

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FASULYE BİTKİSİNDE KURAKLIĞA DUYARLI *HSP70* GENLERİNİN TÜM  
GENOMDA TANIMLANMASI**

**Mehmet TANRISEVEN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2020**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Mehmet TANRISEVEN tarafından hazırlanan “Fasulye Bitkisinde Kuraklığa Duyarlı *Hsp70* Genlerinin Tüm Genomda Tanımlanması” adlı tez çalışması 06/02/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. E. Sümer ARAS  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Eş Danışman:** Doç. Dr. İlker BÜYÜK  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

### Jüri Üyeleri:

**Başkan:** Doç. Dr. Murat KOÇ  
Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Geleneksel, Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp Anabilim Dalı



**Üye:** Prof. Dr. E. Sümer ARAS  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye:** Prof. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye:** Doç. Dr. İlker BÜYÜK  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye:** Dr. Öğr. Üyesi Esin BAŞARAN  
Başkent Üniversitesi Anestezi Programı



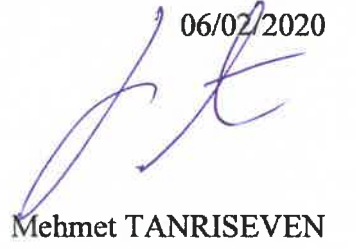
**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. Özlem YILDIRIM**  
**Enstitü Müdürü**

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

06/02/2020



Mehmet TANRISEVEN

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### FASULYE BİTKİSİNDE KURAKLIĞA DUYARLI *HSP70* GENLERİNİN TÜM GENOMDA TANIMLANMASI

Mehmet TANRISEVEN

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

Eş Danışman: Doç. Dr. İlker BÜYÜK

Fasulye Dünya’da ve Türkiye’de en fazla yetiştirilen baklagil türlerinden bir tanesidir. Abiyotik stresler birçok bitkide olduğu gibi fasulyede de üretimi etkilemektedir. Bitkiler abiyotik streslere karşı çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bu bağlamda son yıllarda in-siliko araçlar kullanılarak bitkilerin çevresel faktörlere karşı oluşturduğu savunma mekanizmalarının aydınlatılması oldukça önem kazanmaktadır.

Bu kapsamda gerçekleştirilmiş olan tez çalışmasında çeşitli in-siliko metodlar kullanılarak fasulye bitkisine ait kuraklık stresine duyarlı *HSP70* genlerinin tanımlanması amaçlanmıştır. 24 adet PvHSP70 geni in-siliko araçlar ile tanımlanıp, genom üzerindeki lokalizasyonları, ekzon-intron bölgeleri üç boyutlu protein yapıları belirlenmiştir. Kuraklık stresinde rol oynayabileceği belirlenen PvHSP70 genlerinden 9 tanesi RNA-Seq analizi verilerine göre seçilmiştir. Kuraklık stresine karşı dirençli (Yakutiye) ve hassas (Zülbiye) olduğu bilinen iki farklı fasulye çeşidi 24 saat süresince 100 mM kuraklık stresine (PEG) maruz bırakılmıştır. Her iki çeşidin kök ve yaprak dokusundan örnekler alınarak, RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve Light Cycler Nano aracılığıyla Real-Time PCR analizi gerçekleştirilmiştir. PvHSP70-1, -20 ve -24 genlerinin Zülbiye çeşidinin yaprak dokularındaki azalışının Yakutiye çeşidine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yakutiye çeşidinde PvHSP70-12 genin mRNA seviyesindeki düşüşün Zülbiye çeşidine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Zülbiye çeşidinin kök dokularında PvHSP70-20 geni dışında seçilen tüm genlerin mRNA seviyelerinde anlamlı bir düşüş olduğu görülmüştür. Yakutiye çeşidinin ise PvHSP70-1, -4, -6 ve -20 genlerindeki azalışlar anlamlı bulunmuştur. *HSP70* genlerinin kuraklık stresi altındaki mRNA kat değişimlerinin, biyoteknoloji alanında yapılacak olan çeşitli ıslah çalışmalarında kullanılması ve moleküler marker çalışmalarına ışık tutması düşünülmektedir.

**Şubat 2020, 95 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Tüm genom analizi, fasulye (*Phaseolus vulgaris* L), (*HSP70*) ısı şok proteinleri, kuraklık stresi, qRT-PCR

## ABSTRACT

Master Thesis

### GENOME-WIDE IDENTIFICATION OF DROUGHT RESPONSIVE *HSP70* IN COMMON BEAN

Mehmet TANRISEVEN

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

Supervisor: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

Supervisor: Doç. Dr. İlker BÜYÜK

Beans are one of the most cultivated legume species in the world and Turkey. Abiotic stresses, affect production in beans like many plants. Plants have developed various defense mechanisms against abiotic stresses. In recent years, the use of in-silico tools to clarify the defense mechanisms of plants against environmental factors has gained importance.

In this thesis, it was aimed to identify HSP70 genes susceptible to drought stress in common bean by using various in-silico methods. 24 PvHSP70 genes were identified and their localization on the genome, three-dimensional protein structures of exon-intron regions were also determined. Nine of the PvHSP70 genes which play roles in drought stress were selected based on RNA-Seq data. Two different common bean varieties known to be drought stress resistant (Yakutiye) and susceptible (Zülbiye) were exposed to 100 mM drought stress (PEG) for 24 hours. Samples were taken from the root and leaf tissues of both varieties and RNA isolation, cDNA synthesis and Real-Time PCR analysis via Light Cycler Nano instrument were performed. PvHSP70-1, -20 and -24 genes were found to be higher in the leaf tissues of Zülbiye than Yakutiye. The decrease in the mRNA level of PvHSP70-12 gene in Yakutiye variety was found to be higher than Zulbiye. There was a significant decrease in the mRNA level of the selected genes except for PvHSP70-20 gene in the root tissues of the Zülbiye. Additionally, the decreases in PvHSP70-1, -4, -6 and -20 genes of Yakutiye were found to be statistically significant. It is thought that mRNA fold changes of HSP70 genes under drought stress may be used in various breeding studies in biotechnology field and will shed light on molecular marker studies.

**February 2020, 95 pages**

**Key Words:** Genome-wide analysis, (HSP70) heat shock protein, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) drought stres, qRT-PCR

## TEŐEKKÖR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaőan, kendisine ne zaman danıősam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve bŸyŸk bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaőadıęımda yanına çekinmeden gidebildiğim, gŸler yŸzŸnŸ ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı dŸőndŸęŸm kıymetli ve danışman hoca statŸsŸnŸ hakkıyla yerine getiren Prof. Dr. E. SŸmer ARAS ve Doç. Dr. İlker BŸYŸK teőekkŸrŸ bir borç biliyor ve ŐŸkranlarımı sunuyorum.

Son olarak beni bu gŸnlere sevgi ve sayęı kelimelerinin anlamlarını bilecek Şekilde yetiőtirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayattaki en bŸyŸk Őansım olan aileme sonsuz teőekkŸrler.

Mehmet TANRISEVEN  
Ankara, Şubat 2020

## İÇİNDEKİLER

<b>TEZ ONAYI</b>	
<b>ETİK.....</b>	<b>i</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR .....</b>	<b>iv</b>
<b>SİMGELER DİZİNİ .....</b>	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ .....</b>	<b>ix</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ .....</b>	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Fasulye (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>) .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Toprak ve İklim.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Tarihçe .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Sınıflandırılması .....</b>	<b>4</b>
<b>1.5 Türkiye ve Dünyada Fasulye Üretimi .....</b>	<b>5</b>
<b>1.6 Bitkilerde Stres .....</b>	<b>7</b>
<b>1.7 Kuraklık Stresi (Su Stresi) .....</b>	<b>9</b>
<b>1.8 Kuraklık Stresinin Zararları .....</b>	<b>9</b>
<b>1.9 Bitkilerin Strese Karşı Geliştirdiği Moleküler Cevap Mekanizmaları .....</b>	<b>10</b>
<b>1.9.1 Makromoleküllerin ve iyonların homeostazisi .....</b>	<b>10</b>
<b>1.9.2 Koruyucu moleküllerin sentezi .....</b>	<b>11</b>
<b>1.9.3 Reaktif oksijen türleri.....</b>	<b>12</b>
<b>1.10 Heat Shock Protein (Isı Şok Proteinleri).....</b>	<b>12</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>15</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 <i>Phaseolus vulgaris L.</i> Hsp70 Genlerinin Tanımlanması .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 PvHSP70 Genlerinin Fiziksel Lokasyonları ve Yapısı, Duplikasyon Genlerinin Saptanması, Kromozom Yapıları.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3 Filogenetik Analiz ve Sekans Hizalama .....</b>	<b>24</b>
<b>3.4 PvHSP70 Ailesinin Hücre içi lokalizasyon ve Promoter Analizi .....</b>	<b>25</b>
<b>3.5 PvHSP70 Genlerinin miRNA Hedeflerinin Karşılaştırılmalı Tahmini.....</b>	<b>26</b>

<b>3.6 HSP70 Proteinlerinin Homoloji Modellemesi .....</b>	<b>26</b>
<b>3.7 Fasulye ve Diğer Bitkilerde HSP70 Proteinlerinin Karşılaştırılmalı Fiziksel Haritalaması .....</b>	<b>27</b>
<b>3.8 Bitkilerin Çimlendirilmesi ve PEG Uygulanması .....</b>	<b>28</b>
<b>3.8.1 Tohumların temini .....</b>	<b>28</b>
<b>3.8.2 Tohumların ekimi ve kuraklık stresinin uygulanması .....</b>	<b>28</b>
<b>3.9 Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi .....</b>	<b>30</b>
<b>3.9.1 Total RNA izolasyonu .....</b>	<b>30</b>
<b>3.9.2 Agaroz jel elektroforezi .....</b>	<b>31</b>
<b>3.9.3 cDNA sentezi.....</b>	<b>31</b>
<b>3.10 Real-Time PCR Reaksiyonu .....</b>	<b>32</b>
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 HSP70 Gen Ailesinin Fasulyede Tanımlanması .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2 Normalizasyon ve İstatistiksel Analiz .....</b>	<b>40</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>45</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>48</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>58</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>95</b>

## SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°	Derece
kDA	Kilo Dalton

### Kısaltmalar

µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ACT	Aktin
BLAST	Basic Local Alignment Tool- Basit Bölgesel Hizalama Aracı
CO <sub>2</sub>	Karbondiyoksit
CO <sub>3</sub>	Karbonat
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Bakır Sülfat Pentahidrat
dH <sub>2</sub> O	Distile su
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ExPASy	Expert Protein Analysis System- Uzman Protein Analiz Sistemi
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Borik Asit
Hsp	Heat Shock Protein- Isı Şok Proteinleri
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum fosfat
KNO <sub>3</sub>	Potasyum nitrat
L	Litre
L.	Linnaeus
MEME	Multiple Em for Motif Elicitation- Çoklu Motif Bulucu
MiRNA	MikroRNA
M	Molar
Mg <sup>+2</sup>	Magnezyum
Mm	Milimolar
MnSO <sub>4</sub>	Mangan Sülfat
mRNA	Haberci RNA
Na	Sodyum
NH <sub>4</sub> Mo	Amonyum Molibdat
NO <sup>-</sup>	Nitrik Asit
ORF	Open Reading Frame-Açık Okuma Çerçevesi
O <sub>2</sub>	Oksijen
Pfam	Protein Families Data Base-Protein Aileleri Veri Tabanı
PEG	Polietilen Glikon
qPCR	Kantitatif PCR

Rna  
ROS  
SO<sub>4</sub>  
TBE

Ribonükleik Asit  
Reaktif Oksijen Türevleri  
Sülfat  
Tris Borik Asit



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Fasulye bitkisi ( <a href="https://antropocene.it/en/2018/10/03/phaseolus-vulgaris/">https://antropocene.it/en/2018/10/03/phaseolus-vulgaris/</a> ) ..... 3	3
Şekil 3.1 Bitki türlerinde tanımlanmış HSP70 proteinlerinin bulunduğu veri tabanı ..... 18	18
Şekil 3.1 Fasulye bitkisine ait HSP70 proteinleri tanımlamak için kullanılan Phytozome database v11 ( <a href="http://www.phytozome.net">http://www.phytozome.net</a> )..... 19	19
Şekil 3.3 Fasulye bitkisine ait HSP70 proteinleri tanımlamak Hidden Markov Model ve Domain saptamak için kullanılan ( <a href="http://www.ebi.ac.uk">http://www.ebi.ac.uk</a> )..... 20	20
Şekil 3.2 HSP70 Domainlerinin saptandığı Pfam veri tabanı ..... 21	21
Şekil 3.3 Protparam veri tabanı ( <a href="http://web.expasy.org/protparam">http://web.expasy.org/protparam</a> ) ..... 22	22
Şekil 3.6 Gene Structure Display Server (GSDS, <a href="http://gsds.cbi.pku.edu.cn/">http://gsds.cbi.pku.edu.cn/</a> ) ..... 23	23
Şekil 3.7 MEME yazılımı ile korunmuş motifler belirlenmesi ( <a href="http://meme-suite.org/">http://meme-suite.org/</a> ) ..... 24	24
Şekil 3.8 Interactive Tree OF Life yazılımı (iTOL; <a href="http://itol.embl.de/index.shtml">http://itol.embl.de/index.shtml</a> ) ..... 25	25
Şekil 3.9 Hücre içi lokalizasyonu için kullanılan WoLF PSORT ..... 26	26
( <a href="http://www.genscript.com/psort/wolf_psort.html">http://www.genscript.com/psort/wolf_psort.html</a> ) ..... 26	26
Şekil 3.10 Protein Homology Analogy Recognition Engine ( <a href="http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2">http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2</a> ) ..... 27	27
Şekil 3.11 Light Cycler® Nano System (Roche) Cihazı ( <a href="https://www.roche.com/de/media/releases/med-cor-2011-05-27t.htm">https://www.roche.com/de/media/releases/med-cor-2011-05-27t.htm</a> )..... 32	32
Şekil 4.1 PvHSP70'lerin kromozom yapıları ..... 36	36
Şekil 4.2 Protein domain filogenetik ağaç ..... 37	37
Şekil 4.3 PvHSP70 genlerinin ekzon-intron bölgeleri ..... 38	38
Şekil 4.4 PvHSP70 genlerinin hücresel karakterizasyonu ..... 39	39
Şekil 4.5 Proteinlerin 3D yapılarının gösterimi ..... 40	40
Şekil 4.6 Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerine yaprak dokularının mRNA kat değişimlerinin karşılaştırılması..... 41	41
Şekil 4.7 Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerine ait kök dokularının mRNA kat değişimlerinin karşılaştırılması..... 43	43

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Fasulyenin sınıflandırılması.....	5
Çizelge 1.2 Dünya ülkelerine göre kuru fasulye üretimi (bin ton) .....	5
Çizelge 1.3 Kuru baklagil üretimi 2010-2018.....	6
Çizelge 1.4 Ülkemizde kuru baklagil üretim (bin ton) .....	7
Çizelge 1.4 Ülkemizde kuru baklagil üretim (bin ton) (devamı) .....	7
Çizelge 1.5 Stres faktörlerinin sınıflandırması (Levit 1980) .....	8
Çizelge 1.6 Stres faktörlerinin sınıflandırması (Lichtenthaller 1996) .....	8
Çizelge 3.1 Hoagland besi ortamı makro besin çözelti kimyasalları .....	28
Çizelge 3.2 Hoagland besi ortamı mikro besin çözeltisi kimyasalları .....	29
Çizelge 3.3 Son iyon konsantrasyonları.....	29
Çizelge 3.4 cDNA sentezinde kullanılan bileşenler.....	31
Çizelge 3.5 PvHSP70 genlerinin primer dizileri.....	33
Çizelge 3.6 Real Time PCR reaksiyon koşulları.....	33
Çizelge 4.1 Tanımlanan PvHSP70 genlerinin özellikleri .....	34
Çizelge 4.1 Tanımlanan PvHSP70 genlerinin özellikleri (devamı).....	35

## 1. GİRİŞ

Bitkiler alemindeki en geniş üçüncü aile olan baklagiller (*Fabaceae*), 40 takım ve 640 cins bitki bulundurmaktadır ve tahıldan sonra en fazla üretimi yapılan ürün grubudur (Gepts vd. 2005). Baklagiller hem ekonomik hem de tarımsal açıdan çok değerlidir. Gıda amaçlı kullanılmasının yanı sıra topraktaki serbest azotu özümsemesi baklagillerin değerini bir kat daha arttırmaktadır (Pandey vd. 2008).

Tez kapsamında kullanılan fasulye bitkisi ilk olarak Orta Amerika'da ekildiği tahmin edilen bir baklagil türü olup Dünya'da en çok yetiştirilen baklagil türleri arasında yer almaktadır (Anonymous 2016). Fasulye gelişmemiş ülkeler için protein kaynağı olmasının yanı sıra gelişmiş ülkeler için de beslenmede önemli yer tutmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar fasulyenin kalp hastalıkları, diyabet ve kolon kanseri gibi hastalıkların önlenmesinde de faydalı bir besin olduğunu ortaya koymaktadır (Thompson vd. 2009).

Dünyanın birçok yerinde tarım ve tarım alanları yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk veya kimyasal zehirler gibi abiyotik stres faktörleri tarafından tehdit altındadır (Wang vd. 2003). Abiyotik stres bitkilerin veriminin %50'den fazla azalmasına neden olmasıyla birlikte dünyadaki tarımsal ürün kaybının da başlıca nedenidir (Bray vd. 2000). Abiyotik stres bitkilerde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimlere neden olur ve bitkilerin büyümesini engelleyerek verimliliğin düşmesini sağlar (Wang vd. 2001).

Abiyotik stres faktörlerinden biri olan kuraklık bitkide büyüme, gelişme ve verimi etkileyen önemli bir etmendir. Bitkilerin kuraklık stresine olan tepkileri bitkinin türü, yaşı, büyüme ve gelişme dönemi, kuraklığın seviyesi veya sürekliliği gibi fiziksel faktörlere bağlıdır (Marcínska vd. 2013). Genotipe bağlı olarak farklı şiddetlerde ortaya çıkan kuraklıktan etkilenme derecesi o genotipin stres anında geliştirdiği fizyolojik ve biyokimyasal cevaplara bağlıdır (Kayabaşı 2011). Kuraklık stresi, su noksanlığı ve kuruma şeklinde iki tipe ayrılabilir (Smirnoff 1993). Su noksanlığı stomalarda kapanmaya ve gaz değişiminde kısıtlamaya sebep olan orta seviye su kaybıdır. Oransal

su kapsamının takribi %70'de olması hafif su eksikliğine maruz kalan bitkilerde stomaların kapanmasına bağlı olarak karbondioksit alımını sınırlandırmaktadır. Kuruma ise, metabolizmanın ve hücre yapısının tamamen bozulmasına ve bununla birlikte enzimle katalizlenen reaksiyonların durmasına neden olabilecek seviyedeki su kaybı olarak tanımlanmaktadır (Smirnoff 1993, Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005).

Isı şok proteinleri (Heat shock proteins: HSP), birçok canlıda hücre büyümesinin yanı sıra canlılığın devamı için de büyük öneme sahip protein ailelerinden birisidir. Bu protein ailesi bitkilerde, normal gelişiminin yanı sıra kuraklık, tuzluluk, yüksek veya düşük sıcaklık gibi stres koşullarında da görev almaktadır (Krishna vd. 1995, Sabeht vd. 19998, Lopez-Matas vd. 2004, Swindell vd 2007, Cao ve Choi 2009, Zou vd. 2012). Isı şok proteinleri moleküler ağırlıklarına göre; küçük HSP proteinleri, HSP60, HSP70, HSP90 ve HSP100 olmak üzere beş farklı grupta toplanabilir (Wang vd. 2004). Pek çok bitkide HSP70 proteinlerinin biyolojik rollerini belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında da fasulye bitkisinde Hsp ailesinin üyeleri arasında büyük bir grubu oluşturan HSP70 genlerinin tanımlanması, kromozom üzerindeki yerleşimleri, moleküler fonksiyonları ve kuraklık stresine karşı oluşturdukları cevapların belirlenmesi amaçlanmıştır.

### **1.1 Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) *Fabacea* familyasına ait ılıman ve tropikal iklimlerde yetiştirilen, tek yıllık baklagil türüdür. Fasulye bünyesinde A, B1, B2 ve C vitaminlerini bulundurmasının yanı sıra zengin bir protein, karbonhidrat, antioksidan ve mineral kaynağıdır (Anonim 2008, Campos-Veja vd. 2010, Luthria ve Pastor-Corrales 2006).



Şekil 1.1 Fasulye bitkisi ( <https://antropocene.it/en/2018/10/03/phaseolus-vulgaris/> )

Önemli bir protein kaynağı olan hayvansal gıdaların barındırdığı doymuş yağlar ve kolestrolen dolayısı kuru baklagillerin değeri bir kat daha artmaktadır. Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalar fasulyedeki gibi bitkisel proteinlerin kandaki kolestrolün seviyesini düşürücü etkisi olduğunu göstermiştir (Anderson vd. 1999).

Fasulye köklerinde bulunan nodozite bakterileri aracılığı ile havada bulunan serbest azottan yararlanıp, toprağın azot bakımından zenginleşmesini sağlamakta ve daha sonra ekilecek ürünlere azot bakımından zengin bir toprak bırakmaktadır (Sprent 2001). Ayrıca kazık kökleri sayesinde toprağın derinlerine nüfuz etmekte ve alt tabakada biriken besin maddelerinin toprak üstüne taşınmasına yardımcı olarak toprağın besin yönünden zenginleşmesini sağlamaktadır (Akçin 1974).

Fasulye bitkisinin çiçekleri, çeşide göre morumsu, beyaz, sarı ve kırmızı gibi farklı renklerde olabilir. Çiçeklerde dişi organ helozoni olarak kıvrılmış bir şekilde konumlanmıştır. Polen tozlarını taşıyan erkek organlar ise adeta dişi organ üzerine sarılmış boru şeklindedir. Bu özellik ise baklagiller familyası sebzelerinin mutlak kendine döllenmesini göstermektedir. Aşırı sıcaklıklar ve bazı böcekler aracılığıyla olan döllenme haricinde baklagiller familyasında yabancı döllenme neredeyse hiç görülmemektedir. Çiçeklerin alttan itibaren açmaya başladığı fasulye bitkisinde çiçekler normal şartlarda 20 gün kadar durmaktadır (Anonim 2008).

## 1.2 Toprak ve İklim

Genel olarak fasulye sıcak iklim bitkisidir ve Türkiye’de hemen hemen bütün bölgelerde yetiştirilebilir. Fasulye tohumlarının çimlenmesi için gerekli iklim koşulları 15-20 °C iken 15 °C derecenin altında çimlenme yavaşlamakta ve 10 °C altında veya 35 °C derecenin üstünde çimlenme gerçekleşmemektedir. Uygun koşullar sağlandığı takdirde 7-10 gün aralığında tohumlarda çimlenme sağlanır. Çiçeklenme için uygun sıcaklık 20-25 °C’dir (Kütevin ve Türkeş 1987, Freytag ve Debouck 2002, Özdem 2012). Ancak 30 °C den fazla olan sıcaklıklar fasulye bitkisinin çiçeklerinin patlamasına neden olabilmektedir (Fageria vd. 1997). Fasulye bitkisinin mevsimlik su ihtiyacı 300-600 mm dir (Free, 1993).

## 1.3 Tarihçe

İnsan oğlunun avcı-toplayıcı yaşamdan tarıma geçmesi insanlık tarihi için büyük bir mihenk taşıdır. Bununla birlikte bitkiler ve hayvanlar evcilleştirilmiştir (Larson vd. 2014). Yabani fasulye ilk olarak Arjantin (Burkart 1941, Burkart ve Brücher 1953) ve Guatemala’da tanımlanmıştır (McBryde 1947).

Fasulyenin 1506 yılında Portekizliler ve İspanyollar vasıtasıyla Avrupa’ya taşındığı bilinmektedir (Ortwin-Sauer 1966). Amerika’dan getirilen fasulyenin Orta Avrupa ve Akdeniz ülkerine takas yoluyla veya doğrudan alışveriş ile yayılımının gerçekleştiği düşünülmektedir (Papa vd. 2005). Ülkemizde fasulye en fazla üretimi yapılan baklagil türlerinden bir tanesi olmakla birlikte 250 yılı aşkın süredir tüketildiği bilinmektedir (Kütevin ve Türkeş 1987, Özdem 2012).

## 1.4 Sınıflandırılması

Fasulye *Fabaceae* (Baklagiller) familyasının *Phaseolus* cinsine bağlı olup başlıca türleri *Phaseolus acitufolius*, *A. gray*, *P.coccineus* L., *P. lunatus* L. ve *P. vulgaris* L.

şeklinde. Sistematik sınıflandırması ise Çizelge 1.4 gösterilmiştir (Freitag ve Debouck 2002).

#### Çizelge 1.1 Fasulyenin sınıflandırılması

Domain:	Eukarya
Alem:	Plantae
Bölüm:	Magnoliophyta
Sınıf:	Magnoliopsida
Takım:	Fabales
Aile:	Fabaceae
Cins:	<i>Phaseolus</i> L.
Tür:	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.

#### 1.5 Türkiye ve Dünyada Fasulye Üretimi

Dünyanın birçok ülkesinde yetiştirilen fasulye, Latin Amerika ülkelerinin geleneksel mutfak kültüründe yer almakta, Afrika ülkelerinde ise temel yaşam gıdası olarak tüketilmektedir. FAO'nun 2000 yılı istatistiklerine göre Dünya'da kuru fasulye üretimi yaklaşık 17,8 bin ton iken bu rakam 2016 yılında artarak 26,8 bin tona ulaşmıştır. İstatistikler fasulye üretiminde 16 yılda %50,5 civarında bir artış olduğunu göstermektedir.

#### Çizelge 1.2 Dünya ülkelerine göre kuru fasulye üretimi (Bin ton)

Ülke Adı	2000	2005	2010	2013	2014	2015	2016
<b>Myanmar</b>	1.285	2.175	3.530	4.404	4.652	4.921	5.190
<b>Hindistan</b>	2.847	2.630	4.890	3.630	4.230	4.260	3.898
<b>Brezilya</b>	3.056	3.021	3.159	2.893	3.295	3.090	2.616
<b>ABD</b>	1.204	1.205	1.442	1.115	1.311	1.366	1.270
<b>Tanzanya</b>	540	626	867	1.113	1.114	1.202	1.158
<b>Çin</b>	1.650	1.800	1.330	1.002	1.050	1.050	1.100
<b>Meksika</b>	887	826	1.156	1.295	1.274	969	1.089
<b>Uganda</b>	420	478	949	941	1.011	1.012	1.008
<b>Kenya</b>	331	382	390	714	616	765	728
<b>Etiyopya</b>	147	211	340	457	514	595	484
<b>Diğer Ülkeler</b>	5.483	5.935	6.610	7.053	7.787	8.364	8.265
<b>Dünya</b>	<b>17.850</b>	<b>19.289</b>	<b>24.663</b>	<b>24.617</b>	<b>26.854</b>	<b>27.644</b>	<b>26.833</b>

(FAO 2019, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QV> )

FAO verilerine göre Myanmar kuru fasulye üretiminde dünyada ilk sıradadır ve onu ekim alanlarının fazla olmasına rağmen üretimde yeterli verimi alamayan Hindistan takip etmektedir. Ülkemizdeki fasulye üretimine ilişkin durum ise TÜİK raporları ile ortaya konmuştur.

Türkiye’de baklagillerin üretiminde nohut başı çekerken onu mercimek ve kuru fasulye takip etmektedir. 2018 yılındaki Türkiye’deki baklagil ekim alanlarının %10’luk bir kısmını fasulye ekiminin oluşturduğu görülmektedir. 2010 yılında ekilen alan 1 milyon ha’iken 2018 yılı itibariyle 848 bin ha’a gerilemiştir. Ekim alanlarındaki bu önemli düşüşün sebepleri arasında fasulye üretim maliyetlerinin fazla olması, pazarlamada oluşan problemler, sulama problemleri, kırsal kesimden şehire göçün sonucu oluşan iş gücü kaybı, hastalık ve zararlı organizmalar ile mücadele gösterilebilir (Bolat 2018).

Çizelge 1.3 Kuru baklagil üretimi 2010-2018

Yıllar	Toplam	Bakla	Bezelye	Nohut	Fasulye	Mercimek Kırmızı
2010	8 221 554	82 970	11 815	4 556 900	1 033 811	2 116 000
2011	7 780 223	74 417	13 048	4 464 129	946 254	1 923 225
2012	7 723 446	85 334	12 193	4 162 416	931 740	2 147 875
2013	8 066 462	70 751	12 618	4 235 570	847 630	2 605 000
2014	7 438 228	59 114	11 490	3 885 175	911 103	2 324 461
2015	6 902 896	54 140	11 118	3 593 042	935 840	2 074 690
2016	7 152 419	52 922	10 882	3 595 289	898 197	2 354 743
2017	7 904 833	53 123	9 415	3 953 099	897 221	2 693 181
2018	8 879 229	47 722	9 065	5 144 159	848 045	2 430 652

Kaynak TÜİK 2019, <http://tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist> )

2010 yılında 212 bin ton fasulye üretimi yapılırken 2018 yılında üretim miktarı 220 bin ton olarak gerçekleşmiştir. Kuru fasulye üretim miktarlarındaki artışın nedeni olarak üretim tekniklerindeki gelişmeler ve verimdeki artış gibi sebepler gösterilmektedir (Bolat 2016).

Çizelge 1.4 Ülkemizde kuru baklagil üretim (bin ton)

Yıllar	Toplam	Bakla	Bezelye	Nohut	Fasulye	Mercimek Kırmızı
2010	1 235 306	19 898	3 200	530 634	212 758	422 000
2011	1 131 986	19 678	3 628	487 477	200 673	380 000
2012	1 190 706	18 406	2 686	518 000	200 000	410 000
2013	1 147 735	17 826	3 235	506 000	195 000	395 000
2014	1 035 832	14 927	2 987	450 000	215 000	325 000
2015	1 079 048	13 856	3 125	460 000	235 000	340 000

Çizelge 1.4 Ülkemizde kuru baklagil üretim (bin ton) (devamı)

2016	1 080 253	14 489	2 919	455 000	235 000	345 000
2017	1 163 805	14 746	2 673	470 000	239 000	400 000
2018	1 225 220	13 198	2 603	630 000	220 000	310 000

Kaynak: (TÜİK 2019, <http://tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>)

2017 yılında 239 bin ton fasulye üretiminin %65,2'si İç Anadolu Bölgesinden sağlanırken 70 bin ton üretim ile Konya ilk sırada yer almaktadır. Konya bu üretim ile ülke üretiminin %30'unu sağlamıştır. Konya şehrini ise 31 bin ton ile Karaman takip ederken 28 bin ton ile Niğde üretimde üçüncü sırada yer almaktadır (Anonim 2018).

## 1.6 Bitkilerde Stres

Biyolojik anlamda stresi Levit (1980) “canlı organizmalar için uygun olmayan çevresel şartlar” olarak belirtmiştir (Gaspar vd. 2002). Stresi başka bir şekilde tanımlayan ise Cassels ve Curry (2001) olmuştur. Cassels ve Curry'e göre stres, “fizyolojik değişimlere, bedensel hasara ve hastalıklara sebep olan biyotik ve abiyotik faktörler” olarak tanımlanmıştır (Hale ve Orcutt 1987).

Bitkiler yaşadıkları ortamlardaki olumsuz çevresel faktörlere karşı maksimum seviyede tepki verebiliyorlarsa çevresel faktörler tarafından olumsuz şekilde etkilenmeye başlamışlar demektir (Salisbury ve Ross 1992).

