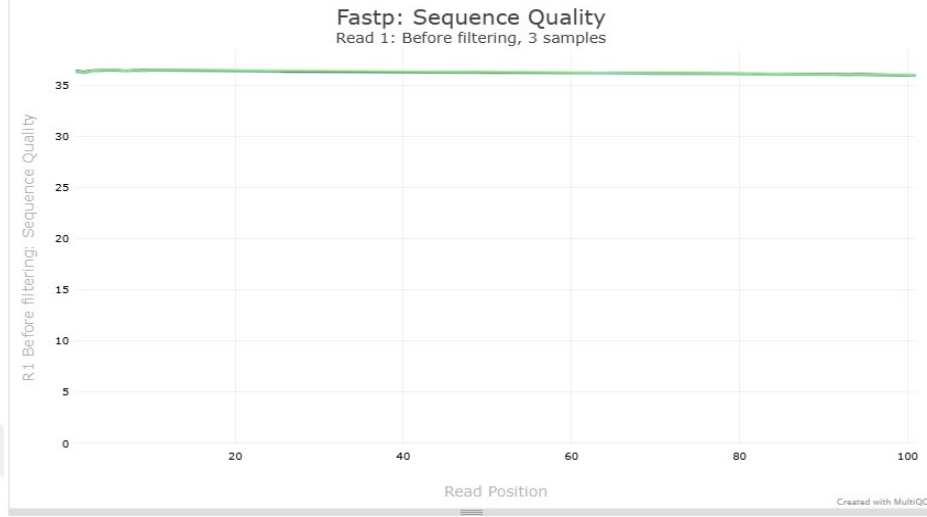
4.2.3 Okuma Kalitesi



Şekil 4.13 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait dizi kaliteleri

Kırpma sonrası dizilerin ortalama kalite skorları gösterilmektedir (Şekil 4.13). Tüm pozisyonlarda Phred skorunun 35'in üzerinde seyretmesi, elde edilen verilerin

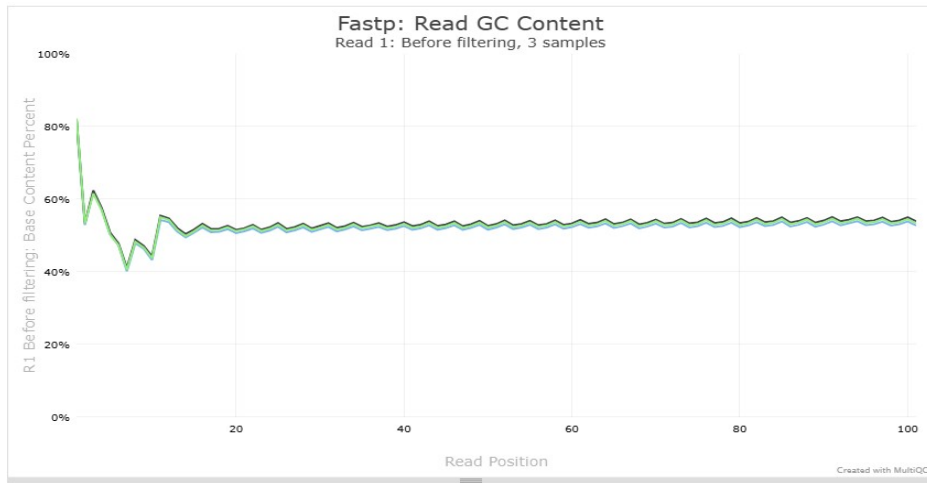
yüksek kaliteye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Kırpma işlemi sayesinde, halihazırda yüksek kaliteli olan ham veriler daha da stabilize edilmiş; düşük kaliteli uçlar başarıyla temizlenmiştir.



Şekil 4.14 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait dizi kaliteleri

Kırpma sonrası dizilerin pozisyon bazında kalite skorları Şekil 4.14'te gösterilmektedir. Tüm pozisyonlarda Phred skorunun 35'in üzerinde seyretmesi, yüksek kaliteyi koruyan veri setinin elde edildiğini kanıtlamaktadır. Bu durum, kırpma işleminin düşük kaliteli uçları başarıyla elimine ettiğini ve veri kalitesini stabilize ettiğini göstermektedir.

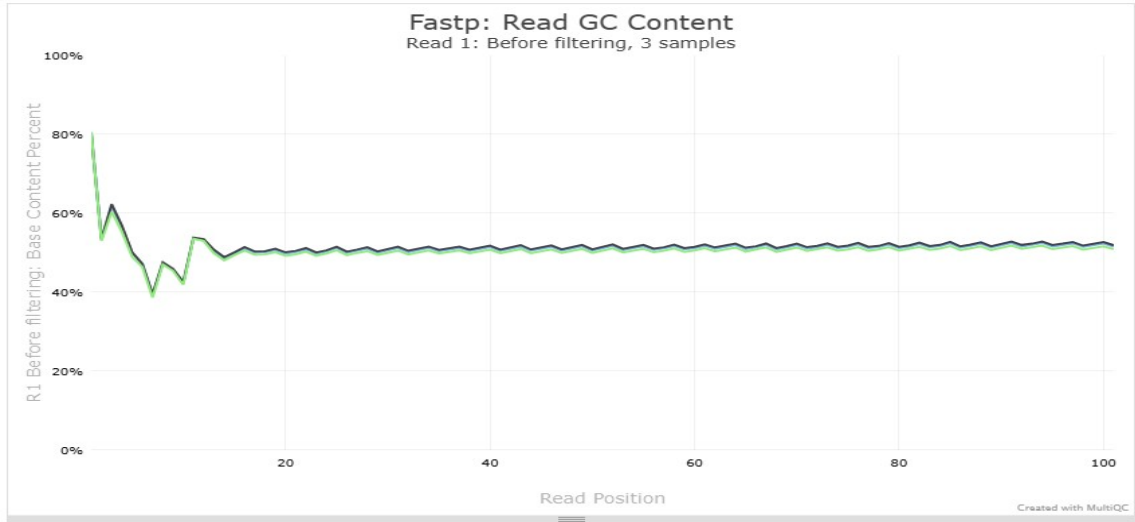
4.2.4 GC İçeriği



Şekil 4.15 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait GC içerikleri

Şekil 4.15'te Fastp kırpma işlemi sonrası elde edilen dizilere ait pozisyona göre GC içerik yüzdeleri sunulmaktadır. GC oranı, yaklaşık %50 düzeyinde sabit bir seyir

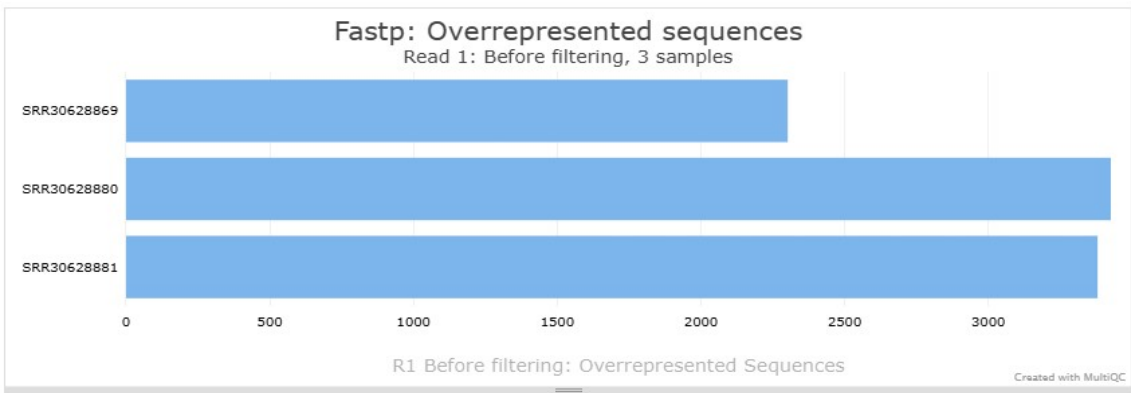
izlemektedir ve bu durum dizilerin homojen yapısını ve teknik gürültüden arındırıldığını göstermektedir. Özellikle ilk 10–15 bazda ham veride görülebilecek olan dalgalanmaların bu grafiklerde giderilmiş olması, kırpma işleminin başarıyla uygulandığını ve pozisyonel baz bileşimi dengesinin sağladığını göstermektedir. Bu homojenlik, hizalama ve ifade analizi gibi aşağı akış işlemlerinde güvenilir sonuçlar elde edilmesine katkı sağlar.



Şekil 4.16 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait GC içerikleri

Şekil 4.16’da kırpma sonrası GC içeriği dağılımı gösterilmektedir. İlk 10–15 bazda ham veride gözlenen dalgalanmalar, kırpma sonrası ortadan kalkmış ve GC içeriği boyunca düzenli bir seyir oluşmuştur. Bu durum, pozisyonel baz bileşiminin dengelendiğini ve teknik gürültünün temizlendiğini göstermektedir.

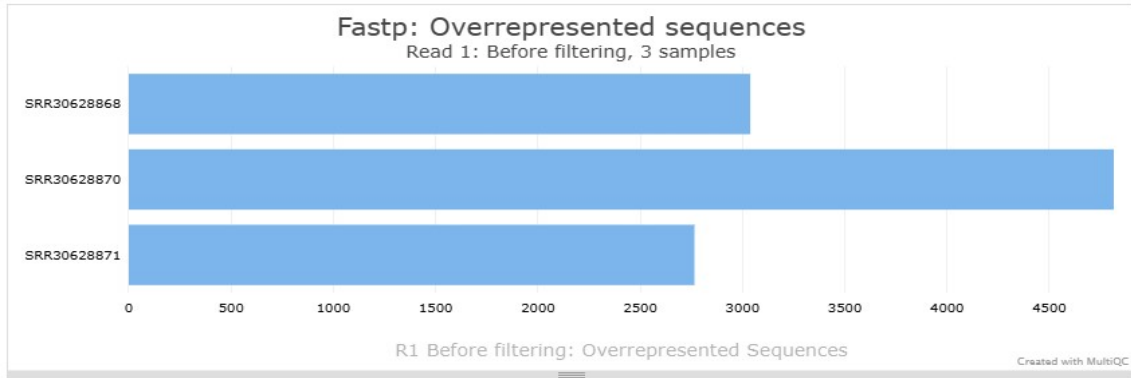
4.2.5 Aşırı Temsil Edilen Diziler



Şekil 4.17 Kontrol bitkilerinden elde edilen dizilere ait Read 1’e ait aşırı temsil edilen diziler

Şekil 4.17’de görüldüğü üzere, ham verilerde belirgin sayıda aşırı temsil edilen diziler bulunmaktadır. Bu durum genellikle adaptör sekansları veya çok yüksek

ifadelere sahip transkriptlerden kaynaklanır. Fastp kırpma işlemi ile bu diziler büyük ölçüde temizlenmiş, veri homojenliği artırılmıştır.



Şekil 4.18 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen dizilere ait Read 1'e ait aşırı temsil edilen diziler

Şekil 4.18'de, kırpma sonrası uygulama örneklerinde hâlâ belirli oranda aşırı temsil edilen dizilerin bulunduğu gözlemlenmektedir. Ancak kırpma ile bu dizilerin sayısı önemli ölçüde azaltılmıştır. Bu diziler büyük olasılıkla biyolojik olarak yüksek ifadelere sahip gen transkriptlerine aittir. Adaptör kontaminasyonunun giderilmesi ve veri homojenliğinin artırılması açısından başarılı bir temizlik yapılmıştır.

4.3 STAR ile Genoma Hizalama Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu bölümde, kontrol grubuna ait RNA dizilerinin referans genoma hizalanma başarısı STAR (Spliced Transcripts Alignment to a Reference) aracı ile değerlendirilmiştir. STAR hizalayıcı, yüksek hassasiyetli ve hızlı bir hizalama sağlayarak özellikle exon-exon birleşim noktalarının tespitinde avantaj sunar (Dobin ve ark., 2013). Analiz kapsamında; genel hizalanma oranları, benzersiz eşleşme yüzdeleri, okuma uzunlukları, anotasyonlu birleşim noktalarının sayısı ve hata oranları değerlendirilmiştir. Ayrıca, STAR çıktılarının kategori bazlı görsel özetleri de sunularak hizalamanın başarısı bütüncül bir şekilde yorumlanmıştır.

4.3.1 STAR Alignment Özeti

Şekil 4.19'da STAR hizalama sonuçlarına göre kontrol örneklerinin genoma başarıyla hizalandığı görülmektedir. Toplam hizalanma oranları %87.6 ile %89.2 arasında değişirken, benzersiz (uniquely mapped) okuma oranları ise %85.7–87.4 aralığında yer almaktadır. Bu yüksek oranlar, referans genomun deneysel verilerle uyumlu olduğunu ve hizalama işleminin başarılı gerçekleştiğini göstermektedir.

Sample Name	Aligned	Uniq aligned
SRR30628869	88.8 %	86.9 %
SRR30628880	89.2 %	87.4 %
SRR30628881	87.6 %	85.7 %

Şekil 4.19 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait hizalama özeti

Sample Name	Aligned	Uniq aligned
SRR30628868	82.5 %	81.2 %
SRR30628870	89.9 %	88.6 %
SRR30628871	81.7 %	80.5 %

Şekil 4.20 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait hizalama özeti

Şekil 4.20’de uygulama grubuna ait STAR hizalama oranları sunulmuştur. Toplam hizalanma oranları %81.7 ile %89.9 arasında değişmektedir. Benzersiz (uniquely mapped) hizalanma oranları ise %80.5–88.6 arasında seyretmektedir. Bu değerler, genel olarak referans genom ile yüksek uyumluluğu ve kaliteli bir hizalama süreci yürütüldüğünü göstermektedir. Özellikle SRR30628870 numaralı örnek oldukça yüksek hizalama oranına sahiptir.

4.3.2 STAR İstatistiksel Özeti

STAR hizalama işlemi sonrası istatistiksel özet şekil 4.21’de verilmiştir. Tüm örneklerde toplam okuma sayısı 28–31 milyon arasında değişmektedir. Hizalanan okuma uzunlukları ortalama olarak 200.8–200.9 bp olup, bu değerler okuma kalitesi ve eşleşme doğruluğu açısından olumludur. Annotasyonlu ekzon-ekzon birleşimlerinin sayısı (annotated splices) 15.5–17.4 milyon arasında değişmektedir. Mismatch oranlarının %0.3 gibi düşük bir seviyede olması, okuma doğruluğunun yüksek olduğunu ve hatasız hizalama gerçekleştiğini göstermektedir.