Stres bitkilerde fizyolojik ve metabolik farklı değişimlere yol açarak bitki üzerinde büyüme ve gelişmeyi etkileyerek ürün kaybına neden olmaktadır. Doğaları gereği bitkiler strese neden olan etmenlerden uzaklaşarak kaçınmayacağı için strese direk maruz kalmaktadırlar. Stres bitkilerde ürün kaybının yanı sıra bitki organlarının veya bitkinin ölümüne de sebep olabilmektedir (Anonim 2017). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 2007 yılında yayınladığı rapora göre dünyada bulunan karasal alanların yalnızca %3,5'i çevresel etmenlerden etkilenmemektedir (Veldhuizen vd. 2007). Stres faktörleri çeşitli araştırmacılara göre farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. Fakat yaygın şekilde kabul gören sınıflandırma Çizelge 1.6 1'de verilmiştir.

Çizelge 1.5 Stres faktörlerinin sınıflandırması (Levit 1980)

<b>Biyolojik Stres Faktörleri</b>	<b>Abiyolojik Stres Faktörleri</b>	
Patojenler	Yüksek-Düşük Sıcaklık	Su
Zararlılar		Radyasyon
Diğer Organizmalarla Yarış		Kimyasallar

Stresi sınıflandıran bir başka araştırmacı ise 1996 yılında Lichtenthaller olmuştur.

Çizelge 1.6 Stres faktörlerinin sınıflandırması (Lichtenthaller 1996)

<b>Doğal Stres Faktörleri</b>	<b>Antropojenik Stres Faktörleri</b>
*Su	*Herbitler
*Sıcaklık	*Funguslar
*Besin eksikliği	*Hava kirleticiler
*Uzun Yağışlı Dönemler	* Ozon
*Virüsler	*Asit Yağmurları
*Funguslar	*Ağır Metaller
*Bakteriler	*UV artışı
	*CO <sub>3</sub>

## **1.7 Kuraklık Stresi (Su Stresi)**

Kuraklık, yağışlar da beklenen seviyelerin önemli ölçünün altına düşmesiyle birlikte su ve toprak kaynaklarının negatif etkilenmesi olarak tanımlanmaktadır. Herhangi bir bölgede oluşan kuraklık; frekans, şiddet, etki alanı ve süre gibi faktörlerle değişiklik göstermektedir (Kömüşçü vd. 2002). Dünya Meteoroloji Örgütü (WMO)'ne göre ise kuraklık, aralıksız devam eden yağışın azalması veya uzaması olarak belirtilmektedir.

Kuraklık, küresel ısınmanın sonucu olarak bitkilerin gelişimlerini ve bitkisel üretimi en fazla etkileyen sorunların başında gelmektedir. Hükümetler Arası İklim Panelin'de (IPCC) yayınlanan değerlendirme raporuna göre bu yüzyılın sonunda ortalama sıcaklığın 1.1-6.4 °C artacağı bildirilmiştir. 3 °C derecenin üzerindeki bir ısınmanın ise karasal bölgelerdeki bitki vejetasyonunun karbon miktarını ve karbon kaynaklarını değiştireceği düşünülmektedir (Zhenzhu Xu 2010).

Bitkilerde kuraklık stresinin ortaya çıkması ise su eksikliği veya suyun fazlalığından kaynaklanmaktadır (Mahajan ve Tuteja 2005). En önemli abiyotik streslerden bir tanesi olan kuraklık stresi bitkisel üretimleri sınırlandırmanın yanı sıra tarımsal üretkenlik ve ekolojik denge üzerinde de büyük bir etkiye sahiptir (Reddy vd. 2004, Jaleel vd. 2007).

Bitkiler de kuraklığa karşı verilen erken dönem tepkileri stomaların kapanması ve transpirasyon yoluyla su kaybının azaltılması şeklindedir. Stomaların kapatılması işleminde ABA (absisik asit) miktarındaki değişiklikler önemli rol oynamaktadır (Mahajan ve Tuteja 2005).

## **1.8 Kuraklık Stresinin Zararları**

Kuraklık stresinin bitkide meydana getirdiği su kaybı ile birlikte bitkide turgor kaybı oluşur (Levit 1980). Oluşan bu su kaybına bağlı hücre öz suyu miktarının artmasıyla protoplazmada artan bir dehidrasyon meydana gelir; hücrede oluşan ozmotik su kaybıyla protoplast hücre çeperinden ayrılır. Stres altında bulunan plazma membranında

oluşan çökme, yırtılmalara neden olarak zarlar üzerinde bulunan hidrolitik enzimlerin serbest kalmasına ve sitoplazmanın otolizine neden olur. Meydana gelen bu zarar bitki metabolizmasının tamir edilemez şekilde bozulmasına ve büyümenin yavaşlamasına yol açar (Özcan vd. 2004, Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005).

Oluşan aşırı su kaybı sonucu hücrel metabolizmanın zarar görmesiyle gerçekleşen iyon birikimi, protein yapılarının bozulmalarına neden olarak hücreye zarar verebilmektedir (Bray 1993, Özcan vd. 2004, Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005). Büyümedeki yavaşlama bitki yapraklarının küçülmesine neden olmakta ve yapraklarda meydana gelen bu bozunma da fotosentez ürünlerinin azalmasına sebep olmaktadır (Kalefetoğlu vd. 2005). Kuraklık stresi tüm bu zararların yanı sıra enzim aktivitesi ve enzim miktarına da etki eder. Bitki hücrelerinde Reaktif Oksijen türlerinin (ROS) birikmesine ve oksidatif strese neden olur (Walton 1980, Salisbury ve Marinos 1985, Plaut 1995).

## **1.9 Bitkilerin Strese Karşı Geliştirdiği Moleküler Cevap Mekanizmaları**

Kurakçıl, tuzcul ve jipsli topraklarda yetişen bitkilerden bazıları buldukları ortamlardaki stres koşullarına adapte olmayı başarabilmişlerdir. Bu bitkiler çeşitli streslere maruz kalmalarına rağmen özelleşmiş yapıları sayesinde hayatta kalabilmekte ve yaşam döngülerini tamamlayabilmektedirler. Strese dayanıklı oldukları için bu bitkilerde gerçekleştirilen çalışmalar ışığında bitkilerin strese karşı verdiği biyokimyasal, moleküler ve fizyolojik tepkiler incelenerek mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu tepkileri 3 farklı başlıkta toplamak mümkündür (Boscaiu vd. 2008).

### **1.9.1 Makromoleküllerin ve iyonların homeostazisi**

Tuzluluk, kuraklık ve yüksek-düşük sıcaklık gibi abiyotik stresler ozmotik bileşenler barındırmakta bu bileşenlerde hücrel bozulmanın yanı sıra iç dengeyi bozmaktadır.

Tuz stresine maruz kalan bitkilerde Potasyum ( $K^+$ ) ve Sodyum ( $Na^+$ ) dengesinin sağlanması hayati değer taşımaktadır. Bu nedenden dolayı iyon dengesinin ayarlanması gerekmektedir. Tuzluluk stresinin neden olduğu  $Na^+$  stresi de bitkinin kökünde bulunan hücreler tarafından  $K^+$  emilimini engeller. Stresle birlikte  $Na^+$ 'nın hücrede aşırı şekilde birikerek hücre içinde toksik etkiye neden olduğu bilinmektedir (Hasegawa vd. 2000, Wang vd. 2003). Hücre ölümünü engellemek için hücreler, biriken aşırı  $Na^+$  iyonunu uzaklaştırılmalı veya vakollere ayırmalıdır. Bitki hücrelerinde metabolit ve iyon taşınımı H-ATPazlar ve H- pyrofosfatazlar ile sağlanmaktadır ve stres anında da bunlar aracılığı ile hemostazda görev alırlar (Hasegawa vd. 2000).

### **1.9.2 Koruyucu moleküllerin sentezi**

Stres anında bitkilerin oluşturduğu cevaplardan bir diğeri ise düşük moleküler ağırlıklı çözünen maddeler, şekerler, amino asitler ve ısı şok proteinleri gibi farklı özel proteinlerdir.

Ozmolitler stres anında bitki tarafından oluşturulan ROS'un temizlenmesinde büyük rol oynayan proteinlerdendir. Ozmotik ayarlayıcı ve ozmoprotektan olarak görev yaparlar. Sitoplazmada suyun alıkonmasını sağlarlar. Sodyumun apoplast ve vakuollerde tutulmasını kolaylaştırarak hücrel yapıları korumaktadırlar (Smirnoff vd. 1989).

Isı şok proteinlerinin daha önce yapılan araştırmalarda protein katlanması, hücrel düzenlenme gibi konularda görev aldığı bildirilmiştir. Ayrıca çeşitli stres durumlarında da sentezlenerek moleküler şaperonlara benzer şekilde proteinlerin üç boyutlu hale gelmesine yardımcı olan proteinlerdir (Henle vd. 1999). Isı şok proteinleri yanlış katlanmış polipeptitleri veya hasar almış proteinleri bağlayarak stres anında polipeptitlerin yıkımını önler ve bitkiyi stres durumunda korur (Chiba vd. 2006).

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında tuzluluk stresine maruz kalan bitkilerde toksik etkisi olmayan ve koruyucu özelliğe sahip katyonin proteinlerinin biriktiği belirlenmiştir. Bu proteinler toplam hücrel proteinin %12'sini oluşturmaktadır.

Ozmotin sentezinin absisik asit tarafından yapıldığı ve osmotoleransı sağladığı belirlenmiştir (Singh vd. 1985, Husaini ve Abdin 2008).

LEA proteinleri ilk olarak tohum embriyolarında tanımlanmıştır. Bu proteinlerin bitkilerin stres savunma mekanizmalarında önemli bir role sahip oldukları düşünülmektedir (Holmberg ve Bülow 1998). Bitkilerde stres altında LEA genleri tarafından sentezlenen LEA proteinleri su eksikliğinin azaltılmasında ve hücrel bütünlüğün korunmasında etkin rol oynamaktadır (Sairam ve Tyagi 2004).

### **1.9.3 Reaktif oksijen türleri**

Reaktif oksijen türleri bitkilerde endojen olarak plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerdeki sitrik asit döngüsünde NADPH oksidaz, hücre duvarı peroksidaz ve amino oksidaz enzimlerin etkisiyle oluşan serbest radikal türleridir (Van Breusegem ve Dat 2006, Van Camp vd. 1998). Bitkinin normal gelişim evresinde sentezlenirler fakat detoksifikasyon mekanizması ile aralarındaki denge sayesinde zararlı etki göstermezler (Levitt 1972). Hücrelerde bilinen ROS'ları singlet oksijen, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri olarak tanımlamak mümkündür (Halliwell ve Gutteridge 1998).

### **1.10 Heat Shock Protein (Isı Şok Proteinleri)**

1962'de yapılan araştırmada *Drosophila melanogaster*'in tükürük salgısından yüksek ısıya bağlı bir protein sentezlendiği fark edilmiş ve yapılan deneylerin sonucunda bunun tekrarlandığı anlaşılmıştır. Normal şartlarda hücrede bulunan transkriptlerin stres altında kaybolduğu pasif halde bulunan bazı transkriplerin ise stres ile birlikte artışa geçtiği saptanmıştır (Ritossa 1996). Isı şok proteinlerinin moleküler ağırlıkları genel olarak 7-110 kDa arasında olmakla birlikte plazma membranı, ekstraselüler ve intraselüler bölgelerde konumlanabilmektedirler (Derek 2007). İntraselüler bölgelerde bulunan ısı şok proteinleri neredeyse her hücrenin mitokondri, çekirdek ve sitoplazmalarında bulunmaktadır (Kiang 1998, Calderwood vd. 2006). Isı şok proteinleri hücrede meydana

gelen protein katlanmaları, hücre döngüsünün kontrolü ve sinyalleri gibi birçok yerde görev almalarının yanı sıra strese karşı da cevap oluşturmaktadırlar (Li ve Srivastava 2004).

Isı şok proteinleri ağırlıklarına göre; HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 ve Küçük HSP olarak 5 gruba ayrılmaktadır (Wang vd. 2004, Sarkar vd. 2009).

Moleküler ağırlığı 100-110 kDa arasında değişen HSP100 proteinleri, stres altında bulunmasa bile hücrelerde daima sentezlenen proteinler olarak bilinirler (Gupta vd. 2010, Kim vd. 2007). HSP100 proteinlerinin bitkilerde sıcaklık toleransında ki rolleri, birçok araştırmanın konusu olmuştur (Hong ve Vierling 2001, Lin vd. 2014, Queitsch vd. 2000). HSP100 proteinleri moleküler şaperonlar gibi davranarak proteinlerin düzenlenmesinde rol oynarlar (Feder ve Hofmann 1999, Aşkar vd. 2007). Dahası HSP100, HSP şaperon sistemi aracılığı ile protein agregatlarının yeniden çözünmesinde görev almaktadır (Bosl vd. 2006).

HSP90 proteinleri hem ökaryotik hem de prokaryotik hücrelerde sentezlenip, stres şartlarında aniden tetiklenmektedir. HSP90 proteinleri calmodulin actin tubulin kinases ve reseptör proteinler gibi hücre içi proteinler ile bağlantılıdır (Gupta vd. 2010, Matsumiya vd. 2009, Nguyen vd. 2009, Te vd. 2007). *Nicotiana benthamiana* ve *Arabidopsis* bitkilerinde yapılan çalışmalarda HSP90 proteinlerinin büyüme ve gelişmede rol oynadığı anlaşılmıştır (Liu vd. 2004, Queitsch vd. 2002, Sangster vd. 2007). *N. benthamiana* bitkisinde HSP90 genlerinin susturulması sonucunda bitkide klorik yapraklar ile bodur büyüme gözlemlenmiştir (Liu vd. 2004). Ayrıca HSP90 proteinleri bitki bağışıklığında temel rol oynamaktadır (Kadota ve Shirası 2012).

HSP70 üzerinde çok çalışılan ve evrimsel süreçte en fazla korunan stres uyarımlı proteindir. Korunmuş iki büyük ana domainden (45-kDa N- terminal ATPase ve 25-kDa peptid bağı) ve iki alt domainden (15 kDa  $\beta$ -sandviç ve C-terminal helikas) oluşmaktadır (Zhu vd. 1996, Masand ve Yadav, 2016). Bitki hücresinin sitoplazmasında yer alan HSP70 proteinlerinin C-terminal bölgelerinde sitozole özgü (EEVD) motifler yer almaktadır (Sung vd.2001).

Geçtiğimiz yıllarda yapılan araştırmalarda HSP70 genleri çeşitli bitkilerde tanımlanmış ve hücre altı lokasyonlarına ve sekans homolojilerine göre sınıflandırılmıştır. Buna göre HSP70 ailesi; sitozolik HSP70'ler, plastid HSP70'ler, mitokondriyal HSP70'ler, endoplazmik retikulum HSP70'ler ve HSP91 altı aileler olmak üzere 5 farklı grupta toplanabilmektedir (Li ve Srivastava 2004, Zhou vd 2013, Daugaard vd. 2007).

HSP60 proteinleri ökaryot hücrelerin mitokondri ve kloroplastlarında yer alırken, proteinlerin sitoplazmadan mitokondrial matrikse taşınmasında ve programlı hücre ölümünü önlemede görevlidir (Gonzalez-Riopedre 2007, Matz vd. 2007 Ellis, 1997). Mitokondrinin strese karşı tolerans oluşturmasında görev alır (Zhao vd. 2002). HSP60 proteinleri HSP70 proteinleri gibi intraselüler bölgelerde proteinlerin toplanmasına, yer değiştirmesine ve katlanmasına yardımcı olurlar (Chio vd. 2008).

Küçük HSPlerin moleküler şaperon olarak istenmeyen protein-protein etkileşimlerinin önlenmesi ve denatüre proteinlerin yeniden katlanmasına yardımcı olması gibi işlevsel özellikleri vardır (Gupta vd. 2010). Küçük HSPler doğal olmayan formlara bağlanma yoluyla proteinlerin termal agregasyonunu önleyerek koruyucu bir işlev kazandırır (van Montfort vd. 2001). Küçük HSP'ler denatüre proteinleri korur ve HSP70/90'dan sonra ATP'ye bağlı ayrışmayı HSP-şaperon sistemi ile sağlar (Kotak vd. 2007, Liberek vd. 2008). Tütün bitkisinde yapılan araştırmaya göre HSP20'nin bitkide hastalığa karşı dirençte rol aldığı belirlenmiştir (Maimbo vd. 2007).

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki ısı şok proteinleri bitkilerde, bitki hücrelerini koruma ve abiyotik stres durumunda protein katlanması ve toplanması, stabilizasyonu, aktivasyonu ve degradasyon süreçlerinde kritik roller oynamaktadır.

Cho ve Hong 2006 yılında gerçekleştikleri çalışmada NtHsp70-1 geninin kuraklık esnasında bitkilerde anlamlı derecede ifade olduğunu göstermiştir. *Nicotiana tabacum* bitkisinde kuraklığın etkisiyle NtHSP70-1 geninin normalden daha fazla ifade olduğu belirlenmiştir (Cho ve Hong 2006).

Su ve Li'nin yaptığı çalışmada ise gelişim ve sıcaklık toleransına karşı *Arabidopsis thaliana* bitkisinin mutant hatlarında cpHSC70, cpHSC70-1 ve cpHSC70-2 genlerinin etkin rol oynadığı anlaşılmıştır (Su ve Li 2008).

Son yıllarda biyoinformatik çalışmaları biyoteknoloji alanındaki birçok ham veriyi değerlendirmemizi ve anlamlandırmamızı sağlamaktadır. *In-siliko* metodlar yakın geçmişimizde birçok çalışmanın temelini oluşturmakta ve canlı bilimlere önemli katkı sağlamaktadır.

Yer ve arkadaşlarının 2015 yılında *in-siliko* yöntemler ile kavak bitkisinde yaptığı çalışmada 34 adet HSP70 geni tanımlanıp gruplandırılmış ve ilgili genler ile ilişkili miRNA'lar belirlenmiştir. Belirlenen 19 adet PtHSP70 genine yönelik 27 adet miRNA olduğu saptanmıştır. Çalışmanın devamında ise tanımlanan HSP70 genlerinin kavak bitkisinde kuraklık stresine karşı adaptasyonunu belirlemek için Real-time PCR (qRT-PCR) analizleri yapılmıştır (Yer vd. 2015).

2016 yılında Altunoğlu yaptığı biyoinformatik çalışmada ise 21 adet EgHSP70 geni tespit edilmiştir. En fazla HSP70 genin 10. okaliptüs kromozomunda bulunmasına karşın 1, 2, 4 ve 11'inci kromozomlar da HSP70 proteinlerinin bulunmadığı bildirilmiştir (Altunoğlu 2016).

Tang ve arkadaşlarının *Physcomitrella patens* bitkisinde HSP70 gen ailesinin tanımlanmasına yönelik olarak gerçekleştirdikleri çalışmada 21 adet HSP70 geni tanımlanmış ve bu genlerin ABA, tuzluluk ve kuraklık stresi ile ilişkili olabileceğine dair bulgular elde edilmiştir (Tang vd. 2016).

Zhang ve arkadaşlarının soya fasulyesinde yaptıkları çalışmada 61 adet yeni HSP70 geni tanımlanmış olup bu genler 8 kategoride sınıflandırılmıştır. qRT-PCR sonuçlarına ve detaylı biyoinformatik analizlere göre tanımlanan GmHSP70 genlerinin soya fasulyesinde büyüme ve gelişme gibi hücrel fonksiyonlarda görev aldığı tahmin edilmektedir (Zhang vd. 2015).

Guo vd. (2016) tüm genom araştırmasında biberde 21 adet CaHSP70 geni tanımlanmıştır ve tanımlanan bu genlerin sıcaklık stresine karşı olan cevapta önemli rolü olduğu kanısına varılmıştır (Guo vd. 2016).

2017 yılında ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada ise Baloğlu ve arkadaşları kuzey yarım kürede geniş bir yayılım gösteren dişbudak ağacında *in-siliko* çalışmada 43 adet FexHSP70 geni tanımlamışlardır. Tanımlanan FexHSP70 genlerinden 13 farklı FexHSP70 genini hedefleyen 11 adet farklı miRNA belirleyen araştırmacılar bu 11 miRNA içerisinde en fazla gözlenenin ise miR414 olduğunu bildirmişlerdir (Baloğlu vd. 2017).

Dünya çapında en fazla yetiştirildiği ve tüketildiği düşünülen çin lahanası üzerinde 2015 yılında Huang ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri çalışmada 30 adet BrHSP70 geni tanımlanmıştır. Karakteristik yapılarının incelenmesi ve filogenetik analizler neticesinde bu genler 3 ana sınıf ve 8 alt sınıfa ayrılmıştır (Huang vd. 2015).

*Chenopodium quinoa* bitkisinde yapılan çalışmada 60 tane CqHSP70 geni tanımlanıp karakterize edilmiştir. qRT-PCR analizleri sonucunda CqHSP70 genlerinin kuraklık stresine önemli derecede cevap oluşturduğu ve kuraklık stresine karşı rol oynayabileceği bildirilmiştir (Liu vd. 2018).

Wen ve arkadaşları 2017 yılında ise ısı şok proteinleri ve ısı şok faktörlerinin *Brachypodium distachyon* de oynadığı roller üzerine yaptığı araştırmada 24 adet yeni BdHsf's ve 29 adet BdHSP70 geni tanımlanmıştır. Bu genlerin kuraklık stresi ile ilişkisi ortaya konmuştur (Wen vd. 2017).

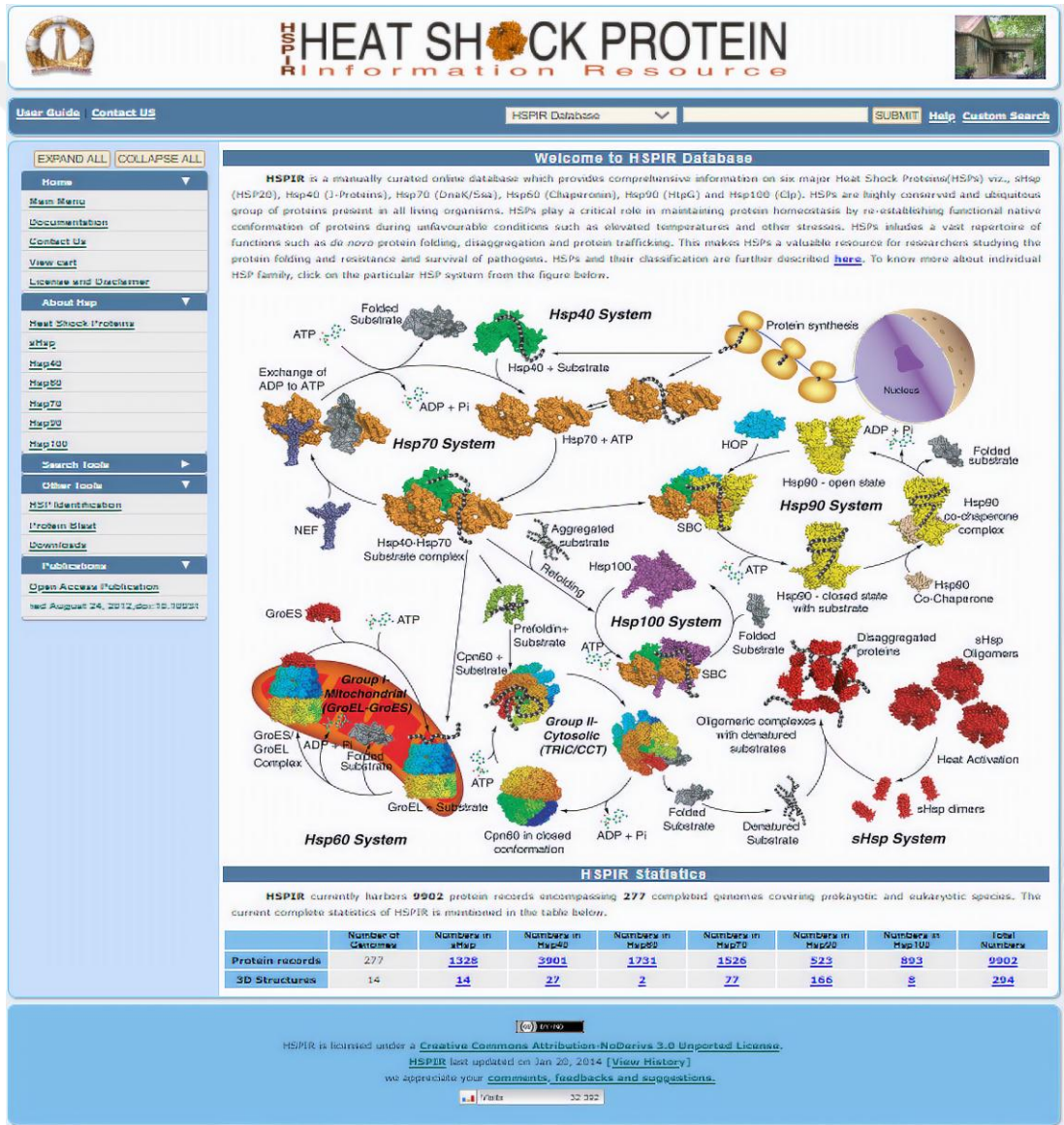
Bilgimiz dahilinde fasulye bitkisinde HSP70 gen ailesi üyelerinin kuraklık stresi altındaki davranışlarının ele alındığı bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki bu eksiklikten yola çıkılarak planlanan bu tez çalışması kapsamında fasulye bitkisinde ileri biyoinformatik yöntemler kullanılarak tanımlanan HSP70 gen ailesi üyelerinin kuraklık stresi altında iki farklı fasulye bitkisindeki davranışları incelenmiştir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 *Phaseolus vulgaris* L. Hsp70 Genlerinin Tanımlanması

HSP70 ailesine ait 15 bitkide (*N. tabacum*, *A. thaliana*, *Vigna radiata*, *Cucumis sativus*, *Sorghum bicolor*, *Glycine max*, *Hordeum vulgare*, *Medicago truncatula*, *Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, *Physcomitrella patens*, *Ricinus communis*, *Solanum lycopersicum*, *Vitis vinifera* ve *Zea mays*) <http://pdslab.biochem.iisc.ernet.in/hspir/index.php> 'inden indirildi.



Şekil 3.1 Bitki türlerinde tanımlanmış HSP70 proteinlerinin bulunduğu veri tabanı (<http://pdslab.biochem.iisc.ernet.in/hspir/index.php>)

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinin genomuna ait HSP70 proteinleri tanımlayabilmek için hem Phytozome database v11 (<http://www.phytozome.net>) blastp ve hidden Markov Model (HMM, <http://www.ebi.ac.uk>) veritabanları ile birlikte fasulye genomuna ait karşılaştırmalar yapıldı.

The screenshot displays the Phytozome 12 web interface. At the top, there is a navigation menu with options like Species, Tools, Info, Download, Help, Cart, and Subscribe. The main heading is "Search for genes, families and sequences". Below this, there are two main steps: "1. Select a Target" and "2. Build your query".

In the "1. Select a Target" section, the "Target set" is set to "Phytozome 12.1" and "Pre-release species". The "Target type" is set to "Ancestor nodes" and "Species". A search box contains the text "Select or enter a species or node (e.g. Arabidopsis, Rosid)". Below this, a list of species is shown, including:

- Panicum hallii v2.0
- Panicum virgatum v1.1
- Setaria italica v2.2
- Setaria viridis v1.1
- Sorghum bicolor v3.1.1
- Zea mays Ensembl-18
- Zea mays PH207 v1.1

The list is categorized into taxonomic groups: Eudicot, Pentapetalae, Asterid, and Rosid. The "2. Build your query" section includes a "Search type" dropdown set to "BLAST", a "Query name" field, and "Algorithm parameters" such as "Expect (E) threshold: -1", "Comparison matrix: BLOSUM62", and "# of alignments to show: 100".

At the bottom of the page, there is a footer with "Contact Disclaimer" and "Accessibility / Section 508 Statement" on the left, and the "U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE Office of" logo on the right.

Şekil 3.1 Fasulye bitkisine ait HSP70 proteinleri tanımlamak için kullanılan Phytozome database v11 (<http://www.phytozome.net>)



## We are EMBL-EBI

The European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) is part of EMBL, Europe's flagship laboratory for the life sciences. More about EMBL-EBI and our impact. >

## Data resources

Explore our open data resources to enrich your research. Browse data, perform analyses or share your own results. >

## Research

Find out about our research groups, postdoctoral schemes and PhD Programme. >

## Training

Access a wealth of world-leading training in bioinformatics and scientific service provision, regardless of your career stage or sector. >

## Industry

Explore our knowledge-exchange Industry Programme and take part in translational partnerships and projects. >

## ELIXIR

We support, as an ELIXIR node, the coordination of biological data provision throughout Europe. >

## Latest news

## Our events

Şekil 3.3 Fasulye bitkisine ait HSP70 proteinleri tanımlamak Hidden Markov Model ve Domain saptamak için kullanılan (<http://www.ebi.ac.uk>)

Fasulye bitkisi genomuna ait HSP70 proteinleri (NCBI) blastp ile proteinlerin karakterizasyon sorgulaması yapıldı. HMMER (<http://www.ebi.ac.uk>) ve pfam veritabanları kullanılarak gerekli olan HSP70 domainleri saptandı.

## Search Pfam

0 architectures 0 sequences 0 interactions 0 species 0 structures

Sequence

Batch search

Keyword

Domain architecture

Taxonomy

Jump to...  
enter ID/acc Go

### Batch sequence search

Upload a FASTA-format file containing sequences to search for matching Pfam families using [the HMMER website](#).

Sequences file

Cut-off  Gathering threshold  
 Use E-value

E-value

Email address

Şekil 3.2 HSP70 Domainlerinin saptandığı Pfam veri tabanı

Moleküler ağırlık, kararsızlık indexi, teorik izoelektrik noktası (pI) gibi protein özelliklerini tanımlamak amacıyla ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam>) kullanıldı.

### ProtParam tool

ProtParam (References / Documentation) is a tool which allows the computation of various physical and chemical parameters for a given protein stored in Swiss-Prot or TrEMBL or for a user entered protein sequence. The computed parameters include the molecular weight, theoretical pI, amino acid composition, atomic composition, extinction coefficient, estimated half-life, instability index, aliphatic index and grand average of hydropathicity (GRAVY) (Disclaimer).

Please note that you may only fill out **one** of the following fields at a time.

Enter a Swiss-Prot/TrEMBL accession number (AC) (for example **P05130**) or a sequence identifier (ID) (for example **KPC1\_DROME**):

Or you can paste your own amino acid sequence (in one-letter code) in the box below:

RESET Compute parameters

Şekil 3.3 Protparam veri tabanı (<http://web.expasy.org/protparam> )


### 3.2 PvHSP70 Genlerinin Fiziksel Lokasyonları ve Yapısı, Duplikasyon Genlerinin Saptanması, Kromozom Yapıları

PvHSP70 proteinlerinin ekzon-intron yapılarının anlaşılması için Gene Structure Display server v2.0 ( <http://gsds.cbi.pku.edu.cn/> ) kullanıldı.

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

Şekil 3.6 Gene Structure Display Server (GSDS, <http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)

PvHSP70 genlerine ait pozisyon bilgilerinin, kromozomal lokasyonlarının, intron numaralarının ve büyüklüklerinin belirlenmesi için Phytozome database v11 kullanıldı. PvHSP70 genlerinin kromozomları yapıları Map Chart ile çizildi. Kodlanan nükleotid sekansının %80 oranında gen uzunluğuna ve >80% amino asitten oluşması gibi parametreler dikkate alınarak PvHSP70 genlerindeki gen duplikasyonları belirlendi. PvHSP70 proteinlerindeki korunmuş motifleri tanımlamak için, çoklu EM Motif Elicitation aracı kullanıldı (MEME 5.1.0; <http://meme-suite.org/>).



# MEME

Multiple Em for Motif Elicitation

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

---

**MEME Suite 5.1.0**

- ▼ Motif Discovery
  - MEME
  - DREME
  - MEME-ChIP
  - GLAM2
  - MoMo
- ▶ Motif Enrichment
- ▶ Motif Scanning
- ▶ Motif Comparison
- ▶ Gene Regulation
- ▶ Manual
- ▶ Guides & Tutorials
- ▶ Sample Outputs
- ▶ File Format Reference
- ▶ Databases
- ▶ Download & Install
- ▶ Help
- ▶ Alternate Servers
- ▶ Authors & Citing
- ▶ Recent Jobs
- ↔ Previous version 5.0.5

**Data Submission Form**

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

**Select the motif discovery mode** [?](#)

Classic mode
 Discriminative mode
 Differential Enrichment mode [?](#)

**Select the sequence alphabet**

Use sequences with a standard alphabet or specify a custom alphabet. [?](#)

DNA, RNA or Protein
 Custom

**Input the primary sequences**

Enter sequences in which you want to find motifs. [?](#)

[?](#)

**Select the site distribution**

How do you expect motif sites to be distributed in sequences? [?](#)

**Select the number of motifs**

How many motifs should MEME find? [?](#)

**Input job details**

(Optional) Enter your email address. [?](#)

(Optional) Enter a job description. [?](#)

**▶ Advanced options**

Note: if the combined form inputs exceed 80MB the job will be rejected.

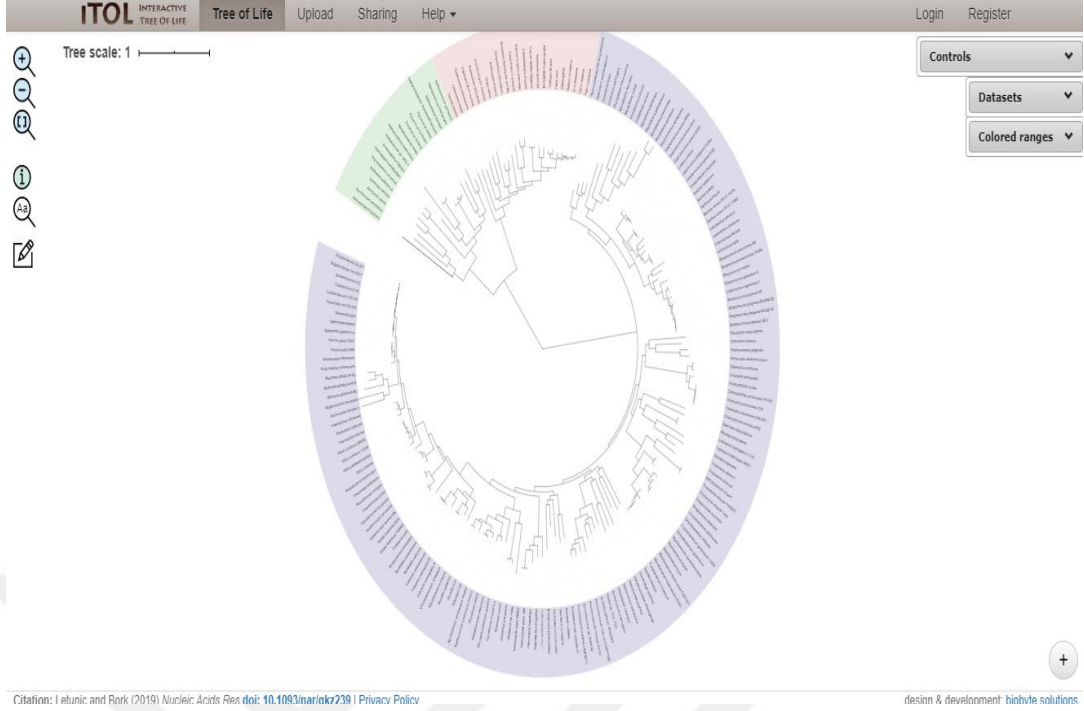
Version 5.1.0
Please send comments and questions to: [meme-suite@uw.edu](mailto:meme-suite@uw.edu)
Powered by Opal

[Home](#)
[Documentation](#)
[Downloads](#)
[Authors](#)
[Citing](#)

Şekil 3.7 MEME yazılımı ile korunmuş motifler belirlenmesi (<http://meme-suite.org/>)

### 3.3 Filogenetik Analiz ve Sekans Hizalama

Filogenetik analiz için Neighborjoining (NM) Metod ile birlikte 1000 kopyanın çizim değerleri gerçekleştirildi. PvHSP70 protein sekansı ClustalW kullanılarak, sırasıyla boşluk ağzı 10 ve boşluk uzunlukları 0,1 olarak hizalandı. Filogenetik ağaç Interactive tree of life kullanılarak çizildi (iTOL; <http://itol.embl.de/index.shtml>).



Şekil 3.8 Interactive Tree OF Life yazılımını (iTOL; <http://itol.embl.de/index.shtml> )

### 3.4 PvHSP70 Ailesinin Hücre içi lokalizasyon ve Promoter Analizi

5' upstream bölgesi, PvHSP70 ailesinin genlerini içeren bölgeler dahil 2 kb'lik DNA sekansı Phytozome database v11 den elde edildi. plantCARE database kullanarak cis elementlerinin analizi yapıldı (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html> ). PvHSP70 ailesinin hücre içi lokalizasyonu için WoLFPSORT ([http://www.genscript.com/psort/wolf\\_psort.html](http://www.genscript.com/psort/wolf_psort.html)) ve TargetP 1.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) araçları kullanılarak tahminleri yapıldı.

**WoLF PSORT**  
Protein Subcellular Localization Prediction

Please select an organism type:


Animal  
 Plant  
 Fungi

Please input sequence.

Input Filename:  Dosya seçilmedi

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

WoLF PSORT is an extension of PSORT II, developed by Paul Horton et al. Computational Biology Research Center, AIST, Japan

Original Website: 

Interface Designed by Genscript Corporation. All rights reserved.

Şekil 3.9 Hücre içi lokalizasyonu için kullanılan WoLF PSORT  
([http://www.genscript.com/psort/wolf\\_psort.html](http://www.genscript.com/psort/wolf_psort.html) )

### 3.5 PvHSP70 Genlerinin miRNA Hedeflerinin Karşılaştırılmalı Tahmini

Daha önce bilinen bitki miRNA sekansları miRBase v21.0 (<http://www.mirbase.org> ) indirildi. Bitki miRNA'ları ve PvHSP70 gen hedefleri online psRNA Target Server (<http://plantgrn.noble.org/psRNATarget>) kullanılarak varsayılan parametreler ile hizalama yapıldı. Tahmin edilen miRNA hedefleri BLASTX ile  $\leq 1e-10$  olacak şekilde araştırıldı ve daha sonra NCBI veritabanından fasulye EST sekans dizilerinin varsayılan gen homoloğu belirlenip validasyonu yapıldı.

### 3.6 HSP70 Proteinlerinin Homoloji Modellemesi

PvHSP70 protein sekansları Protein Data Bank'tan (PDB) indirildikten sonra benzer dizileri ve iyi bilinen üç boyutlu protein yapısını tanımlayabilmek için blastp kullanıldı. Tahmin edilen üç boyutlu HSP70 protein yapısının modellemesi için (3D) Pyre 2 database (Protein Homology Analogy Recognition Engine

(<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2> ) kullanıldı. Fasulyede bulunan PvHSP70'lerin tahmini protein yapıları hesaplanırken güven seviyesi (<90 %) ve kalıntı seviyeleri (80-100) olacak belirlendi.

**Phyre<sup>2</sup>**  
Protein Homology/analogy Recognition Engine V 2.0

Subscribe to Phyre at Google Groups  
Email:    
Visit Phyre at Google Groups  
Follow @Phyre2server

**Phyre Funding**  
We are applying for further funding for Phyre2. If you are interested in extending Phyre2 to **build multimeric complexes** and/or using **Phyre in conjunction with cryoEM** data, please would you let us know and if possible provide a letter of support on your institution's headed paper.  
Many thanks! [Contact: Lawrence Kelley](#)  
[Cambridge 2019 Workshop](#) | [Older Workshops](#) | [Phyre2 paper](#)

E-mail Address   
Optional Job description   
Amino Acid Sequence   
Or try the sequence finder  
Modelling Mode  Normal  Intensive   
Please tick as appropriate.  NOT for Profit  FOR Profit (Commercial)  Other

Şekil 3.10 Protein Homology Analogy Recognition Engine  
(<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2>)

### 3.7 Fasulye ve Diğer Bitkilerde HSP70 Proteinlerinin Karşılaştırılmalı Fiziksel Haritalaması

Fasulye, soya fasulyesi, *Arabidopsis thaliana*, *Gossypium raimondii* türleri amino asit dizileri PvHSP70 amino asitleri ile karşılaştırıldı ve karşılık gelen *A.thaliana*, soya fasulyesi ve *G.raimondii* dizileri NCBI-Blastp kullanılarak belirlendi. Karşılaştırmalı

ortolog HSP70 genlerinin fasulye ile soya fasulyesi, *A.thaliana* ve *G.raimondii* kromozları arasındaki ilişkileri MapChart kullanılarak çizildi.

### 3.8 Bitkilerin Çimlendirilmesi ve PEG Uygulanması

#### 3.8.1 Tohumların temini

Kuraklığa dirençli Yakutiye ve kuraklığa karşı hassas olan Zulbiye fasulye çeşitleri Eskişehir Geçit Kuşığı Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edildi.

#### 3.8.2 Tohumların ekimi ve kuraklık stresinin uygulanması

Her iki çeşide ait tohumların sterilizasyonu yapıldıktan sonra, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Moleküler Biyoloji Laboratuvarında hidroponik saksılarda ekimi yapıldı ve iklimlendirme kabininde 25 °C gün/20 °C gece, 16-saat gün ışığı/8-saat gece ile foto periyodu 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık yoğunluğu ve %55-%70 bağıl nem ortamında 20 gün süre ile aşağıda içeriği bulunan 1/10'luk modifiye Hoagland besi ortamı içerisinde geliştirildi.

Çizelge 3.1 Hoagland besi ortamı makro besin çözelti kimyasalları

Makro Besin Çözeltisi	
$\text{K}_2\text{SO}_4$	15.7 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2.7 g
$\text{MgSO}_4$ 7H <sub>2</sub> O	24 g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 4H <sub>2</sub> O	47.23 g
KCl	0.0746 g

Çizelge 3.2 Hoagland besi ortamı mikro besin çözeltisi kimyasalları

<b>Mikro Besin Çözeltisi</b>	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.124 g
MnSO <sub>4</sub>	0.066 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.100 g
NH <sub>4</sub> Mo	0.048 g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.1553 g

Çizelge 3.3 Son iyon konsantrasyonları

<b>Son İyon Konsantrasyonları</b>			
Ca <sup>2+</sup>	2 mM	Mn <sup>2+</sup>	1 Mm
NO <sup>3-</sup>	4 mM	Cu <sup>2+</sup>	0.2 µM
Mg <sup>2+</sup>	1 Mm	NH <sup>4+</sup>	0,01 µM
K <sup>+</sup>	2 mM	Zn <sup>2+</sup>	1 µM
P	0.2 mM	Fe	100 µM
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.2 mM	B <sup>3+</sup>	1 Mm

Hoagland ortamını hazırlamak için, 10 L 10X makro besin çözeltisinin içerisine 50 ml mikro besin çözeltisi eklendi. 1000X Fe-EDTA hazırlamak için 365 g Fe-EDTA 1 L dH<sub>2</sub>O içinde çözdürülerek hazırlandı. Daha sonra hazırlanan makro-mikro besin çözeltisi 1/10 seyreltilip elde edilen 1L 1X konsantrasyonundaki çözeltiliye 1 ml 1000 X Fe-EDTA eklenerek kullanıldı. Bu ekleme işlemi sırasında Fe-EDTA çözeltisinin pH değeri 5,5 olması gerekmektedir. Çünkü bitki gelişimi üzerinde pH miktarının fazla ve az olmasının negatif sonuçlar doğurduğu bilinmektedir. Fe-EDTA sıcaklığa karşı duyarlı bir yapıya sahip olduğu için aşırı sıcaklıkta çalışmamaktadır (Hoagland ve Arnon 1950).

Fideler büyüme kabinde üç yapraklı hale ulaştıktan sonra ayrı kaplara alınarak Hoagland solüsyonu içerisine, orta derece PEG-kuraklık stresi uygulayabilmek amacıyla 100 mM PEG 6000 (polietilen glikol) orantısal olarak eklendi ve 24 saat süre ile bitkiler strese maruz bırakıldı. Stres uygulaması bittikten sonra iki farklı çeşitten qRT-PCR analizi için, kök ve yaprak örnekleri toplandı ve bekletilmeden sıvı azot muamelesi yapıldı. Ardından örnekler etiketlenerek -80 dereceye kaldırıldı. qRT-PCR reaksiyonu için örnekler üç biyolojik tekrar olarak toplandı.

### **3.9 Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi**

#### **3.9.1 Total RNA izolasyonu**

RNA izolasyonu NucleoSpin RNA kitinin (Macherey-Nagel, Germany) kit protokolüne göre gerçekleştirildi. RNA izolasyonu aşamaları sırasıyla şu şekildedir.

- 400 µL Buffer RA1'dan bütün örneklerin üzerine eklendikten sonra homojenizasyon yapıldı
- 14,000 x g'de 5 dakika santrifüj yapıldı.
- Oluşan süpernatant 1.5 mL'lik yeni tüpe alındı.
- 300 µL (%96-100) ethanolden örneklerin üzerine eklendi ve vortex yapılarak karışması sağlandı.
- 14,000 x g'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Oluşan süpernatant atıldı.
- 5 dakika kurutmaya bırakıldı.
- 25 µL Rnase-free su oluşan pelletin üzerine bırakıldı ve tamamen çözünmesi sağlandı.

RNA miktar/kalite tayini Nanodrop ND-Spectrophotometer Lite (Thermo Scientific, USA) ile kullanılarak gerçekleştirildi.

### 3.9.2 Agaroz jel elektroforezi

Miktar/kalite ölçümü yapılan RNA'lar %1'lik agaroz jelde yürütüldü. 1 gr agaroz 100 ml 1X TBE içerisinde manyetik balık yardımı ile karıştırılarak çözüldü ve yaklaşık 3-4 dakika kaynatıldı. Mikro dalgadan çıkarılan çözelti yaklaşık olarak 65 °C'ye geldikten sonra 5 µl Etidyum Bromid eklendi ve hafif karıştırılıp homojenizasyonu sağlandıktan sonra agaroz jel tankına döküldü. Ekleme yaptığımız Etidyum Bromidin RNA'nın boşluklarına girerek UV ışığı altında RNA'nın parlamasını sağlamaktadır. 6X loading dye yükleme boyasından 1 µl ve 3 µl RNA örneklerinin her birinden alınarak karıştırılıp agaroz jele yüklemesi yapıldı. 60-80 voltta 45-50 dakika boyunca koşturulduktan sonra Jel Uv-Translimünatör'de görüntülenmesi yapıldı.

### 3.9.3 cDNA sentezi

RNA örneklerinden cDNA sentezi yapabilmek için Roche High Fidelity cDNA Synthesis Kit'i kullanıldı. Kit protokolüne göre sentez 2 basamaktan oluşmaktadır.

Çizelge 3.4 cDNA sentezinde kullanılan bileşenler

<b>1. Adım Bileşenler</b>	<b>Konsantrasyon</b>
Total RNA	1000 ng
Anchored-oligo(dT)18 Primer, 50 pmol/ml	2,5 µM
Su	
<b>2. Adım Bileşenler</b>	<b>Konsantrasyon</b>
Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase Reaction Buffer, 5x	1x 8 mM MgCl <sub>2</sub>
Protector RNase Inhibitor	20 U
Deoxynucleotide Mix	1 mM
DTT	5 mM
Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase	22 U

1. adım reaksiyon kurulduktan sonra Thermo Termalcycler PCR'da 10 dakika 65°C derecede inkübe edildi. 2. adım için gerekli bileşenler eklendikten sonra inkübasyon koşulları 30 dakika 55°C ve 5 dakika 85°C derece olacak Thermo Termalcycler PCR cihazına yerleştirilip cDNA sentezi gerçekleştirildi.

### 3.10 Real-Time PCR Reaksiyonu

Real-time PCR (qRT-PCR) reaksiyonları Light Cycler® Nano System (Roche) Thermo Termalcycler (Şekil 3.10) ile gerçekleştirildi.



Şekil 3.11 Light Cycler® Nano System (Roche) Cihazı

(<https://www.roche.com/de/media/releases/med-cor-2011-05-27t.htm>)

PvHSP70'nin tahmin edilen hedef genlerinin primer sekansları ve housekeeping gen primeri Primer3 programında dizayn edildi. RNA-Seq verilerinden elde edilen PvHSP70 genlerine ait ekspresyon RPKM değerlerine bakılarak 9 adet PvHSP70 geni seçildi.

Çizelge 3.5 PvHSP70 genlerinin primer dizileri

Gen Adı	İleri Primer (5'→3')	Geri Primer (5'→3')	Ürün Boyutu (bp)
PvHSP70-1	TGGTCCTGCTGATAAGCCAA	CCTCAGCAATCTCACGCATC	113
PvHSP70-4	GGAAAGGAGCCAAACAAGGG	TCAATTCCAAGGGTGAGGGG	146
PvHSP70-6	ATACTGCCACACCTCCTAGC	CCATTTTCAGCCCCAGTGAC	100
PvHSP70-11	CCAGTGAAACGGCCAAAGAA	TACAGCTTTGTTTGCAGCGT	113
PvHSP70-12	AACGTCAAACCTCGATTGCC	ACCAGCAATCCTACCAGCAT	195
PvHSP70-13	TCTCGGTCGCTGCTATTGAT	CGCTTGGTTCTTCGTGTCAA	167
PvHSP70-14	ATGGTTCAAGAGGCCGAGAA	CTCGACAGCATCCTCGATCT	174
PvHSP70-20	AACAGGACGACGCCTTCTTA	ACATCACTCTGGACGGTTGT	158
PvHSP70-24	GGTCACTGTCCCTGCTTACT	CACATCGAAAGTCCCACCAC	199
ACT	TGAGCAAGGAGATTACAGCATTGG	CATACTCTGCCTTCGCAATCCAC	150

qRT-PCR reaksiyonları birbirinden bağımsız 3 biyolojik tekrar ve teknik tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin çoğaltılması SYBR Green I boyasının kullanımı ile gözlemlendi. Yapılan PCR programı aşağıdaki Çizelge 3.10.2 gösterilmiştir.

Çizelge 3.6 Real Time PCR reaksiyon koşulları

Program	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
<b>Ön Denatürasyon</b>	95°C	10 dakika	1 döngü
<b>Denatürasyon</b>	95°C	15 saniye	40 döngü
<b>Bağlama</b>	60°C	20 saniye	
<b>Uzama</b>	72°C	20 saniye	

Dimer oluşup oluşmadığını anlamak için melting eğrisi analizi yapıldı. Ortaya çıkan transkript verilerinin anlamlandırılabilmesi için  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodu ile normalizasyonları gerçekleştirildi. Genlerdeki karşılaştırmalı ifade seviyelerindeki istatistiksel önemleri ONE WAY ANOVA yöntemine göre kontrol edildi.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 HSP70 Gen Ailesinin Fasulyede Tanımlanması

Bu tez çalışması kapsamında 15 farklı bitki genomunda HSP70 proteinlerinin query sekanslarından yararlanılarak *Phaseolus vulgaris L.* genomuna ait HSP70 genleri tanımlanmıştır. HSP domainleri HMMER ve Pfam veri bankasından alınıp değerlendirilmesinin ardından gereksiz sekansların elenmesiyle birlikte fasulye genomuna ait 24 adet PvHSP70 geni tanımlanmıştır. Tanımlanan 24 adet gen listesi isimlerinin yanı sıra, kromozom lokasyonları, moleküler ağırlıkları, izoelektrik puanları (PI), amino asit uzunlukları ve NCBI kayıt numaraları ile birlikte Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Tanımlanan PvHSP70 genlerinin özellikleri

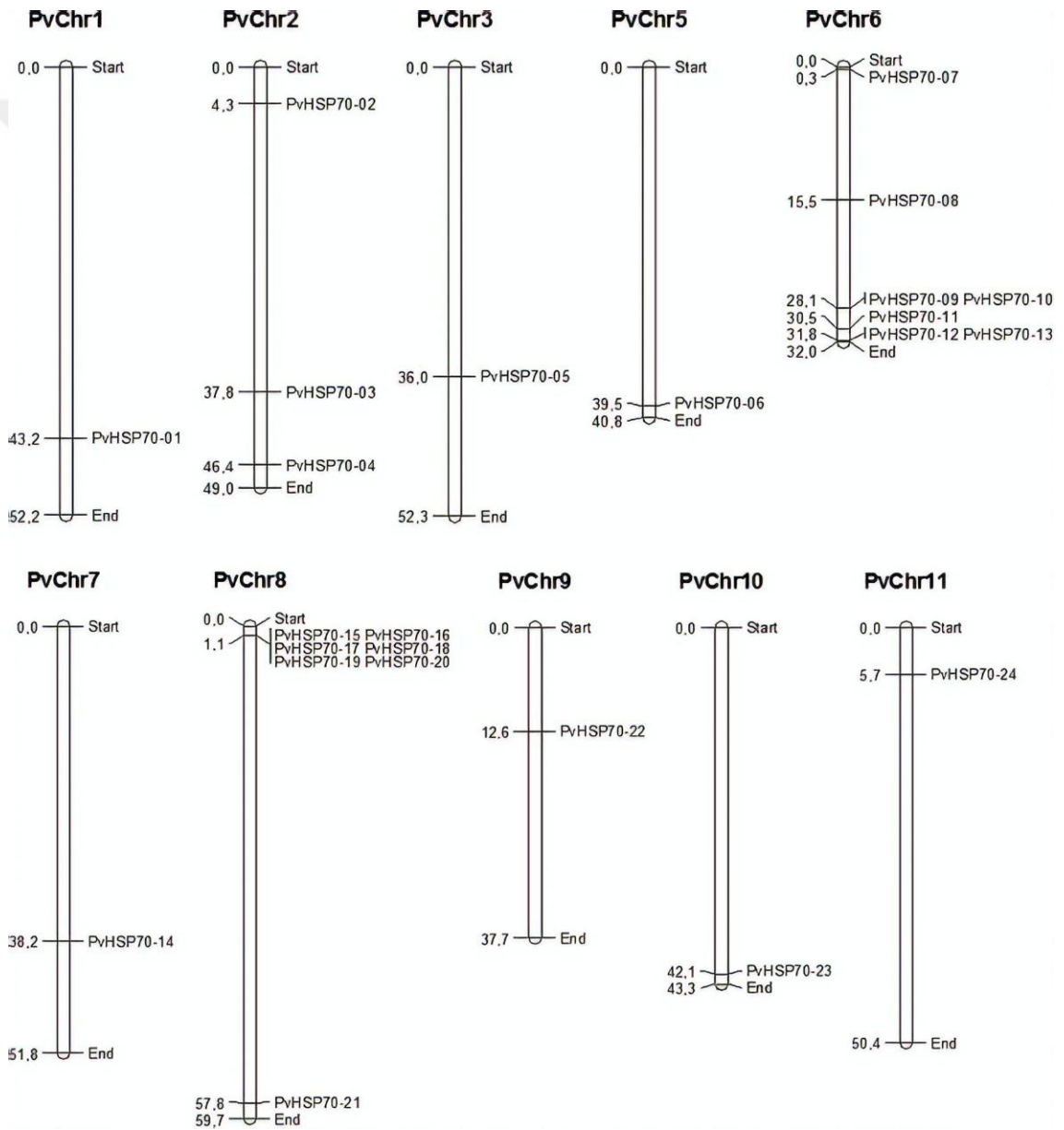
Gen Adı	Phytozome Adı	Kromozom Lokasyonu	Moleküler Ağırlığı (Kd)	İzoelektrik Noktası (pI)	Kararlı ve ya Kararsız	Kararsızlık indeksi	NCBI Erişim numarası
PvHSP70-1	Phvul.001G169000.1	Chr001: 43167313..43170199	71348.8	5.1	Kararlı	35,16	XP_007162654.1
PvHSP70-2	Phvul.002G046600.1	Chr002: 4303859..4308935	47892.7	5.83	Kararlı	38,41	XP_007157145.1
PvHSP70-3	Phvul.002G215800.1	Chr002: 37816115..37819661	72919.5	5.74	Kararsız	40,41	XP_007159180.1
PvHSP70-4	Phvul.002G301400.1	Chr002: 46357082..46360857	73421.1	5.08	Kararlı	31,37	XP_007160200.1
PvHSP70-5	Phvul.003G154800.1	Chr003: 35968689..35970638	71140.7	5.26	Kararlı	33,64	XP_007154870.1
PvHSP70-6	Phvul.005G171400.1	Chr005: 39489977..39495214	95630.2	5.09	Kararsız	43,84	XP_007150665.1
PvHSP70-7	Phvul.006G001600.1	Chr006: 297142..308898	99232.2	5.41	Kararsız	41,37	XP_007145963.1
PvHSP70-8	Phvul.006G042400.1	Chr006: 15533547..15539250	86366.4	5.37	Kararsız	48,9	XP_007146461.1

Çizelge 4.1 Tanımlanan PvHSP70 genlerinin özellikleri (devamı)

Gen Adı	Phytozome Adı	Kromozom Lokasyonu	Moleküler Ağırlığı (Kd)	İzoelektrik Noktası (pI)	Kararlı ve ya Kararsız	Kararsızlık indeksi	NCBI Erişim numarası
PvHSP 70-9	Phvul.006G170200.1	Chr006:28132067..28134238	67091.9	5.96	Kararlı	31,43	XP_007147976.1
PvHSP 70-10	Phvul.006G170300.1	Chr006:28136806..28139621	88067.8	8.19	Kararlı	34,79	XP_007147977.1
PvHSP 70-11	Phvul.006G199800.1	Chr006:30451542..30455196	72525.1	5.95	Kararsız	41,74	XP_007148331.1
PvHSP 70-12	Phvul.006G219500.1	Chr006:31824394..31827536	73722.4	5.2	Kararlı	27,63	XP_007148568.1
PvHSP 70-13	Phvul.006G219600.1	Chr006:31833892..31837177	73660.3	5.24	Kararlı	28,16	XP_007148569.1
PvHSP 70-14	Phvul.007G157200.1	Chr007:38234986..38238072	71185.6	5.13	Kararlı	32,7	XP_007144451.1
PvHSP 70-15	Phvul.008G011300.1	Chr008:1050999..1052908	66051.3	6.66	Kararsız	40,02	XP_007139218.1
PvHSP 70-16	Phvul.008G011400.1	Chr008:1054575..1057293	69261.2	7.05	Kararlı	36,07	XP_007139219.1
PvHSP 70-17	Phvul.008G011600.1	Chr008:1061203..1063908	67735.4	5.86	Kararlı	36,07	XP_007139221.1
PvHSP 70-18	Phvul.008G011900.1	Chr008:1075817..1078521	68993.8	6.28	Kararlı	32,14	XP_007139224.1
PvHSP 70-19	Phvul.008G012600.1	Chr008:1122247..1125176	70817.1	5.09	Kararlı	33,98	XP_007139236.1
PvHSP 70-20	Phvul.008G013000.1	Chr008:1145634..1148629	71143.6	5.12	Kararlı	33,66	XP_007139240.1
PvHSP 70-21	Phvul.008G267400.1	Chr008:57824689..57828919	84931.3	5.36	Kararsız	48,14	XP_007142282.1
PvHSP 70-22	Phvul.009G076700.1	Chr009:12576042..12579699	61358.6	7.49	Kararlı	35,1	XP_007136815.1
PvHSP 70-23	Phvul.010G150800.1	Chr010:42049560..42054779	93633.1	5.46	Kararlı	39,37	X P_007135698.1
PvHSP 70-24	Phvul.011G065000.1	Chr011:5660904..5663992	71115.5	5.11	Kararlı	35	XP_007132076.1

PvHSP70 proteinlerinin amino asit uzunluk aralığının 435'den (PvHSP70-2) 895'e (PvHSP70-7) kadar olduğu görülmektedir. PvHSP70 proteinlerinin izoelektrik noktaları ise asitten baza doğru 5.08 (PvHSP70-4) ve 8.19 (PvHSP70-10) olarak bulunmuştur. PvHSP70'lerin moleküler ağırlıklarının 47892.2 kd (PvHSP70-2) ve 99232.2 kd (PvHSP70-7) arasında değişiklik gösterdiği görülmektedir.

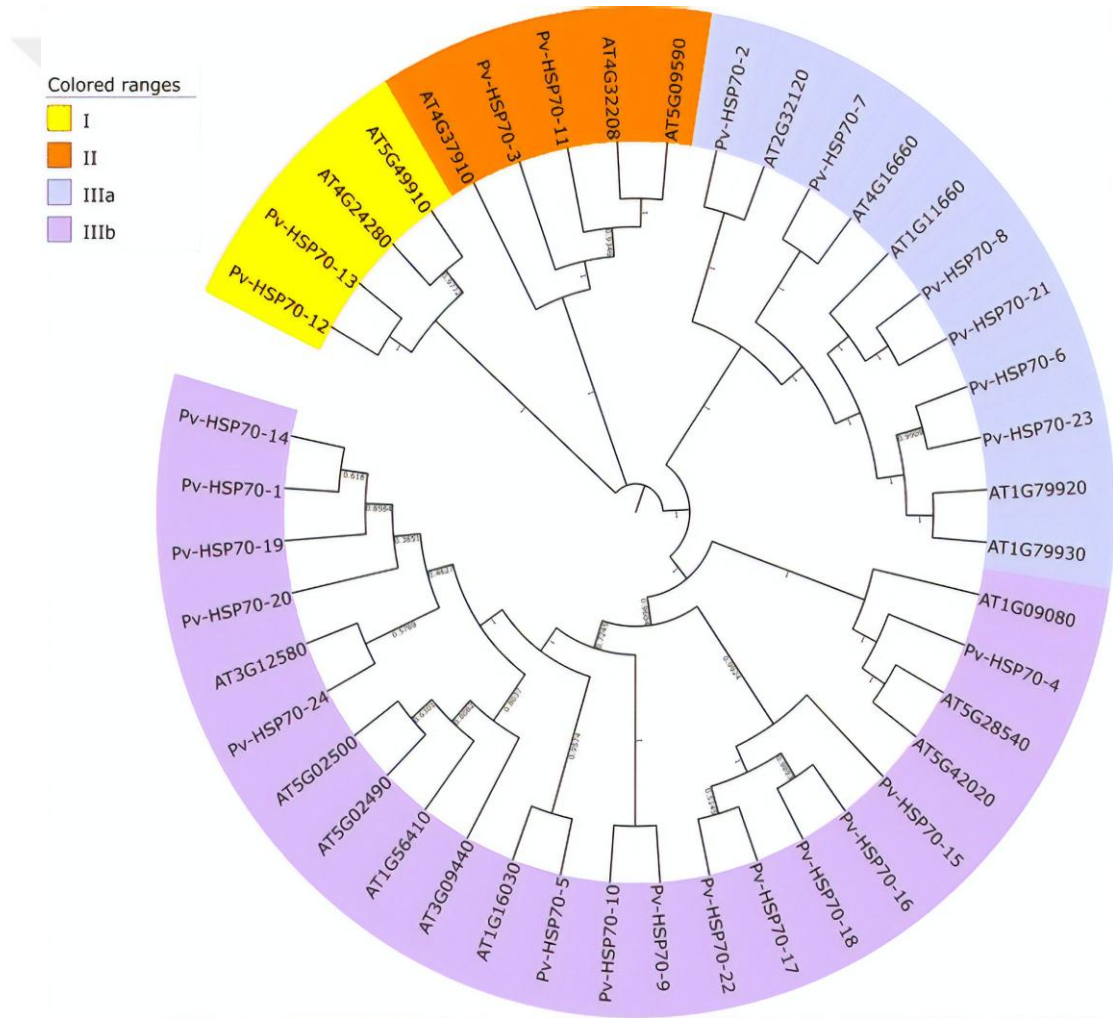
PvHSP70 genlerinin fasulye bitkisi kromozomları üzerindeki dağılımı Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 PvHSP70'lerin kromozom yapıları

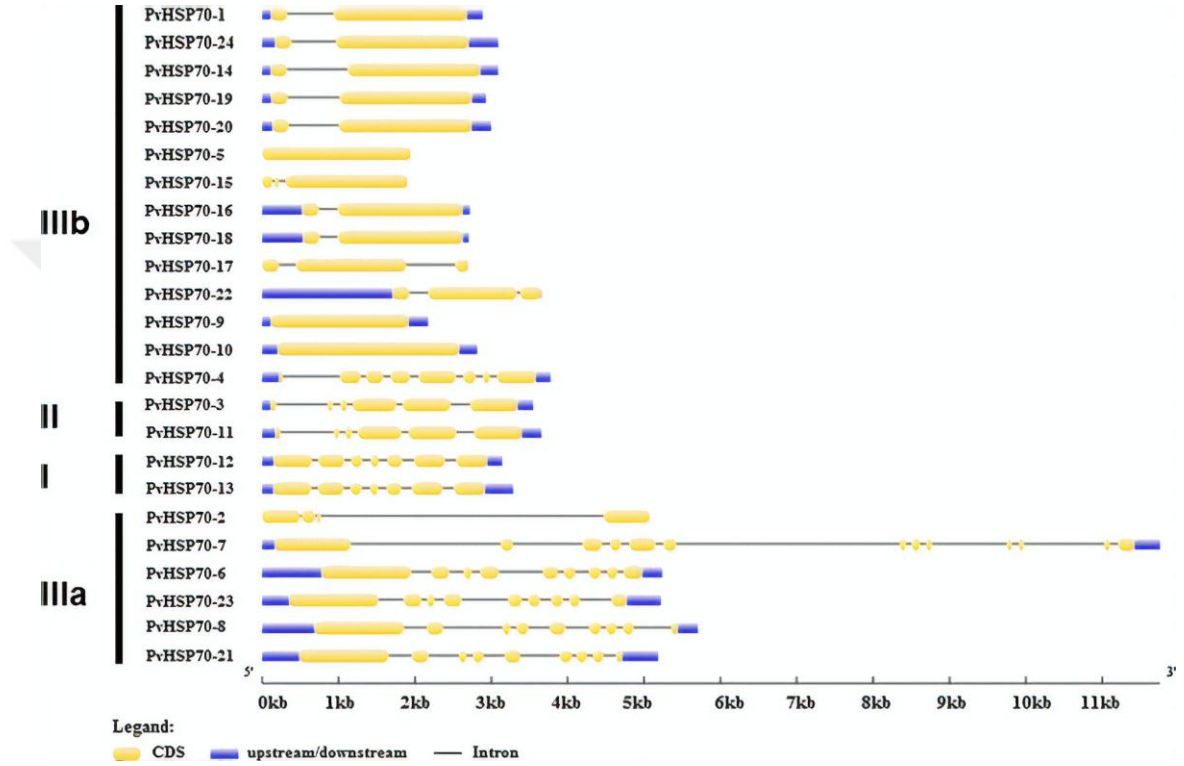
Bu tez çalışması kapsamında fasulye bitkisinde tanımlanan 24 adet HSP70 (PvHSP70) geninin 4. kromozom hariç diğer tüm kromozomlar üzerinde dağılım gösterdiği belirlenmiştir.