Sample Name	Total reads	Aligned	Uniq aligned	Avg. mapped len	Annotated splices	Mismatch rate	Del rate
SRR30628869	31.4 M	88.8 %	86.9 %	200.9bp	17.4 M	0.3 %	0.0 %
SRR30628880	28.5 M	89.2 %	87.4 %	200.8bp	15.5 M	0.3 %	0.0 %
SRR30628881	30.9 M	87.6 %	85.7 %	200.8bp	16.4 M	0.3 %	0.0 %

Şekil 4.21 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait istatistiksel özet

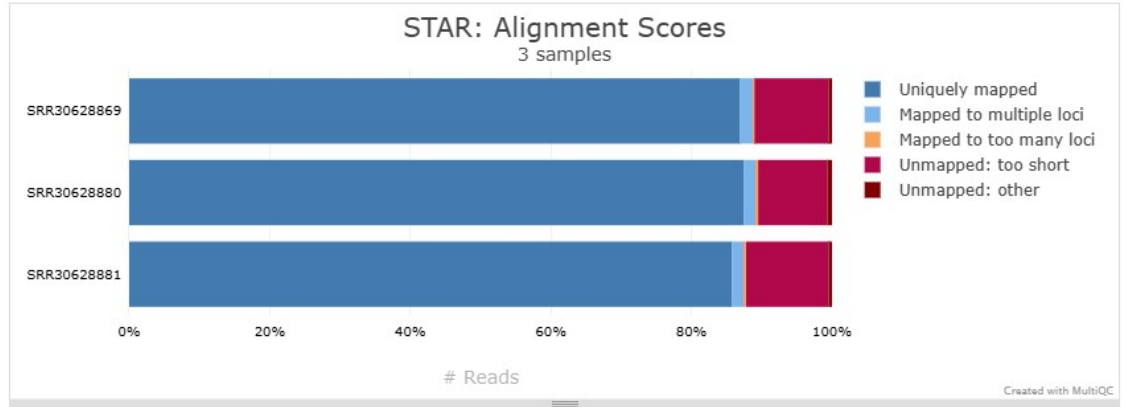
Sample Name	Total reads	Aligned	Uniq aligned	Avg. mapped len	Annotated splices	Mismatch rate	Del rate
SRR30628868	32.3 M	82.5 %	81.2 %	200.9bp	17.3 M	0.3 %	0.0 %
SRR30628870	33.7 M	89.9 %	88.6 %	200.9bp	19.3 M	0.3 %	0.0 %
SRR30628871	35.0 M	81.7 %	80.5 %	200.9bp	18.8 M	0.3 %	0.0 %

Şekil 4.22 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait istatistiksel özet

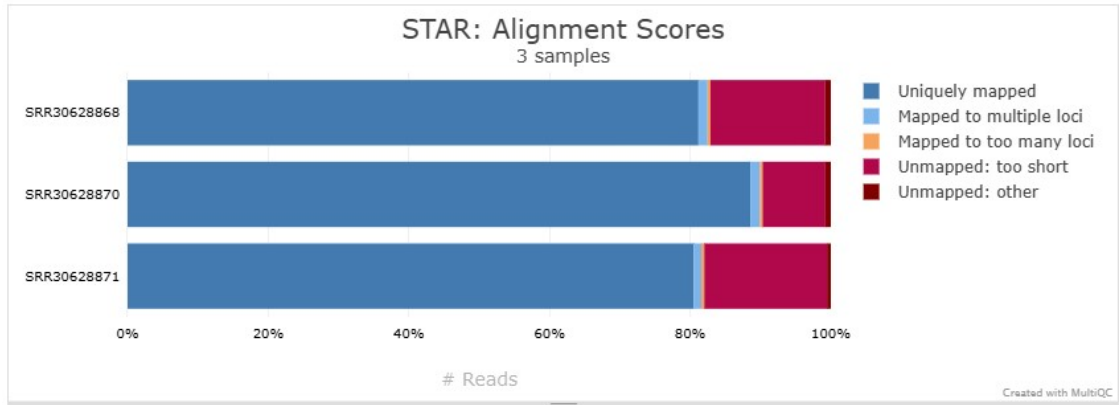
Şekil 4.22’de toplam okuma sayıları, ortalama hizalanan okuma uzunlukları, anotasyonlu birleşim sayıları ve hata oranları yer almaktadır. Okuma uzunlukları tüm örneklerde ortalama 200.9 bp olarak sabit kalmıştır. Anote (annotated splices) parçaların değerleri 17.3–19.3 milyon arasında değişmiş, bu da parça kesimlerin (splice junction’ların) başarılı şekilde hizalandığını göstermektedir. Yanlış eşleşme (mismatch oranları) %0.3, silinme oranları ise %0.0 olarak kalmıştır. Bu da yüksek doğrulukta hizalama işlemini göstermektedir.

4.3.3 STAR Hizalama Kategorileri

STAR hizalayıcısının ürettiği kategorik hizalama sonuçları Şekil 4.23’te sunulmuştur. Okumaların büyük çoğunluğu benzersiz şekilde hizalanmıştır (mavi alan). Çoklu lokasyonlara hizalanan okuma oranı oldukça düşüktür. 'Unmapped' (hizalanamayan) kategorisine giren dizilerin çoğu 'other' sınıfına aittir; bu da ya referansta olmayan diziler ya da biyolojik çeşitlilik kaynaklı varyantlar olabilir. Genel olarak bu dağılım, yüksek kaliteli ve referansla uyumlu bir veri setini işaret etmektedir.



Şekil 4.23 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait hizalama kategorileri skorları



Şekil 4.24 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait hizalama skorları

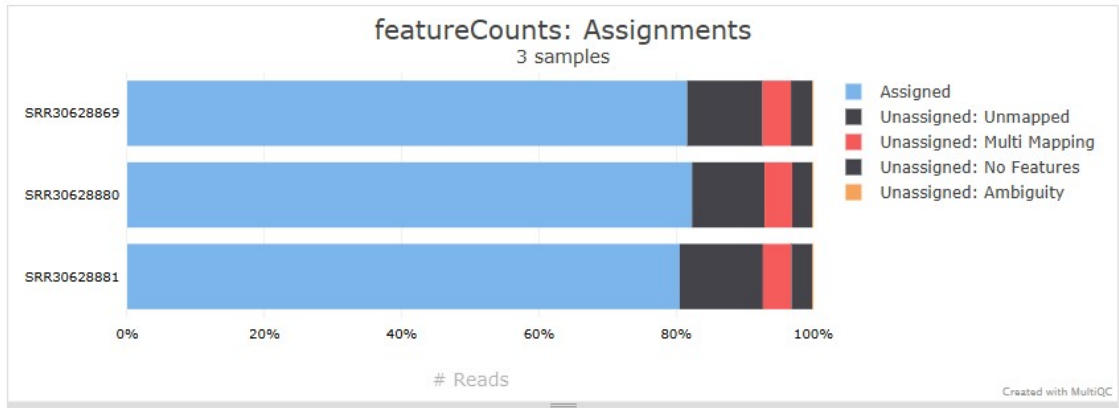
Uygulama grubuna ait hizalama kategorilerine ait skorlar yukarıda görselleştirilmiştir (Şekil 4.24). Okumaların büyük bölümü benzersiz şekilde hizalanmıştır. Çoklu lokasyonlara hizalanan diziler ve hizalanmamış (unmapped) kategorisine düşen diziler oldukça sınırlıdır. hizalanmamış dizilerin büyük çoğunluğu diğer (other) kategorisinde yer almakta olup, bu durum biyolojik varyasyon veya referans dışı bölgelerden kaynaklanabilir.

4.4 FeatureCounts ile Genlere Okuma Atanması

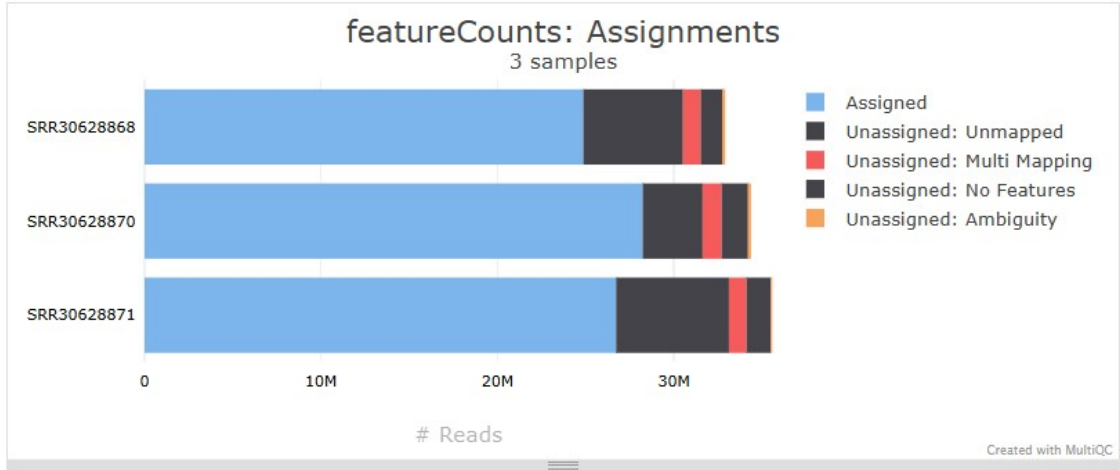
Bu bölümde, STAR hizalaması sonrası elde edilen okuma verilerinin genlere atanabilirlik oranları FeatureCounts aracı kullanılarak değerlendirilmiştir. Amaç, toplam hizalanan dizilerin ne kadarının güvenilir bir şekilde anotasyonlu gen bölgelerine karşılık geldiğini belirlemektir. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubundaki örneklerin %80.5 ile %82.3'ü arasındaki oranlarda okunabilir şekilde gen bölgelerine atanmıştır. Bu oranlar, gen ekspresyon analizleri için yeterli kapsama sahip bir veri seti sağladığını göstermektedir.

4.4.5 FeatureCounts Okuma Atamaları

Şekil 4.25'de kontrol örneklerine ait dizilerin FeatureCounts aracıyla hangi kategorilere atandığını gösterilmektedir. Okumaların büyük bir kısmı (açık mavi) başarıyla gen bölgelerine atanmıştır (assigned). Atanamayan diziler arasında en büyük paya sahip olanlar, genellikle referans anotasyonda karşılığı olmayan bölgelerden (No Features) veya çoklu lokasyonlara hizalanan (Multi Mapping) dizilerden oluşmaktadır. Hizalanmamış (unmapped) ve belirsiz (ambiguity) kategorileri ise daha düşük oranlardadır ve analiz bütünlüğünü bozacak düzeyde değildir.



Şekil 4.25 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait okuma atamaları



Şekil 4.26 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait okuma atamaları

Şekil 4.26’da uygulama örneklerinin FeatureCounts ile yapılan atama sonuçları kategorilere ayrılarak sunulmuştur. Gen bölgelerine başarıyla atanan diziler büyük çoğunluğu oluştururken, özellikle SRR30628870 örneğinde bu oran en yüksektir. Atanamayan diziler çoğunlukla referans anotasyon dışı bölgelerden veya çoklu lokasyonlara hizalanan dizilerden oluşmaktadır. hizalanmamış ve belirsiz oranları ise oldukça düşüktür ve genel analiz kalitesini etkileyecek düzeyde değildir.

4.4.6 Genlere Atanan Okuma Oranları

Sample Name	Assigned
SRR30628869	81.6 %
SRR30628880	82.3 %
SRR30628881	80.5 %

Şekil 4.27 Kontrol bitkilerinden elde edilmiş dizilere ait okuma oranları

Şekil 4.27’de sayısal olarak gösterildiği üzere, SRR30628869 örneğinde %81.6, SRR30628880 örneğinde %82.3 ve SRR30628881 örneğinde %80.5 oranında okuma gen bölgelerine başarıyla atanmıştır. Bu oranlar, diferansiyel gen ekspresyon analizi için güvenilir ve biyolojik olarak anlamlı bir temel sağlamaktadır.

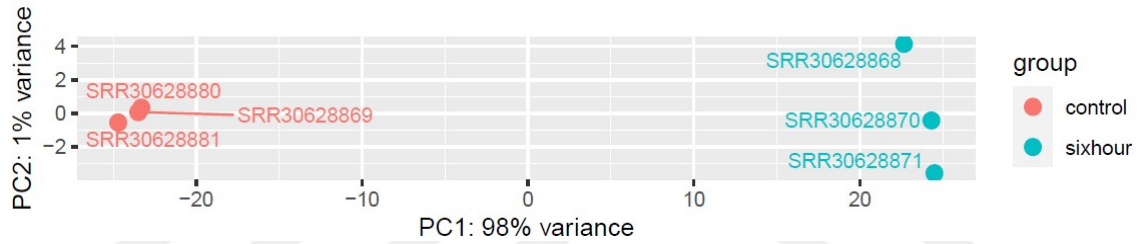
Sample Name	Assigned
SRR30628868	75.7 %
SRR30628870	82.3 %
SRR30628871	75.1 %

Şekil 4.28 Uygulama yapılmış bitkilerden elde edilmiş dizilere ait okuma oranları

Şekil 4.28’de gösterildiği üzere, SRR30628868 örneğinde %75.7, SRR30628870 örneğinde %82.3 ve SRR30628871 örneğinde %75.1 oranında okuma gen bölgelerine başarıyla atanmıştır. Özellikle SRR30628870 numaralı örnek oldukça yüksek bir atanabilirlik oranına sahiptir. Bu oranlar, uygulama grubundaki verilerin gen ekspresyon analizleri için yeterli kapsama sahip olduğunu göstermektedir.

4.5 PCA Plot

Şekil 4.29’da, DESeq2 tarafından üretilen PCA (Principal Component Analysis) grafiği sunulmaktadır. İlk bileşen (PC1), toplam varyansın %98’ini açıklamaktadır ve örnekleri en çok bu bileşen boyunca ayırmaktadır. Kontrol ve soğuk uygulama grubu örneklerinin PCA1 düzleminde net biçimde iki ayrı küme oluşturduğu görülmektedir. Bu durum, gruplar arasında belirgin bir transkriptomik fark olduğunu ve uygulamanın gen ekspresyonu üzerinde anlamlı etkiler yarattığını göstermektedir.