PvHSP70 proteinlerinin hem kendi içerisindeki hemde *A. thaliana*'da tanımlanan HSP70 proteinleri ile arasındaki filogenetik ilişkiyi araştırmak için, amino asit sekansları kullanılarak Şekil 4.2'de gösterildiği gibi filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Sonuç olarak PvHSP70 proteinlerinin 3 ana sınıfta toplandığı gözlenmektedir.



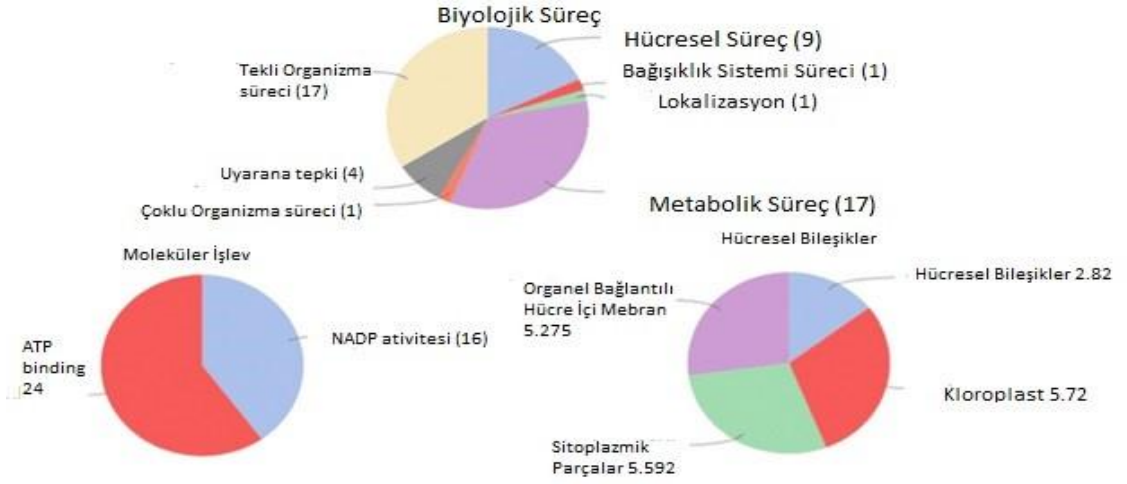
Şekil 4.2 Protein domain filogenetik ağaç

PvHSP70 ailesinin upstream promotor bölgeleri toplam 94 farklı cis-acting element içermektedir. Bunlar 33 tanesi ışığa duyarlı elementler, 5'i promoter element, 11'i hormon duyarlı elementler, 8 tanesi çevresel strese karşı duyarlı elementler, 16 tanesi gelişimle ilgili, 4 tanesi site-binding elementler ve 14 tanesi de diğer elementler olarak gruplandırılmıştır.



Şekil 4.3 PvHSP70 genlerinin ekzon-intron bölgeleri






















Blast2GO gen ontology package kullanılarak 24 PvHSP70 geni fonksiyonları bakımından katogorize edilmiştir. Bu kapsamda söz konusu genlerin fonksiyonları biyolojik süreç, moleküler işlev ve hücrel bileşikler olmak üzere 3 kategoride sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.4 PvHSP70 genlerinin hücresel karakterizasyonu

psRNATarget sonuçlarına göre 13 adet PvHSP70 geninin (PvHSP70-2, -3, -5, -8, -9, -11, -13, -14, -15, -19, -21, -22 ve -23) 44 adet miRNA tarafından hedeflendiği belirlenmiştir. Hedeflenen miRNA'lar Ek A'da verilmiştir. PvHSP70 genleri ile ilişkili olduğu belirlenen miRNA'ların 24 adet miRNA ailesine (miR156, miR160, miR173, miR396, miR397, miR414, miR475, miR865, miR1030, miR2108, miR2632, miR4376, miR5056, miR5298, miR5632, miR5805, miR6156, miR6232, miR6281, miR7494, miR7760, miR8030, miR8041, miR8748) ait üyeler olduğu saptanmıştır. PvHSP70-5 ve PvHSP70-23 genlerinin en fazla sayıda miRNA tarafından hedeflendiği bulunmuştur.

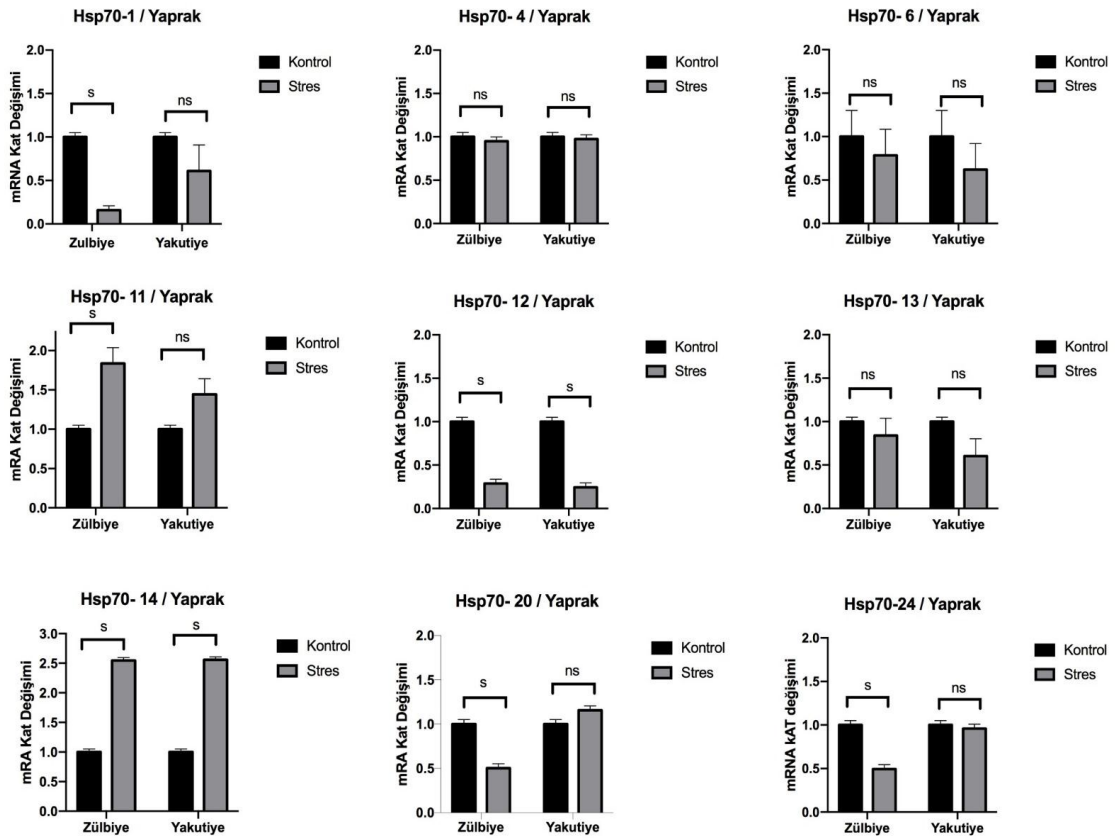
Hidden Markov Model aracılığıyla fasulyede tanımlanan PvHSP70 proteinlerinin 3D yapıları tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

						
PvHSP70-1	PvHSP70-2	PvHSP70-3	PvHSP70-4	PvHSP70-5	PvHSP70-8	PvHSP70-9
						
PvHSP70-11	PvHSP70-12	PvHSP70-13	PvHSP70-14	PvHSP70-15	PvHSP70-16	PvHSP70-17
						
PvHSP70-18	PvHSP70-19	PvHSP70-20	PvHSP70-21	PvHSP70-22	PvHSP70-23	PvHSP70-24

Şekil 4.5 Proteinlerin 3D yapılarının gösterimi

#### 4.2 Normalizasyon ve İstatistiksel Analiz

Kuraklık stresi uygulanmış bitkilerde PvHSP70-1, PvHSP70-4, PvHSP70-6, PvHSP70-11, PvHSP70-12, PvHSP70-13, PvHSP70-14, PvHSP70-20 ve PvHSP70-24 genlerine ait ifade profilleri ACT geni ile karşılaştırıldı. Normalizasyon işlemleri CT değerleri ve housekeeping olarak kullanılan ACT (aktin) gen ifadeleri ile gerçekleştirildi. Normalizasyon sonrası elde edilen gen ifade değerlerinin standart hata, standart sapma ve ortalamaları, örneklerin kontrollerine göre farklılaşan gen ifade seviyeleri istatistiksel olarak ONE WAY ANOVA testi ile gerçekleştirildi. Örneklerin ACT genine göre normalizasyonu yapıldıktan sonra ifade değişimlerine ait grafikler Graphpad Prism 8 programı ile çizildi.



Şekil 4.6 Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerine yaprak dokularının mRNA kat değişimlerinin karşılaştırılması

Zülbiye çeşidi yapraklarında yapılan analizler sonucunda **PvHSP70-11** ve **PvHSP70-14** genleri haricinde diğer tüm genlerde kuraklık stresi altında kontrole göre gen ifadesinde düşüşler gözlenmiştir. Bu düşüşler arasında **PvHSP70-1**, **PvHSP70-12**, **PvHSP70-20** ve **PvHSP70-24** teki düşüşler istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur.

**HSP70-1** geni incelendiğinde, Zülbiye çeşidinde kuraklık stresi altında kontrole oranla gen ifadesi seviyesinde 6.29 katlık bir düşüş olduğu gözlenmektedir. **PvHSP70-1** geninin Yakutiye çeşidinde gözlemlenen değişimi istatistiki olarak anlamlı değildir.

**PvHSP70-4** ve **PvHSP70-6** genlerinin Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin kuraklık stresi altındaki yaprak dokularında kat değişimleri arasında yaklaşık 0,03'lük bir farklılık bulundu ve istatikselsel olarak bir anlam ifade etmemektedir.

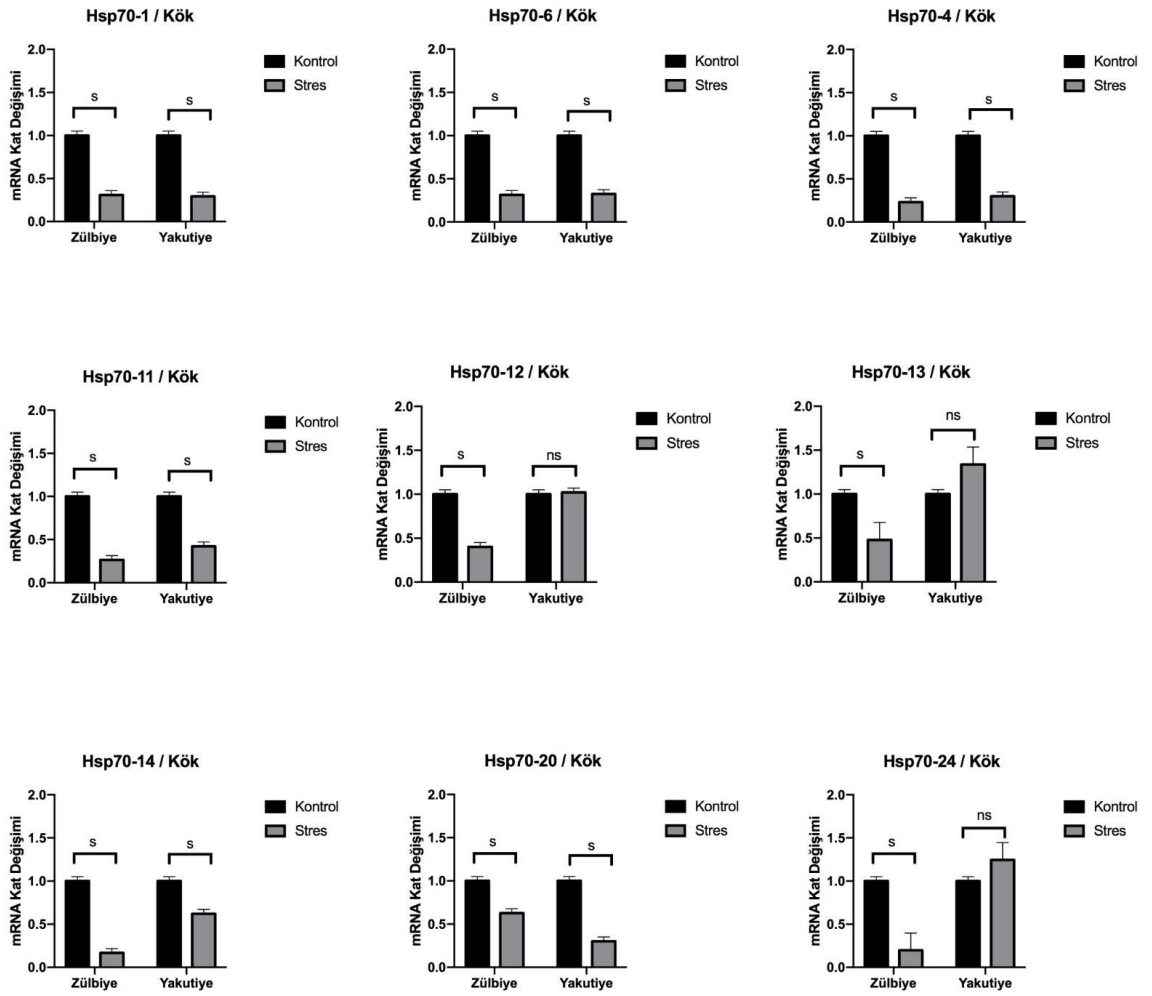
**PvHSP70-11** genin Zülbiye çeşidine ait örneğin kontrolüne göre 2 kat arttığı ve anlamlı olduğu anlaşıldı. Yakutiye çeşidinde ise 0,44'lük bir artışın istatistiki olarak bir anlam ifade etmediği saptandı.

**PvHSP70-12** genine ait mRNA kat değişimlerinde kontrole göre kuraklık stresi altındaki Zülbiye çeşidinde 3,48 kat azalış meydana gelirken, kuraklık stresi altındaki Yakutiye çeşidinde ise bu düşüş 4,08 kat olarak gerçekleşti. Bu değişimler istatistiki olarak anlamlı bulundu.

**PvHSP70-13** geninde yaprak dokularında elde edilen mRNA kat değişimleri istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Strese maruz bırakılan Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin yaprak dokularında **PvHSP70-14** genine ait mRNA kat değişimleri kontrole göre 2,5 kat artmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Stres altındaki Zülbiye çeşidinin **PvHSP70-20** ve **PvHSP70-24** genlerinin mRNA kat değişimlerinin kontrole göre sırasıyla 1,99 ve 2,02 kat azaldığı görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptandı. Stres altındaki Yakutiye çeşidinde meydana gelen mRNA kat değişimlerinin kontrole göre istatistiksel herhangi bir anlam ifade etmediği belirlendi.



Şekil 4.7 Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerine ait kök dokularının mRNA kat değişimlerinin karşılaştırılması

**PvHSP70-1** geninin her iki fasulye çeşidine ait kök dokusu örneklerinin mRNA kat sayılarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gerçekleşmiştir. Zülbiyeye ait örnekte 3,23 kat düşüş gerçekleşirken Yakutiyeye ait örnekte bu düşüş 3,42 kat olarak gerçekleşmiştir.

**PvHSP70-4** geninin Zülbiye çeşidine ait kök örneğinde mRNA kat değişimi Yakutiye çeşidine ait örnekte meydana gelen düşüşten yaklaşık olarak 1 kat daha fazla olduğu görüldü. Kontrole göre Zülbiye çeşidinin kök dokusundaki mRNA kat değişimi 4,32 azalış gösterirken Yakutiye çeşidinde bu düşüş 3,34 olarak gerçekleşmiştir ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

**PvHSP70-6** geninin her iki çeşide ait örneklerde kontrole göre mRNA kat değişimleri sadece 0,08 farklılık gösterdi. Zülbiye çeşidinde 3,17 kat azalış görülür iken Yakutiye’de 3,09 kat azalış olarak gerçekleşti. Bu azalışlar istatistiksel olarak anlamlıdır.

**PvHSP70-11** geninin Zülbiye çeşidine ait örnekte 3,78 kat düşüş gözlenirken, Yakutiye çeşidine ait sonuçlarda bu oran 2,36 kat olarak gerçekleşmiştir.

**PvHSP70-12, PvHSP70-13 ve PvHSP70-24** genlerinin mRNA kat değişimleri Zülbiye çeşidinde istatistiksel olarak anlamlı bulunurken Yakutiye çeşidinde anlamlı değildir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan mRNA kat değişimleri sırasıyla 2,49, 2,09 ve 5,04 olarak bulunmuştur.

**PvHSP70-14** geninin Zülbiye çeşidinde mRNA kat sayı değişimlerinde kontrole göre 5,98’lik bir düşüş gerçekleşmiştir. Yakutiye çeşidinde ise kontrole göre 1,60’lık bir düşüş görülmüştür.

**PvHSP70-20** genine ait mRNA kat değişimleri stres altındaki her iki çeşitte de düşüş görülmüştür. Zülbiye çeşidine ait kök örneklerindeki mRNA kat değişiminin 1,59 kat, Yakutiye’de ise mRNA kat değişiminin 3,32 kat azaldığı ve bu düşüşlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur.

Yakutiye ve Zülbiye çeşitlerinde **PvHSP70-12** genine ait hem yaprak hem de kök doku analizlerindeki mRNA ifadelerinde meydana gelen azalışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu anlaşılmıştır.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda genom düzeyinde yapılan çalışmalar, biyoinformatik veritabanları ve araçlarında gözlenen ciddi artış bitkilerde farklı stres koşullarına karşı etkin rol oynayan genlerin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır.

Gerçekleştirilen bu çalışmada fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genomuna ait HSP70 proteinlerini tanımlamak için 15 farklı bitkiye ait HSP70 gen sekansları kullanılmıştır. Fasulye genomuna ait 24 adet PvHSP70 geni tanımlanmış ve bu genler PvHSP70-1'den PvHSP70-24'e kadar isimlendirilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar arasında en fazla HSP70 üyesinin tespit edildiği bitki 61 Hsp70 geni ile soya fasulyesi olmuştur. Bu sayı insanda bile 14-16 gen civarındadır (Yer vd. 2015). Bitkiler HSP70 genlerini, insan veya maya gibi fazla organelli olan ökaryotik canlılara göre daha fazla barındırmaktadır (Lin vd. 2001). Yapılan diğer çalışmalarda Arabidopsis'te 18, pamukta 30, pirinçte 32 ve kavak ağacında 34 adet HSP70 geninin tanımlandığı görülmektedir (Lin vd 2001, Zhang vd. 2014, Sarkar vd. 2013, Zhang vd. 2013).

Bitkilerin genom yapısının en önemli özelliklerinden bir tanesi de gen duplikasyonlarıdır. Gen duplikasyonları segmental ve tandem olarak meydana gelir (Flagel ve Wendel 2009). Bitki gen ailelerinin evrimi için gen duplikasyonları çok önemlidir ve bu sebeple gerçekleştirilen tez çalışmasında fasulye genomunda yer alan PvHSP70 genlerinin duplikasyon analizi de hedeflenmiştir. Duplikasyon analizleri neticesinde tanımlanan PvHSP70 genleri arasında 4 adet tandem ve 6 adet segmental duplikasyon çifti belirlenmiştir. Tandem duplikasyonlarının gerçekleştiği gen çiftleri PvHSP70-9/PvHSP10, PvHSP70-12/PvHSP13, PvHSP70-16/PvHSP70-17 ve PvHSP70-16/PvHSP18 olup bu gen çiftlerinin gen boyutu, yapısı, protein uzunluğu, moleküler ağırlık (Da) fizikokimyasal özelliklerinin benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Segmental duplikasyon çiftleri ise PvHSP70-1/PvHSP70-5, PvHSP70-1/PvHSP70-14, PvHSP70-1/PvHSP70-19, PvHSP70-1/PvHSP70-20, PvHSP70-1/PvHSP70-24, PvHSP70-3/PvHSP70-11 olarak belirlenmiştir. Segmental duplikasyon olarak ise PvHSP70-1/PvHSP70-5 çiftlerinin birbirine benzediği tespit edilmiştir.

PvHSP70-7 geni 12 intron içerirken PvHSP70-6, -8, -21 ve -23 genlerinin ise 7 intron içerdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte PvHSP70-1, -14, -16, -18, -19, -20 ve -24 genlerinin tek intron olduğu saptanmıştır. Gen yapı analizine baktığımız zaman aynı sınıfta yer alan genlerin benzer ekzon-intron yapılarına sahip olduğu görülmüştür. Daha önce Nurten-Yer ve ark. (2015) ile Sung ve ark. (2001) tarafından gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile bu tez çalışmasının sonuçları paralellik göstermektedir (Sung vd. 2001, Yer vd. 2015)

Sarkar ve arkadaşları (2013) pirinçte 2 adet segmental duplikasyon tanımlarken Yer ve arkadaşları (2015) kavak ağacında 20 segmental duplikasyon tespit etmişlerdir (Yer vd. Sarkar vd. 2013). Fasulyede belirlenen segmental ve tandem duplikasyonlarının PvHsp70 genlerinde fonksiyonel yeniliklere sebep vermiş olabileceği ve kuraklık stresine karşı tolerans kapasitesinin artırılmasında yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Magadum vd. 2013, Wang vd. 2011).

PvHSP70 gen başına ortalama cis-acting element sayısı 29,17 olarak bulunmuştur. En fazla cis-acting element (36 adet) PvHSP70-14 geninde en az (16 adet) ise PvHSP70-16 geninde tespit edilmiştir. Bulunan bu cis-acting elementleri arasında GT-1 ve TGACG motiflerinin daha önce gerçekleştirilen bir çalışmada mısırdaki stresle ilgili genlerin promotor bölgesinde ve tuz stres toleransı ile alakalı olduğu bulunmuştur (Hou vd. 2016). Bu tez çalışmasında ise GT-1 ve TGACG motiflerinin PvHSP70-13 ve PvHSP70-1 genlerinde yer aldığı belirlenmiştir. Ayrıca günümüze dek yapılan çalışmalarda pek çok ısı şok proteininde sıcaklık stresi ile ilişkili olduğu düşünülen HSE motifi saptanmıştır (Czarnecka vd. 1989). Bu tez çalışmasında ise PvHSP70 genlerinin 17 tanesinin HSE motifi içerdiği görülmüştür. HSP70 ailesi farklı hücresel bölümlerin olduğu geniş ailelerden bir tanesidir (Cho ve Choi 2009, Kose vd. 2012). Bu çalışmada tanımlanan HSP70 genlerinin 15 tanesinin sitozolde, 3 tanesinin çekirdekte, 2 tanesinin mitokondride, 2 tanesinin kloroplast, 1'er tanesinin endoplazmik retikulum ve plazma membranında lokalize olduğu belirlenmiştir. Benzer bir şekilde, daha önce soya fasulyesinde HSP70 genlerinin tanımlandığı bir araştırma da HSP70 genlerinin yarısından fazlasının sitozolde lokalize olduğu belirlemiştir.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında; kuraklık (PEG) stresine maruz bırakılan iki farklı fasulye çeşidinde (*Phaseolus vulgaris* L.) strese cevap ve tolerans mekanizmasında ilişkili olduğu düşünülen PvHSP70-1, PvHSP70-4, PvHSP70-6, PvHSP70-12, PvHSP70-13, PvHSP70-14, PvHSP70-20 ve PvHSP70-24 genlerinin yaprak ve köklerdeki mRNA kat değişimleri incelenmiş ve strese karşı geliştirilen cevap mekanizmasında oynadıkları roller araştırılmıştır.

Kuraklık stresine karşı hassas olduğu düşünülen Zülbiye çeşidinin yaprak dokusuna ait mRNA kat değişim sonuçlarında PvHSP70-11 ve PvHSP70-14 genleri dışında düşüş olduğu görülmüştür. En fazla mRNA kat değişimi 6,29 kat düşüş gösteren PvHSP70-1 geninde gözlenmiştir. Yakutiye çeşidi yaprak dokularında ise PvHSP70-12 geninin ifade seviyesinde düşüş saptanmıştır.

Kuraklık stresine maruz bırakılan Yakutiye ve Zülbiye çeşitlerinin köklerine ait örneklerin mRNA kat değişimlerinde kontrole göre düşüş gözlenirken, Zülbiye çeşidi köklerinde 5.98'lik düşüş ile en fazla PvHSP70-14 geninde gerçekleşmiştir.

Fasulye bitkisinde PvHSP70 gen ailesinin tanımlanması, karakterizasyonu ve kuraklık stresi altındaki rollerinin belirlenmesini konu alan bu tez çalışmasından elde edilen bulguların bitki biyoteknolojisi alanında gerçekleştirilecek sonraki araştırmacılara faydalı olabileceği kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- Akçin, A. 1974. Erzurum Şartlarında Yetiştirilen Kuru Fasulye Çeşitlerinde Gübreleme, Ekim Zamanı ve Sıra Aralığının Tane Verimine Etkisi ile Bu Çeşitlerin Fenolojik, Morfolojik ve Teknolojik Karakterleri Üzerine Bir Araştırma, Atatürk Üniversitesi Yayınları No:157, Erzurum.
- Altunoğlu, Y. Ç. 2016. Isı Şoku Protein Ailesinden Hsp70 Genlerinin Okaliptüs Genomunda Saptanması ve Karakterizasyonu. Kastamonu University Journal of Forestry Faculty, 16(2).
- Anderson, J.W., Smith, B.M., Washnock, C.S., 1999. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. *American Journal Clinical Nutrition*, 70: 464-474.
- Anonim 2008. <http://megep.meb.gov.tr> Fasulye yetiştiriciliği Erişim Tarihi: 16.09.2019
- Anonim 2011. Web Sitesi: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>, Erişim Tarihi: 26.01.2014.
- Anonim 2016. FAO Statistical Database. [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org) Erişim Tarihi: 04.05.2016.
- Anonim [https://personel.omu.edu.tr/docs/ders\\_dokumanlari/5040\\_14628\\_2394.pdf](https://personel.omu.edu.tr/docs/ders_dokumanlari/5040_14628_2394.pdf) 2017
- Anonymous, 2018. FAO Statistical Database. [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org)
- Aşkar, T.K., Ergün, N., Turunç, V., 2007. Isı Şok proteinler ve Fizyolojik Roller, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 13(1): 109-114.
- Baloglu, MC., Yer, EN., Ayan, S. 2017. Genome-Wide Identification of Hsp70 Protein Family Members in European Ash Trees ISFOR 2017 International Symposium on New Horizons in Forestry, Isparta Turkey.
- Bolat, M. 2016. Türkiye’de Yemelik Tane Baklagillerin Gelecek Eğilimlerinin Belirlenmesi Doktora Semineri (Yayımlanmamış) Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Bolat, M. 2018. Kuru Fasulye Ürün Geliştirme Raporu 2017. Tarımsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü yayınları Yayın No:301
- Boscaui, M., Bautista. C.L.I., Donat. P., Mayoral O. and Vicente, O. 2008. Plant responses to abiotic stress in their natural habitats. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine*, 65(1), 53-58.
- Bosl, B., Grimminger, V. and Walter, S. 2006. The molecular chaperone Hsp104--a molecular machine for protein disaggregation. *J. Struct. Biol.* 156:139-148.