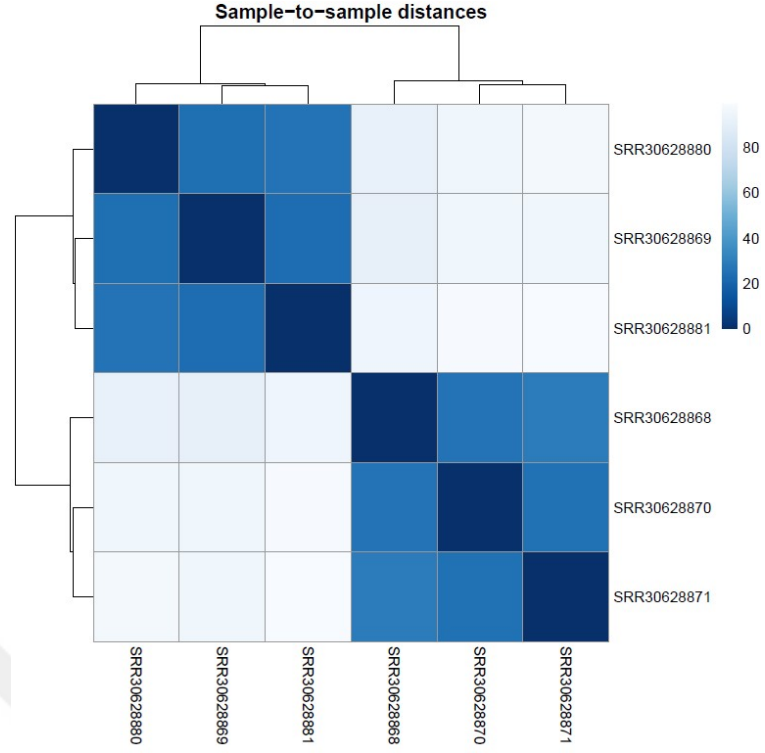
Şekil 4.29 PCA (Principal Component Analysis) veya Temel Bileşenler Analizi

4.6 Örnekler Arası Mesafe Isı Haritası

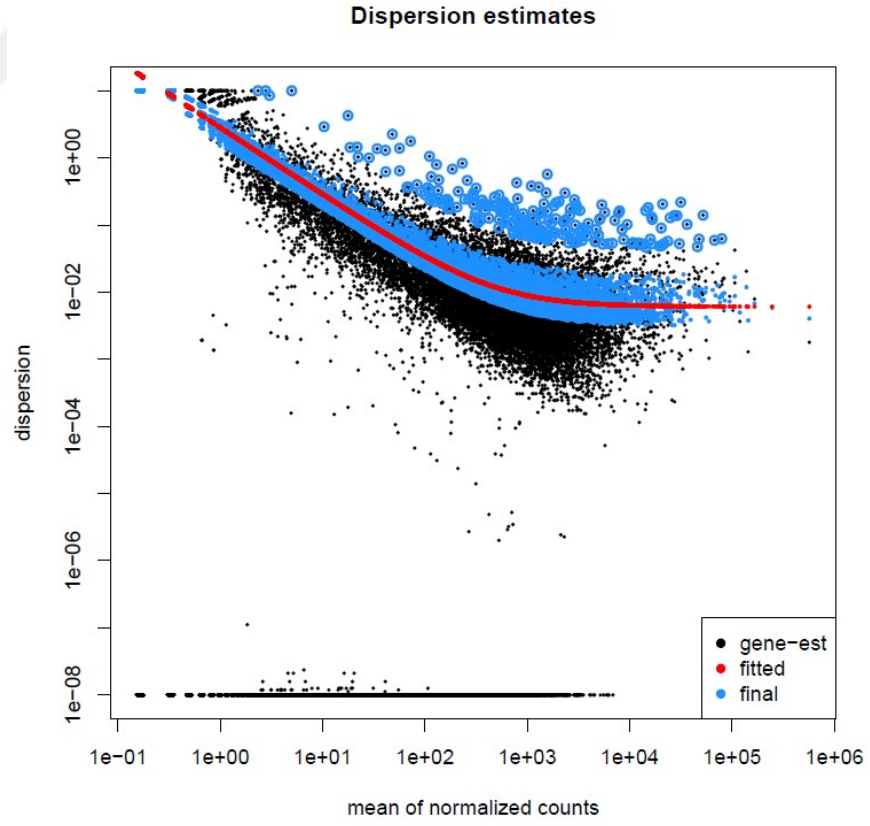
Örnekler arası benzerlikleri gösteren ısı haritası Şekil 4.30’da verilmiştir. Aynı gruptaki örnekler (örneğin tüm kontrol örnekleri) birbiriyle yüksek benzerlik göstermekte, bu da biyolojik tekrarların tutarlı olduğunu göstermektedir. Soğuk uygulaması yapılan örnekler kontrol örneklerinden net şekilde ayrılmıştır. Bu durum DESeq2 analizinin sağlam veri temeli üzerine kurulduğunu desteklemektedir.

4.7 Dağılım (Dispersion) Tahminleri

Şekil 4.31’de genlerin ortalama normalleştirilmiş okuma sayılarına karşılık gelen varyans tahminlerini sunmaktadır. Dağılım tahminlerinin ‘fitted’ eğrisi ile uyumlu şekilde seyretmesi, modelin gen ifadesi verisine iyi oturduğunu göstermektedir. Bu grafik aynı zamanda yüksek ortalamalı genlerde düşük varyans, düşük ortalamalı genlerde ise daha yüksek varyans gözlemlenebileceğini göstermektedir.



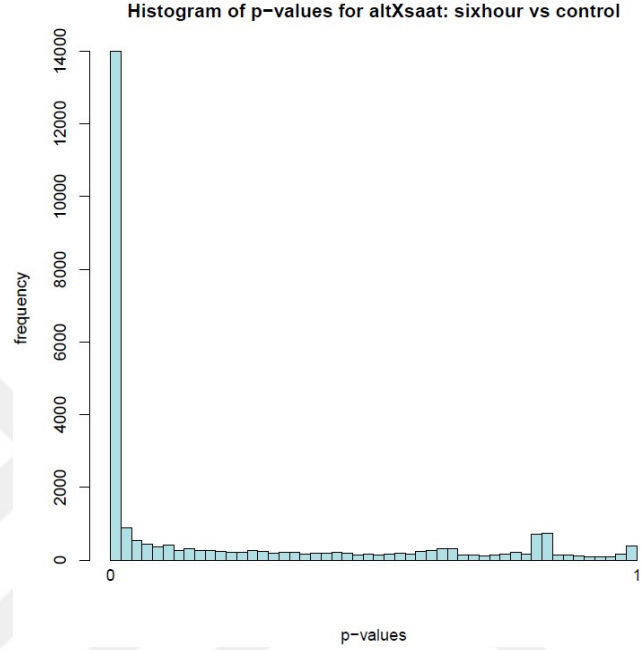
Şekil 4.30 Örnekten örneğe ısı haritası



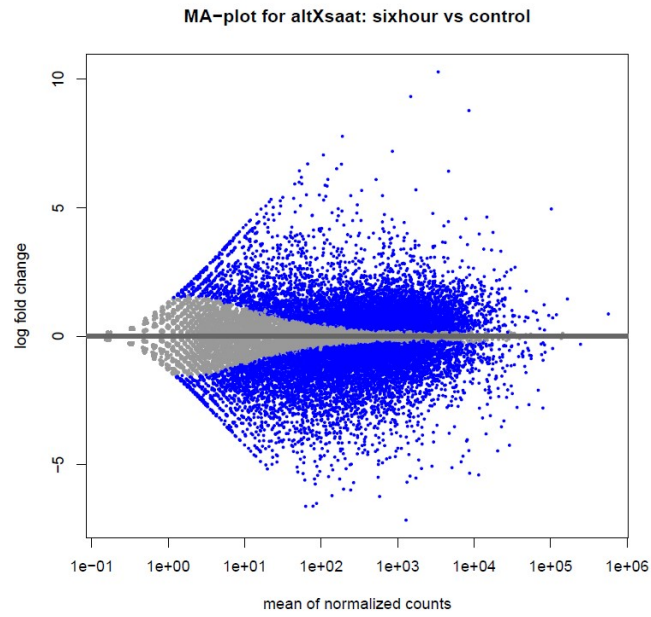
Şekil 4.31 Dispersiyon haritası

4.8 p-değeri Histogramı

Bütün genler için hesaplanan p-değerlerinin histogramı Şekil 4.32’de gösterilmiştir. p-değerlerinin sol tarafa (0’a) yığılması, çok sayıda genin iki grup arasında anlamlı şekilde farklı ifade edildiğini göstermektedir. Bu durum, uygulamanın transkriptom düzeyinde güçlü bir etkisi olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.32 Genler için hesaplanan p-değerlerinin histogramı



Şekil 4.33 Log2 ifade farkı ile Ortalama ifade farkı arasındaki ilişki

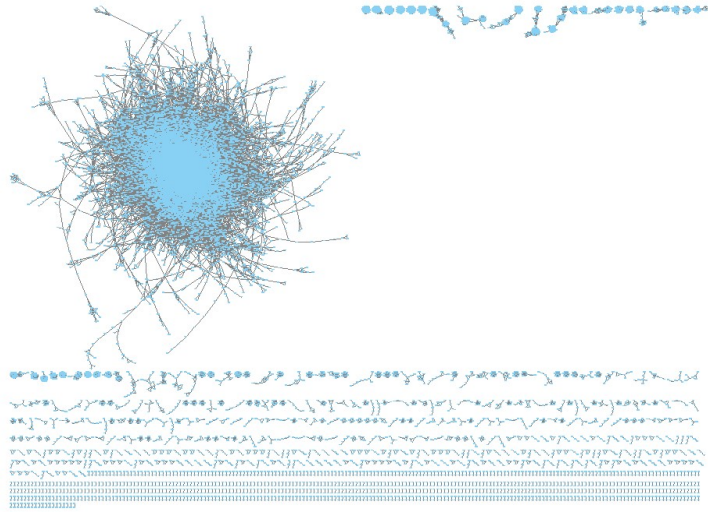
4.9 MA Plot

Şekil 33’de ortalama ifade düzeyi ile log2 fold-change değerleri arasındaki ilişki sunulmaktadır. MA ismi, ‘M’ = log2 fold change (ifade farkı) ve ‘A’ = average expression (ortalama ifade) terimlerinden türetilmiştir. Yukarı ve aşağı regüle genler grafikte simetrik olarak dağılmıştır. Ortalama ifade düzeyi yüksek olan genlerde değişimin güvenilirliği daha fazladır. Bu grafik, uygulama ve kontrol grupları arasında anlamlı şekilde farklı ifade edilen çok sayıda gen bulunduğunu ortaya koymaktadır.

4.10 WGCNA Analizi: Modüllerin Tanımlanması ve Yorumlanması

SnRK2 geninin soğuk stresi altında hangi genlerle birlikte koeksprese olduğunu ve biyolojik olarak ilişkili olabilecek modüllerde yer alıp almadığını ortaya koymak amacıyla ağırlıklı gen koekspresyon ağı (WGCNA) analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz, yalnızca farklı ifade düzeylerine sahip genleri belirlemekle kalmayıp aynı zamanda genler arası işlevsel ilişkilere dayalı olarak anlamlı modüllerin (renk gruplarının) tespit edilmesini sağlamaktadır. WGCNA, klasik diferansiyel gen ekspresyon analizlerine göre daha üst düzeyde bir biyolojik yapı çözümlemesi sunar; çünkü genleri tek tek değil, birlikte hareket eden kümeler olarak ele alır. Bu bağlamda yürütülen analizde, öncelikle ham RNA-Seq verileri normalize edilerek korelasyon matrisi oluşturulmuş, ardından ölçekten bağımsız topolojiye uygun yumuşak eşik (soft-thresholding) gücü belirlenmiştir. Elde edilen korelasyon matrisi üzerinden topolojik örtüşme matrisi (TOM) hesaplanmış ve modül tespiti yapılmıştır. Modüller ile fenotipik özellikler arasında ilişkiler incelenmiş, modül-özellik (trait) korelasyonları hesaplanmıştır. Ayrıca, her modülde en fazla bağlantıya sahip olan genler belirlenerek potansiyel merkezi gen (hub gen) adayları ortaya çıkarılmıştır. *SnRK2* gen ailesine ait genlerin bu modüllerdeki yeri özel olarak incelenmiş ve diğer genlerle olan güçlü bağlantıları belirlenmiştir. Bu analiz sayesinde, *SnRK2* genleriyle birlikte hareket eden ve muhtemelen aynı düzenleyici mekanizmalara dâhil olan yeni gen adayları belirlenmiş, biyolojik yorumlamalar için zemin hazırlanmıştır. Her bir grafik detaylı biçimde ayrı ayrı yorumlanarak bu yapının nasıl inşa edildiği adım adım ortaya konmuştur.

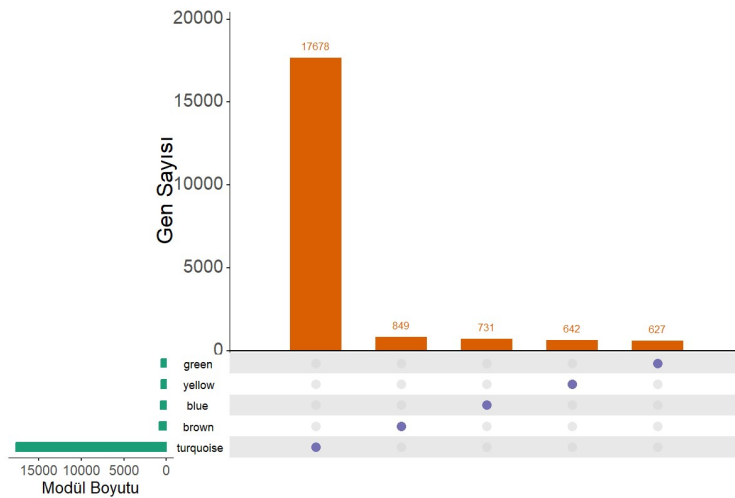
4.10.1 Gen Koekspresyon Ağı Topolojisi



Şekil 4.34 Genlerin birbirleriyle etkileşimlerini gösteren koekspresyon ağı

Sorgum genomunda genler arasındaki korelasyonlara dayalı olarak oluşturulan tüm gen koekspresyon ağı Şekil 4.34'te sunulmuştur. İlgili ağda toplam 19267 gen (nod) 1,032,138 bağlantı (edge) ile gösterilmiştir. Ortada yoğunlaşmış bağlantılar, çok sayıda gen ile yüksek korelasyon gösteren ve 'hub gen' olma potansiyeline sahip merkezi genleri işaret etmektedir. Bu yoğunluk, biyolojik süreçlerin koordinasyonunda görev alan merkezi düzenleyici gen kümelerini yansıtabilir. Dış halkalarda ise daha seyrek bağlantılarla temsil edilen marjinal gen grupları yer almakta olup, bu gruplar daha az bağlantılı ancak yine de işlevsel olarak anlamlı olabilir. Ağın genel görünümü, analiz edilen veri kümesinde kompleks bir transkriptomik etkileşim yapısının varlığını göstermektedir.