- Bray, E.A., Bailey-Serres, J., Weretilnyk, E. 2000. Responses to Abiotic Stresses, In: Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, pp.1158-1203, Rockville, MD: ASPB,
- Bray, E. 1993. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiology*, 103, 1035-1040.
- Burkart, A. 1941. Sobre la existencia de razas silvestres de *Phaseolus vulgaris*. *Resol. Y Trab. I Ren. Argent. Agron.*, Buenos Aires, p 52
- Burkart, A., Brucher, H. 1953. *Phaseolus aborigineus* Burkart, die mutmassliche andine Stammform der Kulturbohne. *Zuchter* 23:65–72
- Büyük, İ., Inal, B., Ilhan, E., Tanriseven, M., Aras, S., & Erayman, M. 2016. Genome-wide identification of salinity responsive HSP70s in common bean. *Molecular Biology Reports*. 43, 1251-1266.
- Calderwood, S.K., Khaleque, A., Sawyer, D.B., Ciocca, D.R. (2006). Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends in Biochemical Sciences* 3(31):164-72.
- Campos-Veja, R., Loarca-Pina, G., & Oomah, B. D. 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43(2), 461-482. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.004>.
- Cassells, A.C., and Curry, R.F. 2001. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers, *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 64: 145-157.
- Chiba, H., Hattori, T., Yamada, H. and Iwata, M. 2006. Comparison of the effect of chemical anesthesia and electroanesthesia on plasma cortisol level in the Japanese eel *anguilla japonica*. *Fisheries Science*, 72, 693-695.
- Choi, C.K., Jo, P.G., Choi, C.Y., 2008. Cadmium affects the expression of Hsp90 and metallothionein mRNA in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 147: 286-292. doi: 10.1016/j.cbpc.2007.11.002
- Cho, Eun and Hong, Choo. 2006. Over-expression of tobacco NtHSP70-1 contributes to drought-stress tolerance in plants. *Plant cell reports*. 25. 349-58. 10.1007/s00299-005-0093-2.
- Cho, E.K., Choi Y.J. 2009. A nuclear-localized HSP70 confers thermo protective activity and drought-stress tolerance on plants. *Biotechnol Lett*, 31, 597–606.
- Czarnecka, E., Key, J.L., Gurley, W.B. 1989. Regulatory domains of the Gmhsp17.5-E heat shock promoter of soybean. *Mol Cell Biol* 9(8):3457–3463.
- Daugaard, M., Rohde, M., Jaattela, M. 2007. The heat shock protein 70 family: highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. *FEBS Lett* 581(19):3702–3710. doi:10.1016/j.febslet.2007.05.039

- Derek, S.W., Hector, R.W. 2007. Heat shock response and acute lung injury. *Radical Biology & Medicine*. 42: 1–14.
- Dziurka, M., Dziurka, K., Nowakowska, A.C, Quarrie, S.A. 2013. Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes. *Acta Physiol Plant*. (35), 451-461.
- Ellis, R.J., (1997). Do molecular chaperones have to be protein?. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 238: 687-692. doi: 10.1006/bbrc.1997.7339
- Fageria, N.K., Baligar, V.C. & Jones, Ch.A. 1997. Growth and mineral nutrition of field crops. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong, 624.
- Ferreiral, J.J., Alvarez, E., Fueyo<sup>1</sup>, M.A., Roca, A and Giraldez, R. 2000. Determination of the outcrossing rate of *Phaseolus vulgaris* L. Using seed protein markers. *Euphytica*. 113: 259–263.
- Feder, M.E., Hofmann, G.E.1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology, *Annual Review of Physiology*, 61: 243-282. doi: 10.1146/annurev.physiol.61.1.243
- Flagel, LE., Wendel, J.F. 2009. Gene duplication and evolutionary novelty in plants. *New phytol* 183(3):557–564. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02923.x
- Freytag, G.F. and Debouck, D.G. 2002. Taxonomy, distribution, and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae–Papilionoideae) in North America, Mexico, and Central America. *Sida Botanical Miscellany*, 23, 1–300.
- Free, J.B. 1993. Insect pollination of crops. 2nd edition, Academic Press, Harcourt Brace Jovanoich, Publishers. London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto. pp 371-381.
- Gaspar, T., T. Franck, B. Bisbis, C. Kevers, L. Jouve, J.F. Hausman and J. Dommes, 2002. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regul.*, 37:263–285
- Gepts, P., Beavis, W.D., Brummer, E.C., Shoemaker, R.C., Stalker, H.T., Weeden, N.F., Young, N.D., 2005. Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. *Plant Physiology*, 137: 1228 – 1235.
- Gupta, S. C., Sharma, A., Mishra, M., Mishra, R. K. and Chowdhuri, D. K. 2010. Heat shock proteins in toxicology: how close and how far? *Life Sci*. 86:377-384.
- Guo, Meng & Liu, Jin-Hong & Ma, Xiao & Zhai, Yufei & Gong, Zhen-Hui & Lu, Ming-Hui. 2016. Genome-wide analysis of the Hsp70 family genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) and functional identification of CaHsp70-2 involvement in heat stress. *Plant Science*. 252. 10.1016/j.plantsci.2016.07.001.

- Gonzalez-Riopedre, M., Novas, A., Dobano, E., Ramos-Martinez, J.I., Barcia, R. 2007. Effect of thermal stress on protein expression in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 147:3, 531-540. doi: 10.1016/j.cbpb.2007.03.006
- Hale, M.G. and Orcutt, M.M. 1987. Irradiation stress. In: M.G. Hale and D.M. Orcutt (Eds.) *The Physiology of Plants Under Stress*. John Wiley and Sons, New York. pp. 109-115.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1998. Mechanisms Of Damage To Cellular Targets By Oxidative Stress: Lipid Peroxidation. In: *Free Radicals In Biology And Medicine*, Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (eds), Oxford Science Publication, 284–306, Oxford.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 463–499.
- Henle, T., Deppisch, R., Beck, W., Hergesell, O., Hansch, G. and Ritz, E. 1999. Advanced glycated endproducts (AGE) during haemodialysis treatment: discrepant results with different methodologies reflecting the heterogeneity of AGE compounds. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 14, 1968-1975.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, 347 (2nd edit).
- Hong, S. W. and Vierling, E. 2001. Hsp101 is necessary for heat tolerance but dispensable for development and germination in the absence of stress. *Plant J*. 27:25-35.
- Hou, J.J., Jiang, P.P., Qi, S.M., Zhang, K., He, Q.X., Xu, C.Z., Ding, Z.H., Zhang, K.W., Li, K.P. 2016. Isolation and functional validation of salinity and osmotic stress inducible promoter from the maize type-ii h<sup>+</sup> - pyrophosphatase gene by deletion analysis in transgenic tobacco plants. *PLoS One* 11(4):e0154041
- Huang, X.Y. & Tao, Peng & Li, B.Y. & Wang, W.H. & Yue, Z.C. & Lei, J.L. & Zhong, X. M. 2015. Genome-wide identification, classification, and analysis of heat shock transcription factor family in Chinese cabbage (*Brassica rapa pekinensis*). *Genetics and Molecular Research*. 14. 2189-2204. 10.4238/2015.March.27.5.
- Husaini, A.M. and Abdin, M.Z. 2008. Development of transgenic strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) plants tolerant to salt stress. *Plant Science*, 174, 446-455.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. And Panneerselvam, R. 2007. Water deficit stress Mitigation by Calcium Chloride in *Catharanthus Roseus*. Effects on Oxidative Stress, Proline Metabolism and Indole Alkaloid Accumulation. *Biointerfaces*, 60, 110- 116.

- Kadota, Y. and Shirasu, K. 2012. The HSP90 complex of plants. *Biochim. Biophys. Acta* 1823:689-697.
- Kalefetoğlu, T., & Ekmekçi, Y. 2005. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18 (4): 723-740.
- Kayabaşı, S. 2011. Kuraklık stresinde yetiştirilen soyada (*Glycine max L.*) bazı fizyolojik parametreler ile prolin birikiminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.
- Kim, H. J., Hwang, N. R. and Lee, K. J. 2007. Heat shock responses for understanding diseases of protein denaturation. *Mol. Cells* 23:123-131.
- Kiang, J.G, Tsokos, G.C. 1998. Heat Shock Protein 70 kDa: *Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology Pharmacol Ther.* 2(80):183–201.
- Kose, S., Furuta, M., Imamoto, N. 2012. Hikeshi, a nuclear import carrier for Hsp70 s, protects cells from heat shock-induced-nuclear damage. *Cell* 149(3):578–589. doi:10.1016/j.cell.2012.02.058
- Kotak, S., Larkindale, J., Lee, U., von Koskull-Doring, P., Vierling, E. and Scharf, K. D. 2007. Complexity of the heat stress response in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10:310-316.
- Kömüşçü, A. Ü., Erkan, A. & Turgu, E. 2002. Normalleştirilmiş Yağış İndeksi Metodu ile Türkiye’de Kuraklık Oluşumunun Coğrafi Analizi. *Turkish State Meteorological Service, Ankara, Turkey* (in Turkish).
- Krishna, P., Sacco, M., Cherutti, J.F. and Hill, S. 1995. Cold-induced accumulation of hsp90 transcripts in *Brassica napus*. *Plant Physiol*, 107,915–923.
- Kütevin, Z. ve Türkeş, T. 1987. *Sebzecilik ve Genel Sebze Tarımı Prensipleri ve Pratik Sebzecilik Yöntemleri*, İnkilap Kitabevi, İstanbul.
- Larson G, Piperno DR, Allaby RG, Purugganan MD, Andersson L, Arroyo-Kalin M, et al. 2014. Current perspectives and the future of domestication studies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 111:6139-46.
- Levitt, J. 1972. *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press, New York.
- Levitt, J. 1980. *Responses of Plant to Environmental Stress: Water, Radiation, Salt and Other Stresses*. Academic Press, New York, 365.
- Liberek, K., Lewandowska, A. and Zietkiewicz, S. 2008. Chaperones in control of protein disaggregation. *EMBO J.* 27:328- 335.
- Li, Z. and Srivastava, P. 2004. Heat-shock proteins. *Current protocols in immunology/edited by John E Coligan [et al] Appendix; 1T.10.1002/0471142735.ima01ts58*

- Lin, B.L., Wang, J.S., Liu, H.C., Chen, R.W., Meyer, Y., Barakat, A., Delseny, M. 2001. Genomic analysis of the Hsp70 superfamily in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Stress Chaperones* 6(3):201–208. doi:10.1379/1466-1268(2001)006\0201: Gaoths[2.0.Co;2
- Luthria, D. L., & Pastor-Corrales, M. A. 2006. Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3), 205-211. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2005.09.003>.
- Liu, J., Wang, R., Liu, W., Zhang, H., Guo, Y., & Wen, R. 2018. Genome-Wide Characterization of Heat-Shock Protein 70s from *Chenopodium quinoa* and Expression Analyses of Cqhsp70s in Response to Drought Stress. *Genes*, 9(2), 35. doi:10.3390/genes9020035
- Liu, Y., Burch-Smith, T., Schiff, M., Feng, S. and Dinesh-Kumar, S. P. 2004. Molecular chaperone Hsp90 associates with resistance protein N and its signaling proteins SGT1 and Rar1 to modulate an innate immune response in plants. *J. Biol. Chem.* 279:2101-2108.
- Liu, B. 2014. Heat Shock Protein gp96 as an Immune Chaperone of Inflammation and Cancer. *Aust. J. Clin. Immunol.* 1:1014.
- López, M. Angeles & Núñez, Paulina & Soto, Alvaro & Allona, Isabel & Casado, Rosa & Collada, Carmen & Guevara, M. Ángeles & Aragoncillo, Cipriano & Gomez, Luis. 2004. Protein Cryoprotective Activity of a Cytosolic Small Heat Shock Protein That Accumulates Constitutively in Chestnut Stems and Is Up-Regulated by Low and High Temperatures. *Plant physiology*. 134. 1708-17. 10.1104/pp.103.035857.
- MacBryde, F.W. 1947. Cultural and historical geography of southwest Guatemala, Publication no. 4. Institute of Social Anthropology, Smithsonian Institution, Washington, DC, p 25
- Magadum, S., Banerjee, U., Murugan, P., Gangapur, D., Ravikesavan, R. 2013. Gene duplication as a major force in evolution. *J Genet* 92(1):155–161
- Mahajan, S. and Tuteja, N. 2005. Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. *Biochem Biophys*, 444, 139-158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>
- Ortwin-Sauer C. 1966. The early Spanish man. University of California Press, Berkeley.
- Maimbo, M., Ohnishi, K., Hikichi, Y., Yoshioka, H. and Kiba, A. 2007. Induction of a small heat shock protein and its functional roles in *Nicotiana* plants in the defense response against *Ralstonia solanacearum*. *Plant Physiol.*, 145:1588-1599.
- Marcińska, Izabela., Nowakowska, Agata., Skrzypek, Edyta., Czyczyło-Mysza, Ilona. 2013. Production of double haploids in oat (*Avena sativa* L.) by pollination

with maize (*Zea mays* L.). *Central European Journal of Biology.*, 8. 306-313. 10.2478/s11535-013-0132-2.

- Masand, S. and Yadav, S.K. 2016. Overexpression of MuHSP70 gene from *Macrotyloma uniflorum* confers multiple abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Rep.*, 43(2):53–64. doi:10.1007/s11033-015-3938-y
- Matsumiya, T., Imaizumi, T., Yoshida, H., Satoh, K., Topham, M. K. and Stafforini, D. M. 2009. The levels of retinoic acid-inducible gene I are regulated by heat shock protein 90-alpha. *J. Immunol.*, 182:2717-2725.
- Matz, C.J., Treble, R.G., Krone, P.H. 2007. Accumulation and elimination of cadmium in larval stage zebrafish following acute exposure, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66: 44–48. doi: 10.1016/j.ecoenv.2005.11.001
- McCormack J, 2004. Bean seed production. An organic seed production manual for seed growers in the Mid-Atlantic and southern U.S. Distribution ve licensing information, page: 1-6.
- Nguyen, N., Francoeur, N., Chartrand, V., Klarskov, K., Guillemette, G. and Boulay, G. 2009. Insulin promotes the association of heat shock protein 90 with the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor to dampen its Ca<sup>2+</sup> release activity. *Endocrinology*, 150:2190-2196.
- Özdem, M.A. 2012. Dünya ve Türkiye’de Kuru Baklagiller. TEPGE Bakış, 1303-8346, Ankara.
- Özcan, S., Babaoğlu, M. and Gürel, E. 2004. Bitki Biyoteknolojisi Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya.
- Pandey, A., Chakraborty, S., Datta, A. ve Chakraborty, N. 2008. "Proteomics approach to identify dehydration responsive nuclear proteins from Chickpea (*Cicer arietinum* L.)", *Molecular & Cellular Proteomics*, 7(1):88-107.
- Papa, R., Acosta, J., Delgado-Salinas, A., Gepts, P. 2005. A genome-wide analysis of differentiation between wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* from Mesoamerica. *Theor Appl Genet*, 111:1147–1158
- Plaut, Z. 1995. Sensitivity of crop plants to water stress at specific developmental stages: reevaluation of experimental findings. *Israel Journal of Plant Sciences*, 43, 99-111.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P. and Sumithra, K. 2004. Differential Antioxidative Responses to Water Stress Among Five Mulberry (*Morus alba* L.) Cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 52, 33–42.
- Ritossa, F. 1996. Discovery of the heat shock response. *Cell stress chaperones*, 1(2):97-8.

- Sabehat A., Lurie S., and Weiss D. 1998. Expression of small heat-shock protein at low temperatures. A possible role in protecting against chilling injuries. *Plant Physiol*, 117,651–658.
- Sairam, R.K. and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86, 407–421.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1992. *Plant Physiology, Hormones and Plant Regulators: Auxins and Gibberellins*. 4th Edition, Wadsworth Publishing, Belmont, 357-381.
- Salisbury, F.B. and Marinos N.G. 1985. The ecological role of plant growth substances. *Encyclopedia Plant Physiol*, 11, 707-766.
- Sarkar, N.K., Kim, Y.K., Grover, A. 2009. Rice sHsp genes: genomic organization and expression profiling under stress and development. *BMC Genom* 10:393. doi:10.1186/1471-2164-10-393.
- Sarkar, N.K., Kundnani, P., Grover, A. 2013. Functional analysis of Hsp70 superfamily proteins of rice (*Oryza sativa*). *Cell Stress Chaperones* 18(4):427–437. doi:10.1007/s12192-012-0395-6
- Sangster, T. A., Bahrami, A., Wilczek, A., Watanabe, E., Schellenberg, K., McLellan, C., Kelley, A., Kong, S. W., Queitsch, C. and Lindquist, S. 2007. Phenotypic diversity and altered environmental plasticity in *Arabidopsis thaliana* with reduced Hsp90 levels. *PLoS One* 2:e648.
- Singh, N.K., Handa, A.K., Hasegaura, P.M. and Bressan, R.A. 1985. Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. *Plant Physiology*, 79, 126-37.
- Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125, 27-58
- Smirnoff, N. and Cumbes, Q.J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28, 1057–1060.
- Sprent, J.I. 2001. *Nodulation in legumes*, Royal Botanic Gardens, Kew, U.K. 14-25.
- Su, P. H., and Li, H. M. 2008. *Arabidopsis* stromal 70-kD heat shock proteins are essential for plant development and important for thermotolerance of germinating seeds. *Plant physiology*, 146(3), 1231–1241. doi:10.1104/pp.107.114496
- Swindell, W.R., Huebner, M., and Weber, A.P. 2007. Transcriptional profiling of *Arabidopsis* heat shock proteins and transcription factors reveals extensive overlap between heat and non-heat stress response pathways. *BMC Genomics*, 8, 125. doi:10.1186/1471-2164-8-125.
- Tang, Ting, Yu, Anmin, Li, Ping, Yang, Hong, Liu, Gaojing, Liu, Li. 2016. Sequence analysis of the Hsp70 family in moss and evaluation of their functions in abiotic stress responses. *Scientific Reports*. 6. 33650. 10.1038/srep33650.

- Te, J., Jia, L., Rogers, J., Miller, A. and Hartson, S. D. 2007. Novel subunits of the mammalian Hsp90 signal transduction chaperone. *J. Proteome Res.* 6:1963-1973.
- Thompson, M. D., Brick, M. A., McGinley, J. N. and Thompson, H. J. 2009. Chemical composition and mammary cancer inhibitory activity of dry bean. *Crop Science*, 49(1), 179-186.
- Veldhuizen, E.J., Creutzberg, T.O., Burt, S.A. and Haagsman, H.P. 2007. Low temperature and binding to food components inhibit the antibacterial activity of carvacrol against *Listeria monocytogenes* in streak tartare. *Journal of Food Protection*, 70 (9), 2127-2132.
- Van Breusegem, F. and Dat, J.F. 2006. Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology*, 141,384-390.
- Van Camp, W., Van Montagu, M. and Inze, D. 1998. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO: redox signals in disease resistance. *Trends in Plant Science*, 3, 330–334.
- Van Montfort, R. L., Basha, E., Friedrich, K. L., Slingsby, C. And Vierling, E. 2001. Crystal structure and assembly of a eukaryotic small heat shock protein. *Nat. Struct. Biol.* 8:1025-1030.
- Yer, E.N., Baloglu, M.C., Ziplar, U.T., Ayan, S., Unver, T. 2015. Drought-responsive Hsp70 gene analysis in populus at genomewide Level. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1–18.
- Queitsch, C., Hong, S. W., Vierling, E. and Lindquist, S. 2000. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12:479-492.
- Queitsch, C., Sangster, T. A. and Lindquist, S. 2002. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature* 417:618-624.
- Walton, D.C. 1980. Biochemistry and physiology of abscisic acid. *Annual Review of Plant Physiology*, 31,453-89.
- Wang, Wang-Xia, Vinocur, Basia, Altman, Arie, 2003. Plant Responses to Drought, Salinity and Extreme Temperatures: Towards Genetic Engineering for Stress Tolerance, *Planta*, 218, 1-14.
- Wang, W.X., Vinocur, B., Shoseyov, O. and Altman, A. 2001. Biotechnology Of Plant Osmotic Stress Tolerance Physiological And Molecular Considerations. *Acta Hort.*560,285-292 DOI: 10.17660/ActaHortic.2001.560.54
- Wang, Y.P., Wang, X.Y., Tang, H.B., Tan, X., Ficklin, S.P., Feltus, F.A, Paterson, AH (2011) Modes of gene duplication contribute differently to genetic novelty and redundancy, but show parallels across divergent angiosperms. *PLoS One* 6(12):e28150

- Wang W., Vinocur B., Shoseyov O., and Altman A. 2004. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci*, 9, 244–252.
- Wen, F., Wu, X., Li, T., Jia, M., Liu, X., Li, P., Yue, X. 2017. Genome-wide survey of heat shock factors and heat shock protein 70s and their regulatory network under abiotic stresses in *Brachypodium distachyon*. *PloS one*, 12(7), e0180352. doi:10.1371/journal.pone.0180352
- Zou J., Liu C., Liu A., Zou D., and Chen X. 2012. Overexpression of OsHsp17.0 and OsHsp23.7 enhances drought and salt tolerance in rice. *J Plant Physiol.* 169, 628–635.
- Zhu, X., Zhao, X., Burkholder, W.F., Gragerov, A., Ogata, C.M., Gottesman, M.E., Hendrickson, W.A. 1996. Structural analysis of substrate binding by the molecular chaperone DnaK. *Science* 272(5268):1606–1614
- Zhenzhu, Xu., Guangsheng, Zhou and Hideyuki, Shimizu. 2010. Plant responses to drought and rewatering, *Plant Signaling & Behavior*, 5:6, 649-654, DOI: 10.4161/psb.5.6.11398
- Zhang, L., Zhao, H.K., Dong, Q.L., Zhang, Y.Y., Wang, Y.M., Li, H.Y., Xing, G.J., Li, Q, Yand, Dong, Y.S. (2015) Genome-wide analysis and expression profiling under heat and drought treatments of HSP70 gene family in soybean (*GlycinemaxL.*). *Front. PlantSci.*6:773. doi: 10.3389/fpls.2015.00773.
- Zhang, Y., Wang, M., Chen, J., Rong, J., Ding, M. 2014. [Genomewide analysis of HSP70 superfamily in *Gossypium raimondii* and the expression of orthologs in *Gossypium hirsutum*]. *Yi chuan = Hereditas/Zhongguo yi chuan xue hui bian ji* 36 (9):921–933
- Zhang, J., Li, J.B., Liu, B.B., Zhang, L., Chen, J., Lu, M.Z. 2013. Genome- wide analysis of the *Populus Hsp90* gene family reveals differential expression patterns, localization, and heat stress responses. *BMC Genom* 14:532. doi:10.1186/1471-2164-14-532
- Zhao, Q., Wang, J., Levichkin, I.V., Stasinopoulos, S., Ryan, M.T., Hoogenraad, N.J. 2002. A mitochondrial specific stress response in mammalian cells. *EMBO J.* 21: 4411–4419.

## **EKLER**

**EK 1 Tanımlanan PvHSP70 genlerine ait sekans dizileri**

**EK 2 Tanımlanan miRNA'ların gösterilmesi**

**EK 3 Tanımlanan motifler**

**EK 4 PvHSP70 genlerinin cis-acting elementleri**

## **EK 1 Tanımlanan PvHSP70 genlerine ait sekans dizileri**

### **>PvHSP70-1**

cacagtaaaaatcatcaaaaaatataatatcaaaaaataatttaattccaatattcatctcaaatatataatgttcaata  
aaaaaaatattataaaaaataaaatataaattctcaatctaaactttcgaaatatctaataatattatcttaaatcaataatattata  
aatttgaacatacaaaaaataatcttaaaaactaacatatttaaaattaaattacaataatftagacatatagattatcatcaaca  
tattagctattaataacaataataaaaagtaaaaaatgtaaacacttatccgaaattgaagcaacccaatgcatatcagt  
gagacaacaaaaaggaatcaaccaactcgttgtagataccaaagtacctctacaagcggcggggaacaaaactcaacac  
aatccaactaaagatctttgtgacctaagggcaaacacacaactgaaaaatgagataaagaagagagtaactagcagc  
gacaaaataaaaaatgcaaacctcccctcaatctaaaaagccaaccaataaacgaaaaatacaatgcaacaatatagact  
atagcgcgacaaaacacaaaaagaataagactaaacccaaccaacaatgacaaattctttaggttggaaattgcacatgc  
aaccaaatgaatacatctttgtcaatgaaaatacaccggtgatatccttcttattctgggatgcttgccttgaactttcataa  
cacaagatacaaacatatgtacgagcataacaattgcatctacgaaacgagttcatatcgaagactccttaaacactgttttatt  
gacaaacccatgttgatacaacctattgtcaattcttgagccaattatgcagtaacaacaattgtttatgatcattgtgcaact  
cattatggtttaaagatatcaaggtccctcatttcttagacattttcttccctctagtataaccactaaataaagaccttagtgatt  
tgattcagacataaggtgttaatacaccgataatgcatctatttgggatcaccttaattcatggaattcaagaacataatatt  
gtttccatccatcttctaaagtaaaatacaaaacttttgctactatgacaaccaagttgctagacatattgttcgaaatccatctaa  
tatgcttttaggtataatacaataatgtagatgtttttgcctttatccaaatccaaatcctttttttatagattgtacatgga  
aaaaattatagttatcttttctattcacaatctgttttctcccctctcttctcttttcttattcacaatagcttgcataatca  
atcttctagccacgctttaaataaggtgtttatagatctcatatcgtgtgttttcatactaccgaattataggtataatgtttgcacatg  
gttttttatcacaatttttaatacaacatttaaatgtcatattttatagaatttattgtacctgatagatagtgaccaagttactgta  
aaagttttatattaatgattgattgaataatgaaagtgagggaatgtggtggagggtattgtattacattactaatcacatttggatt  
atgacaggaaattgatcagtgatgtaacaacaaaagttgtactgactattgggtcggctcaaaaaagtcgggcccgctaag  
ggcccacgatttgaaaaaacagatctgaaacgtgaaattatgtgtagccaactggcaacgactctcggactaaaagaag  
attctggaaggactcaaacctaatatataagctatcatattctccataggtctctattgaatcacagtggtctcgcgtgtggtt  
atcatcttctctctctctgagatctatcgtttttcttcgacacacgctgaaaaaca

### **>PvHSP70-2**

ttgcaaacatctgaattaatgaaaaaaatataagattaatggatttaattgatattgcctaattttgactaaaagaatact  
attttataaaaaaattgtgcatttggccatttatgtaatactcaaatgaaagtagcattttgataaattttctttaaactatcttctca  
cattttgagtgaaagaaaaataaaaagtaaatcaaatgactttttaaactataaaactagtttatgttaatttgtaaaataatttgtata  
gttttaattcattaatatttttctaaaactgtttaaagattttatcttaattatctcgaaaaaacttactcaatatttcacctatt  
gttacctgtcctgtaacaaaattctacataaactggctttaaataaaatattatattataataaaaaataaaatatttaagtgtaa  
gtaaatatagaataatgttattggtgtgtaataagaagatctagaagagtccttgtaaatattatagttttaaagtaacctctggtga  
gataatattgagaattatagatatttttagtttattatgattttgttataaaagctcttaaagaatgaggaggaaatgtaagtg  
aattaaatttttttattttaaacttttaaataatgtagaacaactctcaaatgaaatgaaagactaaattaggtatgattttaa  
actactttcatttaccgactacgttaactctttaaattgaaaccgttaagataaattataaaatcaaccatttttccattataatttt  
attattaagagattaaaaaaatatttaaatttttaagactaatcacaattagaataaatggtatgtataagtggaataagaattaa  
aatgaatgtgatgtgatagattaaggagtgctagaactcagcacctttggctattttttatgaacgggtcagttttgcatctt  
attcgtttagttgtcagctcagtgaaatcaaccgttcacatcttttaaggaataataaattatcaaatatgcaattattgat  
acaattattgactcaattatgcaacaatfaatttaataatgatagaatctcatgatttagtattcctcaatattagattgtaatttggg  
agagaaactcctatggggagagaactccctatatatttctatagatgaagtgatgtaatacacacataagagaataagaac  
atctcttcttaccattttttatcattttctatacattttgttggttgtgctgctcagtttccactcttcccaatcatcaataactc  
atcttcttatgatctcgttctattttaaattgtaaatggaacaatgtaactattcttctcacaatcactaccaactcagttta  
ctgttttaggcttgaattgaaaaaatgtaataaagaaaatagttattgaattttatctttgecttttaacgttattcttgatgat  
gatcatgctacttaactacattagagaaagagattggtgttaggttcatagtttaactaaactcgtctgtgacattgaaatagatg  
agactaagtgacggttattacgtatttttaggaaggataatgcatgatagatgcaagattttgtgtgattgttttagttacatattc  
tagttattcgttgaagtgatcctgcgaggaatgtatttctgtctttccacctggaatttgggtttataattgttctgttctgg

atacttttaacccttttttgaattggtgtgatacttatgattatatgaatataatgtagctaatfacttctagaagcgttatttcag  
atatacaaggaaagttagtttaaaaaatgtaaaaatgtagaatgtaggataaacctctattttcttctatcgttcaacacaag

>PvHSP70-3

tttaggagtgtttatcttgggtgctccaaagtgtcatttctcaaccttggactgataaaatcaaattgaagctagcat  
cttgaaaggtaaatctcttagcataatgagcaaatggtgtcaatacagatgattactagatttctagctttagctttaatgt  
ataaatggcctatcacttcttaaccaagttgagcaatggtgtcaaaatfttttggactggtgatattctgaaaaagacatagca  
ctgtgaattgggatacaattgttctcctcttgagaatggaggttgaaagattataatcttcgcatgaaataatgtatatctcttaa  
gcttgcttgaattttggttatagcaacatgccttggcttggcttggaaagtcaggttttaaatcaaaatacagagttagaatggt  
tatagatcctcttcttggcctaaaattaagcagttttatftaataacttgattatacttctggacgattggtacaagttcttatta  
atftatggaatgataaatgatgttctactacttcttagcaaatattgtagattatctgctggtgctagcattcggattcagctctca  
gtttggacaggttgattgaaatattcttcttcttacagcagatgcctcacttttfaatcatatcatggttagggaggaataaga  
tattcctaattgattctagatgagatggtattttcttftaaatcggctaggacttttcttggaaaccaggagttccctgtgattgg  
ggtaaatcatttggcttcatctattttgtctccaaaactctagtactctgaaaagtttctattggtgacttctacaaatcaacat  
tcataataaaggtttgcataatggtctatgtgtatgcttggtaaaaacatgaggagcctattcaacatttttttaattgttctaatg  
ctttcatattggagttgggttcgactgatcttcttacttctattttttagaacacgtagcgtgaaatgtctcattcaaaaaat  
ttgttgatttctgacaatttaacacgattctaatacaatfttaaaaaatattaatttctaaaaactcaaatattgtataaaatftat  
tatgattatagaataattgagaacatcttttcttcaaaaaaacctaaacatgcttatgtacataaatatttattatcaataattcat  
aattatataatatagatttggttctcgttctacattttagagattatacatatcttcgtgtctatgtggtatcagggttatactacat  
aaaaaaaaatataatfttaaaaaatatacaataaaaaataataaaaaatatttctacatacaatttctggaaacattcggacaa  
atfttgaacatacataacataaaaaataaattacagatttttatgaaatattgtttaaataataaacaagggtataccgtgatgaa  
acttttaaaatftaacaatacaagcgagcaacatfttttagttgatttgaatftaaataagaatgaacttactcctaattftat  
aaatattaagtaatagactftaataataaaaaatgagaaaataaattacgaatatgttgggttagttgcctaaatttatattca  
catgcatagttttgtttgggttgggtcgttcttaaaaacttttgtatatataaaaaataaaaaataaaaaatftcactttgt  
gtatctgaagtacacgaaatgtatagctatcattcaacctgtattcatgaccactacttctgtagcacaacccctaaa  
ccctaatttaagcacaacccaacaaagcaacccaacccctccctctctatcgeccaattccacacccttggttcactatttcc  
aattgcc

>PvHSP70-4

atacaattttatataatttctatattttatftaatttctatttttaagcaataagaataaaagagaaatcataatcttacaca  
ttttactactaaattttatataaaaaataaataaattftaatttctgatcactacattttattttttatfttaacttctttaaagtatt  
ttatatatgttacaattctatcatataaaaaataaaaaaacatccatacagcgcaacgaccgtgctgtattttaccagtaaa  
cataaaggaaaaggtaaacacttctctatctacagtaaatftttactagtgtatattttattatagatataagttatcactatttagatta  
aacatattccttaacataaatttatattgttttagttgatacaaaaatftaatttattgttactgtgtgcgtttgtgttttgaatatt  
tgatactataaattfttttaagattataaactacaagaacactftgaattatatacaaaataatataatftaaagatacactaaacc  
tgtgtataaataagatttagttatttttaacttatttctaagatatttagttggatatagatacaatfttttacttacctftaaaaatfta  
caatgaaaccttaatacttttgaataaaaaaattatatacaaaattcactaacatgtgaattgaaattcatataaaaaaattt  
caattatcttggtagccatccaattgaaaaaatgatacatataaaaaataactaataaaaaatftagaacaaataaattaaattaca  
atattattggtataatgaaaaataaataatcgaatcatatgattttacatagcgggtatcacataacctftaataaaaaa  
atccatatttataaaatcttgattaaattgataagttgggttgggtgaaataggaaccaattcattctaattgttttaattagattcaat  
taaactgtcaaatcattatgacaaaaaatgaatggattaaagggtccaatccattgacaaaaaataagttttttgttataga  
ttctftaaagatattgtaactaataatattttattgtattgttgaactaattcatatgtattaaatttgggtttatgtatggcatg  
atfttgtgtatgatattacttatgagattfaaattftataaatttatttatattttttatcaatttcttctgcttatttttatgtaaaaa  
actaaaataatatttttatttaattcaattcagatgagcattaaactaaatfttttagcgtctgtccagtcctgataactaaaaaaa  
atcacatactaatgcftaacactaattftgaattagataaaaaatcaatttcaattfttaaaaaagattattacagctatacta  
ttftaaatftaaatftaactaaactattftatactattftaaactcacaaaataagcagatgaattaaatagtaataaatacaciaa  
atatgttttagcactaacacaacaacttaattgaaataggaataagacaataaataaacagcgatagtagatggaagaatat  
actagaggttaacgaggtcatcaagatggacggcgagatftcccaacacaagaacgaatgctattggctggagcaagcaa  
ttccgaatcctgattggtccacgtcatctatgacatgttttagcgtcaagcttagttagggttcaggaaaagaccaggtctcgc

tagagtcaccattcatcacacactacataaaaggctcgtcgcctcgtgccattccaacacaaaaccattaaacgctcttc  
acctcaattcgactcgaacattccaactgaaatcgttattttctcagaggaagagaaagagagaggaagagtgagtgag  
agacagca