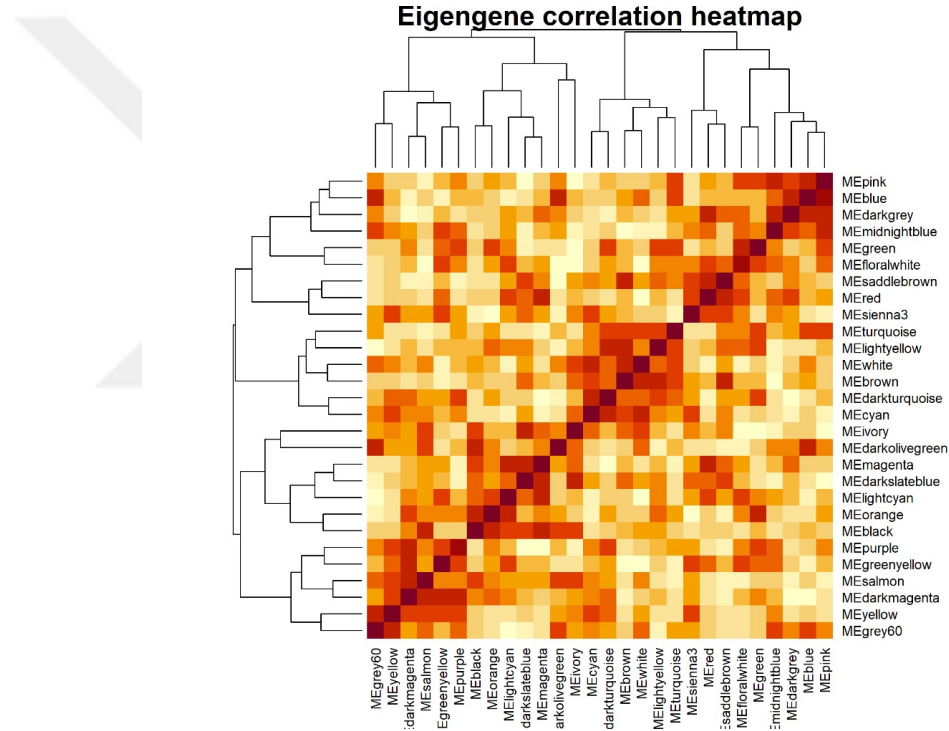
4.10.2 Modül Boyutları ve Kesişimler



Şekil 4.35 Koekspresyon gruplarına ait modül grupları ve gen içerikleri

Şekil 4.35’te, modül olarak adlandırılan koekspresyon gruplarının içerdiği gen sayıları karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Özellikle turquoise modülü 17.678 gene açık ara en büyük modül konumundadır. Bu tür büyük modüller genellikle temel metabolik süreçlerle ilişkili yaygın ekspresyon paternlerini içerir. Brown, blue, yellow ve green gibi daha küçük modüller ise daha özgül ve koşula bağlı gen ifadelerini temsil edebilir. Grafikte modüller arası gen paylaşımının olup olmadığını anlamak için UpSet tarzı gösterime yer verilmiştir. Buna göre WGCNA modülleri genellikle birbirinden bağımsız kümelerdir ve modül boyutlarını ve kümelerin dağılımlarında ortak genler bulunmamaktadır.

4.10.3 Hub Gen Adayları

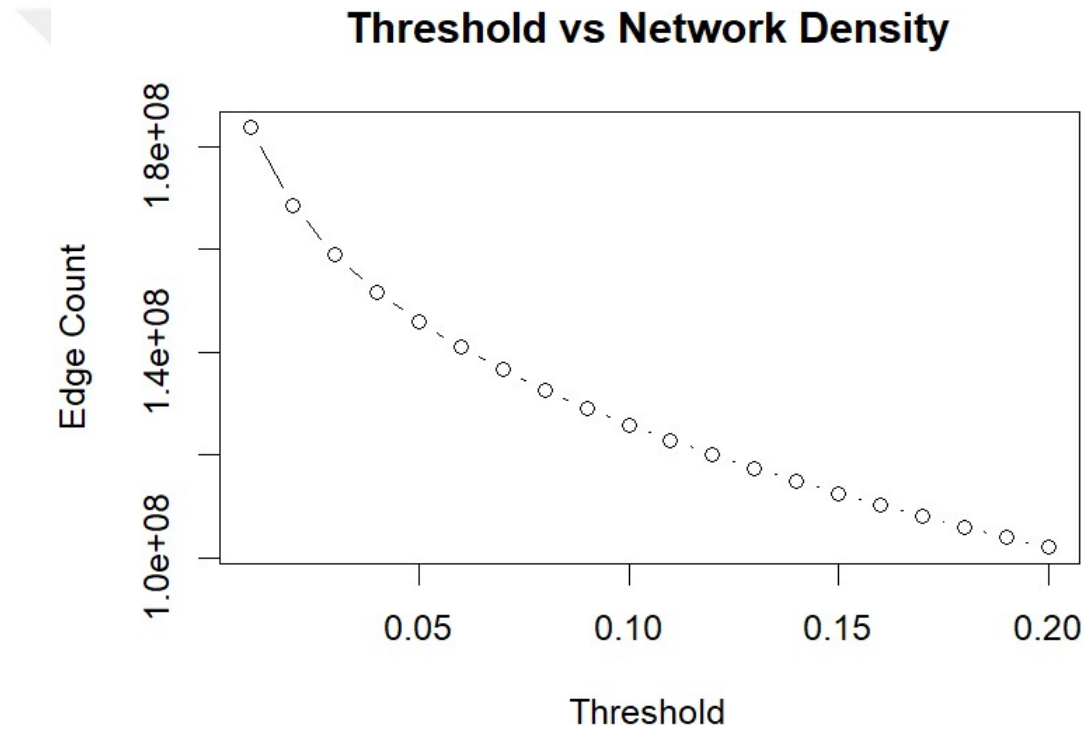


Şekil 4.36 Koekspresyon ağında yer alan modüllerdeki olası hub genler

Bu tabloda, her modül içerisindeki en yüksek bağlantı gücüne sahip genler listelenmiştir (Şekil 4.36). WGCNA metodolojisine göre hub genler, modül içindeki diğer genlerle yüksek oranda korelasyon gösteren, dolayısıyla potansiyel ana düzenleyici genler olarak kabul edilen transkriptlerdir. Korelasyon yüksekliği kırmızı ve kahverengi tonlarda görülebilirken; düşük korelasyon yani ifade biçimi, sarı ve tonlarıyla gösterilmiştir. Kahverengi tonlarda gözüken diyagonal çizgi her modülün kendisiyle yaptığı korelasyondur. Eigengene modülün ortalama eğrisidir ve bir vektör veya profildir. Eigengene veya modül eigengene (ME) modülün ortalama ifade profili olarak tanımlanabilir. Bu bağlamda örneğin MEpink ile yüksek korelasyona sahip olan

bazı modüller MEblue, MEdarkgrey, MEMidnightblue, MEGreen ve MEfloralwhite iken, MEdarkslateblue ve MESalmon modüllerinin eigengeneleri arasındaki korelasyon düşüktür. Yüksek korelasyona sahip olan modül eigengenelerinde, genler birlikte aynı biyolojik süreçlerde yer alıyor olabilirlerken; tersi durumda farklı biyolojik süreçler beklenmektedir. Ayrıca, bu genler, biyobelirteç olarak kullanılabilecek güçlü adaylardır ve hem sistem biyolojisi hem de uygulamalı genetik analizler açısından önem arz etmektedir. Ayrıca, bu genlerin işlevsel açıklamaları ileri biyolojik yorumlamalarda yol gösterici olabilir.

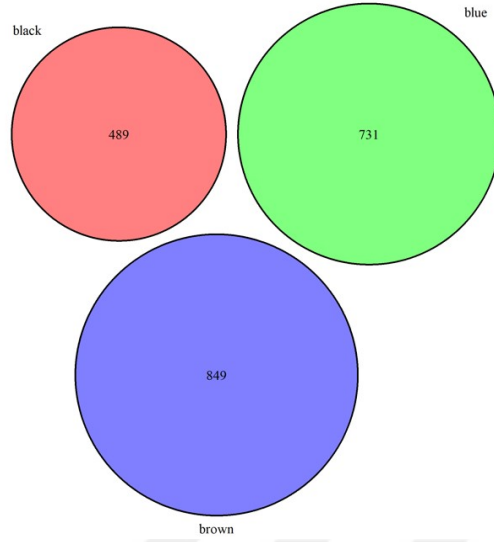
4.10.4 Korelasyon Eşiği ile Ağ Yoğunluğu İlişkisi



Şekil 4.37 Bağlantı ve eşik değerleri arasındaki korelasyon

Farklı korelasyon eşiklerinin (threshold) ağdaki bağlantı sayısına (edge count) etkisini Şekil 4.37’de göstermektedir. Eşik değeri arttıkça, yani yalnızca daha güçlü korelasyonlar ağa dahil edildikçe, bağlantı sayısı logaritmik olarak azalmaktadır. Bu durum, analizde doğru threshold veya eşik değerinin belirlenmesinin ağın biyolojik anlamlılığı açısından ne kadar kritik olduğunu ortaya koymaktadır. Çok düşük eşiklerde ağ aşırı bağlantılı ve anlamdan uzak hale gelirken, çok yüksek eşiklerde ise biyolojik bilgi kaybı yaşanabilir.

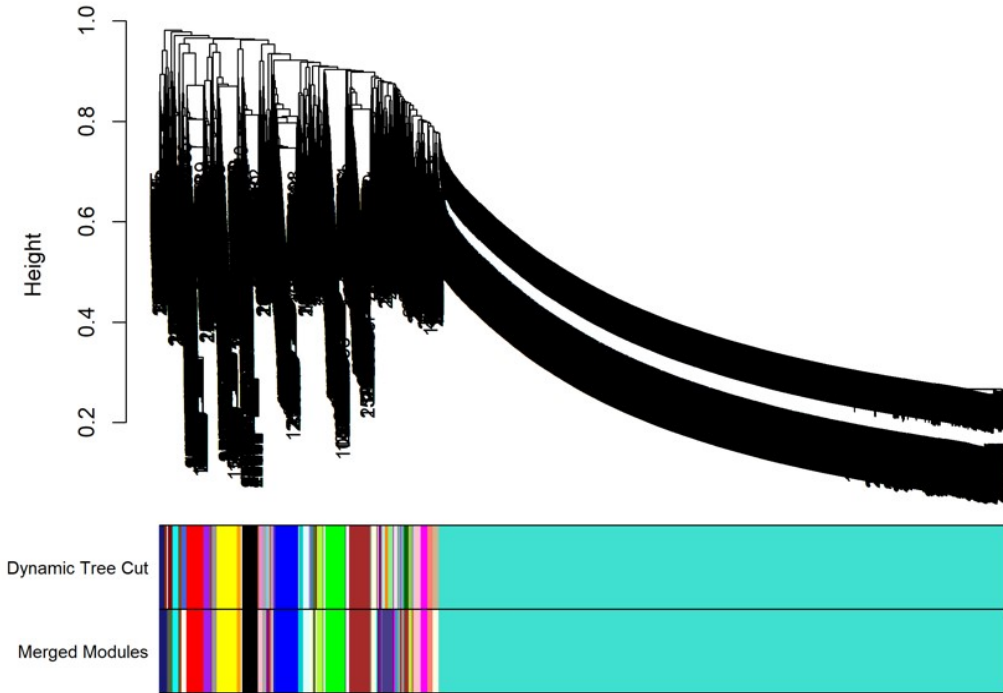
4.10.5 Modüller Arası Gen Sayısı Dağılımı



Şekil 4.38 Üç modüle yer alan gen sayılarını gösteren Venn diyagramı

Şekil 38'deki Venn diyagramı, özellikle black, blue ve brown modüllerinde yer alan gen sayılarını ayrı ayrı göstermektedir. Her modül, belirli genetik düzenleyici süreçlerle ilişkilendirilmiş olabilir ve bu grafik, modüller arası ayrışmanın netliğini görselleştirmektedir.

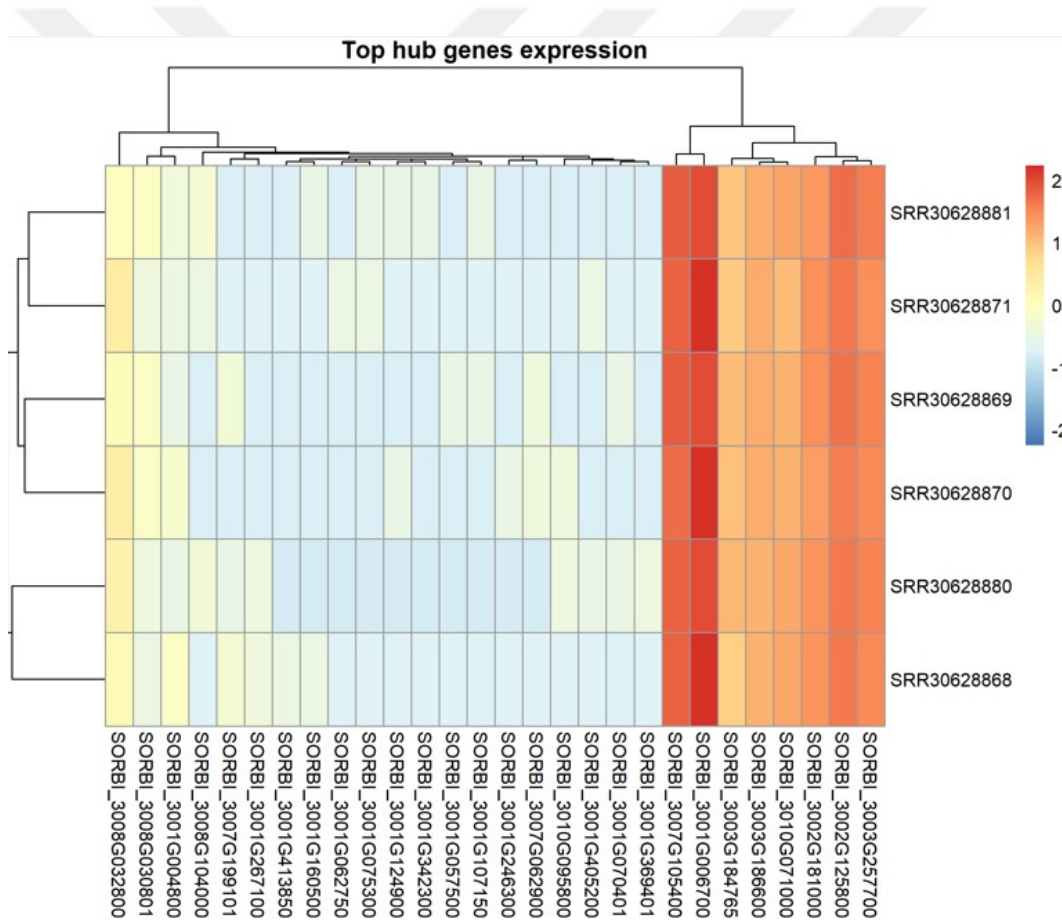
4.10.6 Gen Dendrogramı ve Modül Atamaları



Şekil 4.39 Modüllere ait gen dendrogramı

Gen dendrogramı, benzer ekspresyon desenlerine sahip genlerin hiyerarşik kümeleme ile nasıl gruplandığını göstermektedir. Alt kısımda ise bu kümelerin hangi modül renklerine atandığı ve gerekirse benzer modüllerin birleştirildiği (merged) gösterilmektedir. Benzer ifade profillerine sahip genlerin “height” yani yükseklik değerleri düşüktür ve ağacın aşağısında birleşmektedirler. Buna karşın yüksek “yükseklik” değerleri gen profillerinde ifade farklılığının yüksek olduğunu göstermektedir. İfade benzerliklerinde yüksek korelasyon varsa bu genlerin benzer biyolojik süreçlerde yer alabileceği unutulmamalıdır. Bu yapı, modüllerin biyolojik olarak anlamlı alt kümeler oluşturduğunu destekler niteliktedir.