>PvHSP70-5

agggtgatgattagacagaggtggaggtggaagaggatcatcaacaatatgtccgtcatcgtcgttattgccttcatt  
atgagatggtgaggcattgtgggtcgaatgcatgaattatgtgggttatatgcaagaggagggtgaatgctgaagtt  
ccaaaaatattgacgaagtggaaaagtaccgaatgagaaggtaaaaaattatacgtgtaagaaatctgatggtggtgatga  
tgaagtgaaggtggcgaagatgatccatgtgtggtgatggatgggtggaagaccgaatgaatggattgatcaacatca  
aaaccatgaccataagaaggaaaccctaaaggcgggtgtggtgtggttccatgagcttctatatattatgtcttaattttattc  
aactaacacctaataaccaacaacaatattcctccttaaaaaattttaattaatttaaggtattacctaacttactattcaattt  
aattataaataacaattaatagatatatatatatatatattgaaaaacaataattcttttaaaaaataaaaaataaataaatt  
ataacattgacaaaattgtccaactgacacgactttagattaatgtggcaaaaatcatgtcaacttcacacgacttaagggtga  
gatgacaaaagtgagccaaagtcgtgtaaatgatacgaacttctacatataagtcgtgcaaatgatacgaacttcaaaattt  
gtatttttaaaagaagttccattttagtaaaaagaaaagaaccataatagtaaaaaacattatattaagatattatctactttg  
aactcaaaactctcataattttattataaaaaatcaattttattcttaaaatgtttttatagattaaaaataataaataattttattc  
taaaagatgttttatacttagtgataagaaaagaaaataaaaagaaaagtggaatggatattgcggatgaatattaatgctg  
agtgattcatataagttgcagctttggatattagttaaaaatattacgtatattgtaaatgttttaaaattatgagttattaaagcatt  
agaatattgaaggtcgtgacacatgagcttatggaagaggaaaatccaaaactgaaagatgatgtttatgagatgagacgatg  
aatagttgctcttctgcaattctagctattgtctttcatttacaatcctcctccttcaacacctgtttaccaaccaccgcccctca  
actcttaattccaaggatttttatactctcttaataatcaaatatttttttctgtatattaaacatcaaatataaagttgtg  
tcttcttgattaataataacttattttttgactttttgaaattttatctattgaaataattaaaagataatattgcattaaattaata  
aatttattcaattctcccctcaactagactaaataaaaaataaaatgtactttcagagtaattaacgcagttacataaaacttcat  
ttggataaaaaatctctatttttaataaattataacattaagtaacttattttggaatgtgacatatatatatttttaattattataaaaa  
ttaattgtaaaagaatatgaattaagtggtctaaagaaaataataattttggattcatcattctttccctctggaatgtaaacgaaaga  
atccagaagagctaccacgctcacaacattctcccctcaaaatcaaccagtaaatctggaactcactctctgtttgtaactgct  
actatataaaccgctgtggctactctctcctcactcataattgtgcacaatacaaacgctctacacacaacaataatctccaa  
ctttcagagttttcatttctgttagaaatcctgtcatca

>PvHSP70-6

ctttgttggtataacttattttactatttaagtattgattcatgaagattttgagataatttaagaaaaaaagaagtc  
atgttaaaaatgaaaaggaactgagagtttgaatattatttttgaatgaccagttaccctatgtaaattctctatttaatttttt  
ataataattatattattaagttctttttataacatcactttaatcacaagtttagagtaagtttaagacttaaaaaagtcaaaactc  
atataattactaaatgttttattaagttttcacaataaaagcattaatttacgtgattgaaatcattagtgaaagtaatgatattgtac  
gtattttatatacaagatcactatcatctaaaatctcaatttcacacgaacatcgttcacattcctctgtgttcaaaaatgataca  
attatagataattgaataatgttataaataaataaaaatfacctaatagatattataagatttaaaaaaaagttaaaactataattttta  
aaaagatatttatcaaaattatattatataaaatctcataatttaaaaatgactacacaaagtcccaaatgagcactataaatcta  
tatcgacaaactgagaattgatagaaaatttattcatctatatatgtcatttctatttaaacattaatttctattaaaaaaatataattaa  
acattaatttattcattatgtacattattttatttaataataaataaaactgtactataaagacgaacctgcacgctcacgtactata  
ttgcttaattatttaatttttatgagagaaaaacaatggataacatttatagattaataaatttaactgaaattaatttatataaaaaaa  
atcactgcatacttttaatacaataaaatatttctgaaatctattttttgtttccacctgactttgtggaagatttaaaccaataa  
ttttatacaagaatataatagttttgatttcttaatttaatttaaccatttagttattttgtttgtgagattttttgatggaattggaa  
ctccaaaccgagtgtagtaattgtgaggagttattaagtaaaaagccgaaccgaaagccgaaagaggccagttggagggt  
tcaaaaagcaaaaagaaggaggaagagatccgagtaatggatgtttctagaagggttagaggattctccagacatctctgggac  
caattgagtgagcagctttgtttcgttaaaaactgggaatttaagaagtgcaaaagtcacaacacaaatattaaacacaaa  
cccaaaataaccacaccgccccagacaaactaactcaagagtcactcctctactctctagccccctttattaggattgtcc  
agaacctctcaaaaccttttctcattcttctctgttttcgatcgccttccactggtaaacctatttctcttcttagatttctct  
tcttttgcctcttttctcatagatctgtctcctccttaataatccatgcaatttctctgcaattaagggttatgttaccgctcttga  
ttaagaggaggtttttgtgtgttcagctttttgctgttgcctgaattatgaatgttaactgcagttttgtgggaagtggtgaaat

gattgatccgaagcttggttatcatgcaagatgtgtttgtttctttcaagatgatatttttaaatggaattgtagtgctga  
atggtgctatcgacgtagaatgtattgaataactgtgtattgattgtgctgctgacagtgcatgagttggtattctaggca  
ttttatttaagggaagaattggtgatgacacgggactgtttgtttcctccatcaggatattttggacttagagatcaa  
gcaaaa

>PvHSP70-7

ggatgggagttggattgctgttgcttatggggagtgtgggcttctttgtcctcaacacagcatggagacacaaaat  
atggtcgtccttgatcatgttcagattggctttacgtgttatagttcctcaagatcaataaattgtagatgaaataaacagaaa  
tattcctcaacattttgtcattatgttgaattatattactttctcacatacctagagatggtataatataaatttaattgtagat  
gtattcaaaattacgtttattcagatttttttctcaattgattctactgtatgatgtgccatcattggatgtgacatgactctta  
ttccattgaattgcttacatgtttgtacatgaaaaatagaaaatgacttaaaaaatttaagttcgcgtaaatttaagttattct  
aattaaattccacaaaattccactctataaataattataattataaatttaattgctttcaattgggttatcatttaatttc  
atagctccaaatgaactgaacaataagtagaataaccatcaattttgaaattatttttccaaaaattcttaacaatgataatt  
aaaagtaagaacatgttatctcattgtaaaftaaataataagcttaattgaaaaatgtaaaftttattatgttataaaaaagtt  
ttaataaaaaatttaaaaaatatactaaattataataaacttaacattaataaactctttatatacacatataattttggttaattta  
cctttgtgttattatatactaccatagacactaaaattctgcttaagatgtttacattttccatatttaagtagatgtaatacata  
tatataatataatttaaaatttctttatttttaaatcatctttgatattgaaaattaaattttataaatattataaaatattttatattgt  
aattggttcttgaaatgttacaacaaaacttttaaaattagaaaattcttaaaattgttatagttttaaaataatataaaataaaa  
caatataactttttgcatgtatacctataataaaactataataaagagaatttttactataatgttttttatataaattttttcga  
ttccacccttatttaataatttcattttataatacaataatttttaatttttaaaftaataataataaaattagataataaaaaaca  
tattctcattttctataactaaattcactttatatagcataacctttatttttaactacttttacaatttttttttctcattcaaaaatta  
atctatatgtatgttacattcttattatcctgtgaaaftaaaaataaaataaaatgtagatacacagaaacaaatcgttt  
gagttctgtatttaataaatggaaaagtgcgcagaaaatatacccttaaaaacatttcaaacgtgttaaaatgtgaattttaag  
atcagttgtgattttcaagttacatataactacagaatacaaggttagaagcgtcattcttactacttactcagcgagaacct  
cagcacgcaggagtcataaacaccacacaccatcatttccgccacgtgtacatttccacgtgtttgtttcagtggt  
taaacaccttactccgtcacactttgtcccgtacaataaactgctagcagagcaaagcactggctcaccactaccgttacttc  
caattttattattattatttagtattactattattatttaattataaactcacttactgccaccaccaagatctcgttccgtttcc  
caaaaacatattcacataatattccctcgtttctcggcggtaaacgccgcattccgtcggaaaa

>PvHSP70-8

tataaaattttatgtgtgtgagtgccaatgattatataaacagaggtagacaataatcaatgattgtatacttctgaag  
gatttgaaggttatcttgagaattgattgatttttataaattatccttagactatggccagaagaattgatttccctaaattag  
aaagaaagcaagtcatttcagctcaacaattgaaagggagtagcaagtaggtgcaaaatgtttatgtttttgcttatgatataga  
tgctgataactcaaaaaagatagttgttagttcaggagtttagaaggtatttctgatgagactccacctaagggagaggtta  
gagttgcaatagatctaattctgaaggagctgtgtctgttctcacaataatgacattaattagtaagttgaagaagtag  
ttagaaaatttattggagaataaattatttgatctagcgtttcttaattgaaacttagtatttagtgaagaagaatgataattca  
tcttgtagatgcgtagattacgcatatagataggtcaatattagattaaatcaatattagatcgtatgaatgtaagttcaaatgata  
ctattgagttaaatattttgagttaaatattttggaattaattgtttgatgattcataaaattatgtttcttttagataaaagtagtag  
aaatgagagtaaacatttctcaagcatttaaacctaataaagaftaaatttttagtattttttgaaagaactatttttagttttga  
atgtaataatagtttagatttaagtaaatattgagaatataatagaaccttatttctgcaggatataaattatattcacaatgta  
aagcatataacagatcataatagtagtttacaattttgattcgtttcggatataccaacatcaaaftaaattgagctacacaattta  
acaaaagaaaatgagccaattattgtatttttaaaaaagttgtttttgatttaattattttggaccagtttgaatttaaacactc  
ctattagaataaattaaagtaataaaaaatatttataaataataaactcactcaagttagagatataagattagaagtttaacaatta  
atataattatattgaatataaactttcattaaaataaactgtttattattctgtattaactatttccatccacctttcatctttctt  
gaatgataggggtataaatgcaaacctcttttacaataatgaccccaataaactcattattctcattttggcgtcgttctgctcatt  
ctgtaaaaaacctgcttctggtcattgaaataaagtgaagatttctctctctctctctctctctgattccattctctcaccactcgea  
ctatgcaatcccaattcttctgattctacaacctgaaggtatattcctttctctgtttctcttaattcagattgctcaatccacttt  
tgttagcttattgttcttctgttactcatagcattgccctttcaccctcaattttctgaaagcggaggaaaftcagctgaa  
aaatagcatttttactaatggggttgccacaaattgttgggtgcccttccccgcttcatcattttcttcccggcggccccctctt

actttgttctgcttgttgacctgatggaaaatctaaggaattattaagaatagagggtgttagttgttagtgtttcattttttttt  
cattttgatgataaaaatttatgattttctataacctgtgtttcttttcagtgatttgggtggagcctaggttctgggcttgttttcg  
gaatcttgaagtttggatttgggggggtgttggtgagtagagtggtgaattggattggactaattggttgaagtttgggtgca  
agtgagttgag

>PvHSP70-9

acgaagtcacgttttatgtcacaacttttaacaaagaaaaatataaagaatttttctgataattgttattattttaca  
aaagtatatctatgtttccatcaataaataaaatatatgtatatatttatatgtcaaacatgtaatgtagtttaagttggcttatata  
gcttgaacattttgtcaacgttgaatgtgaggaaaaataggataaaatataatcttttaataatctttgaaaagataattttct  
tggtctaagtatttatgaatacctaatttgtgtatagagaacattacctaataatcagagtaataacacaagtttataaatactt  
gttaacactttttattttatctttagcatctatcacattttcatttttttaatttagaattaagagttagatattgatgagtgagt  
ttttgtttaaataagccaatgaaatgaatcccttggaggagaaggagtcagatggggtccatcctaagactttagggtat  
cagggaaacttagtcccccttccaagaccctaactatctataactttttttcaatattttatcctttccatgcgtaatacattaa  
catcttaaaatftaataacttttacctgcaacacatatccaatattatgtcctttcaacagatttactgaagftaactgaaagcga  
aataaattatctttaaactattaattgatgagaatgtgtataaattagattattcagatctttgatgatataataacaaaataat  
tatgtctttttttgaaaagtattaaactaaatataataataataataataataataataataataataataataataataata  
atataatacaaaattgaataatcacatataatataaaatctaaatataaatttaactataaaaaatattaattatattataataa  
atataaataaggaactaataaaataaataaataaataaataaataaataaatttaatttaatttaatttaattccttaactaaatttacata  
aaaacttcatattttttttatcacacaataatattttacactaataaaaaaaatataaattttccttaaccatcacataacttacg  
tacttaataattttttctcacgtattcataataataactcaaaatcaaaatgactcaactttctttaaatectcacgttttcacgtttc  
actttctacgatctcaattttcacttttaacaaaacattaattcattattatggattatgtgaattgaaagaataaaaaatta  
attaattcatctaaatttctattatcaaaatgaaatcacctgcactatatttaattatgtatgaataaatttttttttaaaaaataa  
cttgaataatataatttaaaatattaaatgtaaggaaatgattatgaaaatgatttaaaataaaagtattataaaaaactttaataaaa  
aaaagtatactcaggataaaaaatattaaaactaataactgaaatfaacttcatcagtttcataatgttttaaaatgaaaaatata  
attcacaacatgttcttatataatcatgtttcttttctaaaattcgtttttttattataataaaaaatcattttttacatcttcaattag  
agattctataatatagcagatttcaatataatcattgatatttaaaattagcctacaaatfaatcgtaccttctagaaaaaaccteta  
agaccataactttcttttgggtgtcttaataacagagacgttccacttctcattcatcaaccacaattttacactttagtaccatttcc  
ctgttctctccattccctgttgtcactcagaaagtgaactaagctcttctcatct

>PvHSP70-10

ggaaaataaccagaaccacacgaccaaaggggcagggggaaaaaacaagggtgaattcaatgaatggattgt  
gtggtgtatataccaatcaatgaatattgactccttagctaaagtagacaaagtcgaaaaaggaaccttaactgtaacctct  
cttctgtattttagcaggactttgacgatggaaaatgttttaatttgaaaaagagagttgttggatgatggtgtgagtgaaaaa  
aaaggagatcagtttcttgatcatctattaagttgatgagtttttctaaactcgaatttcacagattataaactggacataac  
acataattttgtatttttaataaggttatgatatcttaatagattgatgtcaacatgcgctattcaacaaatcaagaattgaaatc  
aataacaaaattagtaacaattgtttcctttaaaacaaaataacgtatttaactaaattagttgatgtgcaatattcttctct  
ccatcaaaatgctcaaatagaaaataataaattttctttatataatataatatttttttttttttttttttttttttttttttttt  
caattataacatataatctagtgcaataaatcaataattttttaagactaaaaactatttttttaattgctgaaattacaaaataacac  
aataaccagaataaattataaaaataaaatattaataaaaataaattaggaaattcataataacaattaaaaaaaattatgttataat  
tgaataagattatataaacggaaatataatttttaaaactattgttcaacttttcttttttaattttatctattataaactattacag  
agaaattacactcatggtaaattttatataatataataaataaacggcatctattatattgttctattaatacttctatattttat  
tataatattatcagtaactaataatataataaataaaaaatattaagaatgaataaataatftaaattcctttatcatttttaattttta  
atttaacaactctatttttagtattttttaccgagtcacaaacaaaggaggaaagcaaatcaagaacatgaataatcag  
aaagaaggaaattacaaaactttacaagattaatctctacatatcaacaagtaggaattttttgttagaggttaattttttttcattt  
ttaaagttacaaattttttcactaaattgtactaactttttctgtataattatattgtatttttagttcatatcattgtaataattttc  
aattcctacaataaagattaaaaagtgataaaaaaatgtgaatttttttaattaaatcttcatagataagccgttactttatagtggt  
agttcctatgaagcttagacacttctttaaatgacgtgtcgaatactcatatcgtgacactcgtattatacttataggacacgcat  
ccgtgaagtgcaaaatcaaaaagtatttattgaatttctacaattataatacagtttaacacaatttaaaaaaaatacactaatatt  
ctaaaaactcatacttacgacataatattttattatgattataaaaaataaaaaacaattccatatccatcaataaaaaacattttctgcta

aaaaataatttaaaaaataacttatacacatataatataatagctatgattgtgaaagggccttgtaaaggccttttaccatcca  
atccatcattgcctttgcctttgccacaatcttgacgttgcttaacaagcaggttcccaactctgaaatcaagggttctgaaat  
tcacttattacattcttatatctatagatatatacttacggttcaagtcactctttctgtggttacctactctctctcaattgctaagc  
ttggcc

>PvHSP70-11

cgggggtgtgacatcactaattttactgtttatagaagtacacaatcatgatccacaacaaattgeatgtttggattca  
tcttagtcttaataaaaaccgcttcattttgcctttgacttaaaagctaatttattagttggatgtgaattgtttgcctgtaaacat  
gaaaccttttgaccgatatttacctggtgactgaaactcacaagcactccctccaacggcaactcttattaaccaccgatg  
cttaatcagtttatattgttatgaactttttgtatcaatatctactggctattcactagggttgatttttcttattttgaactcttattgca  
gtctttggcatgaatgttgaggagtccatggacaggtcaaaatgccccagatctaaaagatggtttccgaatgcatcttact  
ctgcttgaatgttatttctgtactactctgcttctttccggccatttatacccgtgtagctgctgcatggcgaataagagag  
ctctgagcagaacctggtcactgaacaggaagtcattgctgaggagatcactagaatgggagatcaggacagaggggggcta  
tcttcggatthaatggttcatgcatcattgcctattccatctctgaatgaacaacattaaactcgttgaaagcaattttatcagctgc  
ttttcaaggacacatacaaaaacttaataaactgacaattgtgtcagcaaaacaatcatctgaaatctaaatgaaattctcatg  
aagcaccctctcagatagagttagatggagattgtgataaagctaagctatgttcttattcttctgctccctccccacgitt  
agaagaggagacgtggatctattcttctgttatgcctcatttcaaaactgtacagtgaattttctttttggtttatgttctaatg  
tcaatagatcatggataaccatgccaagttgcttcctgggattgtaactacttctctgcacaataaattctattttctcacgag  
aaacagtcaacaattggtatcgaatttcttaataatgggaaatttaattccccctttctgtttgtctgtagaatttagctgataaa  
tacttgatgtttctgaaagtgaanaatacaataactgaactcaagaaaaagattaattgttattgtctgtgacctatgaggt  
cggacacgtcatttaagatgtttctgtcggatatacgtatcggatgtgacctgacatacatgctaatcaaaaaatatttattac  
gtataaataatcttttttacaactgaaacataatfatgatacaaatctatacaaatcttactatcagtttatataatcataactat  
aatatataaattgtgtatgtatcttacattttaaaaaattttaaattatatttttggatttctcaaaactggatgtaattttcttt  
acttctcagtaagttcacttttactcctaaatgaaatggaaagaaaaaaattctctacttaaaattggcaacatataaattct  
tgaatatagattcagtagtatttagtgtgcataaacatgtactccatcacattttgcctaattatagaattatgacaatgtcaaac  
aaccaatgaaggagttgtgtggtagttctacgtgtcacataaccaaccaaacacctgacacgacaccgttgggggagat  
catctagaacctcgttctctgagtttctctcattcaaaagtagaagaactagaataatctgccacctctctagaaccgacatcg  
tttttttttttccattacaaggacaaaaccctaaacccttctctctcagagatataaaaaccatctcaccaccttctcgtct  
cttctttccctctgateaatcttccctcccggct

>PvHSP70-12

gaagggccgatttctaaaaggcttaggcctacaacgggtgacggctctctactctctactgctggctgacctgacattg  
ttccgagggccagacaccaagcgtccctcactctctgatctctcgcacttggcggacgggtgggataagcgttctgtaactccat  
ctactctgaacttctgatgtcctacaacatgcctcaaggcttctatctagatgatagtgactcaggtgagagactgctg  
cgagggaaatgttgggctcaactttggggctcttcttgcctcaacgcctcactaaactgaagcctgagggcaggggtggcg  
ctgtagaggccaaagctaaagaagaacggccctgctggctggtttgtctactctgagggccgactgaaacaggaggt  
gaatagcctctgccaatctgaaaaggacctttaaacgacttcatgacaagtccaagaggctatcagctggaggcaaaaa  
tcttctctctcgaatccaggtcatcgattggaagaggcggctaaaggcctcaaggccaagatgcacgactaaaagaagg  
tccatcaatcgagaagtgcacatgggtaattgtgaggccgagctcctcaacaagccaagagattgaagaaccgaggtga  
aatgactgggatgttggatgcttacgacgcggggttcgaggacacgtgggtcccctaactagagtgcacccctctgtcggg  
gtgccacctggatgctcctcatgacttgcctctggtgtcaccgcttgagagcgcctatttgcacgtgcatgtatgca  
gctcgcgacctggaacacgaccttataaggtcataltttctagtactctatactgtgttacgcttaaatgtgcatccactccac  
acgcatggactctcgtgacctaggttctccctactgataaattggtgcgtggtctgggatccactctcatggcccagctctgct  
atgttgaactgctacttaataagtaataaacaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataa  
cacgctactcattatcaacgtcaataaagtaaaatgactaataacaattgaaaaaataatctaaataaataaataaataaataa  
ccacttttaataacataacatggtatacaacaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataa  
attataaaaaaacaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataa  
taagagaaaaaaagatgaaatccagaaaaagcaaattagaagtaaccgcaatttaaaaattgttaaaaataaataaataaataa  
taataaaaaaattataaataatcccactgttttaattaagagaaaaaaagaaacacgaaaccaaaaaatcaatttgcgaagat

gatcaccttttaaaatttgcataatttaaaaacttctgaacctgtttgtgatcaataaaaaagacagaatataactaatatataaaga  
taaaatgagaaaaacatatataccaaaaacagttaaaaataaattccctttcataaatgtagatataaactaaaatcagctt  
taaaftaaftaaaatttattttatataataataaattgtaactttataatttaataaattaaaaataftaaaaatctttaaaact  
aaaagcatgtaacataacgaagcacctgctgacctctcccaaaacctctcttattctcttcatcccttctctctgagctcca  
accagctcttagcctctcacctcaattaccataaattagggtccgccgtac  
taattaaac

>PvHSP70-13

cctgatttttttcttttgggaatttattgtcaagaggagttgtttctgttctgttgaggagacgtttcatgtatattaatg  
tcatacatgtgccctgcttattctagccctctctcagcttattctagccctctctcctcaacttattacaggttagattgattaataa  
gataggataaaacagttccacaagtagtggaagatgatgaatccctcatctgtttcaagaggaattcacaactctaatgcagagt  
atacaaaagaaaaatgagagcagagaatgcctagaaatgctgttacagaagagataatgagaacaaagttaaccaacatcaa  
actgataacataacatattctgtaacaagaatagggttgtaaacatattgacaactgaaatgttgatcaaaaggaaaactgaa  
gttggtcaggaatttagattccaaattcacatfcagaacatgtgttggttaataccatataaggattaaaaatgttttcattttttgt  
tttggtttaatttaaatattagatttattgtggattattgaaatgaaactgataaaaacgttaatttttattttgtcgtgataata  
atatttaacataaaaaatattacaatatataaaataataaaagcacttacacctgagaagaaggagtaggttacattgtaa  
taaacatgtataccaatttattccttaaaattgataatgttggtatttctgttcctcagtaataaaaatgacaactactaaaattataa  
gttagcgggtgggtataacgagatatcaatttaagaattattataagataaatttatataattattataaactagcgaatgtag  
acgtcattcgtattttttataaattattatataatattttgtatttataaaacttaaaattataataaatttaataaatt  
aaatgttgattgaagatttaactgagaataaaaagttcaaaagaaaagcattcctccttgaggaaatggatgaaaattagattta  
aaactgtttacgttaaaaacataaatgttttaataaaaagttaaaattaaaacaaattatataataaaaacagttccttagggaatct  
ctttatactcttattatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatata  
taagaatttaactttttttatataaaaataaataaaatgattttattcttgaactttcacttacaagtacatgcataaataattat  
aactgatatacaatttttaattataatataagttgattctagaagtagcttgacatcttagaaaaaaaggaaaaaaagtaccattc  
attccaccacaataactccatagaatccatttcaactataaaacttcataattgaagtttagattaagaataaaaataaatttta  
gattatactctgataatctaaagtttagattaaaataaaaataaatttcaaaattatattataagaaaaaacatttaacctacaattt  
atttaatacatttgaaactataagctataagttagtggtccatatttaaaagtattttgattgtattaattagtttagataaaaaat  
aaaattgaaactgaaaattatgtagaaaaaataatagcagtgagtgtagtattagggttagggtaacgaaatggggcgaga  
atgatgaagatgggtctagaataaacacgtggcagcagagaacgtaacataacctcctctctccaaaaccttctctt  
attctctcctcctcaatttccagaattagggttc  
cgccataactaattaaac

>PvHSP70-14

gtcaggtaatgctttatctctcaggtcttcatcacatgtgctccctagaaaggtgtcccacaagatggatcaattgtccc  
ttgtctacttatgctttacacattfaaatatgtgcttaatgtaaaagatgaacctggtttttccatgactcgtctatcgtttctattgg  
gcttgatgaaactccgttaagccctagtaagacccttfaactatttacaaccttactaccatctagactacaaggcccaaa  
tgacagagtatacatattattaacaggttagactccacgcgtaataatagcacaatttgaagtcataatttttccaaagccttcaaat  
tggaactttacacaaacgtaaccttaactaacattcgcacgcaaccaacttcgaaatccaaagtcagagcagttcggctcgtc  
aaccaacatgctccagtcaattgggtgactgacgacaaaaggtgaggaggatctcgtatgacgatgacttgggtgggagattg  
tgaaaaatcgagagaagtggtgctattgggtgaggttaccgtgtctataatcccataatcaaaatcctcaatgtttacaataacc  
cttaaaatcaaaatttcaatgtttacaatacccccaaatcaaatgtccaatattacacaactcgaatcaaaattctcaagttctg  
caagatcctaaaaatcaaaattcaaatgttctacaatgcctcagaaatcaaaagcccgatgtttacaatacacaatacaaaatcaaatc  
tcaatgttctacaataatcccccaaatcatatttcaatgtttgcaataaccgtaatgttcaataatcccccaaatgaaattcaattttgt  
tgtccttgcaagagaggtcattgtatcttaagatgcaactaggagagggggagacacatgaaggaaaatgtggtgatggcc  
atggcaattatgtgagttgacgagaggagagataatgatattagggtttgtaaaatgtgtttatttgaatgaggctaaagatgta  
actttgatgagaacaatagatggaggaaaaataatagttgaaatacaactctgattcacagtgaaatctatgtgtgctacataa  
gagtggtaccacatcatccaattaacaacgtttatgctaatttaacatgatgaaattatatacatttaacaaaacatagaatatt  
ttttttaaactactaaccaaattcactactgaccactattaccacgatgtagagaaaaaaatacaattaaagccttataggaat  
atatcatctatgtgaacttatgtaacatctataaaataacatattttatgattttatcttttaatatgatcatccatataataaagta

gatgtttaattataatTTTTATAAAAAttattactatttcatctttatattttataactTTTTagttatactTTTTatatattttctTTTTaaatt  
taattaacttttttGTTAAttttactatcttaataataaatactatccagaataaaattataacaaataaaatgcggttatttttgta  
cggTTTTatcaacacaatTTTtacaactataatatttTaaCaatTTTTaattacaattgTTTTctaaattgattaaactatttctttac  
attcaacaaatgttcatacacacaagactacaccttTaattccactgctctacgtgtaagagtcagcccgccaggaaaactttaa  
atctgcaaccgtccaacacgattagccacatccaacggctctgagaggtcttggaaacttctggaaaagactcgaaccct  
aacaaggggaaacggctctataaaacccactcttattcttggtctctctctcgtactaaccttaacccagccgcggtt  
ctatactctcagatctctcttcttctcgcgacgcaatatcaaactcacc

>PvHSP70-15

ccataatttctttacacatacttgacgaacttaaacattacttgatagtacatattgaatgttggagttagggttaggac  
tgctgaaagTTTTtcaaatgaaattggatctctgaattcaataattcgttcaataataacctttatcatttttctatgatttgaatct  
acatgtaaaattacgaaagggaaactTTTaaatagaacaaagatacaagataaaatatttTaaTTTgaatttcataacactTTTTga  
atttctaaatttTgattatgaatacattttTaaattTaaattTcaaacactttctgaattttgtcaagatttttctaaatataatttct  
aaatttggTTTTggagtagaacacaaaaatctattatagagttcattttacaaaatattttTaaTTTccataattcattcataatga  
atgaaaattTaaatttccaaattgaattagtgcatgttcaaaatcacttgggggtgcacaaaatgcaataaagctaaattattt  
aacattctactttctTaaagacatttTaaactattgtttctTTTaaTtggacaactttctgttcacacgtaataaaaaca  
cacgctttataactTTTTatagtaataataatattTaaattAAAAaataataatatttttaggatgaatatttactatttaggggc  
aatatcatctccTaaataaataaaaaaacccagtttaatacaactcaattaaaaaaacgacctaatccctacctacatttt  
attTaatgtaattTaatgttattttcttattTaatgtcattgtctctcaagttcaataagaaaaacaattgaaaaatataacggagaa  
aaatggTataaaaattgagaaaaaaactcaataaacaataattatagagTaaaatgagaattttcaagagatatgtatatact  
cataaatattttttattttTaaaaaaagTaaattTgaaataaaaacaaaaagaattaaatctatgtggtttgaaaatattttttggca  
ttgTTctgtttatcattTaaatccattttttTaaaaaaatctTcaataaataattgcaaatattttctatctattgcaaatatttaca  
aggtactatttttagtatcttacattataaaatgattttgtcattatctttttatctatttccataatcaaacacattTaaatacaaaac  
attattatacacaacaataactttctTataattttTcaaaaatctttTaaacatatcaaacacaataagaaaatgataaTaaactgat  
taatgatactTcaaaactaataataacttctaaataatatttTgaaaacaaaaaaacaagatgtaattTaaatttctctct  
ctcactatataatttttagttatattttttattatatacgtagttTaaatattttatctattgTTTTTTTaaattctgtattgtataaaa  
gatagaaaagttattgatgaattgttaccTTTataattttatatacttatttagaaaagaagcgaaaagagagagaaaaatataattt  
attaagaattgtgctcagtttactctattaagtattatattatataacatgaaaatataacattgaatattatattatatacaaac  
ataaaagataaatctTaaagtaacgattacagaaaattataactgataaacaattgacaattTaaatattatatactttatatactatt  
aaccttctcaataacaacctaaacctacattcttttagtttccaagacactctgttagatgtaacttctctttatgtaagtataaaa  
atcaacctttcatcttaatccatattctcatattctctagatctcagtttcttaccataaagaaaa