4.10.7 Hub Genlerin Ekspresyon Profil Isı Haritası

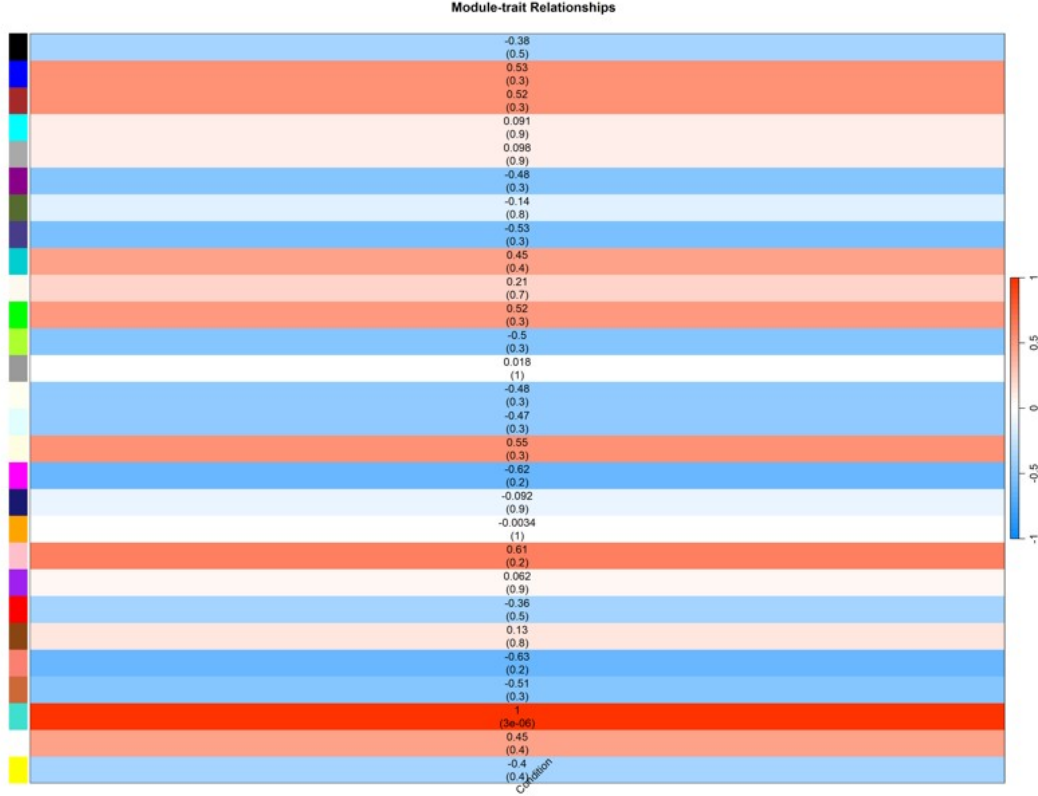


Şekil 4.40 En yüksek ekspresyonlu hub genlere ait ısı haritası

Isı haritası, en yüksek bağlantı gücüne sahip genlerin farklı örnek gruplarındaki (örneğin soğuk uygulaması ve kontrol) ekspresyon düzeylerini göstermektedir (Şekil 4.40). Bazı genlerde belirgin yukarı veya aşağı regülasyonlar gözlemlenmiş, bu da modüller içerisindeki hub genlerin biyolojik cevapta aktif roller üstlenmiş olabileceğini

düşündürmektedir. Özellikle SRR30628870 ve SRR30628871 gibi örneklerde ayrışma daha barizdir.

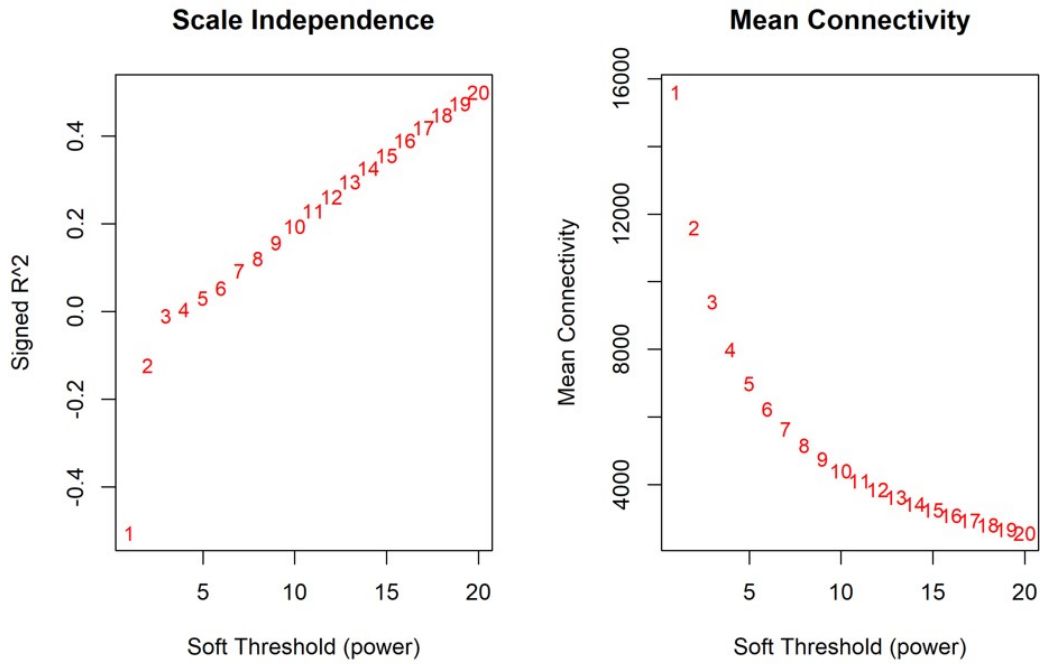
4.10.8 Modül-Trait Korelasyon Matrisi



Şekil 4.41 Modül ile belirli örnek grupları (trait) arasındaki korelasyon katsayısı ve p-değerleri

Bu ısı haritası, her bir modül ile belirli örnek grupları (trait) arasındaki korelasyon katsayısı ve p-değerlerini sunmaktadır. Pozitif ve negatif korelasyonlar renk tonlarına göre farklılık göstermektedir. Özellikle kırmızı ve mavi ekstrem renkler, ilgili modülün o biyolojik koşulla yüksek derecede ilişki gösterdiğini ortaya koyar. Diğer bir ifade ile kırmızı modüller 6 saatlik soğuk stresine bağlı olarak birlikte artan genleri, mavi ise azalan gen gruplarını veya genleri göstermektedir. Bu bağlamda siyan modülüne ait ortalama ifade profili (eigengene) 6 saatlik soğuk stresi ile güçlü bir pozitif bir ilişkiye sahiptir. Yani o renkteki modülde yer alan genler birlikte artmaktadır. Analiz sonucunda anlamlı korelasyon gösteren modüller, hedeflenen biyolojik süreçlerin düzenleyici merkezleri olabilir.

4.10.9 Ölçeksiz Topolojiye Uygunluk ve Ortalama Bağlantı Değişimi



Şekil 4.42 Ölçeksiz ve Ortalama bağlantı grafikleri

WGCNA analizinde ağın ölçeksiz (scale-free) özellik taşıyabilmesi için en uygun 'soft-thresholding power' değeri belirlenmelidir (Şekil 4.42). Sol grafikte power arttıkça R^2 değerinin nasıl yükseldiği gösterilirken, sağ grafikte ise bu artışın ortalama bağlantı değerine olan etkisi gösterilmektedir. Bu denge, biyolojik gerçekliğe en yakın ağ yapısının elde edilmesini sağlar. Bu çalışmada power=12 değerinin optimal olduğu belirlenmiştir çünkü R^2 değeri plato yaparken bağlantı gücü de makul düzeyde kalmıştır.

4.11 SnRK genlerine ait gen etkileşimleri

4.11.1 *SnRK2* Genine Ait WGCNA Modül Analizi

Bu çalışmada, abiyotik stres yanıtında kritik rol oynayan *SNRK2* gen ailesine ait genlerin genetik etkileşim örüntüleri WGCNA (Ağırlıklı Gen Ko-İfadesi Ağ Analizi) kullanılarak incelenmiştir. Bu bağlamda, ilgili genlerin farklı modüllerdeki yerleşimleri, modül içi bağlantı yapıları ve potansiyel hub gen rollerine dair analizler gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları, *SnRK2* genlerinin tamamına yakınının yüksek korelasyon yapılarından oluşan "turquoise" modülünde yer aldığını göstermektedir (Çizelge 4.4).

Her bir genin modülle olan ilişkisini ölçen modül üyelik değeri (BestKME_Value) 0.96'nın üzerinde bulunmuş, bu da söz konusu genlerin bulundukları modül içerisindeki biyolojik varyansla yüksek oranda ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu düzeydeki kME skorları, genlerin o modülün biyolojik merkezine entegre olduğunu ve potansiyel olarak modül davranışlarını temsil ettiğini düşündürmektedir. Ancak dikkat çekici şekilde, hiçbir gen hub olarak tanımlanmamıştır. Yani bu genler yüksek bağlantı skorlarına (kTotal, kWithin, kOut) rağmen ağın merkezinde yer almamakta, fakat çevresel fakat etkili etkileşimler yürütmektedir. Özellikle kWithin ve kOut değerlerinin yüksekliği, bu genlerin ağ içinde modül içi ve dışı iletişim kapasitesinin güçlü olduğunu ortaya koymaktadır. Bu analiz, *SnRK2* genlerinin belirli modüllerde nasıl organize olduklarını ve hangi potansiyel genetik programlara dahil olduklarını anlamak açısından büyük önem taşımaktadır.

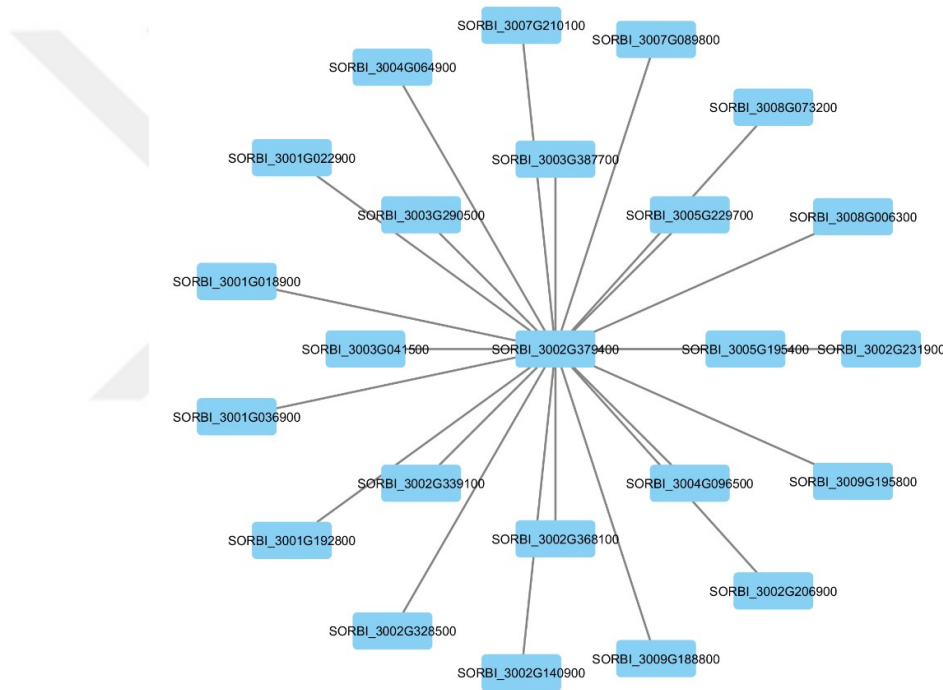
Çizelge 4.4 SnRK2 geni ile etkileşen genlere ait modül tablosu

Gen Kimliği	BestKME_Mod	BestKME_Value	isHub	kDiff	kOut	kTotal	kWithin	moduleColor
-------------	-------------	---------------	-------	-------	------	--------	---------	-------------

SORBI_3008G073200	kMEturquoise	0.973422446	Non-Hub	8567.546	86.43138	8740.409	8653.978	turquoise
SORBI_3005G195400	kMEturquoise	0.964926385	Non-Hub	8029.784	92.87866	8215.541	8122.662	turquoise
SORBI_3002G368100	kMEturquoise	-0.942947472	Non-Hub	6842.886	124.9575	7092.801	6967.844	turquoise
SORBI_3003G387700	kMEturquoise	0.967342622	Non-Hub	8197.189	96.14906	8389.487	8293.338	turquoise
SORBI_3002G231900	kMEturquoise	-0.963288026	Non-Hub	7916.457	99.77079	8115.998	8016.227	turquoise
SORBI_3009G195800	kMEturquoise	0.965513677	Non-Hub	8068.371	97.16159	8262.694	8165.532	turquoise
SORBI_3003G290500	kMEturquoise	0.968903373	Non-Hub	8302.283	94.8012	8491.886	8397.085	turquoise
SORBI_3002G379400	kMEturquoise	-0.959589141	Non-Hub	7726.1	103.64	7933.38	7829.74	turquoise
SORBI_3007G089800	kMEturquoise	-0.950621388	Non-Hub	7239.135	115.0558	7469.247	7354.191	turquoise
SORBI_3007G210100	kMEturquoise	-0.972542134	Non-Hub	8493.425	86.24544	8665.916	8579.67	turquoise
SORBI_3003G041500	kMEturquoise	-0.967727688	Non-Hub	8202.268	96.62813	8395.524	8298.896	turquoise
SORBI_3002G339100	kMEturquoise	0.959597164	Non-Hub	7697.995	98.67367	7895.343	7796.669	turquoise
SORBI_3004G096500	kMEturquoise	-0.96584578	Non-Hub	8094.979	94.61817	8284.216	8189.597	turquoise
SORBI_3002G140900	kMEturquoise	-0.969978442	Non-Hub	8338.332	88.92912	8516.191	8427.261	turquoise
SORBI_3005G229700	kMEturquoise	0.953030428	Non-Hub	7348.666	109.257	7567.18	7457.923	turquoise
SORBI_3001G192800	kMEturquoise	-0.968758976	Non-Hub	8251.417	94.54656	8440.511	8345.964	turquoise
SORBI_3002G328500	kMEturquoise	0.957731921	Non-Hub	7623.148	102.649	7828.446	7725.797	turquoise
SORBI_3001G022900	kMEturquoise	-0.937380262	Non-Hub	6547.23	130.6084	6808.447	6677.838	turquoise
SORBI_3004G064900	kMEturquoise	-0.967967145	Non-Hub	8236.272	94.12158	8424.516	8330.394	turquoise
SORBI_3001G036900	kMEturquoise	0.959014783	Non-Hub	7693.968	101.8357	7897.639	7795.804	turquoise
SORBI_3001G018900	kMEturquoise	-0.947206103	Non-Hub	7007.863	113.526	7234.915	7121.389	turquoise
SORBI_3009G188800	kMEturquoise	-0.966056472	Non-Hub	8116.353	96.378	8309.109	8212.731	turquoise
SORBI_3008G006300	kMEturquoise	0.97230877	Non-Hub	8497.105	86.4499	8670.005	8583.555	turquoise
SORBI_3002G206900	kMEturquoise	0.95583335	Non-Hub	7497.972	106.1665	7710.305	7604.139	turquoise

4.11.2 *SnRK2* Genlerinin Etkileşim Ağı (Edge List) Yorumu

WGCNA analizinin bir devamı olarak, bu bölümde *SnRK2* genleri ile ilişkili genler arasında oluşan kenar bağlantıları (edge list) değerlendirilmiştir. Bu analiz, genler arası benzer ifade desenlerini baz alarak oluşturulan bir korelasyon ağına dayanmaktadır (Şekil 4.43 ve Çizelge 4.5). Toplamda 23 çift yönlü bağlantı tespit edilmiş olup, bu bağlantıların korelasyon gücünü yansıtan ağırlık (Weight) değerlerinin ortalaması 0.981 gibi oldukça yüksek bir seviyededir. Bu bulgu, *SnRK2* geninin ağ içindeki diğer genlerle son derece güçlü ifade uyumuna sahip olduğunu ve potansiyel olarak aynı biyolojik süreçlerde yer aldığını düşündürmektedir.



Şekil 4.43 *SnRK2* genin etkileştiği genler

En yüksek bağlantı gücü 0.995 ile *SORBI_3002G379400* ve *SORBI_3002G206900* genleri arasında gözlenmiştir. Bu düzeydeki korelasyon, bu iki genin büyük olasılıkla ortaklaşa regüle edildiklerini veya aynı sinyal yollarında görev aldıklarını göstermektedir. Diğer gen çiftlerinde de korelasyon ağırlıkları genellikle 0.97–0.99 arasında değişmekte olup, ağ yapısının oldukça modüler ve tutarlı olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu kenar listesi, sadece *SnRK2* gen ailesinin değil, aynı zamanda tüm turquoise modülünün etkileşim haritasını anlamamıza olanak sağlamaktadır. Bu sayede, abiyotik stres gibi karmaşık biyolojik durumlarda görev alabilecek yeni düzenleyici genler ya da hedef adaylar belirlenebilir.

Çizelge 4.5 SnRK2 geni ile etkileşen genlere ait ağırlıklar

Etkişen genler	Ağırlık
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3002G140900	0.979996
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3007G210100	0.978333
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3008G073200	0.97942
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3005G229700	0.973452
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3003G290500	0.981984
SORBI_3001G018900 (interacts with) SORBI_3002G379400	0.987875
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3004G096500	0.989585
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3009G188800	0.97745
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3008G006300	0.990385
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3002G206900	0.995565
SORBI_3001G036900 (interacts with) SORBI_3002G379400	0.980193
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3004G064900	0.977008
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3002G339100	0.976878
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3002G368100	0.970982
SORBI_3001G192800 (interacts with) SORBI_3002G379400	0.986105
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3007G089800	0.977159
SORBI_3001G022900 (interacts with) SORBI_3002G379400	0.983026
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3003G041500	0.982545
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3005G195400	0.981238
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3002G231900	0.97413
SORBI_3002G328500 (interacts with) SORBI_3002G379400	0.971708
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3003G387700	0.986571
SORBI_3002G379400 (interacts with) SORBI_3009G195800	0.983001

Bu etkileşim analizinden elde edilen kenar listesi, özellikle *SnRK2* geninin regülasyon ağlarında nasıl konumlandığını ve hangi genlerle koordineli çalıştığını anlamada kritik rol oynamaktadır. Bu sayede, potansiyel genetik hedeflerin belirlenmesi ve biyotik/abiyotik stres yanıtı mekanizmalarının aydınlatılması mümkün hale gelmektedir.

Çizelge 4.6'da *SnRK2* geni ile etkileşim gösteren genlerin GO (Gene Ontology) ve KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes ve Genomes) anotasyonlarını sunmaktadır. Her bir genin işlevsel rollerini daha iyi anlamak amacıyla, hem moleküler fonksiyon hem de potansiyel biyolojik yolak katılımları dikkate alınmıştır. Bu bağlamda:

- Transkripsiyonel düzenleyiciler, ribozomal proteinler, iyon kanalları ve protein kinazlar gibi fonksiyonel gruplara ait genler tespit edilmiştir.
- Özellikle protein fosforilasyonu, RNA/DNA bağlanması, iyon taşınımı, ribozomal yapı ve çeviri, elektron taşıma gibi süreçlerde görev alan genler göze çarpmaktadır.
- KEGG anotasyonlarına göre genlerin bazıları, stres tepkileri ve sinyal iletimi gibi önemli yolaklarla ilişkilendirilmiştir (örneğin, *SORBI_3009G195800* – AMP-activated protein kinase; *SORBI_3002G379400* – SRK2 kinaz).
- Ayrıca GO terimleri arasında transmembran taşıma, protein dimerizasyonu, ferrodoksinle ilişkili redoks süreçleri, ribozomal yapı elemanları gibi çeşitli hücresel ve moleküler işlevlere yer verilmiştir.

Bu sonuçlar, *SnRK2* genlerinin etkileşim içinde bulunduğu genlerin sadece modüler düzeyde değil, aynı zamanda biyolojik işlevsellik açısından da anlamlı bir ağ oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bu etkileşimlerin ortak yolaklar üzerinden biyotik ve abiyotik stres yanıtlarına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu tür detaylı fonksiyonel analizler, potansiyel biyoteknolojik hedeflerin belirlenmesine de ışık tutacaktır.

Çizelge 4.6 SnRK2 geni ile etkileşen genlerin GO ve KEGG fonksiyonları

Gene Name	GO Description	KEGG Description
<i>SORBI_3004G096500</i>	nucleic acid binding	far upstream element-binding protein
<i>SORBI_3004G096500</i>	RNA binding	far upstream element-binding protein
<i>SORBI_3004G064900</i>		
<i>SORBI_3003G290500</i>	profilin	profilin
<i>SORBI_3003G041500</i>	protein binding	U3 small nucleolar RNA-associated protein 18
<i>SORBI_3003G387700</i>		
<i>SORBI_3008G006300</i>		
<i>SORBI_3008G073200</i>	DNA binding	
<i>SORBI_3008G073200</i>	DNA binding	
<i>SORBI_3008G073200</i>	DNA binding	
<i>SORBI_3007G210100</i>		
<i>SORBI_3007G089800</i>	protein binding	histone-lysine N-methyltransferase SETD3
<i>SORBI_3001G018900</i>	translation	small subunit ribosomal protein S4e
<i>SORBI_3001G022900</i>	electron transport chain	ferredoxin
<i>SORBI_3001G036900</i>	ribosome	small subunit ribosomal protein S23e
<i>SORBI_3001G192800</i>	ATP binding	
<i>SORBI_3009G188800</i>	ion transport	cyclic nucleotide gated channel
<i>SORBI_3009G195800</i>	signal transduction	AMPK catalytic alpha subunit
<i>SORBI_3005G195400</i>	protein dimerization activity	
<i>SORBI_3005G229700</i>		
<i>SORBI_3002G368100</i>	cell growth	
<i>SORBI_3002G379400</i>	protein phosphorylation	serine/threonine-protein kinase SRK2
<i>SORBI_3002G339100</i>	transmembrane transport	
<i>SORBI_3002G140900</i>		pre-mRNA-splicing factor 38A
<i>SORBI_3002G328500</i>	protein phosphorylation	
<i>SORBI_3002G206900</i>		

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada AGKA yöntemiyle sorgumda *SnRK2* gen ailesine ait etkileşim ağı analiz edilmiştir. Analiz, genler arası korelasyon katsayılarına dayalı modüler yapılar üzerinden biyolojik anlam içeren ilişkileri ortaya koymayı hedeflemiştir (Langfelder ve Horvath, 2008). Elde edilen sonuçlara göre, *SORBI_3002G379400* (*SRK2* kinaz) geni merkezli, ortalama korelasyon değeri 0.981 olan 23 adet çift yönlü bağlantı saptanmıştır. Özellikle *SORBI_3002G206900* ile 0.995 düzeyinde korelasyon göstermesi, bu iki genin ortak sinyal yollarında yer alabileceğine işaret etmektedir.

Bu tür yüksek korelasyon düzeyleri, Arabidopsis (Kamiyama ve ark., 2021; Umezawa ve ark., 2013), çeltik (Zhang ve ark., 2023; Lou ve ark., 2017) ve patates (Bai ve ark., 2017a) gibi türlerde de gözlemlenmiştir. *SnRK2* genleri abiyotik stres koşullarında, transkripsiyon faktörleri (AREB/ABF), iyon kanalları (SLAC1, GORK) ve membran proteinleri (akuaporinler) ile etkileşim kurmaktadır (Coello ve ark., 2011b; Kulik ve ark., 2011; Maszkowska ve ark., 2021; Takahashi ve ark., 2020).

Ağda yer alan genlerin işlevsel anotasyonları; protein fosforilasyonu (*SORBI_3002G379400*, *SORBI_3002G328500*), RNA/DNA bağlanması (*SORBI_3004G096500*, *SORBI_3008G073200*), iyon taşınımı (*SORBI_3009G188800*, *SORBI_3002G339100*), ribozomal aktivite (*SORBI_3001G018900*, *SORBI_3001G036900*) ve redoks süreçleri (*SORBI_3001G022900*) gibi işlevleri kapsamaktadır. Bu çeşitlilik, *SnRK2*'nin yalnızca sinyal iletimiyle sınırlı kalmadığını; translasyonel, metabolik ve oksidatif süreçlerde de etkili olduğunu göstermektedir (Chen ve ark., 2020; Maszkowska ve ark., 2021a; Li ve ark., 2018).

SORBI_3004G096500 geninin transkripsiyon faktörü benzeri yapılarla anotelenmesi, AREB/ABF gibi bZIP transkripsiyon faktörleriyle işlevsel benzerlik gösterebileceğini düşündürmektedir. Arabidopsis'te *OST1* (*SnRK2.6*) kinazının ABF3'ü fosforlayarak ABA aracılı gen ekspresyonunu düzenlediği bilinmektedir (Sirichvera ve ark., 2010; Wang ve ark., 2013b; Kamiyama ve ark., 2021). Benzer şekilde, *SORBI_3009G195800* geninin KEGG anotasyonlarında AMPK homologu olarak tanımlanması, *SnRK1* ile *SnRK2* arasında enerji-stres koordinasyonuna işaret etmektedir (Balakrishnan ve ark., 2024; Jamsheer ve ark., 2019; Stanczyk ve ark., 2023).

Feredoksinle ilişkili anotasyona sahip *SORBI_3001G022900*, redoks homeostazı üzerinde *SnRK2*'nin dolaylı etkisini göstermektedir. *SnRK2.6*'nın NADPH oksidaz RbohF'yi fosforlayarak ROS üretimini tetiklediği ve bunun stomatal

kapanmayla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kamiyama ve ark., 2021a; Kawa ve ark., 2020a; Szymańska ve ark., 2019a). Ayrıca, *SnRK2.4* ve *SnRK2.10*'un tuz stresi koşullarında ROS seviyesini modüle ederek hücrel zararları azalttığı bildirilmiştir (Szymańska ve ark., 2019a). Buna ek olarak, *SnRK1* yolunun da redoks durumuna bağlı olarak çalışan korunmuş bir düzenleme mekanizmasına sahip olduğu belirtilmektedir (Jamsheer ve ark., 2019).

Transkript işleme (*SORBI_3002G140900*), protein dimerizasyonu (*SORBI_3005G195400*) ve profilin yapısı (*SORBI_3003G290500*) ile ilişkili genler, *SnRK2* 'nin sinyal iletimi dışında hücrel yapı organizasyonu ve post-transkripsiyonel düzenleme süreçlerinde de rol oynayabileceğini göstermektedir (Yuan ve Zhao, 2025; Maszkowska ve ark., 2021a; Jamsheer ve ark., 2019).

5.1 *SnRK2* Ağ Yapısının Modülerliği ve Fonksiyonel Bütünlük

SnRK2 geni etrafında şekillenen turquoise modülü, yalnızca istatistiksel korelasyon değil, aynı zamanda fonksiyonel bütünlük sunmaktadır. WGCNA analiziyle belirlenen bu modül; transkripsiyonel düzenleme, iyon taşınımı, protein fosforilasyonu, translasyon ve redoks dengesi gibi biyolojik süreçlerle ilişkilidir (Langfelder ve Horvath, 2008; Kawa ve ark., 2020; Jamsheer ve ark., 2019). *SnRK2*'nin merkezi konumu, onu yalnızca bir katılımcı değil aynı zamanda ağın düzenleyici nodu yapmaktadır. Arabidopsis, mısır ve çeltik gibi türlerde yapılan benzer analizler de bunu desteklemektedir (Chen ve ark., 2020; Li ve ark., 2017; Wan ve ark., 2022).

SORBI_3002G339100 gibi iyon taşıyıcı genlerin *SnRK2* ile yüksek korelasyonu, membran geçirgenliği ve osmotik stres yönetimiyle ilişkili işlevleri göstermektedir (Maszkowska ve ark., 2021b). *SORBI_3001G018900* ve *SORBI_3001G036900* gibi ribozomal protein genleriyle olan korelasyon, *SnRK2*'nin translasyonel kontrol üzerindeki potansiyel etkisine işaret eder (Li ve ark., 2018; Jamsheer ve ark., 2019).

SnRK2'nin redoks homeostazıyla ilişkili genlerle birlikte yer alması (örneğin *SORBI_3001G022900*), ROS üretimi üzerinden hücrel savunma süreçlerini koordine ettiğini düşündürmektedir (Rachowka ve ark., 2023; Yuan ve Zhao, 2025).

5.2 Potansiyel Biyoteknolojik Hedeflerin Belirlenmesi

SnRK2'nin çok yönlü düzenleyici rolü; stres yanıtı, translasyonel düzenleme, iyon ve su dengesi gibi süreçlerde açıkça ortaya konmuştur. Bu nedenle, *SnRK2* ile ko-eksprese genler, gelecekte biyoteknolojik uygulamalarda değerlendirilebilecek öncelikli

hedefler arasındadır (Balakrishnan ve ark., 2024; Coello ve ark., 2011a; Kamiyama ve ark., 2021).

Özellikle AMPK benzeri özellik taşıyan *SORBI_3009G195800*, enerji homeostazı düzenlemesinde önem taşımaktadır (Jamsheer ve ark., 2019; Stanczyk ve ark., 2023). Benzer şekilde, ferredoksinle ilişkili redoks genleri (*SORBI_3001G022900*) ROS aracılığıyla stres toleransını etkileyebilir (Maszkowska ve ark., 2021; Blanco ve ark., 2019).

SnRK2 ile ko-eksprese olan iyon kanal genleri (örneğin *SORBI_3009G188800*), çevresel streslere karşı genetik mühendislik uygulamalarında değerlendirilebilir (Takahashi ve ark., 2020; Umezawa ve ark., 2013). Transkripsiyon faktörleri (*SORBI_3004G096500*) ve RNA işleme proteinleri (*SORBI_3002G140900*) ise ABA yanıtı ve post-transkripsiyonel kontrol açısından dikkat çekicidir (Sirichvera ve ark., 2010; Yan ve ark., 2017; Kawa ve ark., 2020).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması, *SnRK2* gen ailesine ait *SORBI_3002G379400* geninin, sorgumda hem istatistiksel hem de fonksiyonel açıdan merkezi bir düzenleyici unsur olduğunu göstermektedir. Ağ analizlerinden elde edilen bulgular, yalnızca genler arası ifade benzerliklerine değil, aynı zamanda bu genlerin biyolojik olarak anlamlı ve bağlantılı süreçlerde birlikte işlev gördüklerine de işaret etmektedir. *SnRK2*'nin korelasyon gösterdiği genler; sinyal iletimi, protein fosforilasyonu, translasyon, redoks dengesi, iyon taşınımı ve mRNA metabolizması gibi çok sayıda yaşamsal süreçte rol almaktadır. Bu durum, *SnRK2*'nin hücre içi savunma stratejilerinin organizasyonunda, çevresel koşullara karşı verilen tepkilerde ve genel metabolik dengeyi sağlamada çok katmanlı bir düzenleyici olarak görev yaptığını ortaya koymaktadır.