>PvHSP70-16

tttgacaaatcttatttatatatgcgaatttttaagctaatgaatcatcattattgaaaggctTTTTaaacatgtata  
taaaaattatgTaaattgttattatactTaaaaaaatatacttttagtagttccatattgataagtcTTTTtagcattttattattgattga  
aaattattaaaaacataactTTTTtagTaaatttactTaaattTaaacttgtgtctttattgatattatttttacttatattgtattatt  
acctttataaaataaagtttctTaaactaactattataattgattatagTaaattTaaattcataaaagTaaatatttctTaaataaaa  
attatattTaaatcaatgatataaattatattataatacaaaatTaaattTaaagTaaatggatattttTaaatattTaaattTaaataaaa  
aaataaaggTgaaataaattTaaaggaataaaatctTaaatagTaaatTaaactttagtctccgtagttTaaatttactttacagtctt  
cgtagttTaaatccaatagactaaaaaaatagTaaataaaacaattactttacagtcttctgcagttTaaattcattgtcactaagga  
attTgaaaacataaagttTaaataaattTaaagTaaatTTTctatattTaaaaaatctctacatcaattactgtcattttgtttagta  
tgtgaattactgtagTaaagctTTTTcatttccattatcagttttTcaacatctttTccaagTattgctaccattatgattttcagg  
acaagaattTaaattgactgatctacaactTaaatattTgtcattttTaaatcaagaattTaaatcattttTaaattTaaataaaa  
ccattTgtatgaatgattTaaattTaaacaagagaataaataatattctttgttcacctctggactatgctactgtgtgcatacca  
gtcaattTaaattTaaattTaaatctacctctgggtgacacaaactcaacttacctctcaatctTaaataaattatgattTgtctttctatt  
TcaagaaaaaaatcagTaaattTcaaaaaaaataaaattattttTaaaaaaatttagataaTaaaccaattttctTaaattgtTaa  
attttttcagctttgtcctcaactTaaactTaaataaaactTaaactTaaaggaacctTaaataaaagaaaaagactttc  
aaaaattTgtagcttTgtcgaagtatgagggtTaaacaaagTaaattTaaactataatttccattatgaatctTcaagTctctat  
atattttccattatgaatctTcaagTctctatataattttccattatgaatctTaaagTctctatataattttccattatgaatctTca

aattcttctatactcgttgataagttggaaggaaaggccccaacacacattcagagccttatgcaccatttctcaaggtaaaag  
tcctgaatcaacacctcatatcttcttctgtattaagtgcatgttctgatacacatgacatgatgctaaatcattcaatattga  
gaaaactataaacaagaacagtttctacttcaaaactgatttaagagattgaggtacccagacccaagtcataagattcta  
gaccaagtaagtatatcttttatgttgaaaaatacaaaaactgattttctctcacaagtttaagagtttcattttctcttagtttcatt  
aaatacttgtgacaggatacttggcatttattgtgtcaattattatgtttaaagtttgatttatgaaaagcaaaagtggttctccattat  
cccgcgttacttctatggctgacttctgtttgaattgaacacattttagaatcacttgagagaaa

>PvHSP70-17

tcacaatacagatttaaaaaaaatagatataaaatatttaactgtgtatataataagacaaatataatttatatatata  
tatatatataaaagtgagaggagagaaaatttaattacatctatgttttttcaataatatttttaaggtgtatttagtaatttc  
aagatcactaatacgttaattatgccttagtgaagtgaaggtaaggataatttaactttgaaagagttgaataaaatatttaac  
taaggggaaatataaagaaaaatatttttaactaagaggaaatataaagaaaaatatttaactaagaggaaatataaagaag  
ttacatgagggaggtctataaattagtttttagttataataaagaatgattaataagtgaaaatttgcgaataaccttaggaaa  
atttgcgaataaacttaggaaaatttgaataactttagggattaggagatttattttatcaataatgtgcattaactactaaaatga  
gaaaattttaaaactactgaaatgtgtaaattattaccttaattataaataaataatttttaaaaactactgaaatagtaaatga  
ttatactcaattataaataaataaatttttaaaaactactgaaatataaattgtgttagtgtaaataaagtgataatttaattga  
agccacacaacttatccattaaataatttttaaaaatttattataaaaattttaaaattacacatataatcttccaacccctaaaag  
caaatgaagaaaaacattattaaaccccaatgcttcacaagaaaatgtactcaagtgtgtacaccacataataatagacatatat  
atataatagtcatttcttctagtgtgagaaatgtgttatgattcagaagaatcgaagtcagccatggaaagttactactatca  
ttaatgaataaatctctctgttttgacaaagcaaacattaaacacaacaaatgaagaaactaaatcatgacattgataacaaat  
gacattgatgaaaatgaaaatttggaccatttgaactgagatgccaccatgaagactaataataactgttcagaccagatg  
catgacatgacaatcaagatacagagaatggatattgtttgtaaccatacttttgttccattccaacaacaatttgtctcaa  
cactgtgtataactctgctaaactctcccaataggtattccaacagttttacgctgctgcatgttgattgtcacttcaaaaa  
attcaaatccaataaaccattcatacaatctactctatcattctcaattcaataatctcacatattcttacaattcattttatctct  
cttcacaaatctcttctcaatccaacacattatgtagaatacacatagaatacacacttagtacatttctggtgaaattatccatct  
aaatttaataaaactatatacaaaatagttccacaattatggatttagttaatttagtgatgaaatgaaattataaaaaatata  
attttagctttaaagttggagtcattttaatcttcattgtaggaattaaacggctgatctagaagtaaacaatccactacacaaaa  
attattaaataaaatttaattataaagatataaactatttaatttaactcctcattcattctcgcagcttttctgtttccacagaat  
catcataaccataaagaaagcaaaatcaatgagtgatgaatggcgctgcgagctttccgtttccaatttcttgcacatgcacc  
aagacaacctctctgtatagtgccatttctcttatgtaagtataaaaatcaacccttctctcattcactctcatgttcttct  
catctcacagtctcatccacataaagaaca

>PvHSP70-18

tctgcaatttagttctgaaaatgtactaaaatgaaactcccaatccttgaactaaatttctgaataagacgtgaatagtt  
tctaattgtttatgcagctctcacactcttattatagtgaaaccctaatgtttcaatgaaaacaatatttatatatatatatatat  
atatatatattgtaatagagttgtatcttgaggattaaaaacatccttaacatagtagtatatagattgatactctacatccaat  
acgactaaaaaataataaaatattgtttcaatattaagttcagtaattgattaagaaaagaagggctgttaattcattgtca  
ctaaggaattgaaaagataaagtttctgtcttatactgtaaatcttcatggctgcatcttagtcaaaatggcacaattttcatt  
ttaaattgatttgaatgcatgatatttagttctcatttttggttgtttaaattgttgccttatgtaaacagagagatttattcatta  
atgctaagtagttaactttctatgaatgaattgtagtaactaaattatcttttactttccataatcagtcctcctcacatcttcttcc  
aagtttctaccatgaaaagtagacatgtctataattatgtggtctgcatctaaattacaataaactatataaataaattagttc  
cataattatggattttagtaatttagaaaatcaacaaatttttcaattgttaatttaattttccagtttgcctcaacttcaactat  
aataggagaatgctcaaaaaaacaaaactttaaataaaaagaataaatggaagactttagagttgtgtaaccaacttcaac  
tttaataggagaatgctcaaaaaaacaaaactttaaataaaaagaataaatggaagactttagagtcattcagtgga  
gcttctcgcgaagtaggtgagggctcaacaaagtattctactataattccattatgaatcttcaagaaagcatctagtttcc  
cattatgattttaaatttactttttattttataaaaaatcatttcttattcattaattatatttcaactttttaaacttaaaaaata  
ttatttttaattgattttaaataaaaatgactcttttttaattattttatttttttaattgtgttagatagaaaaataaaaa  
taaaatgatgtagataaagaaataaaaataaaaagaataactagatagaaaaataaataaaaaaaggttagatagagaaataaa  
aatataaatggtgtacatagagaatttaagtcaataattgctgttggctggtgaaacaaggtatataactatattaccgttatgaa

tgttgaaagaacatctgttttagttatcatatactcttggtgacaagttgtgaaggaaaggccccgaactcacattcagagc  
ttattcatcactactgaaggtaaaagtctgaatcaacaccctcatatactttctctctatcaagtacatgtctctatattgtttcta  
tggatcatttaatatcgagaaaaagataaacaagaacagtttctcctcaaaatactgatttaagagattgaggactcaaacca  
aagtcataagattctggaccaaaagtaagtatctttgtacggtgaaaaatacaaaaaaaaaactgatttttctctcacaaggctc  
agtttcttttctcttagttcattaactgtgagagaacttggtcatttattgtaccgattattatgfttaagtttgattatgaaa  
gccaaagtgggtctccattatcccgcgtgcttctatggctgacttcactgtttgagttgaaacatftttagaatcagttgaaa  
gaaa

>PvHSP70-19

gtaatcagaggtaactattaacatataatcttaactgtagtatatgagttttaaatttctttgtactacactggtttc  
atgtagataaaatftaaatataaagaagaatftaaatataagagaaccaccttataattatatacatgactacggatc  
aaactaataaccaatgagtcggaagtaatcaataaaataatagattaattcagattattgactcgatttggattaaaaaatgt  
aaactatttgtacaattatataaaaaatftttagttttaaacccttaactcgttaataatfttgtctaattttcattaatcctat  
gttgatattaagaataattatgtcttgcgaatttagttctatfttgaactftttccattcatgaatcatggcaaatftgataattatga  
gtaatttaacattaatttccattftttaaattttagtaataatfttcatggctcaatccgaaccaacctaacaatggttggatt  
agttcagtttaaftaaaccctaaacgaataatctaattgatcaattcatataaaactacctcgttaatfttttggctctc  
tttgtatcctatcatataattataatcatatacataacttatcttcatatctttcgtctatgtgaaaagggttcaatgatattt  
aatacaaatfttftactgatttactcaattaattagatcagcagattaagaaaataftaaattatagcattaaatgtgtct  
catatacacataatftaaftaaagcaatataftccaaaagaaaataftaaatgtattttagtaaagaatacftaatgtaagg  
aacatftaattfttataaaaaggactaaaaggftaaagtataaactatacaaaaaaacctgaaagggttftactctataag  
aggtgcaaacctcataggttaactacaagagaaaatgggcttgattagagaaaggccttgcctcttggcagaaaaggcctcgg  
ctcacaaggtactaaatgtgggttfttctcgcaccctaacaaatgfttctgcaccattftttaaagaaaactgfttact  
cctttagaaatgatttgaattgttcttccaaaatfttctgaaacatatttccagaatacattfttataatttggattgtaaatcca  
taaatcaggtaaatgtgttggaaatgatattctgaaatgattfttcttccagatttfttctggaaactatttcttaccggaatc  
ttattftaaatacfttfttctacggaattfttcttagaattacaaaactgtaaaaagataattttagattftaaagaatgtac  
ggtgcaggaaaaattgtaagggtgatgaagaaactcctaaatgtgatttctggattaattttagaaatttftggaacat  
gatttctataacaagattttagaactggatttctaaaaaataaacttctgaatgtataaatgctctctagaatataatgaa  
atacattftaaatacaaaactfttggaaatgaaatgttftaaagaaggaaatttctcaaaaagtacttcaaaacaaatgaaatgc  
attccataataaactfttctaaacatgaaatcattccataacaatfttctataataaacttatattattattattattattatt  
ftaaagtgagttaagtgaagggaatgaagcattcaaggaatagtccaaaaaagcggctgaagtaaggcgagggtccc  
acgtaacgatggaagattctaaacactctcctcaaacctataaacctcacttcccacaacctctctcaattcatcttcaat  
tcgattcaaca

>PvHSP70-20

agtgttatgtaagagaaataataattatgacttttctgatataatggggttcaatcaggataaacattgtaattg  
ctatataatfttattcttaattatggaataaacaataataataatagtttattattttatattcaatcatgaaacaatttaac  
tattgttattttaaatttcttaatagaagaatatafttagagttataataaaaaagccccaaaaaagggttgaatttagttat  
ttgattaattatgtgactattattattcttattttacagaatafttftataatgataaaaaatgtattcttataaacctatc  
gaaacacgtatcaatgagatttactatttftgtaaaaatfttftaataatattactataaaaattataataaatttagaaattfa  
tacaattataatfttataatattgttatagaattgatattatgttttggttttaaactfttftaatctgaaaataatatt  
aatcggttatctataagcaagtggttftaataatcftaataatggttataaaatggtattttagtaatacaaaaagaataatt  
ctcttactagtaagtagatataaaagatagctgtgcttfttctccttctcctcctacatacaaaaagaaatagctfttftatftt  
atttcaatftaaataatcatatattgtcgtatttataatataaataatfttftatattgttataggtatataagaataaaaaattat  
atacaaaaatcttataatattatagattatatacaataaataatfttfttctatgtaaaagagaacaggcctaaccaaaattggt  
tcttaattftaatgftaaagaaatggttcagaataaaactaattggatttgaaaaaagacataaatatataaaacaaagg  
gtatgtatgtagcagactataaattcatttactatacaaaatcattacattfttatttagactaatcaatftaataaataaagat  
aatatattttagtcatgataaaaattfttftaatccggtaaaataaagatgaataaattatataaatgaacaaattcaaaa  
attftaacggtaaccagtgctgaacaccgaagtcttactttagtftgaaatgfttftcaagtatcatctaaagttcgaatttctgatt  
ttgaggagatcataggacgaaaagtaagcagagataaggtaattgttctttagttcaatcccattftaaataaaggtaaaa

aatactttgtaaataatatttttaatttttagacgttgaaattaaatacaaatgatccataataatcatataaatatgcacaaatftaaa  
aaattcagcatagcacaaagtaccaagcatcaaaagtcttatttaagtgttgaaggctctttgtaagtagcatttaagtctagaattat  
cgagtttgagaacataaacacgggatagattgagagaaaaataatcattcttattttatccattaaaaataaaggattttt  
tataaaaaatacttttgtaaatttttttttaatttcaggccgttgaaagagttgttgggtatccaagttggcgatatacaagaagg  
ctctagaaccaaccagaagcagagagagacgctcaccatgatcgtgtcccatgtaagcaaaagaagattctagaattttaa  
atttaataaatcccacacttatataaacccctttctcttaacctaacaactgtaagaattgtgagagcttttctttctctttt  
ctttctcagtttggcgctttactacctaaaatcatcttcatctctatattttctgtaactgttcttcgggatctaa

>PvHSP70-21

tctctctatctttctctttgatccattagataaaaaaattcattcttcgagataagagtaggaagaagagcacacatc  
ccacgttagtctccgtaggtgagttttattttctttgtttaattgtaaatgttactcattttatcattttttttctaccctgtttttca  
ttttcgtacagagttatctaacaccattgtgatcttttcttttctttcattattatatttttttagttttatgtagtgattataagaa  
tgatgacgtaatttttgacatcattgctaattgtgggcatgtggagagtgatgcgttatgaacatttgcggtaagagaggaaag  
agattagaaaataatattagtaacaacaaatcaaaattggtaggtttattgtgtataaatttaaattgtttaatatatttttctgta  
acttaatacagtaggtgaaactcataaataatgagataaaatgtttgatcttatttttactattgatattaacattfaaaaaatga  
atacacataataatatacaatataataataaaaaaatgtggatgcatcgctaaaacacatgtattttcggctagttattataaaactat  
tatacgcgctcaatataatagaaattatgttaaaataaaattgattttagtaaaaatgtttatatactcatttctttcatgtttcgt  
tcaataatgaaftaaaatataatcttttagattctcatacttttgaaftttattataaaagaatagaaagaataaaagat  
acaaatcttatacagaagatgaatgatacactcgtcgcattgattgattaatttttgtttatttttaataaaataattttaaatatac  
atatcattttactaacggacttaggcacttgcgaaaaaaaataatcactgaaatattggaatgacagaattttttttattgaaatga  
aaaattggaaaacattagtaagaaagaaaaaaaataatcaggcaaaaaaagaaaaaaagagacgcatttcaatctattt  
ggttattgaagtgcgtcttaatgcatataagaaatgggagacccaaaacaaaaatactttttatcaagaacaaaaatataatatta  
tttattaaggatattgaaaaactatagataaacaagttatttaagcacctatgtttttacaaattttacctgctggagagttttta  
ttttatcttttttcttaaaaaccagatataacctgacacattcacaagtgtcactttttctttatcgcgaaattatacattaaaaaca  
tgacaaaattagtaaaaaattaagttattttgaccatttaagaaactaaaatggtcataatgacatttataataaaacttaca  
tatttgccagaataaattgattattgtgaaattgtttattttgatataaattgataagattatggcttgagcgaatgaagcgggat  
ttctctctgctatcacaactagttatgcaactcctaactgcttctgcaatccaccattcctctctcacaaccctctcacaaca  
ggttctctacatttctctcatttcatattggagatctcagattttgttcttctcggacttcttgttacattcaagcatttttggg  
tttaattttttgttttataaaagcattttttcttactatgtaattgggttgatgcttttccatggtatgcaagaaagttcaattt  
gatgagtggttccaaccctttgtttgtagtaatagccctgtgtgaaatgtaagcctgtatttggggccagcctgtgtgaaagt  
ttggcatttgggtgtttgtgaagtagaaagggggaattgggtggaattggtttagtttgggacaaggacacagtgaaatg  
ag

>PvHSP70-22

atcatttaaaattctctacatcacaattactgtctttttgttttagtatgtgaattatcagcttattgtattttagtttctcaat  
ttaccacatcccaggtaataatcttttaattcctaaaattagttacacaatgtcaattaagagattaaagtagaaataaaatgctaa  
attcagaactaaaataactcataaataaattaaattcggagctaaaacgataaaatacagtaaaagctgggataaaaaattaataaa  
taaataatgataaagttatagttttacctaattttgaatttagtactttcaaaaactgttctttacctgtttgtgcgaccaacttagca  
cactgttgtttcgcggctgggctgcttcaattctaccaccaccaacaaccatcgtcttgcacctcagagtcattctacagttgt  
tcttggggattttgtgtttcattcacattcacacttaaaaggtaaaaacgattttgaatatatagattttgttgcattatgcacc  
cattttctttgattcttggcactggcttttacttttggaaaaagggttctcctaacaacgtgagaaactgttgaataacctgttgg  
gagagattaagcatagtgttgaagcaaaattgatcttggaaatgggaaacaaaaagtttagacaacagggtaacaaaacaat  
actatattcattctctatattggttgcattgacctgggctgaacagttatactatgttgcattcagttcaaaatggtcaatttt  
tcattttcatcaatgctattgttatcaatgtcatgatttagtttccatttgttgttttaattgtttgctttatgaaaacaagagagatt  
tattcattaatgctaagtagttaactctctatggactgtagtaacttaaacagtttagcttttcaacttccattatcagcttctacacc  
tctttctccaagcttctaccatgaaaagtagacatgctataaattatgtgttctgcatcaattataataaactatataata  
aattagttccaaaattatggattctagtaattagtatgaaattgtaaaagtataattggagtcataaagttggaggagtcattat  
aatattcagtaacaagaattaaattggcctaagatctagaactaaatatttgcatttttttaataatctagaattcatataacattttataa  
atataaaaaaacatattgataaatgattttattcaacaagagaatcattaataatgtattctttgttccactctggactctgctactct

atgtgtgtatgtgtgtatacacagtcgaatfttaattttaaataatggttttaattcttgaatctactttctgatatgtttctggtcactctac  
acaactcagcttatctctcaatcttaaataattatgatttaattactgtttaaagaaaaaatcagtttaagttgtaaaaaaaattgt  
attgttttttcatttttttaatttttagaaaftaaaccaatfttcttfaattattacttttatttttcatcttttgcctgaactftaattgt  
agaatgtcctaaaaaaactaaactctggagagcattatfaaaaagaaaaagggagagaattgggtgcttgcctgcggaagtatg  
agggtctaaacaaagftataatactatatttccattatgaatcttttaagaagcattttgttcagttatcgtatactcttgggtgaca  
agtttfgaaggaaaggccccgaacacacattcagagctttaccattactcaaggtaaaagttctgaatcaaacctcata  
tatctttctctgatcaagfacatgttctgtaaattgtttctatgactgacttacttgtttgaattgaaacattttagaatcactga  
aagaaa

>PvHSP70-23

aacacgactttacaccataaacgtattatattaatftaattttactatatacttaataattacgggtacattctaatttta  
ttgaaattattcattttctcactagaataaattattgaaggagaataagaaaatcttcaaaaatattgtttatataatattattt  
aattctcagggattataatgatggttcaaaaattagttttaaagatttaattgatttttatagtttttactttttgaaagtccaagta  
aatcaagaaaaattcattgcagactttctaggtttctctctttttcttcttataattataagaataagtttttttatattgacatgaa  
acttaaaaaatttgaaaataagtttgtctaattttttataccgtattaggcaatataataatftatacttctattatattgaaagaag  
gattagtttagccataaattfaaaataactaaaatattgttaactttttatcttttataatfttctgttcaaaattggtctttacattatta  
ttaaataataatgtaatttatataataagaactaaatftttttattgttaatttaagttgaaaaagaatattftaaatfttttattaac  
aataaactactcgttaaaaaatatttctttcaagggccgaaaagatatatacgagatctctgataatgttcgttcgattaatcct  
tcagataatttatftaacatgtaacaatfttaaatatgtagatattattgctaatttaaccttcattatttttaaatattttttattata  
tattatcattacaaaactaatttttagtaactaaaataaattagttattatattaattatfaaaatfttaacatatagtaattattttt  
aaaaataaataactatttaatatagtagaattgaattatcataaatttaattgtatctgcaaatatggataaaatftttttgacaattca  
aaatatttctgtaatttaaatatgctctttcaaaaatattagaaaatcgtattataagtccttaaaatatttgatactctttatttgacac  
gtgggagaacatttaatatggtaaattataftaaatatafatataactatttgggtatcttttttagtatatttttaattgaaaaataact  
tttaataaataaaaaacattttattftaataaaaataaacttaaatatttgttttttaaaataaataaataatctctgtttttgtttaa  
accagttacataacttttaataattttttacaaaataaattatattttttatttttaattaattattcataaaaaataaaagtaatat  
ttgtaataataaaaaatgtgaatacacattaattctataaaagaaactagctttaaactaattgagttatttacagtaaatatgt  
ttataactatattatccaactattttgttataattatctagtttaagtttaattaatttaataaaaacgtgtatataacatataat  
taattaaatgttctcgtgcgttgagcgggtaaaaagctagtttaggagtttaacaacaattggaaaaggctcactgaaatttaa  
atcagaacaccaaattccacaaaatctcatattttccccctttttttgtttgggtaaaactacaaactctacgatttctacgtttc  
attcatattccatcgttcaattttactgcttatgttcatgatgatggaacgttccacgtttttgaatgttgatttttctcaagttatc  
gttagtgcaagttgatttagttgtattgttattgttattgttagatgaatgggtgaatgacgagagatttttgattttttttcagatt  
gattttgttctgtttgggcggaattttgattgaggaag

>PvHSP70-24

ttgaattataaaaatgaaatttcaaaaatataaaaataaataagaatgaaagcaaaaggtttaataattaggtatg  
gattaacatattataaaaaataaataacaaaatacaaaactaataaataagaccaatacataactagataactaaagataaatta  
atcaacataaccataaattgaaaagaggactagaccgaagataattcaatttctatagtagtttaaaaaaaatcaatctgg  
tcccaagtttttaaaaaatgcaatttgattcctttgttagattgacattaattacattaagtggtgatgagttgacaacaatgtg  
acacattatgcatagatcagatccacatattatgcatgtttataaataattatatttttaacttttaaatattatctctccatgca  
taaacataatcccaacctattagcaaatattactattttatctatacaaaacttaatccaaactcataaatgaaatcacaactctta  
caagtttaatttctgtgatttccgtcttttggttatcaagcaaatatgatgtgatgttcaatccattattgttgcgttttgacattg  
gcgactagaagggaccaaaattgtatttttttaaaattgggaccaaaattgattttttcaaaaatcagtgtagtaaaattgaaatftaac  
cctaaatgtagagaaaaataaataaataaataaactacataaataatcaataagtaataaacaactggagataaataaatt  
acataaataaataaataaacaaccagtaactgaaaataaattttttacaaaataaataaataaataatgattagtagataaataa  
atataaataaataatataaaaaaacaaaatattataaatttaaaataaataaagtttaataaaacacacataaattcftaaat  
aatatataaagagtttaacatcaattccatacattgattggagtgcacactaaaattgttttttaagtcattgattacattatcact  
tttattttttttcttatttagaaggttatcttaataatttttttaataaataaataaattttattatattatattactatttttttt  
gttagtcacaatttttaaaaaaataatgtaattttttctaatattcaactttatttagataaaaatagatataatataatatttt  
tttaattttcagaaataatatttcaaaaataacatgttttaacattcttgtactatcaatccattttacttacacaaaatcttcgcttaac

aagttcttaaaattattgagatattatctaacatattaatttattatatttgaaaggattaaattaagaattatcttaataacttttaagg  
aaaaacatagtagagaaggaggattgaaaaaatggaaaaatgaaacggtgagtaatgagtggatttagtgcaatcaattggt  
ctgttatctaaaaggcacagaagacggtattgtctcggccaatagcgcgggagaatgacaaatacaatctatccaataagtaag  
aaaaggcgacggctcctgtcaacggtaagaatcttagtttaagcgcgtgggatagaacgcgtgccacgccaccgcggattc  
gaaatcggaattctggaaccacctagaggatgtaggagatccccacacccccacgaatactcgttttcccaactcc  
aattcattaagaaacctaataccaaccgtccaaaattctgatccaacgggtcacacctcacagaacctccagaattcgaact  
ggttcttaaaacacaccctccctcctcctcaattcattcaaatgccgtaagttttgattcctacccctagagttcgagttc  
agattccgtaggaaaacagttgtgagaagaat



## **EK 2 Tanımlanan miRNA'ların gösterilmesi**

<b>Bitki mRNA</b>	<b>Hedef Gen</b>	<b>miRNA fragmentleri</b>	<b>Hedef fragmentler</b>
<i>Acacia auriculiformis</i>			
aau-miR396	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Arabidopsis lyrata</i>			
aly-miR156d-3p	Pv-HSP70-9	GCUCACUCUCUUUCUGUCAU	AGGAUGGAGAGAGGGUGAGC
aly-miR396a-5p, aly-miR396b-5p	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
aly-miR397a-5p, aly-miR397b-5p	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Avicennia marina</i>			
ama-miR396-5p	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Acacia mangium</i>			
amg-miR396	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Aquilegia caerulea</i>			
aqc-miR396a, aqc-miR396b	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Aegilops tauschii</i>			
ata-miR156a-3p, ata-	Pv-HSP70-9	GCUCACCCUCUCUCUGUCAG	AGGAUGGAGAGAGGGUGAGC

miR156e-3p			
ata-miR396c-5p, ata-miR396e-5p	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Arabidopsis thaliana</i>			
ath-miR173-3p	Pv-HSP70-22	UGAUUCUCUGUGUAAGCGAAA	UGUGGCUUUCACAGAGAAUCA
ath-miR396a-5p, ath-miR396b-5p	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
ath-miR397a, ath-miR397b	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
ath-miR414	Pv-HSP70-23	UCAUCUUCAUCAUCAUCGUCA	UUAUGAUGAGGGUGAAGAUGA
ath-miR414	Pv-HSP70-6	UCAUCUUCAUCAUCAUCGUC	UAUGAAGAUGGUGAAGAUGA
ath-miR5632-3p	Pv-HSP70-8	UUGGAUUUAUAGUUGGAUAAAG	UUUGUUGAAUUAUGAAUCCAA
ath-miR865-3p	Pv-HSP70-5	UUUUUCCUCAAAUUUAUCCA	UGGAUGAAUUUGAGGACAAG
<i>Amborella trichopoda</i>			
atr-miR396b, atr-miR396c, atr-miR396d, atr-miR396e	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
atr-miR397b	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGGU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Bruguiera cylindrica</i>			
bcy-miR396a, bcy-miR396b	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Brachypodium distachyon</i>			

bdi-miR156g-3p, bdi-miR156i-3p	Pv-HSP70-9	GCUCACCCUCUCUCUGUCAG	AGGAUGGAGAGAGGGUGAGC
bdi-miR160e-3p	Pv-HSP70-19	GCAUUGAGGGAGUCAUGCAGG	UCUGCAGGACUUCUCAAUGG
bdi-miR396c-5p, bdi-miR396d-5p, bdi-miR396e-5p	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
bdi-miR397a	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
bdi-miR5056	Pv-HSP	AGGAAGAACCGUAAUAAGC	UCUUAUUCUUGGUUCUCCU
bdi-miR7760-5p	Pv-HSP70-3	CAGCGGACAGAAUGGAGCAAG	CUUGCUCGGUUCUCUCCGCCG
<i>Bruguiera gymnorhiza</i>			
bgym-miR396a, bgym-miR396b	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Brassica napus</i>			
bnamiR396a	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
bnamiR397a, bnamiR397b	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Brassica rapa</i>			
bramiR396-5p	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Cynara cardunculus</i>			
ccamiR396a-5p	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Citrus clementina</i>			

ccl-miR396	Pv- HSP70- 5	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Cucumis melo</i>			
cme- miR396a, cme- miR396b, cme- miR396c, cme- miR396d	Pv- HSP70- 5	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
cme- miR397	Pv- HSP70- 23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Carica papaya</i>			
cpa- miR396	Pv- HSP70- 5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Citrus sinensis</i>			
csi- miR396a, csi- miR396b	Pv- HSP70- 5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
csi-miR397	Pv- HSP70- 23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Digitalis purpurea</i>			
dpr- miR396	Pv- HSP70- 5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Gossypium hirsutum</i>			
ghr- miR396a, ghr- miR396b	Pv- HSP70- 5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Glycine max</i>			
gma- miR2108b	Pv- HSP70- 6	UUA AUGUGUUGUGUUUGUGA	UCACAAACACAA-AUAUAA
gma- miR396a- 5p, gma- miR396b- 5p, gma- miR396c, gma- miR396e, gma-	Pv- HSP70- 5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG

miR396i-5p, gma-miR396k-5p			
gma-miR396f	Pv-HSP70-21	AGCUUUCUUGAACUUCUUAUG	UGUGAGAAGUUGAAGAAGGUU
gma-miR396j	Pv-HSP70-19	AUUCAAGAUAGCUGUGGAAA	UUUUCAUUGCUGUUUUGAAU
gma-miR397a, gma-miR397b-5p	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Gossypium raimondii</i>			
gra-miR7494c	Pv-HSP70-9	AUGGAGGAAAACAGAGGGAGAAG	CAUUUCCUCUGUUCUCUCCAUC
gra-miR8748	Pv-HSP70-15	UCGGUGGAGAUGGAUAAAUG	CAUUCUAUCCAUUUCUGCUGA
<i>Hevea brasiliensis</i>			
hbr-miR396b	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Lotus japonicus</i>			
lja-miR396	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Linum Usitatissimum</i>			
lus-miR396a, lus-miR396b, lus-miR396c, lus-miR396e	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
lus-miR397b	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Malus domestica</i>			
mdm-miR396b, mdm-miR396c, mdm-miR396d, mdm-	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG

miR396e			
<i>Manihot esculenta</i>			
mes-miR396a, mes-miR396b, mes-miR396c, mes-miR396d, mes-miR396e	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
mes-miR396f	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Medicago truncatula</i>			
mtr-miR2632a, mtr-miR2632b, mtr-miR2632c	Pv-HSP70-2	CCUGAAGUUACUAAUCCUCCA	UGGAAGGAGCAGUGGCUUCAGG
mtr-miR396a-5p, mtr-miR396b-5p	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
mtr-miR397-5p	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
mtr-miR5298b, mtr-miR5298c	Pv-HSP70-13	UGAUGGAGAUGAUAUGAAGAUG	CUUCUUCUUAUUCUCUCCGUCA
<i>Nicotiana tabacum</i>			
nta-miR396a, nta-miR396b, nta-miR396c	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
nta-miR6156	Pv-HSP70-3	UUGAAGAU-GUUCUAUUUCUGU	GCAAAAAUAGAACUAUCUUCAA
<i>Oryza sativa</i>			
osa-miR160f-	Pv-HSP70-	GCAUUGAGGGAGUCAUGCAGG	UCUGCAGGACUUCUUCAAUGG