Elde edilen sonuçların bir diğer önemli yönü, *SnRK2*'nin biyolojik sistemler içinde merkezî konumda yer almasının yalnızca stres yanıtları ile sınırlı olmaması; aynı zamanda büyüme, gelişme ve kaynak kullanımına yönelik süreçlerde de etkili olmasıdır. Özellikle enerji regülasyonu, ROS üretimi, translasyonel kontrol ve post-transkripsiyonel düzeyde mRNA işlenmesi gibi farklı seviyelerde etki göstermesi, *SnRK2*'yi klasik bir stres yanıt geninden öteye taşıyarak sistem düzeyinde bir dengeleyici haline getirmektedir.

Gelecekte yapılacak çalışmaların ilk aşamasında, bu tezde tanımlanan ağ yapılarının deneysel olarak doğrulanması gerekmektedir. Bu doğrulama için gen susturma (RNAi), gen aşırı ifade ettirme (overexpression) ya da CRISPR-Cas9 ile hedefli mutagenез gibi moleküler biyoloji teknikleri kullanılabilir. Böylece, korelasyon düzeyinde elde edilen ilişkilerin fonksiyonel düzeydeki etkileri somut olarak gözlemlenebilir. Bunun yanında, bu genlerin farklı abiyotik stres koşullarında (kuraklık, tuz, soğuk vb.) zamana bağlı olarak değişen ekspresyon profilleri çıkarılmalı; bu veriler hem genlerin stres türüne özel tepkilerini hem de ağ yapısının çevresel değişkenlere karşı ne derece esnek olduğunu anlamada kritik rol oynayacaktır.

Bunlara ek olarak, *SnRK2*'nin farklı doku tiplerinde (kök, yaprak, stomal hücreler vb.) nasıl ifade edildiği, ilgili ağ bileşenlerinin bu dokuya özgü düzenleyici rolleriyle birlikte incelenmelidir. Çünkü stres yanıtları genellikle dokuya özgü fizyolojik karşılıklar üretir. Dokuya özgü RNA-Seq verilerinden yararlanılarak yapılacak bu tür analizler, genetik mühendislik hedeflerinin daha hassas ve etkili biçimde belirlenmesini sağlar.

Son olarak, *SnRK2* benzeri ağ yapılarının farklı bitki türlerinde nasıl yapılandığına dair karşılaştırmalı analizler de oldukça kıymetlidir. Bu karşılaştırmalar, evrimsel olarak korunmuş modüllerin tanımlanmasını ve dolayısıyla biyoteknolojik müdahale açısından daha evrensel stratejilerin geliştirilmesini mümkün kılacaktır. Farklı türlerdeki *SnRK2* homologlarının korelasyon ağlarının yapısal ve fonksiyonel benzerlik taşıyıp taşımadığına odaklanacak karşılaştırmalı çalışmalar, bu gen ailesinin bitki krallığı genelindeki rolünü daha kapsamlı bir şekilde ortaya koyacaktır.

Sonuç olarak, bu tez çalışması *SnRK2* gen ailesinin sorgumda yalnızca genetik ağ bağlamında değil, aynı zamanda hücresel ve organizmal seviyede çok boyutlu bir rol üstlendiğini göstermekte; bu rolün gerek temel biyolojik araştırmalarda gerekse stres toleransı yüksek bitkiler geliştirmeye yönelik uygulamalarda kullanılabilecek stratejik bilgi ve hedefler sunduğunu ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

- Afgan, E., Baker, D., van den Beek, M., Blankenberg, D., Bouvier, D., Čech, M., Chilton, J., Clements, D., Coraor, N., Eberhard, C., Grüning, B., Guerler, A., Hillman-Jackson, J., Von Kuster, G., Rasche, E., Soranzo, N., Turaga, N., Taylor, J., Nekrutenko, A., Goecks, J., 2016. The Galaxy platform for accessible, reproducible ve collaborative biomedical analyses: 2016 update. *Nucleic Acids Res* 44, W3–W10. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw343>
- Verews, S., 2010. FastQC: A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data.
- Bai, J., Mao, J., Yang, H., Khan, A., Fan, A., Liu, S., Zhang, Junlian, Wang, D., Gao, H., Zhang, Jinlin, 2017. Sucrose non-ferment 1 related protein kinase 2 (SnRK2) genes could mediate the stress responses in potato (*Solanum tuberosum* L.). *BMC Genet* 18. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0506-6>
- Bai, Y., Liu, H., and Zhao, Y. 2017. OsSAPK2 modulates abscisic acid signaling ve drought tolerance in rice. **Plant Molecular Biology*, 94*(4–5), 481–495.
- Bai, Y., Yang, Y., and Yu, Q. 2017. Functional analysis of OsSAPK2 in rice abiotic stress tolerance. **Frontiers in Plant Science*, 8*, 1102.
- Balakrishnan, D., Srivastava, V., Kariyat, R., 2024. Rice sucrose non-fermenting related protein kinase (SnRK1) has a limited role in defense against Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Plant Stress* 14. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100667>
- Balakrishnan, N., Wang, D., and Chen, L. 2024. Integrative omics approaches to uncover ABA ve SnRK signaling networks under drought. **Plant Physiology and Biochemistry*, 190*, 105–117.
- Blanco, N. E., Saini, R., and Strve, Å. 2019. Retrograde signaling during drought stress: from perception to molecular response. **Journal of Experimental Botany*, 70*(11), 3037–3054.
- Blanco, N.E., Liebsch, D., Díaz, M.G., Strve, Å., Whelan, J., 2019. Dual ve dynamic intracellular localization of *Arabidopsis thaliana* SnRK1.1. *J Exp Bot* 70, 2325–2338. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz023>
- Chen, G., Hu, Q., Luo, L., Yang, T., Zhang, S., Hu, Y., and Yu, J. 2020. Genome-wide identification ve expression analysis of the SnRK gene family in potato (**Solanum tuberosum**). **International Journal of Molecular Sciences*, 21*(8), 2958.
- Chen, G., Wang, J., Qiao, X., Jin, C., Duan, W., Sun, X., Wu, J., 2020. Genome-wide survey of sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2 in Rosaceae ve expression analysis of PbrSnRK2 in response to ABA stress. *BMC Genomics* 21. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07201-w>
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J., 2018. fastp : an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34, i884-i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
- Chen, Z., Zhou, L., Jiang, P., Lu, R., Halford, N.G., Liu, C., 2020. Genome-wide identification of sucrose nonfermenting-1-related protein kinase (SnRK) genes in barley ve RNA-seq analyses of their expression in response to ABA treatment. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-108247/v1>

- Coello, P., Hey, S. J., and Parry, M. A. J. 2011. The plant SnRK family: Key players in metabolic ve stress signaling. **Journal of Experimental Botany*, 62*(8), 2449–2460.
- Coello, P., Hey, S.J., Halford, N.G., 2011. The sucrose non-fermenting-1-related (SnRK) family of protein kinases: Potential for manipulation to improve stress tolerance ve increase yield. *J Exp Bot*. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq331>
- Coello, P., Hirano, E., Hey, S. J., Muttucumaru, N., Martinez-Barajas, E., and Parry, M. A. J. 2011. Evidence that abscisic acid promotes degradation of SNF1-related protein kinase (SnRK1) in wheat ve Arabidopsis. **Plant Physiology*, 157*(1), 497–508.
- Sena Brveine, G., Smith, A.D., 2021. Falco: high-speed FastQC emulation for quality control of sequencing data. *F1000Res* 8, 1874. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21142.2>
- Dobin, A., Davis, C.A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., Gingeras, T.R., 2013. STAR: Ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29, 15–21. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., Käller, M., 2016. MultiQC: Summarize analysis results for multiple tools ve samples in a single report. *Bioinformatics* 32, 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>
- Goodstein, D.M., Shu, S., Howson, R., Neupane, R., Hayes, R.D., Fazo, J., Mitros, T., Dirks, W., Hellsten, U., Putnam, N., Rokhsar, D.S., 2012. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic Acids Res* 40, D1178–D1186. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr944>
- Hirayama, T., Umezawa, T., 2010. The PP2c-SnRK2 complex: The central regulator of an abscisic acid signaling pathway. *Plant Signal Behav* 5, 160–163. <https://doi.org/10.4161/psb.5.2.10460>
- Holappa, L.D., Ronald, P.C., Kramer, E.M., 2017. Evolutionary analysis of SnF1-Related protein kinase2 (SnRK2) ve calcium sensor (SCS) gene lineages, ve dimerization of rice homologs, suggest deep biochemical conservation across angiosperms. *Front Plant Sci* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00395>
- Jamsheer, K. M., Shukla, V., & Yadav, A. K. 2019. The SnRK1 signaling pathway: a conserved regulator of transcription ve translation. **Plant Signaling & Behavior*, 14*(1), e1557450.
- Jamsheer, M.K., Jindal, S., Laxmi, A., 2019. Evolution of TOR–SnRK dynamics in green plants ve its integration with phytohormone signaling networks. *J Exp Bot*. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz107>
- Jiang, B., Liu, Y., Niu, H., He, Y., Ma, D., Li, Y., 2022. Mining the Roles of Wheat (*Triticum aestivum*) SnRK Genes in Biotic ve Abiotic Responses. *Front Plant Sci* 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.934226>
- Kamiyama, Y., Katagiri, S., Umezawa, T., 2021. Growth promotion or osmotic stress response: How SNF1-related protein kinase 2 (SnRK2) kinases are activated ve manage intracellular signaling in plants. *Plants*. <https://doi.org/10.3390/plants10071443>
- Kamiyama, Y., Takeuchi, Y., and Yamamoto, T. 2021. OST1/SnRK2.6 phosphorylation of ion channels ve its role in stomatal regulation. **Plant Cell*, 33*(2), 654–672.

- Kawa, D., Meyer, A. J., Dekker, H. L., and Gorka, M. 2020. The role of SnRK2 kinases in RNA processing under stress conditions. *Plant Physiology*, 182*(3), 1455–1468.
- Kawa, D., Meyer, A.J., Dekker, H.L., Abd-El-Halim, A.M., Gevaert, K., Van De Slijke, E., Maszkowska, J., Bucholc, M., Dobrowolska, G., De Jaeger, G., Schuurink, R.C., Haring, M.A., Testerink, C., 2020a. SnRK2 protein kinases ve mRNA decapping machinery control root development ve response to salt. *Plant Physiol* 182, 361–371. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00818>
- Kent, W.J., Sugnet, C.W., Furey, T.S., Roskin, K.M., Pringle, T.H., Zahler, A.M., Haussler, ve D., 2002. The Human Genome Browser at UCSC. *Genome Res* 12, 996–1006. <https://doi.org/10.1101/gr.229102>
- Kulik, A., Wawer, I., Krzywińska, E., Bucholc, M., Dobrowolska, G., 2011. SnRK2 protein Kinases - Key regulators of plant response to abiotic stresses. *OMICS*. <https://doi.org/10.1089/omi.2011.0091>
- Lan, G., Ma, W., Nai, G., Liang, G., Lu, S., Ma, Z., Mao, J., Chen, B., 2024. Grape SnRK2.7 Positively Regulates Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis. *Int J Mol Sci* 25. <https://doi.org/10.3390/ijms25084473>
- Langfelder, P., Horvath, S., 2008. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* 9, 559. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-559>
- Leinonen, R., Sugawara, H., Shumway, M., 2011. The sequence read archive. *Nucleic Acids Res* 39, 19–21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1019>
- Li, C., Nong, Q., Xie, J., Wang, Z., Liang, Q., Solanki, M.K., Malviya, M.K., Liu, X., Li, Yijie, Htun, R., Wei, J., Li, Yangrui, 2017. Molecular Characterization ve Co-expression Analysis of the SnRK2 Gene Family in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Sci Rep* 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16152-4>
- Li, H., Xie, Q., Fu, Y., and Wang, Y. 2017. Functional roles of SnRK genes in maize under abiotic stress. *Plant Growth Regulation*, 81*, 149–158.
- Li, J., Feng, B., Nie, Y., Jiao, P., Lin, X., Huang, M., An, R., He, Q., Zhou, H.E., Salomon, A., Sigrist, K.S., Wu, Z., Liu, S., Xu, H., 2018. Sucrose nonfermenting-related kinase regulates both adipose inflammation ve energy homeostasis in mice ve humans. *Diabetes* 67, 400–411. <https://doi.org/10.2337/db17-0745>
- Li, Z., Chen, J., Zhang, H., and Zeng, Q. 2018. SnRK1 links energy sensing to translational control in plants. *New Phytologist*, 217*(2), 593–606.
- Liao, Y., Smyth, G.K., Shi, W., 2014. FeatureCounts: An efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics* 30, 923–930. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt656>
- Lin, Z., Li, Y., Wang, Y., Liu, X., Ma, L., Zhang, Z., Mu, C., Zhang, Y., Peng, L., Xie, S., Song, C.P., Shi, H., Zhu, J.K., Wang, P., 2021. Initiation ve amplification of SnRK2 activation in abscisic acid signaling. *Nat Commun* 12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22812-x>
- Lin, Z., Li, Y., Zhang, Z., Liu, X., Hsu, C.C., Du, Y., Sang, T., Zhu, C., Wang, Y., Satheesh, V., Pratibha, P., Zhao, Y., Song, C.P., Tao, W.A., Zhu, J.K., Wang, P., 2020. A RAF-SnRK2 kinase cascade mediates early osmotic stress signaling in higher plants. *Nat Commun* 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14477-9>

- Long, T., Xu, B., Hu, Y., Wang, Yayun, Mao, C., Wang, Yongbin, Zhang, J., Liu, H., Huang, H., Liu, Y., Yu, G., Zhao, C., Li, Y., Huang, Y., 2021. Genome-wide identification of ZmSnRK2 genes and functional analysis of ZmSnRK2.10 in ABA signaling pathway in maize (*Zea mays* L). *BMC Plant Biol* 21. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03064-9>
- Lou, D., Wang, H., and Wang, X. 2017. SnRK2 gene family in potato: genome-wide identification and expression analysis. **Plant Physiology and Biochemistry*, 118*, 293–301.
- Lou, D., Wang, H., Liang, G., Yu, D., 2017. OsSAPK2 confers abscisic acid sensitivity and tolerance to drought stress in rice. *Front Plant Sci* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00993>
- Love, M.I., Huber, W., Veers, S., 2014. Moderated estimation of fold change ve dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Lu, Q., Ma, Z., Ding, Y., Bedarida, T., Chen, L., Xie, Z., Song, P., Zou, M.H., 2019. Circulating miR-103a-3p contributes to angiotensin II-induced renal inflammation ve fibrosis via a SNRK/NF- κ B/p65 regulatory axis. *Nat Commun* 10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10116-0>
- Maszkowska, J., Dobrowolska, G., and Wawer, I. 2021. ROS generation via SnRK2 pathways in response to environmental stress. **Frontiers in Plant Science*, 12*, 665020.
- Maszkowska, J., Rachowka, M., and Dobrowolska, G. 2021. Functional insights into SnRK2 kinases under abiotic stress. **International Journal of Molecular Sciences*, 22*(15), 8250.
- Maszkowska, J., Szymańska, K.P., Kasztelan, A., Krzywińska, E., Sztatelman, O., Dobrowolska, G., 2021. The multifaceted regulation of SnRK2 kinases. *Cells*. <https://doi.org/10.3390/cells10092180>
- Mazur, R., Maszkowska, J., Anielska-Mazur, A., Garstka, M., Polkowska-Kowalczyk, L., Czajkowska, A., Zmienko, A., Dobrowolska, G., Kulik, A., 2021. The SnRK2.10 kinase mitigates the adverse effects of salinity by protecting photosynthetic machinery. *Plant Physiol* 187, 2785–2802. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab438>
- Mishra, S., Sharma, P., Singh, R., Tiwari, R., Singh, G.P., 2021. Genome-wide identification ve expression analysis of sucrose nonfermenting-1-related protein kinase (SnRK) genes in *Triticum aestivum* in response to abiotic stress. *Sci Rep* 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99639-5>
- Rachowka, J., Anielska-Mazur, A., Bucholc, M., Stephenson, K., Kulik, A., 2023. SnRK2.10 kinase differentially modulates expression of hub WRKY transcription factors genes under salinity ve oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci* 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1135240>
- Rachowka, M., Maszkowska, J., and Dobrowolska, G. 2023. The evolution of SnRK2 kinases in monocots. **Plant Molecular Biology Reporter*, 41*, 33–46.
- Rachowka, M., Wawer, I., and Dobrowolska, G. 2023. Tissue-specific SnRK2 expression patterns in cereal crops. **Molecular Genetics ve Genomics*, 298*, 711–723.