3p	19		
osa-miR396a-5p, osa-miR396b-5p, osa-miR396c-5p	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
osa-miR397a, osa-miR397b	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
osa-miR5805	Pv-HSP70-19	ACGAGUGAUGGCGGCGUAUA	UCUACUCCACCAUCACUCGU
<i>Picea abies</i>			
pab-miR396a	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Prunus persica</i>			
ppe-miR396b	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
ppe-miR397	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
ppe-miR6281	Pv-HSP70-13	GUUAGAGAUAGAGAGAGUGAG	CUCACUCUCUCUAUCUCUCAA
<i>Physcomitrella patens</i>			
ppt-miR1030a, ppt-miR1030b, ppt-miR1030c, ppt-miR1030d, ppt-miR1030e, ppt-miR1030f, ppt-miR1030g, ppt-miR1030h	Pv-HSP70-19	UCUGCAUCUGCACCUGCACCA	UGGUGCAGGUGGUGAUGUGGA
<i>Pinus taeda</i>			
pta-miR396	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Populus trichocarpa</i>			

ptc-miR396a, ptc-miR396b, ptc-miR396c, ptc-miR396d, ptc-miR396e-5p	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
ptc-miR397a	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
ptc-miR475d-3p	Pv-HSP70-13	UUACAGAGUCCAUGAUUAA	CUAAUCAGGGGACUUUGUAA
<i>Ricinus communis</i>			
rco-miR396	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
rco-miR397	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Sorghum bicolor</i>			
sbi-miR396a, sbi-miR396b, sbi-miR396c	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
sbi-miR397-5p	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
sbi-miR6232a-5p	Pv-HSP70-9	GUCGCUUUGACUUUUUUGGU	ACCAGAAAAGUCAAGCCAU
<i>Solanum lycopersicum</i>			
sly-miR396a-5p, sly-miR396b	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Saccharum officinarum</i>			
sof-miR396	Pv-HSP70-5	UCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Salvia sclarea</i>			

ssl-miR396	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
ssl-miR397	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Saccharum sp.</i>			
ssp-miR396	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
<i>Solanum tuberosum</i>			
stu-miR396-5p	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	AAGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
stu-miR4376-3p	Pv-HSP70-11	GCAUCAUACUCCUGCAUAUU	AAUAUGUAGUAGUAUU AUGC
stu-miR8030-5p	Pv-HSP70-6	UUGGGUUGGUUUGGUCUCGGGUU	GGCCCCAGACCAAACU AACUCA
stu-miR8041a-5p, stu-miR8041b-5p	Pv-HSP70-23	GUGCUUUGCUAUUUUCAUUG	CAGUGCAAUAGUGAGGCAC
<i>Theobroma cacao</i>			
tcc-miR396a, tcc-miR396b, tcc-miR396c, tcc-miR396e	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
tcc-miR397	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA
<i>Vitis vinifera</i>			
vvi-miR396a, vvi-miR396b, vvi-miR396c, vvi-miR396d	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
vvi-miR397a	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGUGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA

<i>Zea mays</i>			
zma-miR396a-5p, zma-miR396b-5p, zma-miR396e-5p, zma-miR396f-5p	Pv-HSP70-5	UUCCACAGCUUUCUUGAACU	AGAUUGAGAAGGCUGUGGAG
zma-miR397a-5p, zma-miR397b-5p	Pv-HSP70-23	UCAUUGAGCGCAGCGUUGAU	AUUGACGUUGUGCUCAAUGA



### EK 3 Tanımlanan motifler

Motif Numarası	Bölge	E-değeri	Motif Composition	Boyutu (aa)	Domain
1	23	2.2e-715	VK[NDK]AV[VI]TVPAYFND[SA]QRQAT[KL]DA[GA][TV]IAGLNV[LM]R[IL]INEPTAAA[LI]AYGLDK[KR]	50	HS P70
2	22	2.9e-612	FDLGGGTFDVS[LI]LTI[EK][EG][GD][VI]F[EK]V[KL]ATAGDTHLGGEDFDNR[ML]VN[HY][FL][VA]Q[EK]FKR	50	HS P70
3	24	1.7e-571	RA[RKE]FEELNMDL[FL][ER][RK]CME[PT]V[ED]K[CA]L[RV]D[AS]K[ML][DS]K[SK]D[V I][DH][DE]V[VE]LVGGS[TS]R[IV]P[KA]VQQ	50	HS P70
4	22	2.2e-314	AAKNQ[AV]AMNP[TEI]NT[VI]FD[AV]KRLIGR[RK][FY]SDPI	29	HS P70
5	18	2.0e-378	PLSLG[IL][ES]T[AL]G[GD][VL]M[TS]V[LV]IPRNTTIP[TV]KK[ES][QE]V[FY]ST[YA][SA]D[NF]Q[PTS][GS]V[LS]	42	HS P70
6	21	2.4e-287	[EQ][HQ]DRVE[IV]IAND[QE]GNRTTPS[YV]VAFT[DE][KNT][QE]RL	29	HS P70
7	22	2.7e-282	[NY]K[KIV]DIS[GK][ND]P[PK]ALRRLRTA[CA]E[KR]AKRTLSS[TN]	29	HS P70
8	24	2.8e-248	GK[ED][LP]C[KR]S[IV]N[PA]DEAVAYGAA[VIL]Q	21	HS P70
9	24	2.1e-253	[KG][RQ][LF]S[AP]E[EQ]IS[SA]M[VI][LQ]T[KA][ME][KR][EY][KI]AE	21	NA
10	18	6.9e-293	I[QK]V[YFL][EQ]GER[TAE]R[AT][RS]DN[NK]LLG[KS]FEL[SY]GIPPAPRGVP	33	HS P70
11	15	2.5e-211	Q[SD]D[LM]KLWPFKV[IV][AP][GD][PS][DG]DKPMI[AV]V[SN]YKG[EQ]E	29	HS P70
12	16	7.5e	V[CT]FDIDA[ND]GI[LV][NT]VSAEDK[ST]TG[KQ]K[NQ]KITIT	29	HS P7

		- 21 2			0
13	19	1. 7e - 20 5	[KT][GK][KE][GE][KP][AV][IV]GIDLGTT[YN]SCV[AG]V[WM]	21	HS P7 0
14	12	3. 6e - 15 9	K[KT]KI[EN][DM]A[IV][EA][EQ][AT][I][QEK][WL]LD[AS]NQ[LQ][AGT]E[AT][DE][EV]F[E V]D[KH][ML]KE[LV][EK]S[LI][CI]NPI[IM]	41	HP S7 0
15	17	9. 7e - 10 8	H[KE]K[KT][VK][ED]AKN[AS]LENY[AV]YNMRN[TK]	21	HS P7 0
16	14	1. 0e - 09 5	[AV]QTTIE[ILV]D[SA]L[YFS][EG][GS][IV]D[FL]Y[SA][TS][IL][TS]	21	NA
17	9	6. 0e - 06 5	AAILSGEG[ND][EK]KV[QE]DLLLLDV[TM]	21	NA
18	5	1. 4e - 02 5	G[EGV]D[EAV][TN][AKE][GDNT][AVE][YF][ISQ][AES][KR]L[EAD][DEQ]LK[KAQ][LQV] [GV]DP[IV][EF][EGLNY]R[YFL][KN][ED][EFLRY][TEKM][EA]R[GPQV][QSA][AI][IKTV][ EDR][QD][LFG][ILRSV][KYS][CY]I	44	HS P7 0
19	4	1. 5e - 02 9	[QNS][DE]K[EQ][KL][VI][IL]N[EA]C[NLV][EK]AE[KQ]W[LF][RKT]E[KM][IKQR][QL]QQI DEN][LPST][LFY]PK[NY][AITV][DNS]P[VI]L[LIW]S[ASV][DE][REK][KS]K[AT]E	45	NA
20	4	1. 1e - 02 8	[LP][GQ]T[PS][AP]KI[SC][CT][YFV]TIGPF[HQ][GST][SAT][HKN][GAS][ES][KR][AST][KR ][IV][KE]V[RKQ]V[RQS]L[ND][LFI]HGI[VIL][SGN][IL]ES	41	HS P7 0

#### **EK 4 PvHSP70 genlerinin cis-acting elementleri**

<b>Cis Elementler</b>	<b>Kategori</b>	<b>PvHSP70-1</b>	<b>PvHSP70-2</b>	<b>PvHSP70-3</b>	<b>PvHSP70-4</b>	<b>PvHSP70-5</b>	<b>PvHSP70-6</b>
AAGAA-motif	Gelişim	1	1	1	1	1	1
AC-II	Gelişim	0	0	0	0	1	0
CAT-box	Gelişim	0	0	0	0	1	0
CCAAT-box	Gelişim	1	0	0	0	0	0
circadian	Gelişim	1	1	0	1	1	1
GCN4_motif	Gelişim	0	0	0	0	0	0
HD-Zip 1	Gelişim	0	1	0	0	0	0
HD-Zip 2	Gelişim	0	1	0	0	0	0
HD-Zip 3	Gelişim	0	1	0	0	0	0
MBSI	Gelişim	0	1	0	0	0	0
MSA-like	Gelişim	0	0	0	0	0	0
O2-site	Gelişim	0	1	0	1	1	1
OCT	Gelişim	0	0	0	0	0	0
RY-element	Gelişim	0	0	0	0	0	0
Skn-1_motif	Gelişim	1	1	1	1	1	1
TA-rich region	Gelişim	0	0	0	0	1	0
ARE	Çevresel Stres	1	0	1	1	0	1
Box-W1	Çevresel Stres	0	0	0	1	0	0
HSE	Çevresel Stres	0	0	1	1	1	1
LTR	Çevresel Stres	0	0	1	0	0	1
MBS	Çevresel Stres	1	0	0	1	1	1
TC-rich repeats	Çevresel Stres	1	1	1	1	1	1
W box	Çevresel Stres	0	0	0	1	0	0
WUN-motif	Çevresel Stres	0	0	0	0	0	0
ABRE	Hormon	0	0	1	0	0	1
AuxRR-core	Hormon	0	0	0	0	0	0
CE3	Hormon	0	0	0	0	0	0
CGTCA-motif	Hormon	0	1	1	1	0	0
ERE	Hormon	0	1	1	1	1	0
GARE-motif	Hormon	0	0	0	0	0	1
P-box	Hormon	1	0	0	0	0	1
TATC-box	Hormon	0	0	0	0	0	0
TCA-element	Hormon	1	1	1	0	0	1

TGACG-motif	Hormon	0	1	1	1	0	0
TGA-element	Hormon	1	0	1	0	0	0
3-AF1 binding site	Işık	1	1	0	0	0	1
3-AF3 binding site	Işık	0	0	0	0	0	0
AAAC-motif	Işık	0	0	1	0	0	0
ACE	Işık	0	1	0	1	0	0
AE-box	Işık	1	1	1	0	0	1
as-2-box	Işık	0	1	0	0	0	0
AT1-motif	Işık	0	1	1	0	1	0
ATCC-motif	Işık	0	0	0	0	1	0
ATC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
ATCT-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
Box 4	Işık	1	1	1	0	1	1
Box I	Işık	0	1	1	1	1	0
Box II	Işık	0	1	0	0	0	0
Box III	Işık	0	0	0	0	1	0
CATT-motif	Işık	0	0	0	1	1	0
chs-CMA1a	Işık	1	0	1	0	0	1
chs-CMA2a	Işık	0	0	0	1	0	0
GAG-motif	Işık	0	1	0	0	1	1
GA-motif	Işık	1	0	0	0	1	1
Gap-box	Işık	1	0	0	0	0	0
GATA-motif	Işık	0	1	0	0	1	1
G-box	Işık	2	0	2	1	1	2
GT1-motif	Işık	0	1	0	1	1	1
GTGGC-motif	Işık	1	0	0	0	0	0
I-box	Işık	1	0	1	0	0	0
LAMP-element	Işık	0	0	1	1	0	0
L-box	Işık	0	0	0	0	0	0
MNF1	Işık	0	0	0	0	0	0
MRE	Işık	1	1	1	1	0	0
Sp1	Işık	0	0	1	0	1	0
TCCC-motif	Işık	0	0	0	0	1	0
TCT-motif	Işık	0	1	1	0	0	0
TGGCA-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
ATGCAAAT motif	Diğer	0	0	0	0	0	0

CTAG-motif	Diğer	0	0	0	0	0	0
F-box	Diğer	0	0	0	0	0	0
GCC box	Diğer	0	0	0	0	0	0
TATCCAT/C-motif	Diğer	0	1	0	0	1	1
TCCACCT-motif	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__10	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__11	Diğer	0	0	1	0	0	0
Unnamed__12	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__13	Diğer	1	0	0	0	0	0
Unnamed__14	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__2	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__3	Diğer	1	0	0	1	1	0
Unnamed__4	Diğer	1	1	1	1	1	1
Unnamed__5	Diğer	1	0	0	0	0	0
Unnamed__8	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__9	Diğer	0	0	0	0	0	0
5UTR Py-rich stretch	Promoter ilişkili	0	0	0	0	0	0
A-box	Promoter ilişkili	0	0	0	1	0	0
CAAT-box	Promoter ilişkili	1	1	1	1	1	1
CCGTC-box	Promoter ilişkili	0	0	0	1	0	0
TATA-box	Promoter ilişkili	1	1	1	1	1	1
AT-rich element	Site binding	0	0	0	0	0	1
MBSII	Site binding	0	0	0	0	0	0
Unnamed__1	Site binding	1	0	1	1	1	0
Unnamed__6	Site binding	0	0	1	1	0	1
<b>Cis Elementler</b>	<b>Kategori</b>	<b>PvHSP70-7</b>	<b>PvHSP70-8</b>	<b>PvHSP70-9</b>	<b>PvHSP70-10</b>	<b>PvHSP70-11</b>	<b>PvHSP70-12</b>
AAGAA-motif	Gelişim	0	1	1	1	1	0
AC-II	Gelişim	0	1	0	0	0	0
CAT-box	Gelişim	0	0	0	1	0	0
CCAAT-box	Gelişim	0	0	0	0	0	0
circadian	Gelişim	1	1	0	1	1	1
GCN4_motif	Gelişim	1	0	1	1	1	1
HD-Zip 1	Gelişim	0	1	0	0	0	0

HD-Zip 2	Gelişim	0	1	0	0	0	0
HD-Zip 3	Gelişim	0	0	0	0	0	0
MBSI	Gelişim	0	0	0	0	0	0
MSA-like	Gelişim	0	0	0	0	0	0
O2-site	Gelişim	0	0	0	1	1	1
OCT	Gelişim	0	0	0	0	0	0
RY-element	Gelişim	0	0	0	0	0	0
Skn-1_motif	Gelişim	1	1	1	1	1	1
TA-rich region	Gelişim	1	0	1	1	0	0
ARE	Çevresel Stres	0	0	0	0	1	1
Box-W1	Çevresel Stres	1	1	0	0	1	0
HSE	Çevresel Stres	1	0	0	1	1	1
LTR	Çevresel Stres	0	1	0	0	0	0
MBS	Çevresel Stres	1	0	1	0	0	1
TC-rich repeats	Çevresel Stres	1	1	1	1	1	1
W box	Çevresel Stres	1	1	0	0	1	0
WUN-motif	Çevresel Stres	0	0	0	0	0	0
ABRE	Hormon	1	0	1	0	1	1
AuxRR-core	Hormon	0	0	1	0	0	1
CE3	Hormon	0	0	0	1	0	0
CGTCA-motif	Hormon	1	1	0	1	1	0
ERE	Hormon	1	0	0	0	1	0
GARE-motif	Hormon	0	0	1	0	0	0
P-box	Hormon	0	0	0	1	0	0
TATC-box	Hormon	0	0	0	0	0	1
TCA-element	Hormon	0	0	0	0	1	1
TGACG-motif	Hormon	1	1	0	1	1	0
TGA-element	Hormon	0	1	0	0	0	1
3-AF1 binding site	Işık	0	0	0	1	1	0
3-AF3 binding site	Işık	0	0	0	0	0	0
AAAC-motif	Işık	1	0	0	0	0	0
ACE	Işık	1	0	1	0	1	1
AE-box	Işık	0	0	1	1	1	0
as-2-box	Işık	0	1	0	0	0	0
AT1-motif	Işık	1	1	1	0	0	1
ATCC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0

ATC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
ATCT-motif	Işık	0	1	1	1	0	0
Box 4	Işık	1	1	1	1	1	1
Box I	Işık	1	1	1	0	1	0
Box II	Işık	1	0	0	0	1	1
Box III	Işık	0	0	0	0	0	0
CATT-motif	Işık	1	1	0	0	0	0
chs-CMA1a	Işık	0	1	0	0	0	0
chs-CMA2a	Işık	0	0	0	0	0	0
GAG-motif	Işık	0	0	0	1	0	0
GA-motif	Işık	1	0	0	1	0	1
Gap-box	Işık	0	0	0	0	0	1
GATA-motif	Işık	0	1	0	1	0	0
G-box	Işık	2	0	2	1	2	2
GT1-motif	Işık	1	0	1	0	0	0
GTGGC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
I-box	Işık	0	1	1	1	0	1
LAMP-element	Işık	0	0	0	1	1	0
L-box	Işık	1	0	0	0	0	0
MNF1	Işık	0	1	0	0	0	0
MRE	Işık	0	1	0	0	0	0
Sp1	Işık	1	1	0	0	1	0
TCCC-motif	Işık	0	0	0	0	0	1
TCT-motif	Işık	1	0	1	0	1	0
TGGCA-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
ATGCAAAT motif	Diğer	0	0	0	0	1	0
CTAG-motif	Diğer	0	0	0	0	0	0
F-box	Diğer	1	0	0	0	0	0
GCC box	Diğer	0	0	0	0	0	1
TATCCAT/C-motif	Diğer	0	0	0	1	1	0
TCCACCT-motif	Diğer	0	0	0	0	0	1
Unnamed__10	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__11	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__12	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__13	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__14	Diğer	0	0	0	0	0	0

Unnamed__2	Diğer	0	0	1	0	0	0
Unnamed__3	Diğer	1	0	0	0	1	1
Unnamed__4	Diğer	1	1	1	1	1	1
Unnamed__5	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__8	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__9	Diğer	0	0	0	0	0	0
5UTR Py-rich stretch	Promoter İlişkili	0	1	0	1	0	1
A-box	Promoter İlişkili	0	0	0	0	0	0
CAAT-box	Promoter İlişkili	1	1	1	1	1	1
CCGTCC-box	Promoter İlişkili	0	0	0	0	0	0
TATA-box	Promoter İlişkili	1	1	1	1	1	1
AT-rich element	Site binding	1	0	0	0	0	0
MBSII	Site binding	0	1	1	0	0	0
Unnamed__1	Site binding	1	0	0	0	1	1
Unnamed__6	Site binding	1	0	0	0	1	1
<b>Cis Elementler</b>	<b>Kategori</b>	<b>PvHSP70-13</b>	<b>PvHSP70-14</b>	<b>PvHSP70-15</b>	<b>PvHSP70-16</b>	<b>PvHSP70-17</b>	<b>PvHSP70-18</b>
AAGAA-motif	Gelişim	1	1	1	0	1	1
AC-II	Gelişim	0	0	0	0	0	0
CAT-box	Gelişim	0	0	0	0	0	1
CCAAT-box	Gelişim	0	1	0	0	0	0
circadian	Gelişim	1	0	1	0	0	1
GCN4_motif	Gelişim	0	0	0	1	0	0
HD-Zip 1	Gelişim	0	0	0	0	0	1
HD-Zip 2	Gelişim	0	0	0	0	0	1
HD-Zip 3	Gelişim	0	0	1	0	0	0
MBSI	Gelişim	0	0	0	0	0	0
MSA-like	Gelişim	0	1	0	0	0	0
O2-site	Gelişim	0	1	0	0	1	0
OCT	Gelişim	0	0	0	0	0	0
RY-element	Gelişim	0	0	0	0	0	0
Skn-1_motif	Gelişim	1	1	1	1	1	1
TA-rich region	Gelişim	1	0	0	0	0	0
ARE	Çevresel Stres	1	0	1	1	1	1
Box-W1	Çevresel Stres	0	0	0	0	1	0

HSE	Çevresel Stres	1	0	0	1	1	1
LTR	Çevresel Stres	0	0	0	0	0	0
MBS	Çevresel Stres	1	0	1	1	1	1
TC-rich repeats	Çevresel Stres	0	0	1	1	1	1
W box	Çevresel Stres	0	0	0	0	1	0
WUN-motif	Çevresel Stres	0	0	0	0	0	0
ABRE	Hormon	1	1	1	0	0	0
AuxRR-core	Hormon	0	0	0	0	0	0
CE3	Hormon	0	0	0	0	0	0
CGTCA-motif	Hormon	1	1	0	0	0	0
ERE	Hormon	1	0	0	0	0	0
GARE-motif	Hormon	0	0	1	0	0	1
P-box	Hormon	0	0	0	0	0	0
TATC-box	Hormon	0	1	0	0	0	0
TCA-element	Hormon	1	0	1	0	0	1
TGACG-motif	Hormon	1	1	0	0	0	0
TGA-element	Hormon	0	0	1	0	0	0
3-AF1 binding site	Işık	0	0	1	0	1	1
3-AF3 binding site	Işık	0	0	0	0	0	1
AAAC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
ACE	Işık	1	1	0	0	0	0
AE-box	Işık	0	1	1	0	0	1
as-2-box	Işık	1	0	0	0	0	0
AT1-motif	Işık	0	0	1	0	0	0
ATCC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
ATC-motif	Işık	0	0	0	0	0	1
ATCT-motif	Işık	1	0	0	0	0	0
Box 4	Işık	1	1	1	1	1	1
Box I	Işık	1	0	1	1	1	1
Box II	Işık	1	1	0	0	0	0
Box III	Işık	0	0	0	0	1	1
CATT-motif	Işık	1	0	0	0	0	0
chs-CMA1a	Işık	0	0	0	0	0	0
chs-CMA2a	Işık	0	0	0	1	0	0
GAG-motif	Işık	1	0	1	0	0	0
GA-motif	Işık	0	1	1	0	0	0

Gap-box	Işık	0	0	0	0	1	0
GATA-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
G-box	Işık	2	2	2	0	1	0
GT1-motif	Işık	1	0	1	0	1	0
GTGGC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
I-box	Işık	1	1	1	0	1	0
LAMP-element	Işık	0	1	0	0	0	0
L-box	Işık	0	0	0	0	0	0
MNF1	Işık	0	0	0	0	0	0
MRE	Işık	0	1	1	0	0	0
Sp1	Işık	0	0	0	0	0	0
TCCC-motif	Işık	0	1	1	0	0	0
TCT-motif	Işık	1	1	1	0	1	1
TGGCA-motif	Işık	0	1	0	0	0	0
ATGCAAAT motif	Diğer	1	0	0	1	1	0
CTAG-motif	Diğer	0	0	0	0	0	0
F-box	Diğer	0	0	0	0	0	0
GCC box	Diğer	0	0	0	0	0	0
TATCCAT/C-motif	Diğer	1	0	0	0	1	0
TCCACCT-motif	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__10	Diğer	0	1	0	0	0	0
Unnamed__11	Diğer	0	1	1	0	1	0
Unnamed__12	Diğer	0	1	0	0	0	0
Unnamed__13	Diğer	0	0	0	1	0	0
Unnamed__14	Diğer	0	1	0	0	0	0
Unnamed__2	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__3	Diğer	1	1	0	0	0	0
Unnamed__4	Diğer	1	1	1	1	1	1
Unnamed__5	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__8	Diğer	0	1	0	1	0	0
Unnamed__9	Diğer	0	1	0	0	0	0
5UTR Py-rich stretch	Promoter ilişkili	1	1	1	1	0	1
A-box	Promoter ilişkili	0	1	0	0	0	0
CAAT-box	Promoter ilişkili	1	1	1	1	1	1

CCGTCC-box	Promoter İlişkili	0	1	0	0	0	0
TATA-box	Promoter İlişkili	1	1	1	1	1	1
AT-rich element	Site binding	1	0	1	0	1	1
MBSII	Site binding	0	0	0	0	0	0
Unnamed__1	Site binding	1	1	0	0	0	0
Unnamed__6	Site binding	1	0	1	0	1	0
<b>Cis Elementler</b>	<b>Kategori</b>	<b>PvHSP70-19</b>	<b>PvHSP70-20</b>	<b>PvHSP70-21</b>	<b>PvHSP70-22</b>	<b>PvHSP70-23</b>	<b>PvHSP70-24</b>
AAGAA-motif	Gelişim	1	1	1	1	0	0
AC-II	Gelişim	1	0	0	0	0	0
CAT-box	Gelişim	0	0	0	0	0	0
CCAAT-box	Gelişim	0	1	0	0	0	1
circadian	Gelişim	1	0	0	1	1	0
GCN4_motif	Gelişim	1	0	1	0	0	0
HD-Zip 1	Gelişim	0	0	0	0	0	0
HD-Zip 2	Gelişim	0	0	0	0	0	0
HD-Zip 3	Gelişim	0	0	0	0	0	1
MBSI	Gelişim	0	0	0	0	0	0
MSA-like	Gelişim	0	0	0	0	0	1
O2-site	Gelişim	0	1	0	0	0	0
OCT	Gelişim	0	1	0	0	0	0
RY-element	Gelişim	0	0	0	0	1	0
Skn-1_motif	Gelişim	0	1	1	1	1	1
TA-rich region	Gelişim	0	0	0	0	0	1
ARE	Çevresel Stres	0	0	1	1	0	1
Box-W1	Çevresel Stres	0	0	1	1	0	0
HSE	Çevresel Stres	1	1	1	1	1	0
LTR	Çevresel Stres	0	1	1	0	1	0
MBS	Çevresel Stres	0	0	1	1	1	1
TC-rich repeats	Çevresel Stres	1	1	1	1	1	1
W box	Çevresel Stres	0	0	1	1	0	0
WUN-motif	Çevresel Stres	1	0	0	0	1	0
ABRE	Hormon	1	0	0	0	1	0
AuxRR-core	Hormon	0	0	0	0	0	0
CE3	Hormon	0	0	0	0	0	0
CGTCA-motif	Hormon	0	0	1	0	1	0

ERE	Hormon	0	0	0	0	0	1
GARE-motif	Hormon	0	0	0	0	1	0
P-box	Hormon	1	0	1	0	0	0
TATC-box	Hormon	0	0	0	0	0	1
TCA-element	Hormon	0	1	1	0	0	1
TGACG-motif	Hormon	0	0	1	0	1	0
TGA-element	Hormon	0	0	0	0	0	1
3-AF1 binding site	Işık	0	1	0	1	1	0
3-AF3 binding site	Işık	0	0	0	0	0	0
AAAC-motif	Işık	0	0	0	1	0	0
ACE	Işık	1	0	0	1	1	1
AE-box	Işık	0	1	0	1	1	1
as-2-box	Işık	0	0	0	0	0	0
AT1-motif	Işık	0	1	1	0	1	0
ATCC-motif	Işık	0	0	0	0	0	1
ATC-motif	Işık	0	0	0	1	0	0
ATCT-motif	Işık	0	0	0	0	1	1
Box 4	Işık	1	1	1	1	1	1
Box I	Işık	0	1	0	0	1	1
Box II	Işık	0	0	0	0	0	0
Box III	Işık	0	1	0	0	0	0
CATT-motif	Işık	1	0	1	0	0	0
chs-CMA1a	Işık	0	0	0	0	0	0
chs-CMA2a	Işık	0	0	0	1	0	0
GAG-motif	Işık	1	0	1	1	0	0
GA-motif	Işık	0	1	1	1	0	1
Gap-box	Işık	0	0	0	1	0	0
GATA-motif	Işık	1	0	0	0	0	0
G-box	Işık	2	0	0	2	2	0
GT1-motif	Işık	0	1	0	1	1	1
GTGGC-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
I-box	Işık	0	1	1	1	1	0
LAMP-element	Işık	0	0	0	0	0	0
L-box	Işık	0	0	0	0	0	0
MNF1	Işık	0	0	0	0	0	0
MRE	Işık	1	1	0	0	0	1

Sp1	Işık	0	0	1	0	1	0
TCCC-motif	Işık	0	0	0	1	0	0
TCT-motif	Işık	1	1	1	0	0	1
TGGCA-motif	Işık	0	0	0	0	0	0
ATGCAAAT motif	Diğer	0	0	1	0	0	0
CTAG-motif	Diğer	0	0	1	0	0	0
F-box	Diğer	0	0	0	0	0	0
GCC box	Diğer	0	0	0	0	0	0
TATCCAT/C-motif	Diğer	0	0	0	1	1	0
TCCACCT-motif	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__10	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__11	Diğer	1	0	0	0	0	0
Unnamed__12	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__13	Diğer	0	0	0	1	0	0
Unnamed__14	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__2	Diğer	0	0	0	0	0	1
Unnamed__3	Diğer	1	0	0	0	1	1
Unnamed__4	Diğer	1	1	1	1	1	1
Unnamed__5	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__8	Diğer	0	0	0	0	0	0
Unnamed__9	Diğer	0	0	0	0	0	0
5UTR Py-rich stretch	Promoter ilişkili	0	1	0	1	0	1
A-box	Promoter ilişkili	0	0	0	0	0	1
CAAT-box	Promoter ilişkili	1	1	1	1	1	1
CCGTCC-box	Promoter ilişkili	0	0	0	0	0	1
TATA-box	Promoter ilişkili	1	1	1	1	1	0
AT-rich element	Site binding	1	0	0	1	0	0
MBSII	Site binding	0	0	0	0	0	0
Unnamed__1	Site binding	1	0	0	0	1	1
Unnamed__6	Site binding	1	0	0	0	0	1

## ÖZGEÇMİŞ

İsim : Mehmet TANRISEVEN  
Doğum Tarihi : 01 Şubat 1991  
Doğduğu Yer : Ankara / TÜRKİYE  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dil : İngilizce

### **Eğitim Durumu**

Lise : Selahattin Akbilek Lisesi (2009)  
Lisans : Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü  
(Temmuz 2013)  
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim  
Dalı (Eylül 2014 - Şubat 2020)

### **SCI Dergi Yayınlar**

1. Büyük İ., İnal B., İlhan E., **Tanrıseven M.**, Aras S., Erayman M. Genome-wide identification of salinity responsive HSP70s in common bean. Molecular Biology Reports, 2016, DOI 10.1007/s11033-016-4057-0

### **Ulusal Kongre Sunum**

1. Ağır Metal ve UV Stresine Maruz Kalmış Ayçiçeği Bitkisinde HSP 17.7 Geninin Anlatım Seviyelerinin Belirlenmesi İlker Büyük1, Demet Cansaran-Duman2, **Mehmet Tanrıseven1**, Sümer Aras1 Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji A.B.D, ANKARA Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA 1. Ulusal Bitki Biyolojisi Kongresi 2-4 Eylül 2015, BOLU