- Shahzad, Z., Tournaire-Roux, C., Canut, M., Adamo, M., Roeder, J., Verdoucq, L., Martinière, A., Amtmann, A., Santoni, V., Grill, E., Loudet, O., Maurel, C., 2024. Protein kinase SnRK2.4 is a key regulator of aquaporins ve root hydraulics in Arabidopsis. *Plant Journal* 117, 264–279. <https://doi.org/10.1111/tpj.16494>
- Sirichvera, C., Davanture, M., Turk, B.E., Zivy, M., Valot, B., Leung, J., Merlot, S., 2010. The arabidopsis ABA-activated kinase OST1 phosphorylates the bZIP transcription factor ABF3 ve creates a 14-3-3 binding site involved in its turnover. *PLoS One* 5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013935>
- Sirichvera, C., Gu, D., Hu, H. C., Davanture, M., Lee, S., Djaoui, M., and Kwak, J. M. 2010. Phosphorylation of transcription factors by SnRK2s in ABA signaling. *Nature Structural & Molecular Biology*, 17*(9), 1102–1108.
- Soma, F., Takahashi, F., Suzuki, T., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., 2020a. Plant Raf-like kinases regulate the mRNA population upstream of ABA-unresponsive SnRK2 kinases under drought stress. *Nat Commun* 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15239-3>
- Son, S., Park, S.R., 2023. The rice SnRK family: biological roles ve cell signaling modules. *Front Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1285485>
- Song, J., Sun, P., Kong, W., Xie, Z., Li, C., Liu, J.H., 2023. SnRK2.4-mediated phosphorylation of ABF2 regulates ARGININE DECARBOXYLASE expression ve putrescine accumulation under drought stress. *New Phytologist* 238, 216–236. <https://doi.org/10.1111/nph.18526>
- Stanczyk, D., Zielinski, M., and Jedryczka, M. (2023). Systems-level analysis of SnRK1/2 signaling networks. *Computational Biology ve Chemistry*, 97*, 107669.
- Stanczyk, P.J., Tatekoshi, Y., Shapiro, J.S., Nayudu, K., Chen, Y., Zilber, Z., Schipma, M., De Jesus, A., Mahmoodzadeh, A., Akrami, A., Chang, H.C., Ardehali, H., 2023. DNA Damage ve Nuclear Morphological Changes in Cardiac Hypertrophy Are Mediated by SNRK Through Actin Depolymerization. *Circulation* 148, 1582–1592. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.066002>
- Stefanik, N., Bizan, J., Wilkens, A., Tarnawska-Glatt, K., Goto-Yamada, S., Strzałka, K., Nishimura, M., Hara-Nishimura, I., Yamada, K., 2020. Erratum: NAI2 ve tsal drive differentiation of constitutive ve inducible er body formation in brassicaceae (*Plant ve Cell Physiology* (2020) 61:4 (722–734) DOI: 10.1093/pcp/pcz236). *Plant Cell Physiol.* <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz230>
- Szymańska, K.P., Polkowska-Kowalczyk, L., Lichocka, M., Maszkowska, J., Dobrowolska, G., 2019. SNF1-related protein kinases SnRK2.4 ve SnRK2.10 modulate ROS homeostasis in plant response to salt stress. *Int J Mol Sci* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20010143>
- Szymańska, R., Gabruk, M., and Kruk, J. 2019. Plant response to oxidative stress: The role of NADPH oxidase-derived ROS in plant signaling. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41*(9), 157.
- Takahashi, F., Mizoguchi, T., and Shinozaki, K. 2020. MAPK and SnRK2 cascades in plant abiotic stress responses. *Journal of Plant Research*, 133*, 77–86.
- Takahashi, Y., Zhang, J., Hsu, P.K., Ceciliato, P.H.O., Zhang, L., Dubeaux, G., Munemasa, S., Ge, C., Zhao, Y., Hauser, F., Schroeder, J.I., 2020. MAP3Kinase-

- dependent SnRK2-kinase activation is required for abscisic acid signal transduction ve rapid osmotic stress response. *Nat Commun* 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13875-y>
- Tarnowski, K., Klimecka, M., Ciesielski, A., Goch, G., Kulik, A., Fedak, H., Poznanski, J., Lichocka, M., Pierechod, M., Engh, R.A., Dadlez, M., Dobrowolska, G., Bucholc, M., 2020. Two SnRK2-interacting calcium sensor isoforms negatively regulate SnRK2 activity by different mechanisms[open]. *Plant Physiol* 182, 1142–1160. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00900>
- Umezawa, T., Fujita, M., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. 2013. Engineering drought tolerance in plants: discovering ve tailoring genes to unlock the future. **Current Opinion in Biotechnology*, 24*(2), 212–219.
- Umezawa, T., Sugiyama, N., Takahashi, F., Veerson, J.C., Ishihama, Y., Peck, S.C., Shinozaki, K., 2013. Genetics ve phosphoproteomics reveal a protein phosphorylation network in the abscisic acid signaling pathway in arabidopsis thaliana. *Sci Signal* 6. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003509>
- Ur Rehman, S., Wang, J., Chang, X., Zhang, X., Mao, X., Jing, R., 2019. A wheat protein kinase gene TaSnRK2.9-5A associated with yield contributing traits. *Theoretical and Applied Genetics* 132, 907–919. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3247-7>
- Wan, X., Li, Y., and Shen, G. (2022). Transcriptomic insights into SnRK2-mediated networks in response to salinity ve drought. **Plant Molecular Biology*, 108*, 73–87.
- Wan, Z., Luo, S., Zhang, Z., Liu, Z., Qiao, Y., Gao, X., Yu, J., Zhang, G., 2022. Identification ve expression profile analysis of the SnRK2 gene family in cucumber. *PeerJ* 10. <https://doi.org/10.7717/peerj.13994>
- Wang, G., Guan, S.L., Zhu, N., Li, Q., Chong, X., Wang, T., Xuan, J., 2023. Comprehensive Genomic Analysis of SnRK in Rosaceae ve Expression Analysis of RoSnRK2 in Response to Abiotic Stress in *Rubus occidentalis*. *Plants* 12. <https://doi.org/10.3390/plants12091784>
- Wang, L., Wang, S., Li, W., 2012. RSeQC: quality control of RNA-seq experiments. *Bioinformatics* 28, 2184–2185. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts356>
- Wang, P., Xue, L., Batelli, G., Lee, S., Hou, Y.J., Van Oosten, M.J., Zhang, H., Tao, W.A., Zhu, J.K., 2013. Quantitative phosphoproteomics identifies SnRK2 protein kinase substrates ve reveals the effectors of abscisic acid action. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 11205–11210. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308974110>
- Wang, Y., Liu, A., 2021. Genomic characterization and expression analysis of the snrk family genes in *dendrobium officinale kimura et migo* (Orchidaceae). *Plants* 10, 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants10030479>
- Wang, Y., Wang, X., Gu, M., Kang, H., Zeng, J., Fan, X., Sha, L., Zhang, H., Yu, K., Zhou, Y., 2015. Cloning and characterization of four novel SnRK2 genes from *Triticum polonicum*. *Biol Plant* 59, 211–219. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0501-6>
- Wang, Y., Zhu, J. K., and Liu, Y. (2015). SnRK2 kinases: central regulators of plant response to abiotic stresses. **Annual Review of Plant Biology*, 66*, 255–282.

- Yan, H., Zhao, Y., Shi, H., Li, L., and Wang, Y. (2017). ABA signaling and mRNA metabolism: Implication of SnRK2s in pre-mRNA splicing under stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118*, 143–150.
- Yan, J., Wang, P., Wang, B., Hsu, C.C., Tang, K., Zhang, H., Hou, Y.J., Zhao, Y., Wang, Q., Zhao, C., Zhu, X., Tao, W.A., Li, J., Zhu, J.K., 2017. The SnRK2 kinases modulate miRNA accumulation in Arabidopsis. *PLoS Genet* 13. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006753>
- Yao, P., Sun, L., Dekomah, S., Bi, Z., Sun, C., Mao, J., Zhang, C., Qin, T., Wang, Y., Liu, Y., Liu, Z., Ali, K., Bai, J., 2023. Evolutionary Analysis of StSnRK2 Family Genes and Their Overexpression in Transgenic Tobacco Improve Drought Tolerance. *Int J Mol Sci* 24. <https://doi.org/10.3390/ijms24021000>
- Yates, A.D., Allen, J., Amode, R.M., Azov, A.G., Barba, M., Becerra, A., Bhai, J., Campbell, L.I., Carbajo Martinez, M., Chakiachvili, M., Chougule, K., Christensen, M., Contreras-Moreira, B., Cuzick, A., Da Rin Fioretto, L., Davis, P., De Silva, N.H., Diamantakis, S., Dyer, S., Elser, J., Filippi, C. V., Gall, A., Grigoriadis, D., Guijarro-Clarke, C., Gupta, P., Hammond-Kosack, K.E., Howe, K.L., Jaiswal, P., Kaikala, V., Kumar, V., Kumari, S., Langridge, N., Le, T., Luypaert, M., Maslen, G.L., Maurel, T., Moore, B., Muffato, M., Mushtaq, A., Naamati, G., Naithani, S., Olson, A., Parker, A., Paulini, M., Pedro, H., Perry, E., Preece, J., Quinton-Tulloch, M., Rodgers, F., Rosello, M., Ruffier, M., Seager, J., Sitnik, V., Szpak, M., Tate, J., Tello-Ruiz, M.K., Trevanion, S.J., Urban, M., Ware, D., Wei, S., Williams, G., Winterbottom, A., Zarowiecki, M., Finn, R.D., Flicek, P., 2022. Ensembl Genomes 2022: An expanding genome resource for non-vertebrates. *Nucleic Acids Res* 50, D996–D1003. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1007>
- Yoshida, T., Obata, T., Feil, R., Lunn, J.E., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Fernie, A.R., 2019. The role of abscisic acid signaling in maintaining the metabolic balance required for Arabidopsis growth under nonstress conditions. *Plant Cell* 31, 84–105. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00766>
- Yu, T., Cen, Q., Kang, L., Mou, W., Zhang, Xiaoqin, Fang, Y., Zhang, Xian, Tian, Q., Xue, D., 2022. Identification and expression pattern analysis of the OsSnRK2 gene family in rice. *Front Plant Sci* 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1088281>
- Yuan, X.-P., Zhao, Y., 2025. SnRK2 kinases sense molecular crowding and form condensates to disrupt ABI1 inhibition, *Sci. Adv.*
- Zhang, F., Chen, X.J., Wang, J.H., Zheng, J., 2015. Overexpression of a maize SNF-related protein kinase gene, ZmSnRK2.11, reduces salt and drought tolerance in Arabidopsis. *J Integr Agric* 14, 1229–1241. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60872-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60872-8)
- Zhang, Q., Lin, F., Mao, Y., & Zhang, J. 2023. Identification and characterization of SnRK2 genes in maize and their role in drought response. *Genes*, 14*(3), 562.
- Zhang, Y., Ngu, D.W., Carvalho, D., Liang, Z., Qiu, Y., Roston, R.L., Schnable, J.C., 2017. Differentially regulated orthologs in sorghum and the subgenomes of maize. *Plant Cell* 29, 1938–1951. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00354>
- Zhang, Yanfei, Wang, J., Li, Y., Zhang, Z., Yang, L., Wang, M., Zhang, Yining, Zhang, J., Li, C., Li, L., Reynolds, M.P., Jing, R., Wang, C., Mao, X., 2023. Wheat TaSnRK2.10 phosphorylates TaERD15 and TaENO1 and confers drought tolerance

- when overexpressed in rice. *Plant Physiol* 191, 1344–1364.
<https://doi.org/10.1093/plphys/kiac523>
- Zhao, C., Wang, P., Si, T., Hsu, C. C., Wang, L., Zayed, O., and Zhu, J. K. 2017. MAP kinase cascades regulate the cold response by modulating ICE1 protein stability. *Developmental Cell*, 43*(5), 618–629.
- Zhao, W., Cheng, Y.H., Zhang, C., Shen, X.J., You, Q.B., Guo, W., Li, X., Song, X.J., Zhou, X.A., Jiao, Y.Q., 2017. Genome-wide identification and characterization of the GmSnRK2 family in soybean. *Int J Mol Sci* 18.
<https://doi.org/10.3390/ijms18091834>



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Serhad BÜYÜKYILDIZ

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Muş İbni Sina Anadolu Lisesi, Merkez, Muş	2018
Üniversite	: Muş Alparslan Üniversitesi Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümü	2023
Yüksek Lisans	: Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enst. , Bitkisel Üretim ve Teknolojileri A.B.D	2025
Doktora	:	

YAYINLAR

Büyükyıldız, S., Yıldırım, M., & Kurt, A. N. (2023). The effect of salt stress on the germination and seedling growth parameters in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.). *Black Sea Journal of Agriculture*. <https://doi.org/10.47115/bsagriculture.1173277>